

새송이버섯 열수 추출물이 마우스 비장세포와 대식세포의 활성화에 미치는 효과

김 경 옥 · * 류 혜 숙*

공주대학교 외식식품학과, *상지대학교 보건과학대학 식품영양학과

Effect of King Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii*) Extracts on the Activation of Spleen Cells and Macrophage in Mice

Kyoung-Ok Kim and *Hye-Sook Ryu*

Dept. of Food Service Management and Nutrition, Kongju National University, Yesan-gun 32439, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 26339, Korea

Abstract

King oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*), an improved species of oyster mushroom, is a popular ingredient in Asian cuisine. Spleen cells were treated with various concentrations (0, 5, 10, 50, 100, 250, 500, and 1,000 µg/mL) of king oyster water extracts (KOWE); then, the proliferation of the cells was measured 24, 48, and 72 h after each treatment. Also, type 1 T helper cytokine productions (TNF-α, IFN-γ, and IL-2) were measured in activated macrophage by KOWE in seven concentrations. Under the condition of its 50, 100, 250, and 1,000 µg/mL for 48 h, the proliferation of cells was increased. However, there was no significant fluctuation in the spleen cells proliferation for 24 and 72 h-long KOWE exposure. To determine cytokine (TNF-α, IFN-γ, IL-2) productions of type 1 T helper cells, macrophage was stimulated by KOWE for 48 h. Treatment of KOWE gave a rise to the levels of TNF-α and IFN-γ, but not in that of IL-2 productions. These results suggest that king oyster mushroom water extracts may be beneficial for enhancing immune functions in its high concentration.

Keywords: *Pleurotus eryngii* (king oyster mushroom), splenocytes, macrophage, TNF-α, IFN-γ

서 론

국내 농림축산식품부 자료에 따르면 2015년 국내 버섯 총 생산량은 167,366 M/T으로, 이중 새송이버섯(27.8%), 팽이버섯(22.4%)의 생산량은 50.2%으로 총 생산량의 약 1/2를 차지하고 있다(Ministry of Agriculture 2016). 버섯류는 지질함량은 낮으나, 탄수화물, 섬유소, 단백질, 비타민 및 무기질이 풍부하게 함유되어 있다(Hernandez 등 2003; Kalmis 등 2008). 특히, 버섯류에는 다당류(polysaccharides), 핵산(nucleotides), 알칼로이드(alkaloids), 렉틴(lectins), 페놀(phenols), 스테로이드(steroids), 테르페노이드류(terpenoids) 등의 다양한 생리활성을 함유하고 있다(Lindequist 등 2005). 버섯에 함유되어 있는

생리활성물질들은 항바이러스, 항균, 항암, 항알러지, 항죽종 형성에 관여한다(Lindequist 등 2005).

새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 주름버섯목(Agaricales) 느타리과(Pleurotaceae)에 속하는 식용버섯이다. 새송이버섯(king oyster mushroom)은 느타리버섯을 품종 개량한 버섯으로 큰 느타리버섯이라 불리기도 하며, 자루는 흰색으로 5~15 cm이고, 갓은 갈색으로 2~7 cm 모양을 띠고 있다. 새송이버섯은 아시아, 남유럽, 중동, 북아프리카 등지에서 생산되고 있으며, 향이 강하고 느타리버섯의 육질보다 단단하여 음식의 식재료로서 사용되고 있다(Arora 등 1991; Lewinsohn 등 2000). 새송이버섯에는 수분 87.1%, 탄수화물 8.1%, 조단백 2.4%, 조지방 0.6%, 조섬유 0.9%가 함유되어 있다(Sung 등 2008). 또한

* Corresponding author: Hye-Sook Ryu, Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 26339, Korea. Tel: +82-33-738-7641, Fax: +82-33-730-0186, E-mail: rhs7420@hanmail.net

