

Blood Pressure Reduction of SHR Treated with EA-containing *Lentinus edodes* Mycelial Solid Culture Extract

Yeon-Kyu Moon¹, Jae Eun Jung², Bok-Im Cho¹, Jeong-Doo Heo¹, Jungil Choi¹, Jeong Ok Kim² and Yeong Lae Ha^{2*}

¹Gyeongnam Biological Resource Research Center, Gyeongnam Department of Environmental Toxicology and Chemistry, Korea Institute of Toxicology, Jinju 52834, Korea

²Antiaging Institute, HK Biotech., Co., Ltd., Jinju 52840, Korea

Received December 27, 2017 / Revised February 13, 2017 / Accepted February 19, 2017

Eritadenine (EA), derived from *Lentinus edodes* (LE), reduced low-density lipoprotein (LDL), triglyceride (TG), and phospholipids in bloods, and fatty acid depositions in animals and humans. Previously, we reported that EA inhibited angiotensin-converting enzyme (ACE) activity *in vitro*. Now, we report that EA reduced blood pressures in spontaneous hypertension rats (SHR). EA-containing LE mycelial culture enzyme extract (EA-LEMSCEE) was prepared from LE mycelial solid cultures and the hot-water extract of LE fruit bodies. Both EA and EA-LEMSCEE inhibited ACE activity in immortalized human umbilical endothelial cells (EA.hy926). EA-LEMSCEE treatments (7.5 mg/kg, 22.5 mg/kg) significantly reduced systolic and diastolic blood pressure in SHR. At five weeks of treatment, EA-LEMSCEE treatment significantly reduced systolic and diastolic blood pressure, similar to the positive control (captopril, CP; 4 mg/kg) treatment. In addition, the LEMSCEE without EA decreased systolic and diastolic blood pressures compared to the control, but not significant. EA-LEMSCEE decreased renin and ACE activities, and angiotensin II (Ang II) contents in SHR compared to the control. After five weeks of treatment, the effect of EA-LEMSCEE was similar to that of CP. These results indicate that EA and EA-LEMSCEE reduce blood pressure by inhibiting the renin and ACE activity of SHR. Furthermore, these results imply that EA or EA-LEMSCEE could be used as an antihypertension agent in humans.

Key words : Angiotensin converting enzyme (ACE), angiotensin II, eritadenine (EA), *Lentinus edodes*, renin

서론

표고버섯(*Lentinus edodes*)은 광용균과(Omphalotaceae family) 잣버섯속(*Lentinus* genus)에 속하며 한국을 비롯한 동아시아에서 광범위하게 재배되는 식용버섯이다. 표고버섯은 맛이 뛰어나고 비타민 B, D 등의 영양성분이 풍부하여 다채로운 음식재료로 활용되고 있다[21]. 표고버섯에는 다양한 이차대사산물이 포함되어 있는데, 한국을 비롯한 세계 여러 나라의 과학자들에 의해 이들 이차대사산물의 기능성이 밝혀지고 있다[9].

표고버섯의 다당체는 항산화효과[23], 항염증효과[23], 항암효과[6], 면역조절효과[6], 항바이러스효과[24]가 있음이 밝혀졌다. 또한 표고버섯 균사체 배양물도 HIV, 간염바이러스

등에 대한 항바이러스효과[9]와 항암효과[15]가 있는 것으로 보고되었다. 표고버섯에는 eritadenine (EA; Fig. 1)이 함유되어 있어 지방간 및 혈중 콜레스테롤 개선에도 효과가 있다고 보고되었다[12, 22]. Kabir 등[8]은 표고버섯이 고혈압 완화효과가 있다고 보고 했지만 그 지표물질은 밝히지 못하였다. 따라서 표고버섯에 함유된 고혈압 완화 지표물질에 관한 연구가 필요하다.

World Health Organization (WHO)에 따르면 현재 전 세계 고혈압 환자는 약 10억 명이고, 2025년이 되면 15억 명에 이를 것으로 추정하고 있으며[5], 고혈압은 예방 및 치료를 하지 않는 경우 사망에 이를 수 있음[5]은 물론, 관상동맥 손상에 의한 심장질환[7], 뇌졸중[3, 7], 신장질환[14] 등의 원인이 되고 있다. 따라서 항고혈압제는 고혈압과 광범위 심혈관계 질환 치료에 효과가 있는 이뇨제, 교감신경 마비제, 신경절 차단제, adrenergic neuron 차단제 그리고 아드레날린 수용체 길항제 등이 사용되고 있다. 이러한 합성신약은 부작용을 수반하는 것 또한 사실이다. 따라서 그 대안으로 천연물신약 또는 건강기능식품의 개발이 요구된다.

표고버섯은 lentinan 등의 다양한 기능성 성분을 함유하고 있고, 그 중 EA는 혈중 low density lipoprotein (LDL), trigly-

*Corresponding author

Tel : +82-55-762-9307, Fax : +82-55-762-9407

E-mail : bestintheworld1080@gmail.com

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

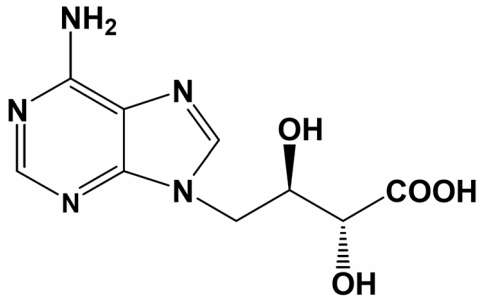


Fig. 1. Chemical structure of EA [2(R), 3(R)-dihydroxy-4-(9-adenyl)-butanoic acid] from *L. edodes* mushroom.

ceride (TG), phospholipids 감소[19, 20]와, 지방 대사에 관여하여 지방이 간에 축적되는 것을 저해한다[17, 20]. 최근 *in vitro* 연구에서 EA가 angiotensin I (Ang I)을 angiotensin II (Ang II)로 변환시켜 혈압을 높이는 역할을 하는 효소인 angiotensin converting enzyme (ACE)의 활성을 저해하였다[1].

