

동충하초의 건분 및 물추출물이 흰쥐의 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 효과

권상희[§] · 우희종* · 한대석** · 김미경

이화여자대학교 식품영양학과, 서울대학교 수의과대학 면역학교실*
한국식품개발연구원**

Effect of Dried Powders and Water Extracts of *Paecilomyces Tenuipes* and *Cordyceps Militaris* on Lipid Metabolism, Antioxidative Capacity and Immune Status in Rats

Kwon, Sang Hee[§] · Woo, Hee Jong* · Han, Daeseok** · Kim, Mi Kyung

Department of Foods and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Department of Immunology,* Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

Korea Food Research Institute,** Kyonggido 463-746, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of dried powders and water extracts of *Paecilomyces tenuipes*(*P. tenuipes*) and *Cordyceps militaris*(*C. militaris*) on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidative capacity and immune status in rats. Thirty-five male Sprague-Dawley rats weighting 195 ± 21 g were grouped into five according to body weight. Rats were raised for four weeks with diet containing either 4%, 2%(w/w) of dried *P. tenuipes* powders(TP-4, TP-2) or water extracts from equal amounts of each 4% *P. tenuipes* and *C. militaris* powder(TE-4, ME-4). Food intake, weight gain of all groups were not significantly different from those of control group. Lipid metabolism in general was not significantly different among all the groups. However both dried *P. tenuipes* powder lowered plasma cholesterol level slightly, water extract groups showed tendency of higher plasma HDL-cholesterol and lower liver cholesterol levels than control. Plasma and liver thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) concentrations of all the experimental groups were lower than control group. Red blood cell(RBC) and liver superoxide dismutase(SOD) activities were not generally different among all groups. Liver xanthine oxidase(XOD) activities of all groups were tended to be lower than control group. Proliferation of splenocytes induced by mitogens, concanavalin A and lipopolysaccharide, were increased in TP-2 group. The TP-4 group showed increased CD8 T cells and MHC class II expression without changes in CD4 T cells, B cells and G/M ratio, suggesting activated cytotoxic T cell activity in vivo. Increase of G/M ratio but not of MHC class II in TP-2 group indicated the possible acute inflammatory reaction by the ingested substances in gastrointestinal tract. ME-4 group showed enhanced cellular immunity without vigorous changes of immune parameters in brief periods. In conclusion, both *P. tenuipes* and *C. militaris* stimulated antioxidant capacity and immune status in rats. Among groups, water extract of *C. militaris* was most effective in both capacities, though dried powder of *P. tenuipes* at 2% dietary level was more effective in antioxidant activity, as various results by different strains were observed. (*Korean J Nutrition* 34(3) : 271~284, 2001)

KEY WORDS: *paecilomyces tenuipes*, *cordyceps militaris*, lipid metabolism, antioxidative capacity, immune status.

서론

중국의 육상 선수들이 1992년에 개최된 국제 육상 경기 대회에서 동충하초를 섭취하여 신기록을 경신했다는 사실이 우리나라에 대서특필된 이후 국내에서 동충하초에 대한 관심이 부쩍 높아지게 되었다.¹⁾

접수일 : 2000년 7월 31일

채택일 : 2001년 4월 10일

[§]To whom correspondence should be addressed.

동충하초(冬蟲夏草)는 겨울에는 벌레(蟲)상태로 있다가 여름이 되면 버섯(草)이 된다는 뜻에서 유래한 이름이다. 동충하초는 곰팡이의 일종인 동충하초균이 주로 온·습도가 높아지는 시기에 살아있는 곤충의 몸 속으로 들어가 증식하면서 기주(寄主)인 곤충을 죽이고 얼마 후 곤충의 표피에 자실체(子實體)를 형성하는 일종의 약용버섯이다.^{2,3)} 대표적인 동충하초속으로는 자낭균류(*Ascomycetes*)의 맥각균과(*Clavicipitaceae*)에 속하는 *Cordyceps*속이 있으며 이밖에도 불완전균류의 *Paecilomyces*속, *Torrubiella*속, *Pod-*

