

Anti-inflammatory and Anti-allergic Effects of *Lentinula edodes* Extract by UV Irradiation

Mi Sun Hwang¹, Jaesung Pyo², Hyun Jin Kim³, Sun Gil Do³, Il Dae Song^{1*} and Kang Min Kim^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Science and Technology, Kyungsoong University, Busan 48434, Korea

²Department of Pharmacy, Kyungsoong University, Busan 48434, Korea

³R&D Center, Naturetech Co., Ltd., Chungcheongnam-do 31257, Korea

Received April 6, 2022 /Revised April 29, 2022 /Accepted May 4, 2022

In this study, the effects of UV irradiation-enhanced ergocalciferol (vitamin D₂) content containing *Lentinula edodes* extract on inflammation and allergic responses were investigated *in vitro*. The anti-inflammatory and anti-allergic effects of the mushroom extract were tested by estimating the cytokine secretions, such as TNF- α , IL-6, and IL-1 β in LPS-activated macrophages (RAW 264.7), or histamine release in PMA and A23187-activated mast cells (RBL-2H3). Under the condition of macrophage activation with LPS, mushroom extract significantly reduced the secretions of pro-inflammatory cytokines, TNF- α and IL-6, and their mRNA expression also matched the observation. The current mushroom extract also significantly reduced the amount of mast cell degranulation-induced histamine secretion from PMA- and A23187-treated mast cells as well as the reduced secretion of IL-4. These results suggest that mushroom extract, which has increased ergocalciferol content by UV irradiation, inhibits the expression of cytokines in inflammation and allergic reactions; therefore, it can be used effectively for the prevention and treatment of inflammatory and allergic diseases.

Key words : Anti-allergy, anti-inflammation, cytokine, *Lentinula edodes*, vitamin D

서 론

현대사회에서 환경 및 식생활 변화로 인해 만성 염증성 질환들이 크게 증가함에 따라 천연물 추출물을 이용한 항염증 및 면역력 강화에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 염증반응은 생체 조직의 국소적 반응으로 상처나 감염 등으로 인해 손상된 조직에 대하여 염증 매개인자들이 만들어지고 이로 인하여 부종이나 발열, 통증과 같은 반응을 유발한다[30]. 이러한 염증 과정에서 대식세포는 tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6와 같은 염증 유발 매개체의 방출을 통해 염증 반응의 중심적인 역할을 한다고 알려져 있다[29]. 비만세포는 알레르기 반응을 매개하는 중요한 세포로 활성화되면 histamine, β -hexosaminidase, prostaglandin과 같은 화학매체를 탈과립 과정을 통하여 세포외로 분비한다[28]. 이렇게 분비된 histamine은 cytokine 분비를 촉진시켜 만성적인 염증

반응을 유도하게 된다[24]. 즉 비만세포로부터 다량 합성되어 분비되는 histamine과 같은 화학매체물질과 염증성 cytokine을 억제시켜 주는 것은 알레르기 질환을 예방하거나 개선시켜 줄 수 있는 방법이 될 수 있다.

버섯은 전통적으로 한약재로도 이용되었고 여러 아미노산, 단백질, 무기질 등 영양소가 골고루 함유되어 있어 인공재배를 통해 식용으로 많이 이용되고 있다. 약용 버섯들은 항암, 당뇨병, 심혈관 질환, 항산화 효과, 항알레르기 등 여러 약리효과를 가진다는 보고들을 쉽게 찾을 수 있다[18, 20, 25]. 버섯에 대한 이러한 약리효과를 규명하기 위한 연구가 지속적으로 활발히 진행되어 현재 버섯의 성분에 대한 관심이 높은 상황이다. 이들 성분 중 비타민 D는 생체기능 및 대사와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되어 관심이 집중되고 있으며, 특히 비타민 D₂ (ergocalciferol)는 골다공증 예방 및 치료, 콜레스테롤 소화 흡수 억제 등의 기능을 하는 것으로 알려져 있다[6, 8, 19]. 비타민 D는 칼슘 항상성 유지와 골격 성장에 중요하여 비타민 D 결핍은 골연화증을 유발하기도 하는 등 뼈와 칼슘 대사에 주된 역할을 한다고 알려져 있고 비만, 고혈압, 당뇨병 등 식습관과 밀접한 관계를 보이는 질병들로 인해 비타민 D에 대한 관심이 계속 높아지고 있다[4, 15]. 비타민 D는 피부가 햇빛에 노출되면 체내에서 생성이 되거나 음식을 통해 섭취해야 하는 필수 영양소로서[23] 음식을 통해 섭취할 수 있는 비타민 D는 ergocalciferol로 알려진 비타민

*Corresponding authors

Tel : +82-51-663-4891, Fax : +82-51-663-4809

E-mail : kimkms@ks.ac.kr (Kang Min Kim)

cianni77@ks.ac.kr (Il Dae Song)

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.