새송이버섯은 다른 식용버섯에 비교하여 탄수화물, 비타민 C, 비타민 B₆, 무기질의 함량이 높으며, 탄수화물의 약 50%는 난소화성 식이섬유질로 구성되어 저칼로리 식품으로 이용되고 있다(Ahn 등 2006). 새송이버섯의 가공에 대한 연구로는 빵, 스펀지 케이크(Jeong 2004; Lee 등 2009), 국수(Sung 등 2008), 가공식품인 소시지(Jin 등 2006) 등의 연구가 이루어지고 있다. 새송이버섯의 생리학적 활성에 대한 연구로는 항산화능(Cho 등 2008; Lin 등 2016; Sun 등 2017), 항균 효과(Kim 등 2006), 지질대사 개선효과(Koh & Lee 2005), 항암 효과(Xue 등 2015; Ren 등 2016; Sun 등 2017) 등에 대하여 활발히 이루어지고 있다. 생리기능적 연구들은 새송이버섯의 에탄올, 메탄올 추출물이나 특정 성분에 대한 연구가 주로 이루어지고 있는 반면, 새송이버섯 열수 추출물에 대한 면역학적 활성에 대한 연구는 미흡하게 이루어지고 있다.

면역세포가 군집되어 있는 비장은 림프기관으로 혈구세포를 생성 및 제거하는 역할을 하며, 특히 B 세포, T 세포 등 면역세포들이 모여 있다. 대식세포는 면역세포의 하나로 식세포작용(phagocytosis)과 항원제시세포(antigen presentation cell)로서 작용하며, 다양한 사이토카인(cytokines)을 분비하여 면역세포 활성화, 염증반응 유도, 손상된 조직 복원 등 면역활성능에 관여한다. 따라서 본 연구에서는 새송이버섯 열수 추출물을 비장세포와 대식세포에 처리 후 비장세포 증식능과 사이토카인(TNF- α , IFN- γ , IL-2) 분비량을 통하여 새송이버섯 열수 추출물이 면역활성 반응에 미치는 영향을 검증함으로써 면역반응의 활성화시키는 제품개발 연구의 활용도를 증진시키고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 추출 및 조제

새송이버섯은 2014년 원주 소재 농협에서 구매하여 세척하고 동결 건조한 후 분말화하였다. 분말 버섯 100 g에 증류수를 2,000 mL 첨가하고 80°C로 유지된 water bath에서 3시간 동안 침지한 후 여과하는 과정을 3번 반복 실시하였다. 감압 농축기를 사용하여 여과액을 환류 냉각시켜 새송이버섯 열수 추출물 40.58 mg을 얻었다. 본 실험에서 처리한 시료 농도(0, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$)는 증류수를 이용하여 제조하였다.

2. 실험동물 및 마우스 비장세포 분리

(주)중앙실험동물에서 6~7주령 된 수컷 ICR mouse를 구입하여 일주일간 적응기를 거친 후 본 실험에 사용하였다. 에테르를 사용하여 실험동물을 마취한 후 비장을 적출하여 RPMI 1640용액(Grand Island NY, USA)으로 세척 후 분쇄하여 비장

세포를 유리시켰다. 유리된 비장세포를 200 μm cell strainer (BD biosciences, USA)에 여과한 후 원심분리(4°C, 3,000 rpm, 10 min)하였다. 상층액을 제거한 세포에 lysing buffer를 첨가하여 5분간 방치 후 원심분리(4°C, 3,000 rpm, 10 min)하였다. 세척을 위해 RPMI 1640용액을 첨가하고, 원심분리한 후 상층액을 제거하여 비장세포를 얻었다. 배양액인 10% FBS-RPMI 1640을 이용하여 비장세포의 농도를 5.0×10^6 cell/mL가 되도록 조절하였다.

3. 비장세포 증식능 측정

농도 조절된 비장세포를 96 well plate의 각 well에 90 μL 씩 분주하고, 음의 대조군(0 $\mu\text{g/mL}$)에는 10 μL 의 배양액을 분주하였고, 양의 대조군에는 LPS(15 $\mu\text{g/mL}$)와 ConA(5 $\mu\text{g/mL}$)를 각각 10 μL 씩 분주하였다. 본 실험에서 측정할 시료의 농도인 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 제조하여 well에 10 μL 씩 분주한 후, incubator(37°C, 5% CO₂)에서 24, 48, 72시간 동안 배양하였다. 최종 배양 4시간 전 10 μL MTT를 첨가한 후 남은 시간 동안 다시 배양하였다. 배양시간을 마친 plate의 상층액을 제거하고, 150 μL DMSO(sigma, USA)를 첨가한 후 540 nm 파장에서 흡광도(optical density, O.D.)를 측정하였다. 측정된 O.D. 값을 아래의 공식에 대입하여 마우스 비장세포 증식능을 구하였다.

