

Analgesic Effect of *Poria cocos* Extract on a Rat Model of Adjuvant-induced Arthritis

Gil-Hyun Lee^{1,*}, Hae-Gyung Yoon^{2,*}, Go-Eun Choi^{4,*} and Kyung-Yae Hyun^{3,†,*}

¹Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 54538, Korea

²Division of Basic Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

³Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

⁴Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan 46252, Korea

Poria cocos is a natural substance known to have anticancer, antioxidant and anti-inflammatory effects. The aim of this study is to investigate the analgesic effects of *Poria cocos* extract (PCE). We evaluated the analgesic effects of PCE using adjuvant induced arthritis rat model. Male SD rats were administered intra-orally with PCE according to prescribed dosage, during 6 days. After 6 days later, serum TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels were measured by ELISA. In our experiment, administration of PCE decreased TNF- α , IL-1 β , IL-6 and PGE2 level in serum. Furthermore, it was confirmed that allodynia was relieved in evaluation of pain behavior. It was confirmed that administration of PCE reduces nociceptive pain by reducing nociceptive stimuli by acting as an anti-inflammatory drug.

Key Words: *Poria cocos*, Adjuvant, Pain, Nociceptive pain, TNF- α , IL-1 β , IL-6

서 론

통증은 신체조직이 손상될 때 마다 생체의 이상을 알리는 경고신호로 신체를 보호하기 위한 방어기체이다. 통증은 작용 기전에 따라 침해성 통증(nociceptive pain), 염증성 통증(inflammatory pain), 신경병증성 통증(neuropathic pain)으로 구분되며, 이 중 침해성 통증은 유해수용체(nociceptor)가 역치 이상의 자극으로 민감해지면 느끼는 통증으로 기계적 통각수용체, 온도 통각수용체, 다형 통각수용체 등에 의하여 조절된다(Woolf, 2011).

유해한 자극(기계적 자극, 열 등)에 의해 손상된 조직에서는 세포막이 phospholipase A (PLA)의 작용에 의해 분해되어 arachidonic acid (AA)를 형성하며, AA는 cyclooxy-

genase (COX)라는 효소에 의하여 대사되어 prostaglandin (PG)를 형성한다(Pardutz and Schoenen, 2010). 이 과정에서 손상 부위의 유해수용체에는 감작(sensitization)이 일어나 역치가 낮아지고 과도한 흥분을 만든다. 따라서, 침해성 통증 완화 방법으로는 염증반응 단계에서 발생하는 인자를 조절하는 방법이 자주 사용되며, Steroids 계열 소염제는 PLA 작용을 억제하고, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)는 COX-2의 작용을 억제하여 결국 PG의 생성을 막아서 염증과 통증이 발생하는 것을 제어할 수 있다(Hunt and Mantyh, 2001).

버섯류에 속하는 진균류의 일종인 복령(*Wolfiporia extensa*)은 소나무를 절제한 후 3~5년이 경과한 뿌리 주변에 부정형의 균핵을 형성하는 기생균의 일종으로 알려져 있다(Choi et al., 2016). 복령은 균핵의 내부 색깔에 따라 육

Received: May 23, 2022 / Revised: June 21, 2022 / Accepted: June 22, 2022

*Professor.

†Corresponding author: Kyung-Yae Hyun. Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea. Tel: +82-51-890-2683, Fax: +82-0505-182-6877, e-mail: kyhyun@deu.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©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.

질이 견고한 백복령과 연하고 부드러운 적복령으로 구분된다. 백복령(*Poria cocos* Wolf)의 주요성분은 탄수화물, 무기질, 섬유질, 미량의 단백질이며(Shin et al., 2009), 항산화효과(Wang et al., 2016), 항암효과(RuiDian et al., 2010), 항염증효과(Lee et al., 2017), 항우울효과(Zhang et al., 2018) 등이 있다고 알려져 있다. 특히 백복령은 collagenase 활성을 저해함으로써 피부주름 개선에 효능이 있어 화장품 천연 소재로 활용이 가능하며 건강기능식품으로의 용도로 다양화가 이루어지고 있다(Jang and Lee, 2015).