D₂와 cholecalciferol로 알려져 있는 비타민 D₃가 있다[21]. 여러 식품 중 특히 버섯은 비타민 D의 전구체인 ergosterol을 풍부하게 함유하고 있고 이는 자외선 조사를 통한 비타민 D₂ 전환 함량이 증가한다고 알려져 있다[5]. 비타민 D₂는 인체에서 25-hydroxyvitamin D로 전환되는데 이는 활성형의 비타민 D로서 혈액을 타고 체내를 순환하면서 혈중 칼슘과 인의 농도 조절과 뼈 형성 촉진 호르몬의 기능을 수행한다[12, 17]. 비타민 D는 또한 림프구의 활성화와 증식, 보조 T 림프구의 분화 등과 같은 면역반응에서 다양하고 필수적인 역할을 담당한다고 알려져 관심의 대상이 되고 있다[3]. 특히 여러 자가면역 질환의 동물 모델에서 비타민 D 대사산물을 투여하였을 때 질병을 억제하는 결과를 보이는 등 면역계에 미치는 비타민 D의 영향과 면역질환의 새로운 치료제로서의 가능성에 주목하고 있다[2].

본 연구진에서는 국내에서 재배한 5종의 버섯을 미세 분말화하고 자외선 조사를 통해 비타민 D 전구체인 ergosterol이 비타민 D₂로 전환되는 최적 전처리 조건 및 공정 확립을 위한 연구를 진행하여 표고버섯에서 비타민 D₂ 함량이 크게 증가하는 결과를 확인하였다[27]. 따라서 본 연구에서는 이전 연구를 통해 확립한 최적 자외선 전처리 조건을 통해 표고버섯(*Lentinula edodes*)에서 비타민 D₂를 추출하고 이들의 항염증 효능 및 항알레르기 효능을 검토하고자 대식세포를 이용한 항염증 활성 효과와 알레르기 반응의 주요 세포인 비만세포를 사용하여 histamine의 탈과립을 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에 사용된 자외선 조사 표고버섯(*Lentinula edodes*) 분말은 (주)네이처메에서 생산공정 검토과정을 거쳐 버섯 분말의 두께를 5 mm 이하로 하고 UV-B 램프를 약 20 cm 높이로 설치한 컨베이어 벨트를 이동하면서 자외선(UV-B)을 조사하는 방법을 사용하였다. 컨베이어 벨트 이동은 1회당 8분이 소요되며 이동 횟수는 4회까지 처리하였다. 표고버섯 분말의 추출 및 분석에 사용된 시약과 표준품은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

버섯추출물 제조

자외선 조사된 버섯 분말은 식품공전 일반시험법의 비타민 D 정량법에 준하여 실시하였다[22]. 버섯 분말 1 g을 pyrogallol-ethanol 용액 40 ml를 혼합하고 0.5 N KOH 10 ml를 가한 후 환류냉각기를 부착하여 중탕으로 60분간 가열하여 비누화(saponification)하였다. 실온으로 냉각시킨 후 갈색 분액깔때기로 이동시키고, 0.01% dibutyl hy-

droxy toluene이 함유된 hexane 50 ml를 가하여 추출한 후 hexane층을 수거하고 1 N KOH 100 ml를 가하여 15초간 진탕시켰다. Hexane층을 다시 중화가 될 때까지 세척하고 sodium sulfate, anhydrous로 탈수시키고 감압 농축하였다.

Ergosterol 및 ergocalciferol 분석

Ergosterol 및 ergocalciferol 분석은 Jasinghe와 Perera의 분석방법을 이용하였다[13]. Supersil C18 컬럼 ODS-1 (particle size 5 μ m, 4.6 \times 250 mm)을 장착한 Dionex 3000 HPLC system (Thermo Fisher, Sunnyvale, CA, USA)을 이용하여 분석하였다. 시료는 10 μ l를 주입하였고 이동상 용매는 A용매 acetonitrile과 B용매 methanol을 이용하여 gradient(0~5분 동안 B용매 80%, 20~30분 동안 B용매 10%)로 분석하였다. 유속은 1.8 ml/min으로 실시하고 컬럼 온도는 30°C, 측정과장은 UV 검출기(282 nm)를 이용해 실시하였다.

세포배양 및 세포 생존율 측정

본 연구에서 사용한 마우스 대식세포 RAW 264.7와 rat basophil leukemia 세포주 RBL-2H3은 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구매하였고 Penicillin/streptomycin 100 unit/ml과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

RAW 264.7 세포를 96 well plate에 1 \times 10⁵ cell/ml의 세포 수가 되도록 분주하고 24 hr 동안 배양한 후, 표고버섯 추출물의 농도가 0.5, 1, 2, 4 μ g/ml가 되도록 처리하였다. 24 hr 동안 배양한 후, 5 mg/ml 농도의 MTT용액 넣고 1 hr 배양한 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 세포 생존율은 대조군을 100%로 하여 상대적으로 계산하였다.