Splenocyte proliferation index =

$$\frac{\text{Optical density of sample}}{\text{Optical density of media control}}$$

4. 사이토카인 분비량 측정

대식세포는 6~7주령된 ICR mouse, male((주)중앙실험동물)를 이용하여 복강내에서 추출하였다. 복강내 대식세포를 48 well plate에 900 μL 씩 분주하고, 음의 대조군에는 100 μL FBS-RPMI 1640, 양의 대조군에는 LPS 100 μL , 실험군에는 새송이버섯 열수 추출물을 실험 농도에 따라 각각 100 μL 씩 분주한 후 48시간 동안 incubator(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 배양액 상층액에 함유된 TNF- α , IL-2, IFN- γ 분비량은 mouse cytometric bead array flex set(BD biosciences)를 이용하여 측정하였다. 측정하고자 하는 3가지 사이토카인에 대한 mixed capture bead 50 μL 에 사이토카인 표준물질 또는 대식세포 상층액을 각각 50 μL 씩 분주한 후 어두운 실온에 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 mixed PE detection reagent 50 μL 를 첨가한 후, 다시 어두운 실온에 1시간 동안 반응시킨 후 1 mL wash buffer 첨가하여 원심분리하였다(200 g, 5 min). 상층액을 제거한 후, 200 μL wash buffer를 첨가한 후 유세포 분석기인 fluorescence-activated cell sorting(FACS) Canto II(BD Biosciences,

USA)를 이용하여 사이토카인 분비량을 측정하였다. 표준물질 TNF- α , IL-2, IFN- γ 의 농도별 측정값을 이용하여 공식을 구한 후 시료에 대한 측정값을 공식에 대입하여 사이토카인 분비량을 구하였다.

5. 통계처리

모든 수치는 평균 \pm 표준편차로 나타냈으며, 통계처리는 IBM SPSS Statistics 23를 사용하였다. 그룹내 분산분석은 ANOVA를 사용하였고, $p < 0.05$ 수준하에서 사후검증으로 Duncan's multiple range test를 시행하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 새송이버섯 열수 추출물이 비장세포의 증식 유도에 미치는 영향

비장은 림프기관으로서 혈구세포를 생성 및 제거하는 역할을 하며, B 세포, T 세포 등 면역세포들이 모여 있다. 비장세포를 통해 새송이버섯 열수 추출물이 면역세포 증식에 미치는 영향과 시료 처리시간에 따른 변화를 살펴본 결과는 Table 1과 같다. 각 배양 시간대별 비장세포 증식능에서 세포분열 촉진인자인 LPS, ConA 처리한 양의 대조군은 모든 배양시간에서 높은 비장세포 증식능을 보였다(all $p < 0.001$). 각각의 배양시간군내(24, 48, 72 h) 비교에서 새송이버섯 열수 추

Table 1. Effects of king oyster mushroom water extracts on the activation of spleen cells in mice