백복령은 다양한 용도로 활용되고 있지만, 현재 백복령의 통증 완화에 대한 연구는 미흡한 편이며 이에 대한 자료를 찾기 힘든 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 쥐의 침해성 통증 동물모델에서 백복령의 진통효과를 확인하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 효창 사이언스(Daegu, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 20~24°C 온도와 주야 순환주기의 일정한 환경을 유지하면서 물과 사료는 자유로이 공급하였다. 자유로운 행동을 가능하게 하여 실험 전 스트레스를 최소화하였다. 동의대학교 동물윤리심의위원회의 승인 후(A2020-008) 실시하였다.

추출물의 제조

본 실험에 사용된 백복령은 경상남도 김해시 농협조합에서 제공받아 사용하였다. 백복령의 추출 방법은 분말로 파쇄하기의 방법으로 70% ethanol 용매를 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상층액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 천연 추출물을 원심분리 및 여과, 농축(rotary vacuum evaporator, HS-10SP, Hanshin, Korea)하여 동결(FD5525, Korea) 건조하였고 이때 수득율은 0.35 %였다.

시약준비

DPPH (2,2 diphenyl 1-picryl hydrazyl), N-1-naphthyl ethylene-diamine dihydrochloride, potassium ferricyanide, sulfanilamide, Xanthine oxidase, butylated hydroxyanisole과 Griess reagent는 Sigma (Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. ELISA kit는 rat tumor necrosis factor alpha (TNF- α ; ab100785, Abcam, rat), rat interleukin 1 beta (IL-1 β , ab255730, Abcam, rat), interleukin

6 (IL-6, ab234570, Abcam, rat)를 사용하였다. Incomplete Freund's adjuvant와 *Mycobacterium butyricum*은 Diffo (Detroit, MI, USA)에서 구입하였다.

DPPH (2,2 diphenyl 1-picryl hydrazyl) free radical 소거 활성

전자공여능은 Molyneux (Molyneux, 2004)의 방법을 수정하여 측정하였다. 2×10^4 M DPPH 500 mL와 백복령 추출물(0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 3.0 mg/mL)을 각각 혼합한 후 30분 동안 차광하여 반응한 다음 517 nm에서 흡광도를 ELISA reader (VERSA, USA)를 사용하여 측정하였다. 총 실험은 5회 반복하였으며, 전자공여능은 $100 - [(시료혼합군의 흡광도/무혼합군의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다. 양성대조군으로 butylated hydroxyanisole (BHA)를 0.1 mg/mL의 농도로 하여 사용하였다.

Xanthine oxidase (XO) 저해 활성 측정

Xanthine oxidase 활성은 Newaz 방법(Newaz and Adee, 1998)을 참고하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate 완충액(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 mL에 XO (0.25 U/mL) 100 μ L와 농도 별 시료 100 μ L를 첨가하고, 대조군에는 시료액 대신 증류수를 100 μ L를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후, 20% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL를 첨가하여 반응을 종료시켰다. 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 상층액을 취하여 생성된 uric acid의 흡광도를 290 nm에서 측정하였다.

Reducing power 측정

Oyaizu의 방법(Oyaizu and dietetics, 1986)에 따라 시료액 1 mL에 200 mM 인산 완충액(pH 6.6) 및 1% potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕 상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액을 1 mL 가하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻은 상층액 1 mL에 증류수 및 0.1%의 ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합시킨 후 ELISA reader (VERSA, USA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도 값으로 나타내었다.

관절염 모델의 유도과 통증행동검사

관절염 동물모델은 Kim의 방법(Kim and Lee, 2012)을 수정하여 실행하였다. Enflurane로 동물을 마취상태한 후 오른쪽 발바닥 관절 내로 100 μ L의 Complete Freund's adju-

vant (CFA) 4 mL을 주입하여 관절염을 유발시켰다. CFA는 incomplete Freund's adjuvant에 *Mycobacterium butyricum* 16 mg을 용해시킨 후 생리식염수 4 mL와 혼합하여 만들었다.

각 동물군은 정상대조군, 대조군, 실험군(백복령 추출물 투여량 0.05 mg/kg, 백복령 투여량 0.2 mg/kg, 백복령 투여량 0.8 mg/kg)으로 각각 쥐 7마리로 구성하였다. 동물의 휴식기간 후 안정된 쥐를 대상으로 물질 투여 전 3일 동안 실험하여 평균값을 산출하였다. 그 후 6일 동안 백복령 추출물(*Poria cocos* extract, PCE) 투여한 후 30분 후에 기계적 자극, 냉자극, 열자극, 그리고 전기자극에 대한 통증행동평가를 10분 간격으로 실시하였다. 6일 후 통증행동평가가 마취 후 동물을 희생시켰으며 혈액과 발바닥 조직을 수집하였다. 수집된 혈액은 원심분리 후 혈장과 혈청으로 조직과 함께 -70°C 냉장고에 보관하였다.