본 연구에서는 EA가 immortalized 인체 태줄 혈관내피세포인 EA.hy926의 ACE 활성을 억제하였고, 표고버섯에서 추출한 EA를 함유하는 표고버섯균사체 고체배양물 효소추출물 (EA containing-*Lentinus edodes* mycelial solid culture enzyme extract: EA-LEMSCEE)이 spontaneous hypertension rats (SHR)의 혈압을 저해하였고, ACE 활성을 억제하였음을 보고한다.

재료 및 방법

표고버섯균사체 고체배양 추출물 제조

보리와 쌀겨(Ilbanseong Nonghep, Jinju, Korea)를 혼합(20:1, w/w)한 배지를 멸균(121°C, 10 min)하여 실온으로 냉각시킨 배지에 표고버섯균(ATCC 64275)을 접종하여 incubator (37°C)에서 7일 배양하였다. 이 표고버섯균사체 고체배양물 (*Lentinus edodes* mycelial solid culture; LEMSC) 분말 0.5 kg을 증류수 7 l에 혼합하고 효소[cellulose, protease; (주)Bioland, Ansan, Korea] 처리(cellulose 5 l, protease 5 l 혼합, 50~55°C, 3 hr)한 후 원심분리(7,000 rpm, 4°C; 1580R, Labogene, Seoul, Korea)하여 상등액을 농축(Brix 30, <60°C; Rotavapor R-300, Buchi; Flawil, Switzerland)하여 표고버섯균사체 고체배양물 효소추출물(*Lentinus edodes* mycelial solid culture enzyme extract: LEMSCEE) 시료를 제조하였다.

표고버섯 자실체로부터 EA 추출, 정제 및 EA-LEMSCEE 시료제조

시중에서 구입한 생 표고버섯(5 kg)에 20 l 증류수(w/v)를 가하여 고압 열수추출(121°C, 1 hr; Steam sterilizer ST-65G, Jeio Tech., Daejeon, Korea)하여 여액과 침전물을 분리하고, 침전물은 다시 증류수 10 l를 가하여 고압추출 하고 여액을 분리하

였다. 이들 여액을 합하여 원심분리(7,000 rpm)한 후 농축(Brix 30, <60°C)하였다. 이 추출 농축물을 60% ethanol 농도로 2회 추출하여 다시 원심분리(7,000 rpm)한 후 농축(Brix 30, <60°C)하였다. 이 60% ethanol 추출농축을 90% ethanol 농도로 60% ethanol 농도 추출과 동일한 방법으로 3회 추출하고 농축(Brix 4)하여 고농축된 EA를 함유하는 표고버섯자실체 추출물(EA-containing *Lentinus edodes* fruit body hot-water extract; EA-LEFHWE)을 제조하였다. LEMSCEE에 EA-LEFHWE를 일정량 혼합하여 세포실험 및 동물실험용 EA-LEMSCEE시료를 제조하였다.

EA-LEFHWE의 EA 함량 분석

EA-LEFHWE (100 mg) 시료에 증류수 10 ml를 가하여 용해하였다. 여과(0.2 µm MF-Millipore membrane filter, Darmstadt, Germany) 후 분석용 시료로 사용하였다. 외부표준 용액은 EA (Santa Cruz Biotechnology)를 0.5~100 ppm으로 제조하여 사용하였다.

EA는 ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (4.6×250 mm, 5 µm)이 부착된 Agilent Technologies 1200 series HPLC를 사용하여 gradient system으로 분석하였다. 즉, 0~15 min에 99.5% mobile phase A (0.03% TFA/증류수), 0.5% mobile phase B (0.03% TFA/acetonitrile), 15~20 min에 20% mobile phase A, 80% mobile phase B, 25~30 min에 99.5% mobile phase A, 0.5% mobile phase B로 변경시켰고, flow rate는 0.5 ml/min, detection은 260 nm에서 수행하였다. EA-LEFHWE 시료에 함유된 EA 함량은 930 mg/g D.W.였다(Fig. 2).

EA.hy926 세포 배양

EA.hy926 세포(ATCC CRL-2922, VA, USA) 배양은 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 1% penicillin/streptomycin을 포함하는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 배지를 이용하여 37°C에서 배양하였다(5% CO₂ incubator, Thermo Scientific, MA, USA). 계대배양은 trypsin-EDTA (0.05% trypsin, 0.02% EDTA/Hank's balanced salt solution without calcium and magnesium)(Gibco, MA, USA)를 처리하여 세포를 분리한 후, DMEM 배지로 배양하였다.