*nectria*속 등이 있다.^{2,3)}

전통적으로 한방에서 이용되고 있는 대표적인 동충하초는 박쥐나방의 유충을 기주로 자실체를 형성하는 중국산 동충하초인 *C. sinensis*(학명: *Cordyceps sinensis* Berk. sacc.)이며, 이는 자양강장,^{4,5)} 신장과 간에 미치는 영향,⁶⁻⁸⁾ 항균성과 여기서 유래되는 항종양,⁹⁾ 면역기능 증가,^{10,11)} 생체 산화방지,¹²⁾ 혈당강하¹³⁾ 및 염증성 질병 등과 관련된 여러 가지 활성을 나타낸다고 보고되고 있다. 그리고 *C. sinensis*와 *C. sinensis* 균사체를 심혈관 계통 질병, 고지혈증, 만성감염과 간경화, 신장병, 호흡계통 질병, 종양, 노년병, 성기능 장애 등에 임상적으로 응용, 이용하고 있다.^{14,15)}

그러나 현재까지 동충하초 자실체의 공급은 전량 자연 채취에 의존하고 있고 그 생육 환경이 까다로워 공급이 한정되어 매우 고가에 유통되고 있다. 따라서 근래 여러 동충하초를 대상으로 우수 균주의 안정적인 공급을 위해 경제성이 있는 다양한 인공재배가 시도되고 있다.²⁾ 국내에서는 최근 잠사곤충 연구소의 조세연 연구진이 동충하초 신품종을 개발하였는데 이는 *P. tenuipes*라는 품종으로 누에를 기주로 하여 재배하였다.¹⁶⁾ *P. tenuipes* 품종은 국내에서 고유하게 개발된 품종으로 통상 눈꽃동충하초라고 한다.¹⁶⁾

눈꽃동충하초(학명: *Paecilomyces tenuipes*)는 분생포자를 형성하는 불완전균류 *Paecilomyces*속에 속하는 버섯균이며, 이는 식품의 원료로 사용이 가능하도록 식품공전에 등재되어(1998년 7월 10일) 법적인 보호를 받고 있다.¹⁶⁾ 눈꽃동충하초의 화학적 성분을 보면 수분 7.0%, 조단백질 60.9%, 조지방 2.4%, 회분 6.4% 등으로 구성되어 있고, 단백질 중에서 우리 몸에 없어서는 안 될 필수 아미노산을 비롯하여 모두 17종의 아미노산이 들어있다. 이밖에 D-mannitol이 약 7%, 다당체가 6.1%, ergosterol이 0.075% 정도 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 눈꽃동충하초의 약효에 관한 동물 실험 결과를 보면 항암 효과, 면역력 증강 효과, 항피로 효과, 항스트레스 효과, 항노화 효과 등의 탁월한 효과가 있다고 한다.¹⁷⁾

자낭균강 맥각균과 코디셉스에 속하는 *C. militaris*(학명: *Cordyceps militaris*)는 북동충하초, 잠용충초, 용초, 번데기 동충하초 등의 이름으로 불리우며 나비목의 번데기에 기생하는 자실체와 번데기의 복합체이다. 이는 세계 여러나라에 분포되어 있으며, 대기 내에 습도가 높고 수분이 많은 계곡 주변에서 발견되며 누에 번데기를(100%) 이용하여 인공 재배가 가능하여졌다.³⁾

동충하초는 여러 가지 질병에 대한 약리적 효능 때문에 오늘날 많은 관심과 연구의 대상이 되고 있다. 중국, 일본, 미국 및 유럽에서는 중국 동충하초의 자연산 및 균사체를

이용하여 분말, 캡슐, 정제, 환제, 음료 등 식·의약품과 주류 등을 생산, 판매하고 있으며^{18,19)} 국내에서는 눈꽃동충하초의 대량 생산 기술개발과 우수한 약리 효과 규명, 식품 원료로의 사용 승인 등이 이루어지면서 99년부터 양잠 농가에서 생산된 동충하초를 원료로 한 음료수가 처음으로 생산, 시판되고 있으며, 동충하초주가 시판을 앞두고 있다고 한다.^{17,18)} 그러나 동충하초의 약리 효과를 규명하기 위한 지급까지의 연구들은 in vitro 실험이 대부분이었고 품종이나 가공에 따른 비교 연구가 거의 되어 있지 않다.