각각의 통증행동검사에 대한 내용은 다음과 같다. 기계적 자극에 대한 통증회피반응은 밀바닥이 철망인 통(10×10×20 cm)에 쥐를 넣고, 검사 전 한 시간 동안 동물을 안정시켰다. von Frey Hair (0.40, 0.70, 1.20, 2.00, 5.50, 8.50)을 이용하여 철망 사이로 Lambert (Lambert et al., 2009)의 up & down 방법으로 발바닥 자극 가한 후 50% 회피 역치를 측정하였다.

냉자극에 대한 통증회피반응은 위와 같이 한 시간 동안의 안정시간을 가진 후, 99% 아세톤을 쥐 발바닥에 한 방울 문힌 후 통증회피가 나타날 때까지의 잠복기를 측정하였다.

전염증성 cytokine의 분석

혈액의 전염증성 cytokine (TNF- α : 25, IL-1 β , IL-6)의 농도를 ELISA kit의 매뉴얼에 따라 실험을 시행하여 측정하였다. 원심분리를 한 혈청을 검체로 이용하였으며 검사 직전까지 -70°C 냉장고에 보관하였다.

통계 처리

본 실험 결과들은 평균(mean) \pm 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군 간 평균 차이는 Kruskal Wallis test로 유의성을 확인한 후 Mann Whiteny U-test를 이용하여 사후 검정하였다. $P < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS (statistical package for the social science) version 18.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

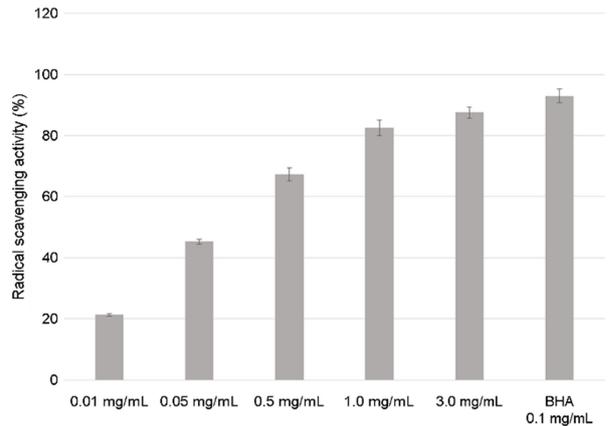


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activities of ethanol extract from PCE. The total experiment was repeated 5 times, and the electron donating ability was expressed as $100 - [(absorbance\ of\ the\ sample\ mixed\ group / absorbance\ of\ the\ unmixed\ group) \times 100]$. As a positive control, butylated hydroxyanisole (BHA) was used. The data were expressed as the mean \pm SD (n=5).

결 과

DPPH free radical 소거 활성 결과

복령 추출물 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 복령 추출물이 모두 농도 의존적으로 증가하였으며, 각각 0.01 mg/mL에서는 21.25 \pm 0.50%, 0.05 mg/mL에서는 45.31 \pm 0.81%, 0.5 mg/mL에서는 67.34 \pm 2.13%, 1.0 mg/mL에서는 82.58 \pm 2.57%, 3.0 mg/mL에서는 87.62 \pm 1.82%의 활성을 보였다. 3 mg/mL의 농도에서 양성대조군인 BHA와 유사한 소거 활성(93.02 \pm 2.30%)을 보였다(Fig. 1).

Xanthine oxidase (XO) 저해 활성 측정 결과

복령 추출물을 각각 0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 3.0 mg/mL의 농도로 처리하고 xanthine oxidase (XO)의 저해 활성을 측정한 결과(Fig. 2), 3 mg/mL의 고농도에서 복령 추출물의 저해율이 67.12 \pm 0.89%으로 가장 높았으며, 양성대조군인 BHA (72.59 \pm 1.20%)와 유사한 수치를 보였다. 아질산염(Nitric oxide, NO) 소거능은 농도의존적으로 증가하는 경향이 있었다.