항염증 효과

RAW 264.7 세포를 24 well plate에 1 \times 10⁵ cell/ml이 되도록 분주하고 24 hr 배양 후, 시료와 LPS를 처리하였다. LPS는 각각 1 μ g/ml의 농도로 처리하였으며, 각 시료는 0.5, 1, 2 μ g/ml 농도로 희석하여 세포에 처리하였다. 24 hr 후 염증성 cytokine 측정을 위해 세포 배양액을 회수하여 Quantikine ELISA kit (R&D SYSTEMS, USA)을 사용하여 정량하였다.

염증성 cytokine의 mRNA 발현 측정

RAW 264.7 세포를 6 well plate에 1 \times 10⁵ cell/ml 로 분주하고 24 hr 배양 후, LPS (1 μ g/ml)와 표고버섯 추출물을 농도별로 처리하고 배양하였다. 24 hr 뒤 Trizol reagent (Ambion, USA)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 DEPC treated-water로 용해하여 사용하였다. Total RNA 1 μ g으로 cDNA를 합성하고 cDNA 합성 후 염증성 cytokine인 TNF- α , IL-1 β , IL-6에 대한 유전자 발현은 Sybr

green PCR master mix (ThermoFisher, USA), primer, 멸균수, cDNA를 혼합하여 QuantStudio 1 Real-Time PCR (ThermoFisher, USA)로 측정하였다. Internal control로 18S ribosomal RNA (18S rRNA)를 사용하였고 실험에 사용된 probe들은 다음과 같다. 18S rRNA (sense primer, 5'-CCA TCC AAT CGG TAG TAG CG-3'; antisense primer, 5'-GTA ACC CGT TGA ACC CCA TT-3'), TNF- α (sense primer, 5'-TTG ACC TCA GCG CTG AGT TG-3'; antisense primer, 5'-CCT GTA GCC CAC GTC GTA GC-3'), IL-1 β (sense primer, 5'-CAG GAT GAG GAC ATG AGC ACC-3'; anti-sense primer, 5'-CTC TGC AGA CTC AAA CTC CAC-3'), IL-6 (sense primer, 5'-GCT GGA GTC ACA GAA GTG GC-3'; antisense primer, 5'-GGC ATA ACG CAC TAG GTT TGC CG-3')

Histamine 분비측정

Histamine 분비량은 rat basophil 세포주를 통해 확인하였다. RBL-2H3 세포를 24 well plate에 1×10⁵ cell/ml이 되도록 분주하고 24 hr 배양하고 농도별 시료 처리 후 PMA (50 nM) 과 A23187 (1 uM)를 8 hr 처리하여 histamine을 유리시켰다. 배양이 끝난 상층액을 96 well plate에 옮기고 histamine ELISA kit (abcam, UK)를 이용하여 측정하였다.

통계처리

실험은 3회 반복하여 평균과 표준편차로 나타내었고, Student's t-test를 통해 유의성(p<0.05)을 확인하였다.

결과 및 고찰

자외선 조사로 유도한 버섯추출의 비타민 D2 함량

비타민 D는 식물성 스테롤인 ergosterol에서 유래하는 ergocalciferol와 동물성 스테롤인 cholesterol에서 유래하는 cholecalciferol 두 가지 형태가 있으며 ergocalciferol로 알려진 비타민 D₂는 버섯과 같은 식물성 스테롤의 자외선 조사로 합성된다고 알려져 있다[5, 24].

이전 연구에서 미세분말화한 버섯의 자외선(UV-B) 조사로 5종의 버섯(새송이, 느타리, 팽이, 양송이, 표고)에서 비타민 D 전구체(ergosterol)가 비타민 D₂로 전환이 크게 증가함을 확인하였고, 특히 표고버섯의 전환율은 2.98%로 다른 버섯 종류들보다 전환효율이 좋은 것을 확인하였다[27]. 따라서 5종의 버섯 중 표고버섯을 선택하여 자외선에 노출되는 표면적을 높이기 위한 분말화 작업 후에 UV-B 처리 조건별 버섯 분말의 비타민 D₂ 함량을 측정하였고 Table 1과 같은 측정 결과를 확인하였다. 버섯 분말을 5 mm 이하 두께로 조절하고 UV-B를 1회당 8분 조사한 결과 대조군에서 5 ug/g으로 비타민 D₂가 측정되었고, 4회 처리한 32분에서 비타민 D₂ 함량이 68 ug/g으로 가장 높게

Table 1. The content of ergosterol and ergocalciferol from *Lentinula edodes* extracts by different UV irradiation time application (ug/g)

UV Irradiation	Ergosterol	Ergocalciferol
0 min	8,160	5
8 min	3,062	20
16 min	7,497	42
24 min	9,513	59
32 min	8,759	68

나타남을 확인하였다. 이러한 결과로 표고버섯의 비타민 D₂ 전환을 위한 최적의 조건은 분말화한 후 UV 조사 시간 32분이 적합한 것으로 판단하여 본 연구에 사용하기 위한 조건을 확립하였다.