세포 viability 및 ACE 활성 측정

EA.hy926 세포주의 생육에 대한 EA의 영향은 Cell Counting Kit-8 (CCK-8, Dojindo, Japan)을 이용해 제조회사의 manual procedure에 따라 측정하였다. 간략히, 96 well plate에 EA.hy926 세포를 2×10⁴ cells/well로 plating 하여 18 hr 배양한 세포의 배지를 serum-free DMEM으로 교환한 후, EA를 0, 1, 2, 4, 8, 10 mg/ml로 처리하고 다시 24 hr 배양하였다. 각 well에 CCK-8 용액 10 µl/well 첨가하여 incubator (5% CO₂, 37°C)에서 4시간 반응 후, Synergy H1 Multi reader

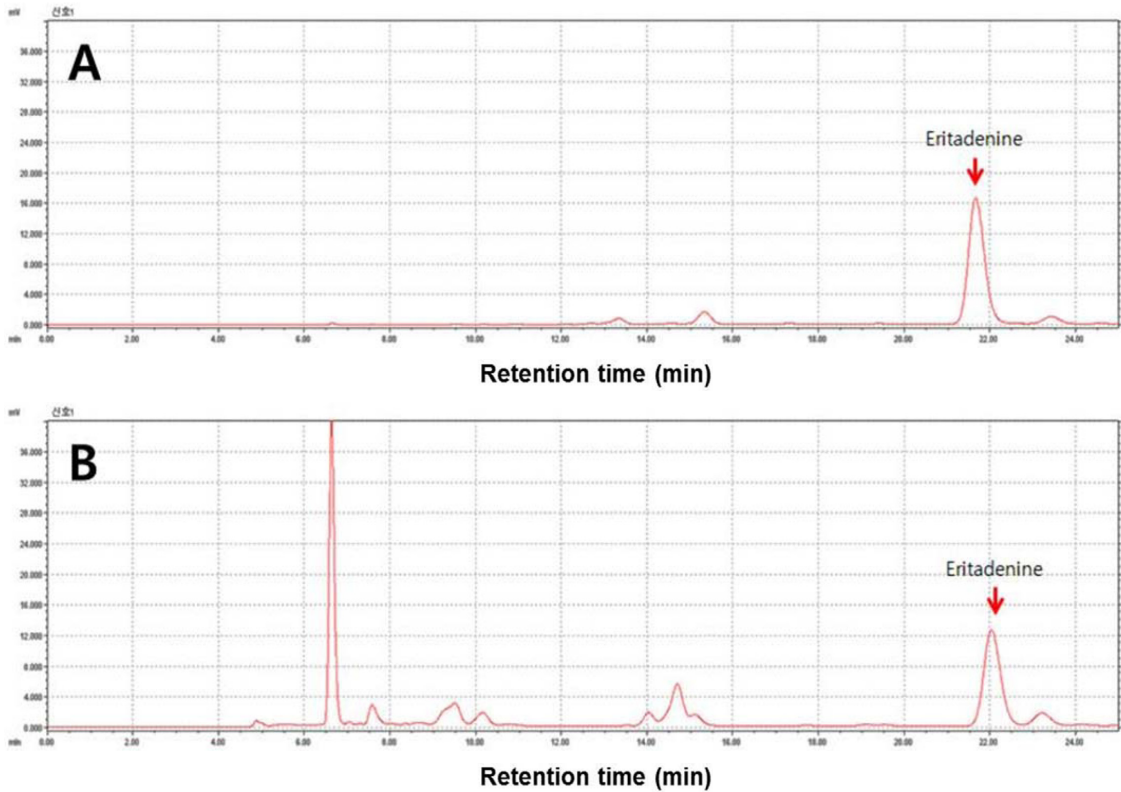


Fig. 2. HPLC chromatograms of EA from EA-LEFHWE. (A) Standard EA. (B) EA from EA-LEFHWE. The HPLC run conditions for EA separation were shown in Materials and Methods.

(BioTek, St. Louis, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ACE 활성 측정을 위해서는 6 well plate에 EA.hy926 세포를 3×10^5 cells/well 로 plating 하여 18 hr 배양한 세포에 EA를 다양한 농도(0, 10, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 $\mu\text{g/ml}$)로 처리한 후, 24시간 배양하고 배양액을 회수하였다. 이 배양액의 ACE 활성은 ACE ELISA kit (OKAG0091, Aviva Systems Biology, Corp., CA, USA)로 제조회사의 manual procedure에 따라 측정하였다.

시료 EA-LEMSCEE에 대한 세포 viability와 ACE 활성은 시료를 EA 함량으로 0, 15, 30, 45 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리하고 EA의 세포 viability와 ACE 활성 측정과 동일한 방법으로 측정하였다.

실험동물 사육 및 시료 처리

10주령 본태성 고혈압 동물(Spontaneously hypertensive rat: SHR)을 중앙실험동물(주)(Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일의 순화기간을 거친 후 사용하였다. 적절한 사육환경(온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$, 조명 12 hr light/12 hr dark cycle, 조도 150~300 Lux, 환기횟수 10~20 times/hour)조건에서 사육하였으며, 식이는 감마선이 조사된 실험동물용 고형사료(Central Lab. Animal Inc., Pyeongtaek, Korea)와 미세여과기와 자외선 유수살균장치를 통과한 상수도수를 자유 급여하였다. 수축기 혈압이 150 mmHg 이상인 SHR을 사용하였다. 실험군은 6마

리를 처리군으로 하여 총 5개 처리군으로 나누었다[Negative control (NC), Positive control (Captopril, CP; 4 mg/kg), LEMSCEE (EA 0 mg/kg), T1 (EA-LEMSCEE; EA 7.5 mg/kg), T2 (EA-LEMSCEE; EA 22.5 mg/kg)]. 증류수에 용해한 시료를 처리군 SHR에 경구용 주사기를 사용하여 500 μl 를 6주간 매일 강제 경구 투여 하였으며, 고혈압 Control 처리는 증류수 500 μl 를 경구 투여하였다. 동물실험은 안전성평가연구소 경남환경독성본부 동물실험윤리위원회의 승인(1612-0002) 후 실시하였다.