Reducing power 측정 결과

Fig. 3은 복령 추출물을 각각 0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 3.0 mg/mL의 농도로 처리하고 환원력을 측정한 결과이다. 환원력은 각각의 처리농도에서 5.62 \pm 0.12%, 11.21 \pm 0.18%, 22.51 \pm 0.59%, 48.28 \pm 0.65%,

60.21±0.77%이었으며, 양성대조군에서는 91.56±0.59%의 환원력을 보였다. 3.0 mg/mL의 농도로 처리 후의 값이 양성대조군과 가장 유사하였다.

통증행동검사 결과

기계적인 자극에 대한 통증행동평가에 대한 결과는 Table 1과 같다. CFA를 주입한 모든 동물은 관절염 유발 확인을 위하여 육안검사, 걷기평가, 통증평가를 실시하여 통과한 개체만 실험에 이용하였다(data not shown). CFA로 관절염만 유발한 CFA군에서 6일 동안 비슷한 양상의 Withdrawal threshold (g) 값을 가졌다. 복령 추출물 0.05 mg/kg 경구 투여군은 3일차부터 CFA군과 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 0.8 mg/kg 경구 투여군인 경우는 1일차부터 유의한 차이를 보이기 시작하였다.

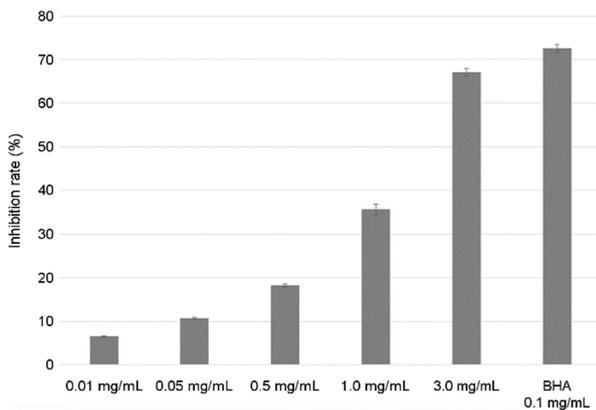


Fig. 2. Xanthine oxidase inhibition rate of ethanol extract from PCE. At the concentration of 3 mg/mL, the inhibition rate of PCE was the highest, and the nitrite scavenging ability tended to increase in a concentration-dependent manner. The data were expressed as the mean ± SD (n=5).

Table 2는 냉자극에 대한 쥐의 반응에 대한 결과이다. CFA군에 비교하여 복령 추출물 0.05 mg/kg 경구 투여군은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 못하였다. 복령 추출물 0.2 mg/kg과 0.8 mg/kg군은 CFA군과 비교하여 각각 3일째부터 2일째부터 유의한 차이를 보이기 시작하였다.

전염증성 cytokine 측정 결과

혈액에서 IL-1β, TNF-α, IL-6를 ELISA 방법을 이용하여 측정하였다(Fig. 4). CFA군의 IL-1β, TNF-α, IL-6 농도는 각각 153.28±8.91 pg/mL, 146.21±8.09 pg/mL, 76.52±3.81 pg/mL이었으며, 정상대조군과 비교하여 상당히 증가되어 있음을 알 수 있다. IL-1β인 경우 PCE 0.05 mg/kg군, PCE 0.2 mg/kg군, 그리고 PCE 0.8 mg/kg군의 농도가 각각 87.52 ±3.68 pg/mL, 58.68±2.65 pg/mL, 31.88±1.55 pg/mL이었으

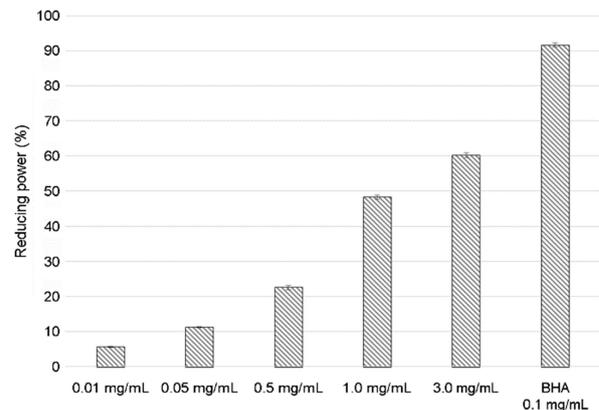


Fig. 3. Reducing power of ethanol extract from PCE. These are the results of measuring the reducing power of the PCE at concentrations of 0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, and 3.0 mg/mL, respectively. The data were expressed as the mean ± SD (n=5).