버섯추출물의 항염증 효과

UV-B 조사한 표고버섯에서 추출한 비타민 D₂의 항염증 활성효과를 확인하기 위해 세포독성을 마우스 대식세포에서 MTT assay 방법을 통해 확인하였다. RAW 264.7 세포에 자외선 조사한 버섯추출물을 0.5, 1, 2, 4 ug/ml 농도로 처리하여 세포독성을 확인한 결과 대조군 대비 세포 생존율에 문제가 없음을 확인하였다(Fig. 1). 이를 바탕으로 본 연구에서 사용한 효능 검증에는 버섯 추출물의 농도를 2 ug/ml 농도 범위로 설정하였다.

LPS는 그람 음성균의 세포 외막에 존재하며 대식세포에 처리하면 염증성 cytokine의 발현을 유도하게 된다[11]. Cytokine은 면역세포가 분비하는 단백질로 면역세포의 활성화, 증식 및 분화를 조절하여 염증반응을 매개하는 인자이다. 그 중 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6는 대표적인 pro-inflammatory cytokine으로 알려져 있다[32]. TNF- α 는 염증을 통한 생체방어기구에 관여하는 cytokine으로서 주로 대식세포

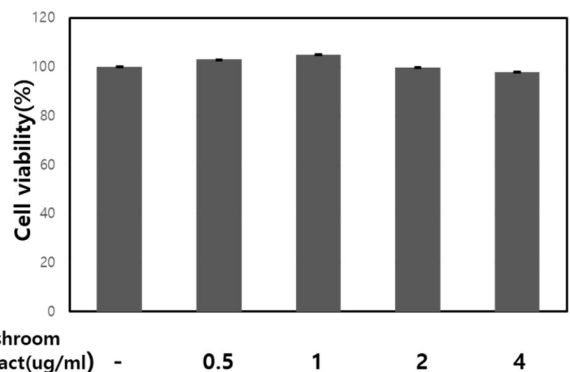


Fig. 1. The cell viability of *Lentinula edodes* extracts by UV irradiation. RAW 264.7 cells were treated with various concentration of extracts for 24 hr. The cell viability was determined using MTT assay and represented by relative absorbance compared to control.

포에서 생성되지만 호중구를 비롯한 림프구, NK 세포, 비만세포 등에서도 생성이 되고 항종양활성, 항미생물활성, 염증 반응 등에 관여한다[1]. IL-6는 림프구를 활성화시켜 항체생산을 증가시키고 염증성 질환에서 발현이 증가된다고 보고되어 있으며 IL-1 β 는 감염이나 다른 자극에 대한 숙주의 염증반응 매개자로서 역할을 한다[4, 10].

본 연구에서는 자외선 조사한 표고버섯 추출물의 세포 내 항염증 효능을 확인하기 위하여 LPS를 처리한 대식세포에서 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 생성 억제 조절 효과를 확인하였다. 우선 TNF- α 의 경우 RAW 264.7 대식세포에서 LPS (1 ug/ml)로 염증을 유도하였을 경우 1221 \pm 40.7 pg/ml의 TNF- α 가 분비되었고 이를 자외선 조사한 표고버섯 추출물을 0.5, 1, 2 ug/ml 농도로 처리하면 각각 1016 \pm 51.7, 795 \pm 155.2, 245 \pm 72.6 pg/ml로 TNF- α 분비가 농도 의존적으로 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2A). 이는 LPS 대조군과 비교했을 때 각각 83%, 65%, 20%로 TNF- α 분비 억제능력을 보여주고 있다. 또한 자외선 조사한 표고버섯 추출물의 IL-6 분비에 대한 효과를 확인하였다. LPS에 의해 유도된 IL-6는 504 \pm 12.2 pg/ml로 측정되었고 표고버섯 추출물을 처리했을 때는 약 59%로 분비 억제효과를 나타내었다(Fig. 2B). 같은 조건에서 IL-1 β 의 분비도 확인하였으나 IL-1 β 의 분비에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(data not shown). 이러한 결과들로부터 자외선 조사한 표고버섯에서 추출한 비타민 D₂가 TNF- α 와 IL-6의 분비억제를 통한 항염 효능을 나타낼 것으로 예측할 수 있다.