혈압측정방법

혈압측정은 CODA™ Mouse & Rat Tail-Cuff Blood Pressure System (Kent Scientific CO., CT, USA)를 이용하여 tail cuff method로 측정하였다[11]. Acclimation cycle 5 회, regular cycle 10회 2반복으로 측정하였다. 혈압 측정 시 preheating chamber를 예열(35°C , 15 min)하고 이 chamber 위에 원통 고정틀(SHR 꼬리에 tail cuff sensor 연결됨)을 놓고 5 min 후에 수축기 및 이완기 혈압을 10 cycle 씩 5회 반복 측정하였다.

혈장 내 biomarker 측정

마지막 혈압을 측정한 SHR 복대동맥에서 혈액을 채취하여 EDTA tube (BD Biosciences, NJ, USA)에 옮겨 담고, Kubota

2800 원심분리기(KUBOTA, Tokyo, Japan)에서 원심분리(3,500 rpm, 10분)하여 혈장을 분리하였다. 혈장 내 renin과 ACE 활성은 각각 rat renin assay kit (Aviva Systems Biology, Corp., CA, USA)와 rat ACE assay kit (Cusabio, Hubei, China), Ang II 함량은 rat Ang II assay kit (MyBioSource, Inc., CA, USA)를 사용하여 제조회사의 manual procedure에 따라 처리 및 반응시킨 후, Synergy H1 Multi reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성과 함량은 외부 standard curve로부터 CurveExpert 1.3 (Hyams Development)를 사용하여 계산하였다.

통계처리

Data는 Mean ± S.E.M.으로 나타내었으며, GraphPad Prism, version 5.01 (GraphPad Software, Inc., CA, USA)을 이용하여 one-way ANOVA로 분석하였다. p value는 <0.05일 때, *, <0.01일 때, **, <0.001일 때, ***로 나타내었다.

결과 및 고찰

EA.hy926 세포에서 EA 및 EA-LEMSCEE의 ACE 활성 억제

EA가 혈관확장에 관여하는 ACE의 활성을 억제시킨다는 사실은 Afrin 등[1]의 연구에 의해 밝혀졌다. 하지만, 이들 연구는 rat에서 분리한 ACE에 EA를 처리하여 얻은 *in vitro* 결과로, 생체세포나 동물에서 수행된 적은 없다. 본 연구에서는 EA.hy926 세포에서 EA에 의한 ACE의 변화를 측정하였다. 먼저 EA의 무독성량을 조사하기 위하여 EA를 농도 별로 처리하여 세포 viability를 측정하였다(Fig. 3). 그 결과, EA 처리 농도 중 EA 2 mg/ml 이하에서는 EA.hy926에 대해 세포독성

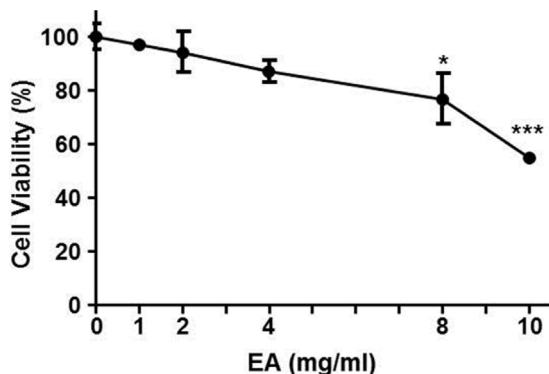


Fig. 3. Effect of EA on cell viability in EA.hy926 cells. EA.hy926 cells (1×10^4 cells/well) in 96-well plates were incubated with and without various concentrations of EA (0, 1, 2, 4, 8, 10 mg/ml) for 24 hr. Cell viability was estimated by the CCK-8 assay. Result represented mean ± S.E.M. with $n=10$. * $p<0.05$ and *** $p<0.001$ compared to control treatment group, respectively.

을 나타나지 않아 ACE 측정에는 1 mg/ml 이하의 농도를 사용하였다.

EA 무독성량 범위 내에서 EA (0~1,000 µg/ml)를 EA.hy926 세포에 처리하고 ACE 활성을 측정한 결과 ACE 활성이 EA 100 µg/ml 처리부터 Control 처리에 비해 유의성 있게 유의성 ($p<0.01$) 있게 감소되어 600~1,000 µg/ml 처리 농도에서는 $p<0.001$ 수준으로 감소되었다(Fig. 4A). EA를 함유한 표고버섯균사체 고체배양 효소추출물인 EA-LEMSCEE를 EA.hy926 세포에 처리(0, 15, 30, 45 µg/ml) 한 경우 ACE 활성이 15 µg/ml부터 유의성 ($p<0.01$) 있게 감소되었고, 45 µg/ml 처리 농도에서는 $p<0.001$ 수준으로 감소하였다(Fig. 4B). EA가 함유되지 않는 LEMSCEE 처리도 ACE 활성이 control 처리에 비해 감소되었지만 유의성은 없었다. 이와 같은 두 실험 결과는 EA가 EA.hy926 세포의 ACE 활성을 강하게 억제함을 의미한다. EA

