

뇌조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 실크 피브로인의 영향

최진호* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 이종수 · 이광길¹ · 여주홍¹ · 이용우¹

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실
¹농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Silk Fibroin on Oxidative Stress and Membrane Fluidity in Brain of SD Rats

J in-Ho Choi*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Jong-Soo Lee,
Kwang Gill Lee¹, Joo Hong Yeo¹ and Yong Woo Lee¹

Lab. Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University
¹Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology,
RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of silk fibroin powder (SFP : Mw 500) on oxidative stress and membrane fluidity in brain membranes of rats. Sprague-Dawley (SD) male rats (160±10 g) were fed basic diet (control group), and experimental diets (SFP-2.5 and SFP-5.0 groups) added 2.5 and 5.0 g/kg BW/day for 6 weeks. Cholesterol level was significantly decreased about 8.0% in brain microsomes of SFP-5.0 group only compared with control group. Membrane fluidities were significantly increased (12.9% and 15.2%, respectively) in brain microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups, but significant difference between in brain mitochondria of these two groups could be not obtained. Basal oxygen radicals (BOR) in brain mitochondria and microsomes were significantly inhibited (10.4% and 24.0%, 7.9% and 14.9%, respectively) by SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. Induced oxygen radicals (IOR) in brain mitochondria and microsomes were significantly inhibited (11.8% and 14.1%, respectively) by SFP-5.0 groups compared with control group compared with control group.

Lipid peroxide (LPO) levels were dose-dependently decreased (12.9% and 21.9%, 13.2% and 22.5%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were significantly decreased (15.7% and 17.1%, 16.7% and 15.7%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. These results suggest that administration of SFP may play an effective role in a attenuating a oxidative stress and increasing a membrane fluidity in brain membranes.

Key Words — Silk fibroin, Lipid peroxide (LPO), Oxidized protein (OP), Basal and induced oxygen radical (BOR, IOR), Membrane fluidity, Oxidative stress

*To whom all correspondence should be addressed
Tel · 051-620-6332, Fax · 051-628-6343
E-mail : jhchoi@pknu.ac.kr

서 론

중국 후한의 허신(許慎)이 편찬한 《설문해자(說文解字)》에 “상(桑)은 젊다(若)는 뜻으로서 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다”는 사실에서 뽕나무(桑) 관련산물로서 뽕잎을 비롯하여 누에가루 및 실크 피브로인이 성인병을 예방하고 노화를 방지할 수 있다는 사실을 목시적으로 암시하고 있다. 최근들어 뽕잎 추출물의 트리글리세리드(TG)의 지질대사 연구[21-22], 항산화성분 연구[37], tumor cell을 이용한 항종양 연구[30], 누에분말의 혈당강하효과[14-15], 누에분말의 제조조건 및 투여기간에 따른 혈당강하효과[32,25], 누에분말의 당뇨병 연구[2], 누에분말의 간염 및 간경화증 치료효과[33], 누에분말의 인슐린 비의존형(Type II) 당뇨병자에 대한 임상연구[3], 누에분말 추출물과 한독약품(주)의 당뇨병 치료제 다오닐(Daonil : glibenclamide)의 비교연구를 통한 항당뇨음료로서 Dia-D의 개발[11-12] 등이 특허출원되어 있다.

그렇지만, 실크 피브로인에 대한 연구는 거의 없다. 실크 단백질의 가수분해산물인 올리고펩티드(oligopeptide)로서 실크 피브로인(silk fibroin)의 기능성 및 소화연구[20], 실크 가수분해 단백질의 분자량의 분포 및 소화와 관한 연구[1], 실크 피브로인의 아미노산중에서 글리신(glycine)의 혈청 콜레스테롤의 억제효과[35], 실크 피브로인의 기능성 연구로서 기포성의 식품가공에의 이용[19] 및 견직물 잔사의 식품소재로서의 응용[28]에 관한 연구결과도 보고되어 있다. 따라서 본 연구는 농촌진흥청의 '99년도 농업특정연구개발사업의 실크 피브로인의 생리활성연구의 일환으로서 전보[10, 13]에 이어 뇌조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 실크 피브로인의 영향을 분석하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

동물실험 및 사료조성

한국화학연구소에서 구입한 Sprague Dawley계 랫트(male, 160±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(control group)로써 사육하면서 한국농업과학연구원 잠사곤충부에서 제공한 실크 피브로인 분말(silk fibroin powder :