Table 1. Effects of PCE on mechanical allodynia in adjuvant-induced SD rats

Experimental groups	Withdrawal threshold (g)						
	0 day	1 days	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
Control (n=7)	18.25±4.77	17.38±3.45	18.41±3.34	17.29±3.07	17.41±3.97	17.61±3.88	17.59±3.91
CFA (n=7)	7.18±0.82	7.58±0.57	7.21±0.97	7.01±0.57	6.58±0.40	5.58±0.32	5.61±0.44
CFA+PCE (n=7) 0.05 mg/kg	7.32±0.91	8.17±1.06	8.58±2.57	10.58±2.10	9.87±1.99	11.11±1.50**	10.98±0.87**
CFA+PCE (n=7) 0.2 mg/kg	7.40±0.56	8.69±1.20	10.44±1.07*	12.58±0.97**	13.58±1.28**	14.78±2.02**	15.08±1.50**
CFA+PCE (n=7) 0.8 mg/kg	7.28±0.44	9.40±0.68*	12.40±0.82**	14.40±1.52**	15.40±1.82**	16.40±2.55**	17.70±3.62**

Each point represents the mean ± SEM. *P < 0.05, **P < 0.01 compared with the CFA group

Table 2. Effects of PCE on cold and heat allodynia in adjuvant-induced SD rats

Experimental groups	Duration of withdrawal responses (sec)						
	0 day	1 days	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
Control (n=7)	83.10±3.87	84.05±4.11	82.09±4.55	84.29±5.03	85.20±6.10	87.00±6.12	83.17±4.89
CFA (n=7)	67.58±4.52	67.08±3.88	65.09±4.70	67.05±5.05	66.19±4.40	65.89±5.12	65.60±5.71
CFA+PCE (n=7) 0.05 mg/kg	67.20±3.90	69.77±4.14	70.89±2.08	69.58±5.54	69.07±3.8	71.74±3.20	70.98±5.01
CFA+PCE (n=7) 0.2 mg/kg	68.19±4.00	68.60±3.03	71.04±3.07	74.01±2.08*	73.88±3.01	74.00±2.52*	75.11±1.99**
CFA+PCE (n=7) 0.8 mg/kg	69.10±5.62	69.01±1.66	73.80±1.19*	75.77±1.08*	74.81±0.91*	74.40±4.10*	77.05±2.02**

Each point represents the mean ± SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the CFA group

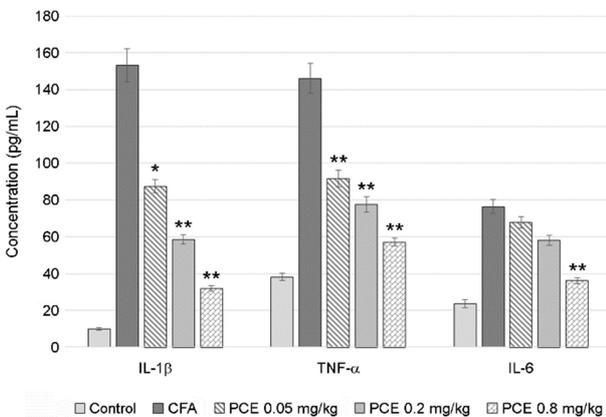


Fig. 4. Pro-inflammatory cytokines level in serum. Pro-inflammatory cytokine in treat groups were significantly lower than those of the CFA group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the CFA group)

며, 농도 의존적으로 줄어들었다. TNF- α 는 PCE 0.05 mg/kg군(91.56±4.51 pg/mL), PCE 0.2 mg/kg군(77.68±4.12 pg/mL), 그리고 PCE 0.8 mg/kg군(57.18±2.08 pg/mL) 농도로 역시 농도 의존적으로 줄어드는 경향이 있었다. IL-6 역시 마찬가지로 농도 의존적으로 줄어드는 경향이 있었지만 PCE 0.8 mg/kg군(36.06±1.59 pg/mL)에서만 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

고 찰

본 연구는 다양한 분야에서 활용 중인 백복령의 통증 완화제 활용의 가능성을 확인하고자 실행하였으며, 실험 결과 관절염 통증동물모델에서 백복령 추출물의 경구 투여는 유해자극에 의한 통증을 염증반응을 저해하므로 경

감시키다는 사실을 확인하였다.