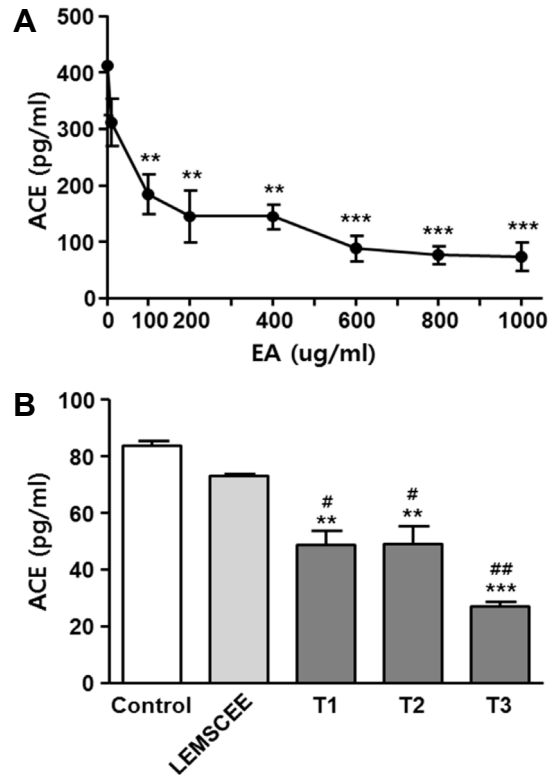


Fig. 4. ACE activity in EA.hy926 cells treated EA and EA-LEMSCEE. (A) EA.hy926 cells (3×10^5 cells/well) in 96-well plates were incubated with and without concentrations of EA (10, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 µg/ml) for 24 hr. (B) EA.hy926 cells in 96-well plates were incubated with mock, LEMSCEE (EA 0 µg/ml), T1 (EA-LEMSCEE; EA 15 µg/ml), T2 (EA-LEMSCEE; EA 30 µg/ml) and T3 (EA-LEMSCEE; EA 45 µg/ml). Activity of ACE was determined using conditioned medium. Result represented mean ± S.E.M. with $n=10$. ** and *** represent $p<0.01$ and $p<0.001$ compared to NC group, respectively. # and ## represent $p<0.05$ and $p<0.01$ compared to LEMSCEE group, respectively.

가 혈압과 관련된 세포에서의 ACE 활성을 억제한다는 보고는 없지만, Afrin 등[1]이 밝힌 EA의 강력한 ACE 활성억제(IC50, 0.091 μM) 보고와 일치하였다.

ACE 활성 억제제가 *in vivo* 실험에서 혈압을 억제한다는 보고는 많다[10, 13, 18]. 따라서 본 연구에서 밝힌 EA가 ACE의 강력한 저해제로 작용한다는 사실은 EA가 인체 고혈압 조절에 사용할 수 있음을 강력히 시사한다.

SHR에서 EA-LEMSCEE의 항고혈압 효과

EA 및 EA-LEMSCEE가 EA.hy926 세포에서 ACE 활성을 강하게 억제(Fig. 4A, Fig. 4B) 하였기 때문에, EA의 항고혈압 효과를 확인하기 위해 SHR에 EA-LEMSCEE를 6주간 강제 경구투여하고 1주에 1회 혈압을 측정하였다(Fig. 5A, Fig. 5B). 그 결과, EA-LEMSCEE 처리(T1, 7.5 mg/kg; T2, 22.5 mg/kg)는 수축기(Fig. 5A) 및 이완기(Fig. 5B) 혈압을 NC 처리보다 유의성 있게 감소시켰다. 처리 5주에서의 그 효과는 CP (4 mg/kg) 처리와 유사하였고, EA-LEMSCEE T1과 T2 처리 간에는 유의성이 없었다. 또한 처리 5주에 EA를 함유하지 않은 LEMSCEE 처리는 수축기 및 이완기 혈압을 NC 처리보다 낮

추었지만, 그 효과는 EA-LEMSCEE 보다는 낮았다. 따라서 EA-LEMSCEE의 효과는 EA와 LEMSCEE의 시너지 효과가 있음을 의미한다.

표고버섯은 지방간 및 혈중콜레스테롤 개선효과[22], 항산화효과[23], 항염증효과[23], 항암효과[6, 15], 면역조절효과[6], 항바이러스효과[9, 24] 등의 다양한 기능이 알려져 있지만 혈압저하 효과에 관한 보고는 많지 않다. Kabir 등[8]은 표고버섯에 의한 항혈압효과에 관한 과학적 증거를 제시하고 있지만, 그 이후에는 혈압과 표고버섯의 상관관계에 관한 직접적 연구결과는 전무한 상태이다. 본 연구 결과는 표고버섯에 함유된 EA (건조 표고버섯, 3.17~6.33 mg/g)[4]가 표고버섯의 항혈압효과에 주요한 인자라는 것을 시사한다.

SHR에서 EA의 혈장 renin-angiotensin system (RAS)의 변화

EA의 항고혈압 효과를 조사하기 위해 혈장 RAS에 관련되는 인자들의 활성을 분석하였다. RAS는 동맥의 혈압조절에 가장 중요한 인자이며, 이 시스템의 결함은 고혈압 발병에 주요한 요인 중 하나이다[2, 16]. Renin과 ACE 활성은 혈압을