세포의 cytokine 분비뿐 아니라 자외선 조사한 표고버섯 추출물이 LPS로 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 mRNA발현에 미치는 효과를 분석

하였다. 그 결과 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 발현이 LPS처리군에서 각각 5.8배, 16.6배, 4배 증가하는 것을 확인하였고 이들은 표고버섯 추출물을 1 ug/ml와 2 ug/ml 처리하였을 때 유전자 발현정도가 TNF- α 는 대조군 대비 1.8배, 1.4배를 보였고, IL-1 β 는 1.18배, 1.27배를 나타냈으며, IL-6는 1.69배, 2.84배를 보여 자외선 조사한 표고버섯 추출물 의해 LPS에 의해 유도된 cytokine 발현이 현저히 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 특히 IL-1 β 의 경우 LPS자극에 대한 효과가 93% 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3B). 이러한 결과는 자외선 유도 표고버섯에서 추출한 비타민 D₂는 염증매개물질 발현 저해를 통한 항염증 효능이 있음을 시사한다.

TNF- α , IL-1 β 및 IL-6와 같은 pro-inflammatory cytokine의 대량생성은 염증, 염증질환, 패혈성 쇼크 등의 질환을 유발한다고 알려져 있어[9] 본 실험 결과와 같이 염증성 cytokine의 발현을 조절하는 물질은 염증성 질환을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

버섯추출물의 항알레르기 효과

세포가 외부 자극을 받게 되면 다양한 염증성 물질을 분비하게 되는데 그 중 비만세포는 세포 내 과립에 존재하는 histamine, β -hexosaminidase, prostagladin 등과 같은 화학매체를 탈과립 과정을 통하여 세포 외로 분비한다[28]. 비만세포가 분비하는 알레르기 지표로서 histamine 분비능력을 확인하고자 RBL-2H3 세포주를 이용하여 PMA (50 nM)과 A23187 (1 uM)로 자극한 후 자외선 조사한 표고버섯 추출물의 효과를 확인하였다. 우선 RBL-2H3 세포에 PMA와 A23187로 자극을 하였을 경우 8.15 \pm 0.96 ng/ml의 histamine이 측정되었고 표고버섯 추출물을 처리하면

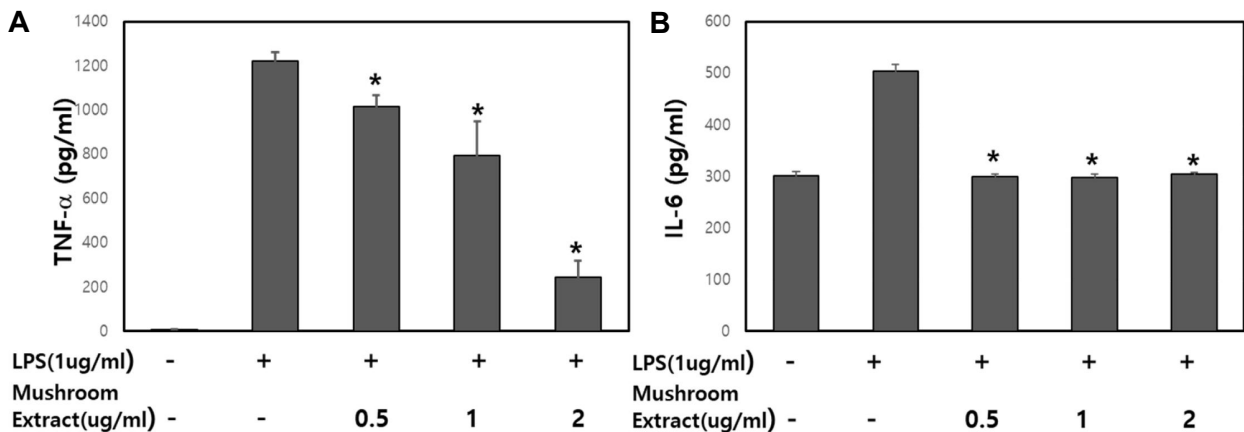


Fig. 2. Effect of mushroom (*Lentinula edodes*) extracts by UV irradiation on TNF- α and IL-6 cytokine stimulation. LPS stimulated RAW 264.7 cells were treated with mushroom extract at the indicated concentrations. TNF- α (A) and IL-6 production (B) were measured in the medium of RAW 264.7 cells by immunoassay as described in materials and methods. Data represent the mean \pm S.D. with three different experiments. Level of significance was identified statistically using Student's t test. * p <0.05, compared with the LPS.