	Treatment time		
	24 h	48 h	72 h
0 $\mu\text{g/mL}$	1.00 \pm 0.05 ^{abc1)***2)}	1.00 \pm 0.09 ^{a***}	1.00 \pm 0.05 ^{abc***}
5 $\mu\text{g/mL}$	1.03 \pm 0.04 ^{abc}	1.16 \pm 0.13 ^{ab}	1.03 \pm 0.04 ^{abc}
10 $\mu\text{g/mL}$	1.06 \pm 0.03 ^{bc}	1.43 \pm 0.44 ^{abc}	1.06 \pm 0.03 ^{bc}
50 $\mu\text{g/mL}$	1.06 \pm 0.06 ^{bc}	1.64 \pm 0.20 ^{bc}	1.06 \pm 0.05 ^{bc}
100 $\mu\text{g/mL}$	0.89 \pm 0.23 ^{ab}	1.61 \pm 0.29 ^{bc}	0.89 \pm 0.23 ^{ab}
250 $\mu\text{g/mL}$	1.11 \pm 0.05 ^c	1.74 \pm 0.09 ^c	1.10 \pm 0.05 ^c
500 $\mu\text{g/mL}$	0.98 \pm 0.03 ^{abc}	1.23 \pm 0.19 ^{ab}	0.98 \pm 0.04 ^{abc}
1,000 $\mu\text{g/mL}$	0.84 \pm 0.02 ^a	1.60 \pm 0.01 ^{bc}	0.84 \pm 0.02 ^a
LPS(15 $\mu\text{g/mL}$)	1.54 \pm 0.11 ^d	3.45 \pm 0.46 ^c	1.54 \pm 0.11 ^d
ConA(5 $\mu\text{g/mL}$)	1.36 \pm 0.17 ^d	2.38 \pm 0.21 ^d	1.36 \pm 0.17 ^d

1) a-e Superscript alphabet means statistical differences within a column of same time by Duncan's multiple range test.

2) *** Statistical differences within a column of same time by Duncan's multiple range test at $p < 0.001$.

출물을 48시간 배양하였을 때 새송이버섯 열수 추출물의 유의적인 효과를 나타내었다. 48시간 동안 배양시킨 군내 음의 대조군과 비교하여 새송이버섯 열수 추출물 50, 100, 250, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.001$). 새송이버섯 열수 추출물 50, 100, 250, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 1.64 \pm 0.20, 1.61 \pm 0.29, 1.74 \pm 0.09, 1.60 \pm 0.01의 비장세포 증식능을 보여 음의 대조군에 비하여 유의하게 비장세포 증식능이 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 증가된 비장세포 증식을 나타낸 새송이버섯 열수 추출물군 중 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 가장 높은 비장세포 증식능이 나타났다. 본 연구에서 사용한 시료와 같은 느타리과에 속하는 느타리버섯 추출물에 대한 연구에서 느타리버섯 추출물 5~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비장세포가 증가하였으며, 그 중 250 $\mu\text{g/mL}$ 에서 가장 높은 비장세포 증식능이 나타나, 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다(Ryu 2014). 새송이버섯에서 추출한 조다당체의 면역활성에 대한 연구에서는 조다당체 300, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비장세포가 증가하였다(Kang 등 2004). 또한 식용버섯인 팽이버섯 추출물의 비장세포 유도에 대한 연구에서는 고농도인 100, 300 $\mu\text{g/mL}$ 에서 비장세포의 증식이 유도되었다(Kim 등 2012). 그러므로, 식용버섯인 새송이버섯 열수 추출물은 저농도에 비해 고농도에서 비장세포의 증식을 유도하여 면역세포 활성을 촉진시킬 것으로 사료된다.

2. 대식세포에 새송이버섯 열수 추출물 처리가 사이토카인 분비량에 미치는 영향

1) 새송이버섯 열수 추출물 처리에 의한 TNF- α 분비량
대식세포는 병원체를 제거하는 탐식기능과 다양한 면역조절 물질인 사이토카인, nitric oxide(NO), iNOS(nitric oxide synthase), cyclooxygenase-2(COX-2) 등을 분비하여 면역반응을 조절한다(Jin 등 2010). 대식세포에서 분비하는 사이토카인 중 하나인 중앙괴사인자 알파(tumor necrosis factor alpha, TNF- α)는 염증반응, 항바이러스 활성, 조혈세포 분화, major histocompatibility complex(MHC) 발현 등을 촉진 및 유도한다(Cavallion 1995). 본 연구의 새송이버섯 열수 추출물의 비장세포 증식에 대한 실험결과를 바탕으로 대식세포에서 분비된 TNF- α 측정을 위해 새송이버섯 열수 추출물 처리 48시간 후 상층액을 채취하여 측정하였다. 새송이버섯 열수 추출물의 농도에 따른 TNF- α 분비량에 대한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 음의 대조군과 비교하여 새송이버섯 추출물 100~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.001$). 새송이버섯 추출물 농도에 따른 TNF- α 분비량은 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 658.20 \pm 60.69 pg/mL, 250 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1,223.79 \pm 169.21 pg/mL, 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1,607.99 \pm 21.82 pg/mL, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 2,062.28 \pm 169.66 pg/mL