Mw 500) 분말을 SD계 랫트에 하루 2.5 및 5.0 g/kg BW로 사료에 첨가하여 조제한 실험용 사료(SFP-2.5 및 SFP-5.0 groups)로써 6주간 투여한 다음, 뇌조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 실크 피브로인의 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2℃, 65±2% RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[10]와 같은 방법으로 탄수화물 57.8% (α -corn starch: 44.5%+sucrose 13.3%), 단백질 16.0% (sodium-free casein), 지질 18.0% (lard 18.0%), 비타민과 무기질(AIN-76 mixture) 각각 1.0%, 3.5%, 그리고 섬유질 3.0%, DL-methionine 0.3%, choline chloride 0.2%를 첨가하였으며, 여기에 cholesterol 0.5% 및 sodium chloride 0.2%를 첨가하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 실험그룹의 사료조성은 실크 피브로인(SFP)을 하루에 각각 2.5 및 5.0g/kg BW가 섭취되도록 2.5% 및 5.0%의 SFP를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 2.5% 및 5.0%씩 제외하고 조제하였다.

뇌조직의 분획

뇌조직의 분획은 저자 등[7]의 방법에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/ 10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsome 및 cytosol획분을 분획하여 사용하였다. 이들획분의 단백질의 함량은 Lowry 등[28]의 방법에 따라 정량하였다.

콜레스테롤의 함량 측정

뇌조직에서 분획한 mitochondria 및 microsome획분중의 콜레스테롤의 함량은 Rudel 등[31]의 방법에 따라 α -phthalaldehyde법으로 측정하여 표준검량선에 의하여 이들획분중의 콜레스테롤의 함량을 측정하였다.

세포막 유동성의 측정

뇌조직의 mitochondria 및 microsome획분중의 세포막 유동성(membrane fluidity)은 형광 probe로서의 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH)을 사용한 Heron 등[17]에 의한 형광분광법에 따라 측정하였다. 50 mM 인산완충용액(pH 7.2, 2750 ul), 증류수(250 ul), 시료(100 ul)를 첨가·혼합하

여 37°C 항온 수조에서 5분간 방치한 다음, probe인 0.167 mM TMA-DPH[1-(4-trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene, p-toluene-sulfonate] 용액을 6.67 μ l를 첨가·혼합하여 37°C 항온 수조에서 shaking하면서 30분간 반응시킨 후 37°C를 유지하면서 형광광도계를 이용하여 360 nm (excitation)와 430 nm (emission)에서 측정하였다.

기초 및 유도산소라디칼의 정량

뇌조직 획분에서 산화적 스트레스(oxidative stress)의 유무를 확인하기 위해서 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)을 probe로 이용한 간장세포의 mitochondria와 microsome획분의 기초활성산소(basal oxygen radical : BOR)의 생성량의 측정은 Lebel 등[24]의 방법에 따라 측정하였다. BOR의 측정은 기저상태와 라디칼 생성을 유도하기 위해 ascorbic acid와 FeSO₄·7H₂O로 자극한 유도상태의 두 가지 조건에서 비교 측정하였다. 기저상태와 라디칼 유도의 경우 모두 시료 500 μ l를 원충용액(40 mM Tris-HCl buffer pH 7.4)으로 10배 희석하고, probe인 5 μ M DCF-DA (Molecular probe, USA) 12 μ l를 첨가, 10,000 rpm 8분간 원심분리한다. 잔사를 40 mM Tris-HCl 3.0 ml에 녹인 후 라디칼 유도상태의 경우에는 1 mM ascorbic acid (300 μ l)와 100 μ M FeSO₄·7H₂O (150 μ l)를 혼합하였고 기저상태의 경우는 아무것도 첨가하지 않았다. 이후 37°C에서 30분간 반응시킨 후 37°C 유지하면서 형광 강도의 변화를 형광광도계를 이용하여 488 nm (excitation)와 525 nm (emission)에서 측정하였다. 이 때 분광형광광도의 변화를 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)을 표준품으로 해서 표준검량선에 의하여 생성된 DCF의 양(nmol/mg protein/min)으로 환산하고, 이 양으로써 BOR 및 유도산소라디칼(induced oxygen radical : IOR)의 산소라디칼 생성량으로 정량하였다.