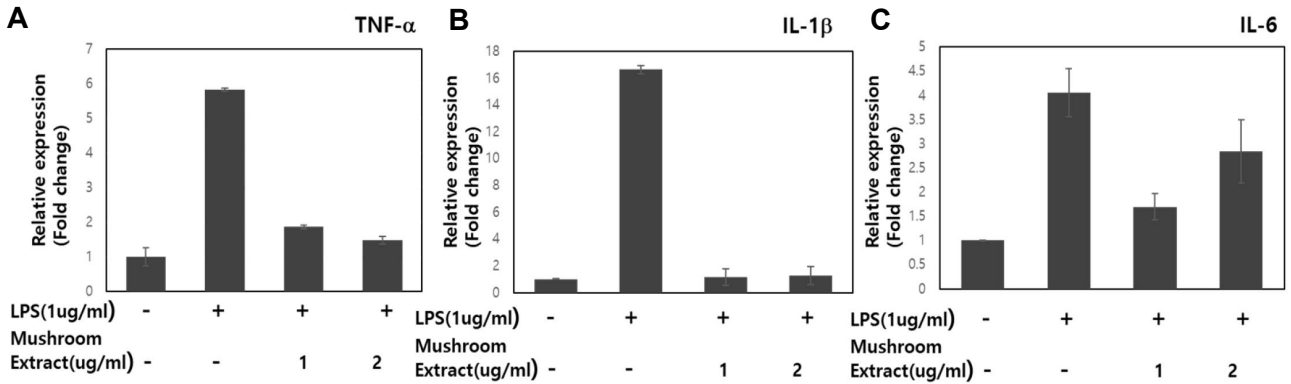


Fig. 3. Effect of mushroom (*Lentinula edodes*) extracts by UV irradiation on gene expression of inflammatory cytokines in LPS stimulated RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with mushroom extract at the indicated concentrations. After incubation, the mRNA expression levels of TNF- α (A), IL-1 β (B) and IL-6 (C) were evaluated by real-time PCR. Data represent the mean \pm S.D. with three different experiments.

2 ug/ml 농도에서 histamine 분비가 약 59%로 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4A).

비만세포 활성화는 탈과립을 통하여 염증반응을 유발하는 다양한 cytokine을 분배하는데 그 중 IL-4는 B-cell을 활성화하여 immunoglobulin E (IgE) 항체를 생성하여 Th2 세포의 분화를 촉진시켜 알레르기 질환에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[7, 26]. RBL-2H3 세포를 활성화하여 자외선 조사한 표고버섯 추출물을 0.5, 1, 2 ug/ml 농도로 처리하여 세포로부터 분비되는 IL-4를 측정하였다. 그 결과 PMA와 A23187로 유도된 세포에서 분비되는 IL-4는 161.7 \pm 6.7 pg/ml였고 표고버섯 추출물을 처리하였을 경우 각각 125.7 \pm 11.3, 115 \pm 13.5, 91.3 \pm 16.7 pg/ml의 IL-4가 확인되어 농도 의존적으로 IL-4분비량이 감소하는 것

을 확인할 수 있었다. 따라서 RBL-2H3 세포에서 cytokine 분비가 자외선 조사한 표고버섯 추출물에 의해 유의적으로 감소되는 것으로부터 항알레르기 작용에 대한 효과를 예상할 수 있다.

버섯의 항알레르기 효능에 대한 연구는 꾸준히 계속되고 있는데 상황버섯이나 차가버섯이 아토피 피부염 증상 및 가려움증의 개선에 효과가 있음이 보고되어 있다[14, 20, 31]. 이러한 결과들을 종합하여 자외선 조사를 통한 버섯의 비타민 D₂ 함량을 증가시킨 표고버섯 추출물은 대식세포에서 염증성 cytokine의 분비와 유전자 발현을 억제시키고 비만세포에서 histamine 분비와 cytokine의 분비를 저해함으로써 염증과 알레르기 질환의 예방과 치료에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