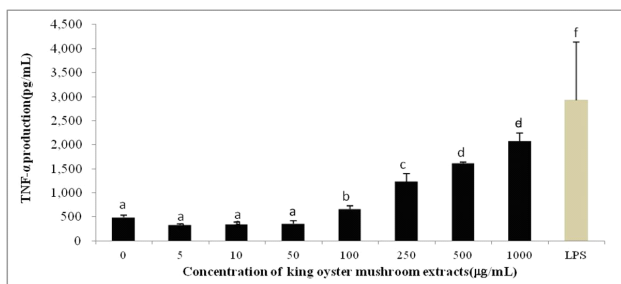


Fig. 1. Levels of TNF- α production in KOWE stimulated macrophage. Isolated intraperitoneal macrophage from mice were treated with king oyster mushroom extracts or LPS(15 μ g/mL) and cultured for 48 h. The level of TNF- α production was determined by FACS analysis.

^{a-f} Statistical differences within treated group by Duncan's multiple range test.

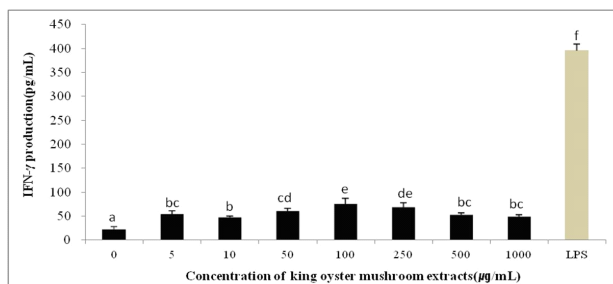


Fig. 2. Levels of IFN- γ production in KOWE stimulated macrophage. Isolated intraperitoneal macrophage from mice were treated with king oyster mushroom extracts or LPS (15 μ g/mL) and cultured for 48 h. The level of IFN- γ production was determined by FACS analysis.

^{a-f} Statistical differences within treated group by Duncan's multiple range test.

로 나타났다. 이러한 결과는 새송이버섯의 자실체에서 분리된 조다당체 추출물은 농도 의존적으로 TNF- α 분비량을 증가시킨 연구(Kang 등 2004)와 느타리버섯 추출물 100 μ g/mL 농도 이상에서 대식세포에서 분비된 TNF- α 분비량을 증가시킨 연구(Ryu 2014)에서도 확인할 수 있었다. 또한 새송이버섯 균사체를 이용한 발효두부 추출물은 대식세포에서 분비된 TNF- α , IL-6, IL-1 β 분비량을 증가시킨 연구결과도 있었다(Lee 등 2010). 유색미의 미강을 표고버섯 균사체를 이용한 1차 발효물과 *Lactobillus gasseri* 이용한 2차 발효물을 마우스에 각각 250 mg/kg BW/day 4주간 경구투여 후 LPS를 처리 후 대식세포에서 분비한 TNF- α , IFN- γ 분비량을 살펴본 결과, TNF- α 분비량은 1차 발효물에 비해 2차 발효물에서 높은 분비량을 보인 반면, IFN- γ 에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Kim 등 2011). 따라서 새송이버섯 열수 추출물은 농도 의존적으로 대식세포의 TNF- α 분비를 유도 및 증가시켜 면역반응을 활성화시킬 것으로 사료된다.