산화적 스트레스의 분석

뇌획분중의 과산화지질의 함량은 저자 등[4]이 사용한 방

법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(LPO)의 함량을 측정하여 정량하였다. 또한 뇌획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 Levine 등[26]의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하여 OP의 함량을 정량하였다. carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($E=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

분석결과의 처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[34]로 실시하였다.

결과 및 고찰

콜레스테롤 함량의 변화

SD계 랫트에 실크 피브로인 분말(silk fibroin powder : SFP) 2.5g 및 5.0 g/kg BW를 6주간 투여하여 본 결과, 뇌획분중의 콜레스테롤의 함량변화는 Table 1에서 보는 바와 같다. Table 1에서 보는 바와 같이 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여 그룹의 콜레스테롤 함량은 mitochondria획분에서 99.01 \pm 7.05 및 96.38 \pm 6.94 mg/g protein으로서 대조그룹(101.17 \pm 8.61 mg/g protein : 100%) 대비 97.9% 및 95.3%로서, 각각 2.1% 및 4.7%의 콜레스테롤의 억제효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 그러나 microsome획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹은 90.91 \pm 6.63 및 87.48 \pm 4.36 mg/g protein으로서 대조그룹(95.36 \pm 5.49 mg/g protein : 100%) 대비 95.3% 및 91.7%로서, 각각 4.7% 및 8.3%의 콜레스테롤의 억제효과로서 SFP-5.0투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. 이러한 사실은 뿔알 추출물의 콜레스테롤 억제효과와 거의 유사한 경향을 나타내고 있었지만, 누에분말 투여그룹보다는 매우 높은 콜레스테롤의 억

Table 1. Effects of SFP on cholesterol levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks

	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Mitochondria	101.17 \pm 8.61 ^a	99.01 \pm 7.05 (97.9%) ^b	96.38 \pm 6.94 (95.3%)
Microsome	95.36 \pm 5.49	90.91 \pm 6.63 (95.3%)	87.48 \pm 4.36* (91.7%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean \pm SD (mg/g protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05 compared with control group.

제효과라 생각된다.

세포막 유동성의 평가

이미 1932년 Cannon이 제창했던 것과 마찬가지로 생체의 항상성(homeostasis)만큼 중요한 것은 없다. 그 이유는 세포막 유동성(membrane fluidity : MF)이 좋아야 항상성을 유지할 수 있고 체내 대사가 원활하게 진행될 수 있기 때문이다. 성인병(chronic degenerative disease)이란 연령의 증가에 따라 어떤 원인에 의하여 세포막의 유동성이 지장을 받아서 성인병을 유발할 뿐만 아니라 노화까지 촉진하게 된다. 따라서 실크 피브로인을 SD제 랫트에 6주동안 투여한 다음, 뇌조직의 세포막 유동성을 측정하여 본 결과는 Table 2와 같다.

실크 피브로인 분말(SFP) 투여그룹의 MF에 미치는 영향을 비교하여 보면 뇌조직의 mitochondria획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 MF는 7.31 ± 0.83 및 $7.41 \pm 0.74\%$ polarization으로서 대조그룹($7.25 \pm 0.68\%$ polarization : 100%) 대비 100.8% 및 102.2%로서, 각각 0.8% 및 2.2%의 MF의 증가효과로서 거의 효과를 인정할 없었다. 그렇지만, 뇌조직의 microsome획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 MF는 3.41 ± 0.38 및 $3.48 \pm 0.24\%$ polarization로서 대조그룹($3.02 \pm 0.23\%$ polarization : 100%) 대비 112.9% 및 115.2%로서, 각각 12.9% 및 15.2%의 효과적인 MF의 증가효과가 인정되었다. 이러한 사실은 뽕잎 추출물이나 누에 가루의 투여의 경우와 마찬가지로 뇌조직의 mitochondria획분보다는 microsome획분에서 더 효과적이라는 공통점을 가지고 있다.

기초 및 유도산소라디칼의 평가

SD제 랫트에 대한 실크 피브로인 분말(SFP)의 투여에 의한 뇌조직의 활성산소의 생성을 평가하기 위하여 기본적인 조건 및 Fe^{2+} -ascorbate로 유도한 활성산소를 각각 기초

활성산소(basal oxygen radical : BOR) 및 유도활성산소(induced oxygen radical : IOR)로 구분하여 이들 활성산소를 분석·평가하여 본 결과는 Table 3과 같다.