DPPH는 짙은 보라색을 띠는 안정한 free radical로서 Proton-radical scavenger에 의하여 탈색되는 특성을 가지고 있어 항산화 활성을 육안으로 관찰할 수 있다(Kedare et al., 2011). 또한 다양한 천연 소재로부터 항산화 물질의 전자공여능을 측정하는데 많이 이용되고 있는데 이때 전자공여능은 인체의 free radical을 제거하여 노화를 억제하는 작용을 한다(Embuscado et al., 2015). 그리고 free radical의 제거는 인체 내 산화스트레스를 줄여 주어 염증과 관련된 질환 완화에도 효과가 있음이 알려져 있다(Mittal et al., 2014). 본 연구에서 백복령의 radical scavenger 제거능은 3.0 mg/mL군에서 양성대조군과 비슷한 결과를 보였으며 이는 과거 연구들(Wu et al., 2004)과 일맥상통한다. Xanthine oxidase는 purin, pyrimidine, heterocyclic compound의 대사에 관여하는 효소로 대사산물인 xanthine, hypoxanthine에서 uric acid, oxygen free radical를 형성한다. 이때 형성된 oxygen free radical는 체내 주요 물질의 산화적 손상을 유발하며 노화, 암, 심혈관 질환 등의 원인이 된다(George and Struthers, 2009). 이 효소는 산소분자를 수소수용체로 이용하므로 이를 저해하면 free radical 생성이 억제되어 항산화, 항염증, 항노화 등의 효과를 기대할 수 있다(Song et al., 2003; Sabán-Ruiz et al., 2013). 본 연구에서도 Xanthine oxidase 저해 활성은 복령 추출물의 농도 의존적으로 증가하였으며 이로 토대로 항산화를 통한 항염증효과를 예상할 수 있다. Ferreira (Ferreira et al., 2007) 등에 따르면 환원력은 potassium ferricyanide reduction method를 사용한 화합물의 환원력을 평가하며, 흡광도는 시료의 환원력을 나타내고 일반적으로 reductone의 존재와 연관이 있는 것으로 보고되고 있다. KS (KS et al., 2010) 등은 환원력과

DPPH radical 소거능은 매우 유사한 상관관계를 가진다고 보고하였는데 본 연구에서도 DPPH radical 소거능이 높은 활성을 보였던 백복령의 환원력 0.8 mg/mL의 농도에서도 대조군인 BSA와 유의적인 차이를 보이지 않고 높은 항산화능을 보여 같은 결과를 보였다.

CFA 유도성 관절염은 류마티스 관절염을 평가하기 위하여 자주 쓰이는 모델이지만, 본 연구에서는 발바닥 관절에 이를 주입하여 염증성 통증을 유발하여 통증 역치에 대한 평가를 하였다. 실험적으로 유발된 통증의 치료효과를 관찰하는데 이질통(allodynia)과 통각과민(hyperalgesia)의 방법이 자주 이용되고 있다(Sandkuhler, 2009). 이질통은 정상적인 상태에서는 통증을 유발할 수 없는 자극으로 통증이 유발되는 상태를 의미하며, 본 연구에서는 von Frey filament를 사용하여 자극에 대한 회피반응을 측정하였다. 이질통은 열자극에 의해서도 유발되기 때문에 아세톤을 이용한 냉각자극을 가하여 회피반응 또한 측정하였다. 기계적 이질통 검사 결과, 유발 전에는 모든 실험군에서 von Frey filament의 높은 역치 값을 확인할 수 있었으나(data not shown) 유발 후에는 모든 실험군에서 filament의 역치 값이 급격히 낮아짐을 볼 수 있었다. 이러한 이유는 발바닥의 염증과 통증이 심해짐에 따라 발바닥의 민감화를 초래하였기 때문이라고 생각되어진다. 또한, 백복령 추출물 경구 투여 후 시간이 지날수록 발바닥의 역치 값이 증가하는 것으로 보아 염증과 통증반응이 감소되고 있음을 확인할 수 있었다. 특히 6일째에는 filament의 역치 값이 통계적으로 유의하게 증가함을 확인할 수 있었다($P<0.01$) (Table 1). 냉각자극에 대한 반응 또한 기계적 자극의 결과와 유사한 양상을 보였다. 특히 고농도의 0.8 mg/kg 투여군에 다른 군에 비하여 뛰어난 통증 경감 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Table 2). 최근에는 진통 및 진경련, 항염증 등의 효과가 있는 다양한 천연물질을 이용하여 NSAIDs을 대신하여 치료적인 중재로 실시하였을 경우 여러 부작용 없이 환자에게 적용할 수 있어서 각광받고 있으며(Simon and Evan Prince, 2017), 백복령 추출물도 그러한 역할을 수행할 수 있을 것이라 기대된다.