2) 새송이버섯 열수 추출물 처리에 의한 IFN- γ 분비량

대식세포에서 분비하는 인터페론 감마(interferon gamma, IFN- γ)는 대식세포를 활성화시켜 염증, 바이러스, 종양세포를 억제 및 제거하는 선천적 및 후천적 면역반응에 관여한다(Schoenborn & Wilson 2007). 본 연구에서 새송이버섯 열수 추출물에 의한 IFN- γ 분비량을 통해 항염증의 효과를 알아보 고자 하였다. 새송이버섯 열수 추출물의 농도별 IFN- γ 분비량에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 모든 새송이버섯 열수 추출물 처리군은 음의 대조군에 비해 유의적으로 높은 IFN- γ 분비량을 나타내었다($p < 0.001$). 대식세포에 처리된 새송이버섯 열수 추출물 5~1,000 μ g/mL 농도 중에서 100 μ g/mL에서 74.99 \pm 11.22 pg/mL로 가장 높은 IFN- γ 분비량을 나타내

었다. 또한 새송이버섯 열수 추출물 처리군내 IFN- γ 분비량을 살펴보면, 5~100 μ g/mL 농도 구간에서 농도가 증가할수록 IFN- γ 분비량이 증가였고, 반면 250~1,000 μ g/mL 농도 구간에서는 농도가 증가할수록 IFN- γ 분비량이 감소하는 것으로 나타났다. 느타리와 버섯인 느타리버섯의 연구에서는 느타리버섯 열수 추출물이 마우스 대식세포의 IFN- γ 분비량을 증가시켰지만, 고농도인 1,000 μ g/mL 농도에서는 감소한 연구(Ryu 2014)는 본 연구결과에 나타난 고농도에서의 감소 효과와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 새송이버섯에서 분리된 조다당체는 비장세포에서 IFN- γ 분비량이 증가한 연구결과(Kang 등 2004)와 새송이버섯 균사체를 첨가한 발효두부 추출물에서 IFN- γ , IL-6 분비를 유도시킨 연구(Lee 등 2010)를 살펴볼 때 새송이버섯이 IFN- γ 분비에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 새송이버섯 열수 추출물은 대식세포의 IFN- γ 분비를 유도하고, IFN- γ 분비능은 새송이버섯 추출물 농도에 따라 달라 고농도보다는 저농도에서 더 높은 면역활성 효과를 보이는 것으로 사료된다.

3) 새송이버섯 열수 추출물 처리에 의한 IL-2 분비량

인터루킨 2(interleukin-2, IL-2)는 T 세포의 성장 및 증식과 B 세포, natural killers(NK) 세포의 활성화에 관여하여 적응 면역반응을 조절하는 사이토카인이다. 새송이버섯 열수 추출물의 농도에 따른 IL-2 분비량에 대한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 새송이버섯 추출물 50, 250 μ g/mL에서 IL-2는 각각 15.50 \pm 4.29, 14.46 \pm 3.30 pg/mL로 높은 분비량을 보였지만, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 본 연구의 치료와 같은 과에 속하는 느타리버섯 추출물의 연구에서 50 μ g/mL에서 높은 분비량을 보였지만, 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Ryu 2014). 신장암을 유발한 쥐에게 느타리버섯에서 분리한 다당체를 섭취

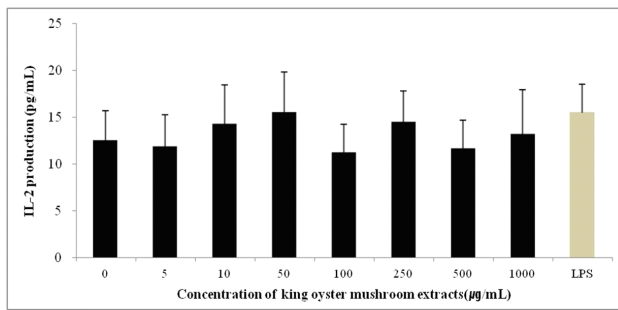


Fig. 3. Levels of IL-2 production in KOWE stimulated macrophage. Isolated intraperitoneal macrophage from mice were treated with king oyster mushroom extracts or LPS (15 µg/mL) and cultured for 48 h. The level of IL-2 production was determined by FACS analysis.