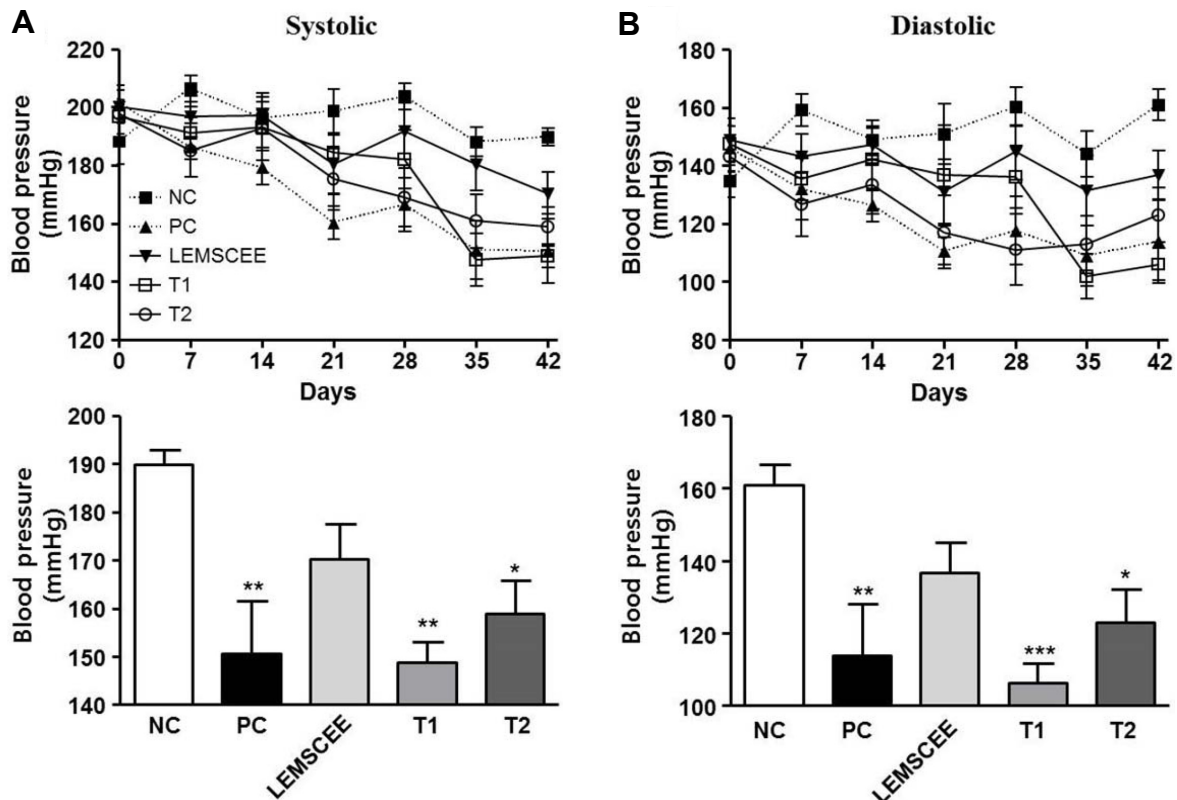


Fig. 5. Systolic and diastolic blood pressures in SHR treated with EA-LEMSCEE. (A) Weekly changes of systolic blood pressure (upper panel) and last week's systolic blood pressure (lower panel) of SHR treated with EA-LEMSCEE. (B) Weekly changes of diastolic blood pressure (upper panel) and last week's diastolic blood pressure (lower panel) of SHR treated with EA-LEMSCEE. Treatment identification: NC, control; PC, positive control treated with captopril, 4mg/kg; LEMSCEE, EA 0 mg/kg; T1 (EA-LEMSCEE, EA 7.5 mg/kg; and T2 (EA-LEMSCEE, EA 22.5 mg/kg. Result represented mean ± S.E.M. with n=6. The *, ** and *** represent p<0.05, p<0.01 and p<0.001 compared to NC group, respectively.