유해한 자극이 가해지면 세포가 파괴되고 손상된 조직을 회복시키기 위한 염증반응의 결과 cytokine, bradykinin (BK), prostaglandin (PG), histamine, serotonin 등 염증물질들이 만들어지는데 이들은 모두 유해감수기에 작용하여 그 활동을 증가시키고 임상적인 증상으로서의 통증을 유발하는 한편 면역세포들에도 작용하여 다른 매개물질들을 유리하게 된다(Schaible and Richter, 2004). 이 중 특히 BK

와 cytokine의 상호작용이 중요한데 이들은 유해감수기의 활성을 증가시킬 뿐 아니라 IL-1 β 는 BK의 수용체를 증가시키고 BK의 활성 대사산물을 증가시키며 이 대사산물은 다시 IL-1 β 의 mRNA의 발현을 증가시킨다(Ferreira et al., 1993; Schaible and Richter, 2004). 따라서 BK와 cytokine의 상호작용이 염증성 통증에 있어서 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 이러한 전염증성 사이토카인의 농도 변화를 추적하여 염증반응에 있어서 백복령의 역할을 설명하고자 하였다(Fig. 4). 실험 결과 3개의 사이토카인이 백복령 추출물 경구 투여군에서 상당히 저하되어 있음을 알 수 있으며 이러한 양상은 통증경감 효과의 경향과 동일함을 알 수 있었다. 또한 백복령의 다양한 부위를 이용한 과거 연구들(Chen et al., 2004; Jeong et al., 2014; Wu et al., 2018)에서의 백복령 항염증 실험 결과와 유사함을 알 수 있었다.

본 연구는 백복령의 통증경감 효과에 대한 검증을 위하여 설계되었으며, 백복령의 항산화와 항염증효과를 기반으로 유해성 자극에 대한 경감효과가 있다는 사실을 확인할 수 있는 실험이었다. 현재 만성통증에 의한 우울증의 효능에 대한 동시 연구가 활발히 진행되고 있음을 고려해 볼 때 백복령 추출물의 만성염증과 우울증의 동시효과에 대한 검증이 향후 남겨진 과제이다.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Ministry of Education of the Republic of Korea and the National Research Foundation of Korea (NRF-2019S1A5C2A04081101).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Chen YY, Chang HM. Antiproliferative and differentiating effects of polysaccharide fraction from fu-ling (*Poria cocos*) on human leukemic U937 and HL-60 cells." *Food and Chemical Toxicology*. 2004; 42.5: 759-769.
- Choi SH, Lee SJ, Jo WS, Choi JW, Park SC. Comparison of ingredients and antioxidant activity of the domestic regional *Wolfiporia extensa*. *The Korean Journal of Mycology*. 2016. 44: 23-30.
- Embuscado ME. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants-