시킨 연구에서는 혈청내 IL-2 분비량과 NK 세포, cytotoxic T lymphocyte를 증가시켰다(Yang 등 2013). 새송이버섯과 같은 주름버섯목에 속하는 표고버섯의 균사체에서 분리한 단백당체는 IL-2 분비를 증가시켜 Th 1(type 1 T helper) cell을 활성화시킨 연구에서 효과를 보인 농도는 10 mg/mL의 고농도에서 관찰되었다(Kwon 등 2003). 또한 표고버섯의 β-D-glucan 추출물에 대한 *in vivo* 연구에서 AKR mice에서 경구투여하였을 때 IL-2 분비량을 증가하였고, *in vitro* 연구에서는 추출물이 대식세포를 활성화시켰다(Yap & Ng 2003). 따라서 본 연구에서 처리된 새송이버섯 열수 추출물의 농도에서는 대식세포의 IL-2 분비량에 미치는 관찰할 수 없었지만, 다양한 선행 연구결과를 살펴볼 때 1,000 µg/mL 이상의 농도에서 IL-2 분비량에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

요약 및 결론

마우스의 면역세포인 비장세포와 대식세포를 통하여 새송이버섯 열수 추출물이 면역 반응에 미치는 영향을 *in vitro* 상에서 알아보려고 하였다. 비장에는 T 세포와 B 세포 등 다양한 면역세포가 모여있는 기관이다. T 세포는 대식세포 및 B 세포를 활성화시키고, cytotoxic T cell을 자극하여 세포매개성 면역반응을 유도한다. B 세포는 항체를 생성하여 체액성 면역반응에 관여한다. 본 연구결과, 마우스의 비장세포 증식 유도는 새송이버섯 열수 추출물을 48시간 동안 처리하였을 때 나타났으며, 50 µg/mL 이상의 고농도에서 유의적인 효과가 나타났다. 새송이버섯 열수 추출물을 48시간 처리하였을 때 비장세포의 증식을 유도하여 대식세포 활성화에 대한 연구에서는 새송이버섯 열수 추출물을 48시간 동안 배양한 상층액을 채취하여 사이토카인 분비량을 측정하였다. 대식세포에서 분비되는 사이토카인 중 TNF-α와 IFN-γ 분비량에서 변화

를 관찰할 수 있었으며, 새송이버섯 열수 추출물 100~1,000 µg/mL 이상에서 TNF-α 분비량이 증가하였다. 또한 IFN-γ 분비량은 모든 처리농도(5~1,000 µg/mL)에서 증가하였고 특히, 100, 250 µg/mL에서 높은 IFN-γ 분비량을 보였다. 그러므로 새송이버섯 열수 추출물의 농도에 따라 상이한 결과를 나타내었지만, 새송이버섯 열수 추출물은 비장세포 증식 유도과 대식세포 활성화를 촉진시켜 면역반응과 염증반응을 활성화시킨 것으로 사료된다.

References

- Ahn MS, Kim HJ, Seo MS. 2006. Physicochemical characteristics of ethanol extracts from each part of the *Pleurotus eryngii*. *J Korean Soc Food Cult* 21:297-302
- Arora DK, Mukerji KG, Marth EH. 1991. Handbook of Applied mycology: Foods and Feeds. 3rd ed. pp.221-240
- Cavaillon JM. 1995. Cytokines in inflammation. *C R Seances Soc Biol Fil* 189:531-544
- Cho HS, Lee HJ, Lee SJ, Shin JH, Lee HU, Sung NJ. 2008. Antioxidative effects of *Pleurotus eryngii* and its by-products. *J Life Sci* 18:1360-1368
- Hernandez D, Sanchez JE, Yamasaki K. 2003. A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Bioresour Technol* 90:145-150
- Jeong CH, Shim KH. 2004. Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:716-722
- Jin JH, Kim JS, Kang SS, Son KH, Chang HW, Kim HP. 2010. Anti-inflammatory and anti-arthritis activity of total flavonoids of the roots of *Sophora flavescens*. *J Ethnopharmacol* 127:589-595
- Jin SK, Kim IS, Kim DH, Jeong KJ, Moon SS. 2006. Effect of *Pleurotus eryngii* and meat particle size on sausage quality. *Korean J Food Sci of Ani Resour* 26:343-348
- Kalmis E, Azbar N, Yildiz H, Kalyoncu F. 2008. Feasibility of using olive mill effluent(OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on wheat straw. *Bioresour Technol* 99:164-169
- Kang HI, Kim JY, Moon KD, Seo KI, Cho YS, Lee SD, Yee ST. 2004. Effect of the crude polysaccharide of *Pleurotus eryngii* on the activation of immune cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:1092-1097
- Kim DJ, Ryu SN, Han SJ, Kim HY, Kim JH, Hong SG. 2011. *In vivo* immunological activity in fermentation with black