뇌조직에서 BOR의 생성량에 미치는 실크 피브로인 분말(SFP)의 영향을 비교하여 보면 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여 그룹의 mitochondria획분에서 BOR의 생성은 3.89 ± 0.28 및 3.30 ± 0.23 nmol/mg protein/min로서 대조그룹(4.34 ± 0.53 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 89.6% 및 76.0%로서, 각각 10.4% 및 24.0%의 매우 유의적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었을 뿐만 아니라 microsome획분에서도 BOR의 생성은 6.54 ± 0.36 및 6.04 ± 0.42 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(7.10 ± 0.51 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 92.1% 및 85.1%로서, 각각 7.9% 및 14.9%의 BOR의 생성 억제효과가 인정되었다.

Table 3. Effects of SFP on basal and induced oxygen radical formations in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Groups	Oxygen radical formation (nmol/mg protein/min)	
	Mitochondria	Microsome
Basal oxygen radical(BOR)		
Control (7)	4.34 ± 0.53^a	7.10 ± 0.51
SFP-2.5 (7)	$3.89 \pm 0.28^*$ (89.6%) ^b	$6.54 \pm 0.36^*$ (92.1%)
SFP-5.0 (7)	$3.30 \pm 0.23^{***}$ (76.0%)	$6.04 \pm 0.42^{**}$ (85.1%)
Induced oxygen radical(IOR)		
Control (7)	20.44 ± 2.02	10.33 ± 1.25
SFP-2.5 (7)	19.42 ± 1.49 (95.0%)	9.88 ± 0.75 (95.6%)
SFP-5.0 (7)	18.02 ± 1.72^c (88.2%)	$8.87 \pm 0.92^{**}$ (85.9%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (nmol/mg protein/min) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01, ***p<0.001 compared with control group.

Table 2. Effects of SFP on membrane fluidity(MF) in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Mitochondria	7.25 ± 0.68^a	7.31 ± 0.83 (100.8%) ^b	7.41 ± 0.74 (102.2%)
Microsome	3.02 ± 0.23	$3.41 \pm 0.38^*$ (112.9%)	$3.48 \pm 0.24^{**}$ (115.2%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; ^aMean±SD (% polarization) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01 compared with control group.

마찬가지 방법으로 뇌조직중의 IOR의 생성량에 미치는 영향을 평가하여 보면 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 mitochondria 및 microsome획분에서 IOR의 생성 억제효과는 각각 5.0% 및 11.8%, 4.4% 및 14.1%의 IOR의 생성 억제효과로서 두 획분 다같이 SFP-5.0투여그룹에서만 유의적인 IOR의 생성 억제효과가 인정되었다. 이러한 사실은 누에분말의 투여효과와 거의 유사한 경향을 나타내고 있었다.

산화적 스트레스의 평가

산화적 스트레스의 평가에서 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA)의 함량, OP는 카르보닐그룹(>C=O group)의 생성량, 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가한다. 활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질 성분의 공격에 의한 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성, 단백질 성분의 공격에 의한 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성 및 핵산의 공격에 들연변이의 생성 등을 들 수 있다.

과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다[36,5]. 노화의 가장 중요한 학설로서 Harman[16]의 <Free Radical Theory>, Yu[38], Yu 및 Yang[39]의 <Oxidative Stress Theory>에 따라 간장조직중의 지질성분의 산화적 스트레스로서 과산화지질(lipid peroxide : LPO) 생성에 미치는 누에분말의 영향을 분석·비교하여 보면 Fig. 1과 같다.

뇌조직 획분중의 LPO의 생성에 미치는 실크 피브로인(SFP) 투여에 따른 영향을 비교하여 보면 mitochondria획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 10.37 ± 0.44 및 9.30 ± 0.92 nmol/mg protein로서 대조그룹(11.91 ± 1.38 nmol/mg protein : 100%) 대비 87.1% 및 78.1%로서, 각각 12.9% 및 21.9%의 매우 효과적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 microsome획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 10.63 ± 0.76 및 9.49 ± 0.69 nmol/mg protein로서 대조그룹(12.24 ± 1.01 nmol/mg protein : 100%) 대비 86.8% 및 77.5%로서, 각각 13.2% 및 22.5%의 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다.