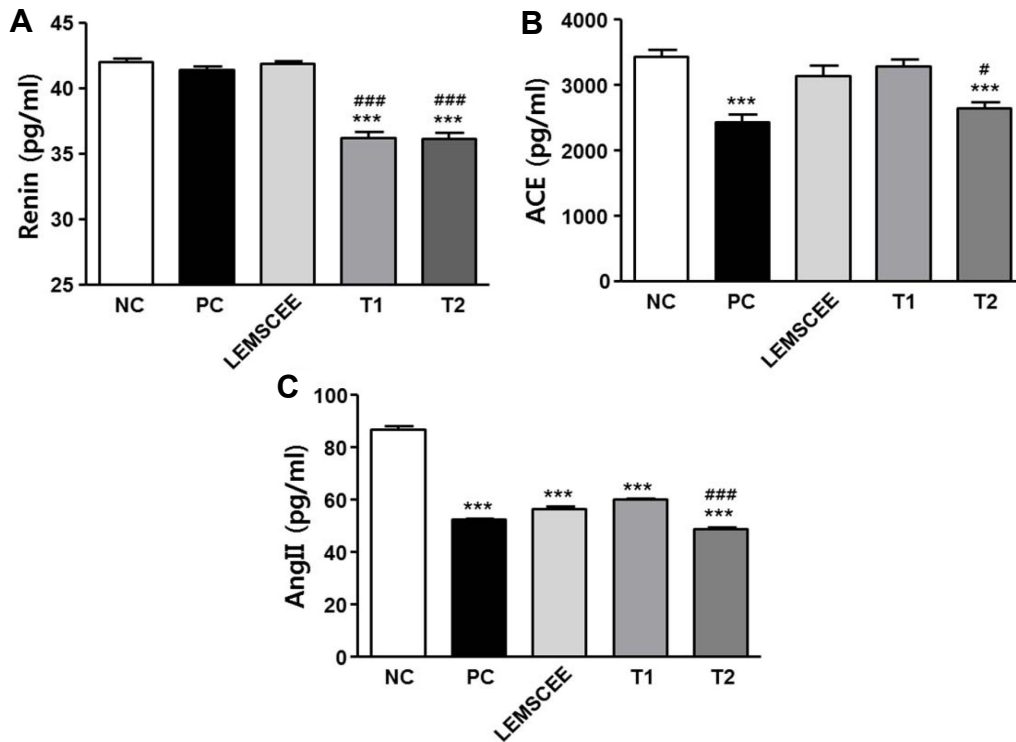


Fig. 6. Renin and ACE activities, and Ang II content in plasma from SHR treated with EA-LEMSCEE. Renin (A) and ACE (B) activities, and Ang II content (C) in plasma from SHR treated with EA-LEMSCEE. Treatment identification: NC, control; PC, positive control treated with captopril, 4 mg/kg; LEMSCEE, EA 0 mg/kg; T1 (EA-LEMSCEE, EA 7.5 mg/kg; and T2 (EA-LEMSCEE, EA 22.5 mg/kg. Result represented mean \pm S.E.M. with $n=6$. The ** and *** represent $p<0.01$ and $p<0.001$ compared to NC group, respectively. The # and ### represent $p<0.05$ and $p<0.001$ compared to LEMSCEE group, respectively.

상승시키는 중요 효소인데, renin은 angiotensinogen을 Ang I으로 전환시키고, ACE는 Ang I을 Ang II로 전환시켜 혈압을 상승시킨다.

Fig. 6A와 같이 EA를 투여한 T1 (7.5 mg/kg), T2 (22.5 mg/kg) 처리 모두 유의성 있게 renin이 NC 처리에 비해 약 16% 감소($p<0.001$, T1과 T2 처리 간에는 유의성이 없었음)하였고, PC 처리에서는 renin의 활성이 변하지 않았다. T2 처리는 NC 처리에 비해 ACE 활성을 약 23% 감소시켜 PC의 약 30% 감소와 유사하였다(Fig. 6B). RAS의 최종산물이며, 혈압을 상승시키는 Ang II 함량은 NC 처리에 비해 T1, T2 처리에 의해 유의성 있게 감소되었다(Fig. 6C). 또한 PC나 LEMSCEE 처리에 의해서도 감소되었고, 이들 4처리군 간에는 유의성이 없었다. RAS 조절(ACE와 Ang II의 감소)은 혈압을 낮춰 고혈압을 완화시키는 효과를 보이는 것으로 알려져 있다. Resveratrol [18], Spirulina platensis의 IQO펩티드[10], 톳 발효 추출물[13] 등의 항고혈압 효과도 RAS의 조절을 통해 이루어진다는 것이 밝혀졌다. 따라서 본 연구에서 얻은 EA-LEMCEE는 RAS를 조절하여 혈압을 억제함을 시사한다.

결론적으로 EA-LEMCEE는 *in vitro* 실험에서 EA.hy926 세포에서 ACE 활성을 억제하였고, 본태성 고혈압 쥐인 SHR을 이용한 *in vivo* 연구에서 SHR의 수축기 및 이완기 혈압을 유의

성 있게 낮추었고, RAS 관련 인자를 조절(renin과 ACE 활성 억제, Ang II 함량 감소)하여 혈압을 감소시켰다. 이러한 EA-LEMCEE의 효과는 CP의 효과와 유사하였다. 따라서 EA-LEMCEE는 고혈압 원인 중 ACE 활성에 의한 고혈압 환자의 예방 및 치료에 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부 산연전용 과제(C0407672)의 지원에 의해 수행되었음에 감사드립니다.

References

1. Afrin, S., Rakib, M. A., Kim, B. H., Kim, J. O. and Ha, Y. L. 2016. Eritadenine from edible mushrooms inhibits activity of angiotensin converting enzyme *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.* **64**, 2263-2268.
2. Crowley, S. D. and Coffman, T. M. 2012. Recent advances involving the renin-angiotensin system. *Exp. Cell Res.* **318**, 1049-1056.
3. Dahlof, B. 2007. Prevention of stroke in patients with hypertension. *Am. J. Cardiol.* **100**, 17-24.
4. Enman, J., Rova, U. and Berglund, K. A. 2007. Quantification