- a mini review. *Journal of Functional Foods*. 2015. 18: 811-819.
- Ferreira IC, Baptista P, Vilas-Boas M, Barros L. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*. 2007. 100: 1511-1516.
- Ferreira S, Lorenzetti B, Poole S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology*. 1993. 110: 1227.
- George J, Struthers AD. Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress. *Vascular Health and Risk Management*. 2009. 5: 265.
- Hunt SP, Mantyh PW. The molecular dynamics of pain control. *Nature Reviews Neuroscience*. 2001. 2: 83-91.
- Jang YA, Lee JT. The evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and anti-aging of extract solvent and *Poria cocos* by parts. *Kor J Aesthet Cosmetol*. 2015. 13: 377-383.
- Jeong JW, Lee HH, Han MH, Kim GY, Hong SH, Park C, Choi YH, Medicine A. Ethanol extract of *Poria cocos* reduces the production of inflammatory mediators by suppressing the NF- κ B signaling pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Complementary and Alternative Medicine*. 2014. 14: 1-8.
- Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 2011. 48: 412-422.
- Kim HO, Lee SI. Experimental animal models for rheumatoid arthritis: Methods and Applications. *Journal of Rheumatic Diseases*. 2012. 19: 189-195.
- KS J, Ramesh C, Srinivasa T, Raghu KL. Comparative studies on DPPH and reducing power antioxidant properties in aqueous extracts of some common fruits. *Journal of Pharmacy Research*. 2010. 3: 2378-2380.
- Lambert GA, Mallos G, Zagami AS. Von Frey's hairs—a review of their technology and use—a novel automated von Frey device for improved testing for hyperalgesia. *Journal of Neuroscience Methods*. 2009. 177: 420-426.
- Lee S, Lee D, Lee SO, Ryu JY, Choi SZ, Kang KS, Kim KH. Anti-inflammatory activity of the sclerotia of edible fungus, *Poria cocos* Wolf and their active lanostane triterpenoids. *Journal of Functional Foods*. 2017. 32: 27-36.
- Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014. 20: 1126-1167.
- Molyneux P. The use of the stable free radical DPPH for estimating antioxidant activity. *J Sci*. 2004. 26: 211-219.
- Newaz MA, Adeeb NNN. Detection of xanthine oxidase in human plasma. *Medical Journal of Malaysia*. 1998. 53: 70-75.
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 1986. 44: 307-315.
- Pardutz A, Schoenen J. NSAIDs in the acute treatment of migraine: A review of clinical and experimental data. *Pharmaceuticals*. 2010. 3: 1966-1987.
- RuiDian K, ShunFa L, Yi C, ChuRong J, QiaGuang S. Analysis of chemical composition of polysaccharides from *Poria cocos* Wolf and its anti-tumor activity by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*. 2010. 80: 31-34.
- Sabán-Ruiz J, Alonso-Pacho A, Fabregate-Fuente M, Gonzalez-Quevedo C. Xanthine oxidase inhibitor febuxostat as a novel agent postulated to act against vascular inflammation. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*. 2013. 12: 94-99.
- Sandkuhler J. Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiological Reviews*. 2009. 89: 707-758.
- Schaible HG, Richter F. Pathophysiology of pain. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2004. 389: 237-243.
- Shin YJ, Kim KS, Park GS. Texture and sensory characteristics of fish paste containing white *Poria cocos* Wolf powder. *Korean Journal of Food and Cookery Science*. 2009. 25: 119-125.
- Simon JP, Evan Prince S. Natural remedies for non-steroidal anti-inflammatory drug-induced toxicity. *Journal of Applied Toxicology*. 2017. 37: 71-83.
- Song YS, Kim SH, Sa JH, Jin C, Lim CJ, Park EH. Anti-angiogenic, antioxidant and xanthine oxidase inhibition activities of the mushroom *Pleurotus linteus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003. 88: 113-116.
- Wang N, Zhang Y, Wang X, Huang X, Fei Y, Yu Y, Shou D. Antioxidant property of water-soluble polysaccharides from *Poria cocos* Wolf using different extraction methods. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016. 83: 103-110.
- Wolf CJ. Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011. 152: S2-S15.
- Wu K, Fan J, Huang X, Wu X, Guo C. Hepatoprotective effects exerted by *Poria cocos* polysaccharides against acetaminophen-induced liver injury in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. 114: 137-142.
- Wu SJ, Ng LT, Lin CC. Antioxidant activities of some common ingredients of traditional Chinese medicine, *Angelica sinensis*,

lycium barbarum and *Poria cocos*. *Phytotherapy Research*. 2004. 18: 1008-1012.

Zhang W, Chen L, Li P, Zhao J, Duan J. Antidepressant and immunosuppressive activities of two polysaccharides from *Poria cocos* (schw.) wolf. *Journal of Biological Macromolecules*. 2018. 120: 1696-1704.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.2.137>

Cite this article as: Lee GH, Yoon HG, Choi GE, Hyun KY. Analgesic Effect of *Poria cocos* Extract on a Rat Model of Adjuvant-induced Arthritis. *Biomedical Science Letters*. 2022. 28: 137-144.