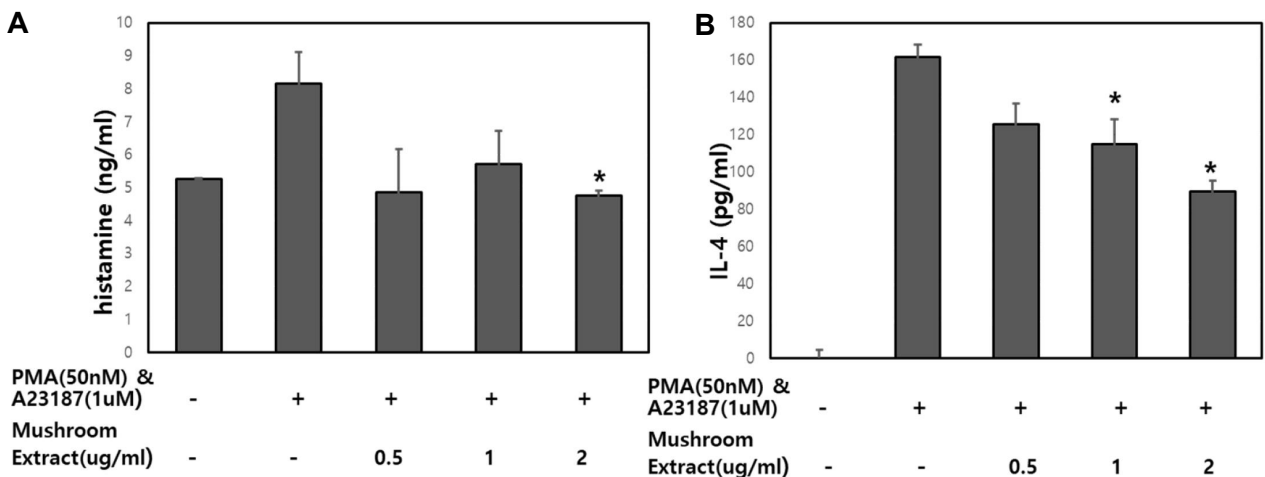


Fig. 4. Effect of mushroom (*Lentinula edodes*) extracts by UV irradiation on histamine release and cytokine stimulation. RBL-2H3 cells were pretreated with mushroom extract for 30 min prior to the PMA (50 nM) and A23187 (1 uM) stimulation. Histamine release (A) and IL-4 production (B) were measured in the medium of RBL-2H3 cells by immunoassay as described in materials and methods. Data represent the mean \pm S.D. with three different experiments. Level of significance was identified statistically using Student's t test. * p <0.05, compared with the PMA & A23187.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원(미래형혁신식품기술개발사업)의 지원을 받아 수행된 연구결과입니다(No. 319047-3).

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Andrews, J. S., Berfer, A. E. and Ware, C. F. 1990. Characterization of the receptor for tumor necrosis factor (TNF) and lymphotoxin (LT) on human T lymphocytes. *J. Immunol.* **144**, 2582-2591.
- Arnsion, Y., Amital, H. and Shoenfeld, Y. 2007. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann. Rheum. Dis.* **66**, 1137-1142.
- Baeke, F., Takiishi, T., Korf, H., Gysemans, C. and Mathieu, C. 2010. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr. Opin. Pharmacol.* **10**, 482-496.
- Berek, J. S., Chung, C., Watson, J. M., Knox, R. M. and Martinez-Maza, O. 1991. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**, 1038-1042.
- Choi, S. J. 2017. Enhancement of ergocalciferol (vitamin D) content in mushrooms by UV irradiation. *Kor. J. Food Preserv.* **24**, 381-386.
- Chung, Y. S., Yoo, B. W., Oh, J. E., Lee, D. C., Lee, H. S. and Cho, C. Y. 2010. The relationship between vitamin D levels and chronic diseases. *Kor. J. Clin. Geri.* **11**, 154-169.
- Church, M. K. and Levi-Schaffer, F. 1997. The human mast cell. *J. Allergy Clin. Immunol.* **99**, 155-160.
- de Jong, A., Plat, J. and Mensink, R. P. 2003. Metabolic effects of plant sterols and stanols. *J. Nutr. Biochem.* **14**, 362-369.
- Delgado, A. V., McManus, A. T. and Chambers, J. P. 2003. Production of tumor necrosis factor- α , Interleukin 1-b, Interleukin 2 and Interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance. *Proc. Neuropeptides* **37**, 355-361.
- Freidin, M., Bennett, M. V. and Kessler, J. A. 1992. Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin-1 beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**, 10440-10443.
- Guzik, T. J., Korbout, R. and Adamek, G. T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J. Physiol. Pharmacol.* **54**, 469-487.
- Holick, M. F., Biancuzzo, R. M., Chen, T. C., Klein, E. K., Young, A., Bibuld, D., Reitz, R., Salameh, W., Ameri, A. and Tannenbaum, A. D. 2008. Vitamin D₂ is as effective as Vitamin D₃ in maintaining circulating concentration of 25-hydroxyvitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**, 677-681.
- Jasinghe, V. J. and Perera, C. O. 2005. Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D₂ by UV irradiation. *Food Chem.* **92**, 541-546.
- Jung, H. J., Min, H. B., Do, E. J., Jang, M. S., Kim, M. R., Kim, Y. H., Do, K. B., Lee, C. E. and Jee, S. Y. 2010. A clinical research about herbal cosmetics containing *Phellinus linteus* extracts in atopic dermatitis patients. *J. Kor. Orient Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **23**, 154-164.
- Jung, I. K., Han, G. J., Choe, J. S. and Lee, J. W. 2003. A study on the development of food nutrient database by portion commonly used. *Rural Life Sci.* **24**, 75-193.
- Jung, J. K. and Park, Y. K. 2011. Effect of modified Okbyungpoongsan on mast-mediated allergic responses in RBL-2H3 mast cells. *Kor. J. Herbology* **26**, 1-7.
- Keegan, R. J. H., Lu, Z., Bogusz, J. M., Williams, J. E. and Holick, M. F. 2013. Photobiology of vitamin D in mushrooms and its bioavailability in humans. *Derm. Endocrinol.* **5**, 165-176.
- Kim, J. I. and Kang, M. J. 2012. Recent consumption and physiological status of vitamin D in Korean population. *Food Industry and Nutrition* **17**, 7-10.
- Lagarda, M. J., Garcia-Llatas, G. and Farre, R. 2006. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **41**, 1486-1496.
- Lee, S. E., Noh, H. J., Choi, J. H., Kim, G. S., Lee, D. Y. and Kim, S. Y. 2014. Study on the anti-allergy activity of mushrooms in IgE-sensitized RBL-2H3 cells. *J. Mushrooms* **12**, 324-329.
- Lips, P. 2006. Vitamin D physiology. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **92**, 4-8.
- Ministry of Food and Drug Safety. Korean food standard codex. 2019.
- Norman, A. W. 2008. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin. Nutr.* **88**, 491S-499S.
- Muller, D. N., Kleinewietfeld, M. and Kvakana, H. 2011. Vitamin D review. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* **12**, 125-128.
- Park, K. M. 2008. Industrialization of mushroom functional substances. *J. Mushroom Sci. Prod.* **6**, 1-12.
- Poole, J. A. and Rosenwasser, L. J. 2005. The role of immunoglobulin E and immune inflammation: implications in allergic rhinitis. *Curr. Allergy Asthma Rep.* **5**, 252-258.
- Pyo, J. S., Gu, J. Y., Kim, T. H., Lee, J. J., Hwang, M. S., Kang, J. S. and Kim, K. M. 2020. A study on increased content of Vitamin D in different types of mushroom. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **49**, 311-315.
- Stevens, R. L. and Austen, K. F. 1989. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells. *Immunol. Today* **10**, 381-386.
- Yayeh, T., Jung, K. H., Jeong, J. H., Park, J. H., Song,