이에 본 연구에서는 누에 번데기(100%)를 이용하여 인공재배한 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 함유한 식이를 흰쥐에게 섭취시켜 이들 동충하초가 흰쥐의 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 영향을 알아봄으로써 동충하초의 생리활성 효과의 기전을 규명하고자 하였으며, 아울러 동충하초의 품종, 시료의 제조 방법, 식이내 첨가량에 따라 그 영향이 다른지를 비교하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 동충하초 시료의 건분 및 물추출물의 준비

누에 번데기(100%)를 이용하여 인공 재배한 *P. tenuipes*와 *C. militaris*는 각각(주)상목과 장백 밀리타리스 동충하초 농장에서 건조된 것을 구입하여, 건분과 물추출물을 준비하였다. 건분은 fitz mill(the Fitz Patrick Company, No. DASO6)로 40 mesh를 통과할 수 있도록 분말화하였다.

각 시료의 물추출물은 건분균 실험식이의 4%에 해당하는 양의 *P. tenuipes*와 *C. militaris* 건분을 2 × 2mm크기로 분쇄하여, 면으로 된 추출포대에 넣고 봉합하였다. 추출용기에 정제수 4L를 가하고 구연산 0.3%를 첨가하여 용해시키고 가열하였으며, 물이 끓으면 동충하초 포대를 추출조에 잠기게 넣고 끓는 상태를 유지하면서 5시간 동안 추출하였다. 추출이 끝난 후, 추출액과 포대를 분리하고 포대에 남는 것은 박을(residue) press로 압착하여 압착액을 추출액과 합하고, 이를 0.5µm의 filter cartridge를 통과시켜 여과하였다. 여과된 것을 동결 건조하여 물추출물을 얻었으며 이를 실험식이에 섞어 사용하였다.

2. 실험동물의 사육 및 식이

생후 4주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 35마리를 구입하여 실험 시작 전 1주일간 고품 배합사료(삼양사료)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 195 ± 21g인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 7마리씩 5군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험동

물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 식이와 물은 제한없이 먹게 하였다.

실험에 사용한 식이의 구성 성분은 Table 1과 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수 전분(corn starch, 신동방)을, 지방 급원으로는 옥수수유(corn oil, 해표)를 사용하였으며, 단백질 급원으로는 casein(edible acid casein, Murray Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것을 각각 식이 무게의 4%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다.²⁰⁾

*P. tenuipes*는 식이 무게의 4%(TP-4), 2%(TP-2)에 해당하는 건분을 식이에 섞어 공급하였다. 선행 연구시 식이 무게의 1%, 2%, 4% 수준에 해당하는 *C. militaris* 건분을 첨가하였으나, 실험동물이 식이섭취를 제대로 하지 않고 사망하거나 성장이 불량하여 본 실험에서 제외시켰다. 본 연구에서 사용한 식이내 동충하초 첨가량은 실험동물에게 동충하초를 경구투여시켜 실험한 중국 문헌들을 참고로 결정하였는데, Liu Chang-Xiao 연구진⁷⁾은 마우스 체중 1kg당

4g 또는 8g의 동충하초를 5일간 섭취시켰고, Zheng 연구진¹⁰⁾은 마우스 체중 1kg당 5g, 10g의 동충하초를 경구투여시켰다.

물추출물의 경우 *P. tenuipes*와 *C. militaris* 시료 모두 식이 무게의 4%에 상응하는 건분분말로부터 추출하여 식이에 첨가하고, 건분량과의 차이는 옥수수전분을 첨가하여 보충하였다.

식이 섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 같은 시각에 측정하였다. 식이 섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여 체중 측정 2시간 전에 식이 그릇을 빼주었다.

3. 변, 혈액 및 각종 장기의 채취

실험동물을 희생하기 4일 전부터 대사장(metabolic cage)에서 12시간씩 2회에 걸쳐 24시간 동안의 변을 채취하였는데, 처음 1일에는 오후 9시부터 오전 9시까지 대사장에서 변을 채취하였고, 그날 오전 9시부터 다음날 오전 9시까지 다시 본래의 사육장에서 식이를 섭취하도록 한 후 시료 채취 3일째에는 오전 9시부터 오후 9시까지 다시 12시간 동안 대사장에서 변을 채취하였다. 이와 같이 12시간씩 두 번 채취한 변을 합쳐 1일간의 변으로 간주하였다. 이 기간 중 물은 제한 없이 공급하였고, 채취한 변은 무게를 측정 후 -20℃에서 냉동 보관하였다.