- rice bran. *Korean J Food & Nutr* 24:273-281
- Kim HJ, Ahn MS, Kim GH, Kang MH. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Pleurotus eryngii* extracts prepared from different aerial part. *Korean J Food Sci Technol* 38:799-804
- Kim JJ, Lee SW, Park KW, Seo KI, Yee ST. 2012. Effect of *Flammulina velutipes* extracts cultivated with oriental herbal plants on the activation of immune cells. *J Life Sci* 22:828-836
- Koh JB, Lee CU. 2005. Effects of *Pleurotus eryngii* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:626-631
- Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST. 2003. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food & Nutr* 16:15-21
- Lee JY, Lee K, Kwak EJ. 2009. Fermentation characteristics of bread added with *Pleurotus eryngii* powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:757-765
- Lee SW, Kang JW, Kim JY, Park KW, Park SK, Joo OS, Yee ST, Seo KI. 2010. Immuno-activities of extracts of tofu fermented with *Pleurotus eryngii* mycelia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:25-30
- Lewinsohn D, Nevo E, Hadar Y, Wasser SP, Beharav A. 2000. Ecogeographical variation in the *Pleurotus eryngii* complex in Israel. *Mycol Res* 104:1184-1190
- Lin S, Ching LT, Ke X, Cheung PC. 2016. Comparison of the composition and antioxidant activities of phenolics from the fruiting bodies of cultivated Asian culinary-medicinal mushrooms. *Int J of Med Mushrooms* 18:871-881
- Lindequist U, Niedermeyer TH, Julich WD. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2:285-299
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2016. 2015 productivity performance of special crop. Available from <http://m.mafra.go.kr> [cited 11 March 2017]
- Ren D, Wang N, Guo J, Yuan L, Yang X. 2016. Chemical characterization of *Pleurotus eryngii* polysaccharide and its tumor-inhibitory effects against human hepatoblastoma HepG-2 cells. *Carbohydr Polym* 138:123-133
- Ryu HS. 2014. Enhancing effect of *Pleurotus ostreatus* extracts on mouse spleen and cytokine cells activation. *Korean J Food Nutr* 27:603-608
- Schoenborn JR, Wilson CB. 2007. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Adv Immunol* 96:41-101
- Sun Y, Hu X, Li W. 2017. Antioxidant, antitumor and immunostimulatory activities of the polypeptide from *Pleurotus eryngii* mycelium. *Int J Biol Macromol* 97:323-330
- Sung SY, Kim MH, Kang MY. 2008. Quality characteristics of noodles containing *Pleurotus eryngii*. *Korean J Food Cookery Sci* 24:405-411
- Xue Z, Li J, Cheng A, Yu W, Zhang Z, Kou X, Zhou F. 2015. Structure identification of triterpene from the mushroom *Pleurotus eryngii* with inhibitory effects against breast cancer. *Plant Foods Hum Nutr* 70:291-296
- Yang Z, Xu J, Fu Q, Fu X, Shu T, Bi Y, Song B. 2013. Antitumor activity of a polysaccharide from *Pleurotus eryngii* on mice bearing renal cancer. *Carbohydr Polym* 95:615-620
- Yap AT, Ng ML. 2003. Immunopotentiating properties of lentinan (1→3)-β-D-glucan extracted from culinary-medicinal shiitake mushroom *Lentinus edodes*(Berk.) Singer(Agaric). *Int J Med Mushrooms* 5:339-358

Received 11 March, 2017

Revised 19 May, 2017

Accepted 25 May, 2017