- of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *J. Agric. Food Chem.* **55**, 1177-1180.
5. Guilbert, J. J. 2003. The world health report 2002-reducing risks, promoting healthy life. *Educ. Health (Abingdon)* **16**, 230.
 6. Jeff, I. B., Fan, E., Tian, M., Song, C., Yan, J. and Zhou, Y. 2016. *In vivo* anticancer and immunomodulating activities of mannogalactoglucan-type polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berkeley) Singer. *Cent. Eur. J. Immunol.* **41**, 47-53.
 7. Joffres, M., Falaschetti, E., Gillespie, C., Robitaille, C., Lousstalot, F., Poulter, N., McAlister, F. A., Johansen, H., Baclic, O. and Campbell, N. 2013. Hypertension prevalence, awareness, treatment and control in national surveys from England, the USA and Canada, and correlation with stroke and ischemic heart disease mortality: a cross-sectional study. *BMJ Open* **3**, e003423.
 8. Kabir, Y., Yamaguchi, M. and Kimura, S. 1987. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushrooms on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **33**, 341-346.
 9. Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. and Julich, W. D. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* **2**, 285-299.
 10. Lu, J., Sawano, Y., Miyakawa, T., Xue, Y. L., Cai, M. Y., Eqashira, Y., Ren, D. F. and Tanokura, M. 2011. One-week antihypertensive effect of Ile-Gln-Pro in spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 559-563.
 11. Lv, G. Y., Zhang, Y. P., Gao, J. L., Yu, J. J., Lei, J., Zhang, Z. R., Li, B., Zhan, R. J. and Chen, S. H. 2013. Combined antihypertensive effect of luteolin and buddleoside enriched extracts in spontaneously hypertensive rats. *J. Ethnopharmacol.* **150**, 507-513.
 12. Okumura, K., Matsumoto, K., Fukamizu, M., Yasuo, H. and Taguchi, Y. 1974. Synthesis and hypocholesterolemic activities of eritadenine derivatives. *J. Med. Chem.* **17**, 846-855.
 13. Park, S. H., Lee, S. J., Jeon, M., Kim, S., Mun, O., Kim, M., Kong, C., Lee, D., Yu, K. H., Kim, Y. Y. and Lee, S. 2014. Evaluation of biological activities of fermented *Hizikia fusiformis* extracts. *J. Life Sci.* **24**, 304-310.
 14. Scolari, F. and Ravani, P. 2010. Atheroembolic renal disease. *Lancet* **375**, 1650-1660.
 15. Shen, J., Tanida, M., Fufisaki, K., Horii, Y., Hashimoto, K. and Nagai, K. 2009. Effect of the culture extract of *Lentinus edodes* mycelia on splenic sympathetic activity and cancer cell proliferation. *Auton. Neurosci.* **145**, 50-54.
 16. Singh, M., Mensah, G. A. and Bakris, G. 2010. Pathogenesis and clinical physiology of hypertension. *Cardiol. Clin.* **28**, 545-559.
 17. Sugiyama, K., Akachi, T. and Yamakawa, A. 1995. Hypocholesterolemic action of eritadenine is mediated by a modification of hepatic phospholipid metabolism in rats. *J. Nutr.* **125**, 2134-2144.
 18. Tain, Y. L., Lin, Y. J., Sheen, J. M., Lin, I. C., Yu, H. R., Huang, L.T. and Hsu, C. N. 2017. Resveratrol prevents the combined maternal plus post-weaning high-fat-diets-induced hypertension in male offspring. *J. Nutr. Biochem.* **48**, 120-127.
 19. Takashima, K., Kzumi, K., Iwai, H. and Takeyama, S. 1973. The hypocholesterolemic action of eritadenine in the rat. *Atherosclerosis* **17**, 491-502.
 20. Takashima, K., Sato, C., Sasaki, Y., Morita, T. and Takeyama, S. 1974. Effect of eritadenine on cholesterol metabolism in the rat. *Biochem. Pharmacol.* **23**, 433-438.
 21. Wasser, S. P. 2005. Encyclopedia of Dietary Supplements. pp.653-664, Marcel Dekker, New York.
 22. Yang, H., Hwang, I., Kim, S., Hong, E. J. and Jeung, E. B. 2013. *Lentinus edodes* promotes fat removal in hypercholesterolemic mice. *Exp. Ther. Med.* **6**, 1409-1413.
 23. Zembron-Lacny, A., Gajewski, M., Naczek, M. and Siatkowski, I. 2013. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) extract on antioxidant and inflammatory response to prolonged eccentric exercise. *J. Physiol. Pharmacol.* **64**, 249-254.
 24. Zhao, Y. M., Yang, J. M., Liu, Y. H., Zhao, M. and Wang, J. 2018. Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from *Lentinus edodes* and its anti-hepatitis B activity *in vitro*. *Int. J. Biol. Macromol.* **107**, 2217-2223.

초록 : Eritadenine 함유 표고버섯균사체 고체배양 효소추출물(EA-LEMSCEE)의 spontaneous hypertension rat 혈압감소

문연규¹ · 정재은² · 조복임¹ · 허정두¹ · 최정일¹ · 김정옥² · 하영래^{2*}

(¹안전성평가연구소 경남환경독성본부 경남생명자원연구센터, ²HK바이오텍 항노화연구소)

표고버섯으로부터 유래한 eritadenine (EA)은 혈중 low density lipoprotein (LDL), triglyceride (TG), phospholipid를 감소시키는 물질이다. 최근 저희 연구팀은 *in vitro* 연구에서 EA가 angiotensin converting enzyme (ACE)의 활성을 저해함을 밝혔다. 본 연구에서는 EA와 EA 함유한 표고버섯균사체 고체배양 효소추출물(EA-LEMCEE)이 본태성 고혈압 쥐 SHR의 혈압을 낮추었음을 보고한다. EA 및 EA-LEMSCEE는 인체 탯줄 혈관내피세포 EA.hy926 세포의 ACE 활성을 억제하였다. EA-LEMSCEE는 SHR의 수축기 및 이완기 혈압을 Control 처리구에 비해 유의성 있게 낮추어 처리 5주에는 Positive control인 captopril (CP) 처리와 비슷한 혈압감소 효과를 나타내었다. EA-LEMCEE는 LEMSCEE에 비해 수축기 및 이완기 혈압을 감소시켰지만 유의성은 없었다. EA-LEMSCEE는 renin과 ACE 활성을 Control 처리에 비해 유의성 있게 억제하였고, angiotensin II (Ang II) 함량을 감소시켜, 처리 5주 후에 이러한 CP의 효과와 유사하였다. 또한 EA-LEMCEE는 LEMSCEE에 비해 유의성 있게 renin 및 ACE 활성을 억제하였고 및 Ang II 함량을 감소시켰다. 이와 같은 결과는 EA 및 EA-LEMCEE는 본태성 고혈압 SHR의 renin과 ACE 활성을 억제하여 혈압을 낮추었고, EA 및 EA-LEMSCEE는 인체 고혈압을 낮출 수 있음을 의미한다.