사실 뇌조직은 산화적 스트레스에 대하여 매우 민감한

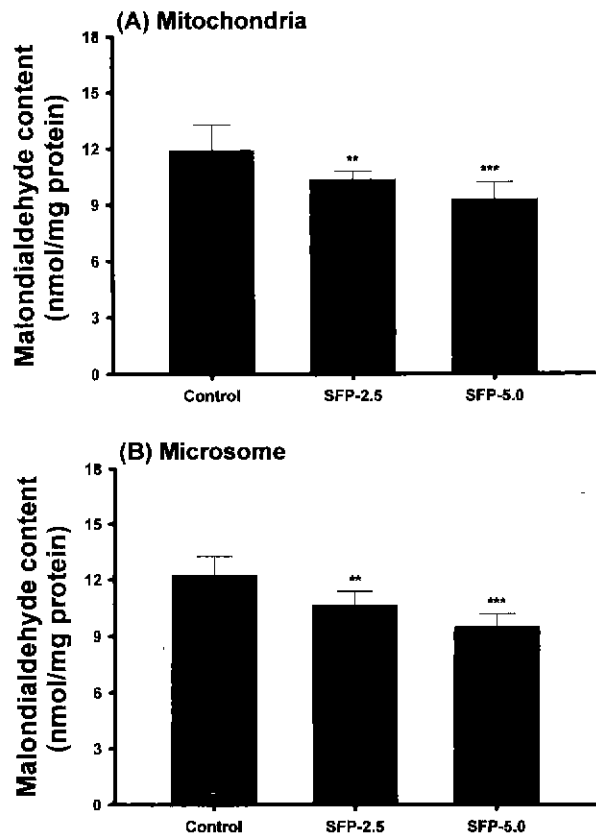


Fig. 1. Effects of SFP on lipid peroxide (LPO) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks
SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; **p<0.01, ***p<0.001 compared with control group.

조직이란 사실을 감안한다면 실크 피브로인(SFP)의 투여는 뇌조직의 독성물질로서 LPO의 생성을 누에분말(SWP)의 효과이산으로 억제한다는 할 수 있으며, 이는 뇌조직의 항상성 유지를 위해서도 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 평가할 수 있다. 실크 피브로인의 투여가 활성산소의 생성을 효과적으로 방지하여 LPO의 생성을 억제한다는 사실은 LPO의 세포조직중의 축적은 성인병을 유발할 뿐만 아니라 노화를 촉진한다는 사실이 밝혀져 있기 때문이다[36].

산화단백질의 생성 억제효과

한편 뇌조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을 받아 생성되는 카르보닐 그룹(>C=O group)의 생성량을 측정하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 함량을 평가하여 본 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

요 약

뇌조직의 mitochondria획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0그룹의 OP의 생성은 11.31 ± 0.97 및 11.12 ± 1.13 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(13.42 ± 1.28 ng/mg protein : 100%) 대비 84.3% 및 82.9%로서, 각각 15.7% 및 17.1%의 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 microsome획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0그룹의 OP의 생성량은 11.88 ± 1.25 및 12.02 ± 0.98 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(14.26 ± 1.13 ng/mg protein : 100%) 대비 83.3% 및 84.3%로서, 각각 16.7% 및 15.7%의 매우 유의적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 따라서 뽕잎 추출물(MLE)과 누에분말과는 달리 실크 피브로인은 뇌조직의 microsome획분에서 매우 효과적인 OP의 생성 억제효과가 입증되었다는 사실은 매우 흥미로운 사실이다.

실크 피브로인(SFP)을 SD계 랫트에 하루 2.5 및 5.0 g/kg BW로써 6주간 투여하여 뇌조직의 산화적 스트레스 및 세포막 유동성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. 콜레스테롤에 대한 SFP-2.5투여그룹의 mitochondria 및 microsome획분에서는 유의적인 억제효과가 인정되지 않았지만, SFP-5.0투여그룹의 microsome획분에서만 대조그룹 대비 8.3%의 유의적인 콜레스테롤의 억제효과가 인정되었다. mitochondria획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹에서 거의 유의적인 MF의 증가효과를 인정할 수 없었지만, microsome획분에서도 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 12.9% 및 15.2%의 MF의 증가효과가 인정되었다.

SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 mitochondria 및 microsome획분에서 대조그룹 대비 각각 10.4% 및 24.0%, 7.9% 및 14.9%의 매우 유의적인 BOR의 생성 억제효과가 인정되었고, SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 mitochondria 및 microsome획분에서 IOR의 생성억제효과는 대조그룹 대비 각각 5.4% 및 11.8%, 4.4% 및 14.1%로서, SFP-5.0투여그룹의두획분에서 유의적인 IOR의 생성 억제효과가 인정되었다. mitochondria 및 microsome획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 대조그룹 대비 각각 12.1% 및 21.9%, 13.2% 및 22.5%의 매우 효과적인 과산화지질(LPO)의 생성 억제효과가 인정되었다. mitochondria 및 microsome획분의 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 대조그룹 대비 15.7% 및 17.1%, 16.7% 및 15.7%의 매우 유의적인 산화단백질(OP)의 생성 억제효과가 인정되었다. 이상의 결과에서 실크 피브로인의 투여는 뇌조직의 콜레스테롤 침착 억제효과로 인하여 세포막 유동성을 매우 효과적으로 증가시킬 뿐만 아니라 강력한 활성산소의 생성 억제작용으로 인한 뇌조직의 산화적 스트레스의 억제효과로 뇌조직의 신경기능의 발현과 보호에 효과적으로 대처할 수 있을 것으로 기대된다.

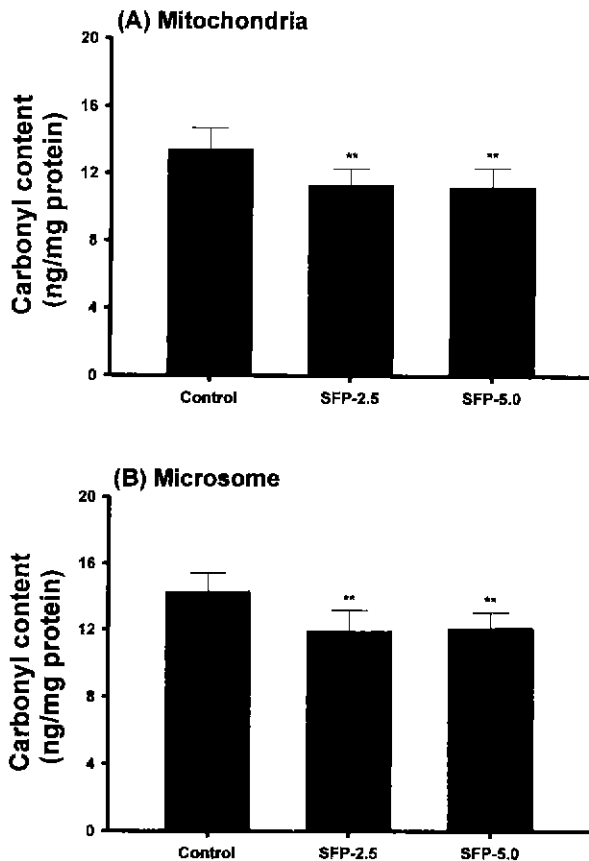


Fig. 2. Effects of SFP on oxidized protein (OP) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks
SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; **p<0.01 compared with control group.

참 고 문 헌

1. Chin, K., K. Iura, R. Aizawa and K. Hirabayashi. 1991. The digestion of silk fibroin by rat. *J. Sericultural Science of Japan* 60(5), 402-403.
2. Cho, M. R. and R. W. Choue, S. H. Chung and J. W. Ryu. 1998. Effects of silkworm powder on blood glu-