- Y. B., Kwak, Y. S., Kang, H. S., Cho, J. Y., Cho, J. W., Oh, Kim, S. K. and Rhee, M. H. 2012. Korean red ginseng saponin fraction downregulates proinflammatory mediators in LPS stimulated RAW264.7 cells and protects mice against endotoxic shock. *J. Ginseng Res.* **36**, 263-269.
30. Yi, M. R., Kang, C. H. and Bu, B. J. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory Activity of extracts from kohlrabi (*Brassica Oleracea* var. *Gonglodes*). *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **34**, 189-202.
31. Yun, W. S., Jung, H. A. and Roh, S. S. 2010. Effect of *Phellinus igniarius* Quel extract on the anti-inflammatory, anti-allergy, anti-oxidant, anti-wrinkle. *J. Kor. Orient Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **23**, 75-93.
32. Zhang, J. M. and An, J. 2007. Cytokines, inflammation and pain. *Int. Anesthesiol. Clin.* **45**, 27-37.

초록 : UV-B 조사에 따른 버섯 추출물의 항염증 및 항알레르기 활성

황미선¹ · 표재성² · 김현진³ · 도선길³ · 송일대^{1*} · 김강민^{1*}

(¹경성대학교 제약공학과, ²경성대학교 약학과, ³주네이처텍)

본 연구에서는 표고버섯(*Lentinula edodes*)을 자외선 조사를 통한 ergocaciferol (비타민 D₂) 함량을 증진시킨 추출물을 이용하여 염증 및 알레르기 반응에 미치는 효과를 확인하였다. 표고버섯 추출물의 항염증 및 항알레르기 효능은 LPS로 활성화된 대식세포(RAW 264.7)와 PMA와 A23187에 의해 활성화된 비만세포(RBL-2H3)로부터 분비 또는 발현되는 TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-4와 같은 cytokine과 histamine 분비량을 측정하여 관찰하였다. LPS에 의해 활성화된 대식세포에서 자외선 조사 표고버섯 추출물 처리에 의해 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α 와 IL-6의 분비량을 ELISA 방법으로 측정하였을 때 현저히 감소함을 확인하였고 mRNA 발현 또한 감소됨을 확인하였다. 비만세포에 자외선 조사 표고버섯 추출물과 PMA, A23187을 함께 처리한 경우 비만세포의 탈과립에 의해 분비되는 histamine의 양이 유의적으로 감소함을 확인하였고 IL-4의 발현양 또한 감소함을 확인할 수 있었다. 이상의 결과는 자외선 조사에 의해 비타민 D₂ 함량을 증진시킨 표고버섯 추출물이 염증과 알레르기 반응의 cytokine의 발현을 저해하는 것으로 보아 염증 및 알레르기 질환의 예방과 치료에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.