- cose and lipid levels in NIDDM(type-II) patients. *Korean J. Nutr.* **31(7)**, 1139-1150.
3. Cho, M. R. and R. W. Choue. 1998. A study of folk remedies in type-II diabetic patients. *Korean J. Nutr.* **31(7)**, 1151-1157.
 4. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**, 61-64.
 5. Choi, J. H. (1991). Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23(1)**, 61-70.
 6. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1995. Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18(2)**, 133-139.
 7. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W. Kim, Y. S. Moon, H. Y. Chung and B. P. Yu. 1996. Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age* **19**, 1-5.
 8. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1999. Effects of mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 135-140.
 9. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, H. S. Lee and K. S. Ryu. 1999. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 141-146.
 10. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., D. W. Kim, J. S. Lee and Y. W. Lee. 1999. Effects of silk fibroin powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 216-221.
 11. Choi, J. H. and President of RDA. 1999. Functional anti-diabetic drink. *Korean Patent Application* No. 99-61216 (Dec. 23, 1999).
 12. Choi, J. H. and President of RDA. 2000. Functional anti-diabetic drink. *Japanese Patent Application* No. 2000-98434 (Mar. 31, 2000).
 13. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, J. M. Kim, H. S. Lee and K. S. Ryu. 2000. Effects of Effects of silk fibroin on oxidative stress and membrane fluidity in brain membranes of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **42** (submitted).
 14. Chung, S. H., J. H. Yu, E. J. Kim and K. S. Ryu. 1996. Blood glucose lowering effect of silkworm. *Bull. K.H. Pharma. Sci.* **24**, 95-100.
 15. Chung, S. H., M. S. Kim and K. S. Ryu. 1997. Effect of silkworm extract on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate-containing diet. *Korean J. Seric. Sci.* **39(1)**, 86-92.
 16. Harman, D. 1956. Aging : a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
 17. Heron, D. S., M. Shinitzky, M. Hershkowitz and D. Samuel. 1980. Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **12**, 7463-7467.
 18. Hirabayashi K. 1989. Application of water soluble silk. *Bio Industry* **6(10)**, 27-32.
 19. Hiraio, K., Y. Kimura and K. Igarashi. 1988. Foaming properties of fibroin solution prepared from silk yarn and utilization of Foam for making sponge cake. *J. of the Japanese Soc. for Food Sci. and Technology* **45(11)**, 692-699.
 20. Hirobayashi, K., K. Chin and T. Sebata. 1991. Utilization of silk fibroin as food ingredient. *New Food Industry* **33(11)**, 1-4.
 21. Kang, J. O. and K. S. Kim. 1995. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24(4)**, 502-509.
 22. Kim, S. Y., W. C. Lee, H. B. Kim, A. J. Kim and S. K. Kim. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27(6)**, 1217-1222.
 23. Laganriere, S. and B. P. Yu. 1987. Anti-lipoperoxidation action of food restriction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **145**, 1185-1191.
 24. Lebel C. P., I. N. Odunze Jr and S. C. Bondy. 1989. Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **163(2)**, 860-866.
 25. Lee, H. S., K. S. Chung, S. Y. Kim, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J. Seric. Sci.* **40(1)**, 38-42.
 26. Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **1986**, 464-478.
 27. Lowry, O. H., N. J. Roseborough, L. A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
 28. Lu, X., D. Akiyama, K and Hirabayashi. 1994. Pro-

- duction of silk powder and properties. *J. of Sericultural Science of Japan* **63**, 21-27.
29. Odaka, H., n. Miki, H. Ikeda and T. Matsuo. 1992. Effect of disaccharidase inhibitor, AO-128, on post-prandial hyperglycemia in rats. *J. Japan Soc. Nutr. Food Sci.* **45(1)**, 27-31.
30. Park, I. K., J. O. Lee, H. S. Lee, K. Y. Seol and Y. J. Ahn. 1988. Cytotoxic activity of Bombyx mori and Morus alba derived materials against human tumor cell lines. *Agric. Chem. Biotech.* **41(2)**, 187~190.
31. Rudel, L. L. and M.D. Morris. 1973. Determination of cholesterol using *o*-phthalaldehyde. *J. Lipid Res.* **14**, 364-366.
32. Ryu, K. S., H. S. Lee, S. H. Chung and P. D. Kang. 1997. An activity of lowering blood-glucose levels according to preparative conditions of silkworm powder. *Korean J. Seric. Sci.* **39(1)**, 79-85.
33. Shiomi, S., D. Habu, T. Takeda, S. Nishiguchi, T. Kuroki, T. Tanaka, K. Tsuchida and S. Yamagami. 1998. Significance of peptidoglycan in patients with chronic liver diseases. *J. New Remedies & Clinics*, **47(1)**, 32-37.
34. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
35. Sugiyama, K. 1989. Importance of sulfur-containing amino acids in cholesterol meta-bolism. *J. Japan Soc. Food and Nutrition* **42**, 353-363.
36. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* **45**, 37. Yen, G. C., S. C. Wu and P. D. Duh. 1996. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J. Biol. Chem.* **261**, 12879~82. 337-351.
38. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
39. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging : A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **786**, 1-11.