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 소독 후 clean bench(KMC-1400L, Vision Co., LTB)내에서 개봉한 후 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 3.8% sodium citrate 용액 0.1ml로 주사기는 내부부를 coating하여 사용하였다. 채취된 혈액은 백혈구 분리를 위한 3ml 혈액과 생화학적 분석을 위한 혈액으로 나누어 응고 방지를 위해 heparin(sodium salt, 10~20unit/ml 혈액)으로 처리된 polystyrene 원심분리관에 담아놓고 ice bath에 20분간 방치하였다.

백혈구 분리를 위해 담아놓은 3ml의 혈액은 원심분리기(Sorvall, RT 6000B)로 3,000rpm, 4℃에서 20분간 원심분리한 후, pasteur pipette을 이용하여 백혈구를 채취하여 즉시 실험하였다.

생화학적 분석용은, 원심분리기(Sorvall, RT 6000B)로 2,800rpm, 4℃에서 30분간 원심분리하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장 내 지질과 산화물 양과 지방수준을 측정하기 위해 -70℃ deep freezer에 보관하였다. 아래층의 RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm, 4℃에서 10분간 원심분리하

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Groups ¹⁾				
	C	TP-4	TP-2	TE-4	ME-4
Corn starch	698	658	678	658	658
Casein	150	150	150	150	150
Corn oil	100	100	100	100	100
Salt mixture ²⁾	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2
Plant dry powder	0	40	20	0	0
Plant water extract and starch	0	0	0	40	40

1) C: Control group

TP-4: Powder of *P. tenuipes*(containing 4% TP of experimental diet)

TP-2: Powder of *P. tenuipes*(containing 2% TP of experimental diet)

TE-4: Water Extract of *P. tenuipes*(containing 4% TE of experimental diet)

ME-4: Water Extract of *C. militaris*(containing 4% ME of experimental diet)

2) AIN salt mixture(g/kg mixture)²⁰⁾: Calcium phosphate, dibasic (CaHPO₄ · 2H₂O)500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate(K₃C₆H₅O₇·H₂O)220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(43-48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16-17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃·5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂ · 12H₂O) 0.55, Sucrose, finely powdered to make 1000gram.

3) AIN vitamin mixture(mg/kg mixture)²⁰⁾: Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium Pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamin (vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate(vitamin A) 120,000 retinol equivalents, dl-α-Tocopheryl acetate(vitamin E) 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000IU, powder form), Menadione(vitamin K) 5.0, Sucrose finely powdered, to make 1,000gram.

는 세척과정을 세 차례 반복하여 RBC를 얻었다. 이 RBC를 cell과 0.9% NaCl 용액의 부피비가 1 : 1이 되도록 희석하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 후 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 측정하기 전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

혈액을 채취한 후 무균적으로 비장을 떼어 무게를 측정 한 후 면역실험에 이용하였다. 간은 ice bath위에서 떼어 즉시 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70°C deep freezer에 보관하여 과산화물 양과 효소활성 측정에 사용하였고, 신장은 떼어서 무게만 측정하였다.

4. 시료 분석

1) 혈장, 간 및 변의 지방

혈장의 총 지방 농도는 Frings과 Dunn²¹⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 혈장의 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 546nm에서, 총 cholesterol 농도는 cholesterol hydrolase를 이용한 효소법 kit(영동제약)로 500nm에서, HDL-cholesterol 농도는 cholesterol esterase를 이용한 효소법 kit(아산제약)로 500nm에서 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)를 사용하여 비색정량하였다. 간과 변의 총 지방 농도는 Bligh와 Dyer²²⁾의 방법을 이용하여 측정하였고, 중성지방 및 총 cholesterol 농도는 위에서 추출한 총 지방을 methanol로 녹인 후 혈장과 같은 방법으로 측정하였다.

2) 혈장과 간의 과산화지질(TBARS)

혈장의 TBARS 함량은 Yagi²³⁾의 방법을 이용하여 1,1,4,4-tetramethoxypropane을 표준용액으로 excitation 515nm, emission 553nm의 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS 50)로 정량하였다. 간의 TBARS는 Buckingham²⁴⁾의 방법을 이용하여 spectrophotometer로 532nm에서 비색정량하였다.

3) 적혈구와 간의 SOD와 간의 xanthine oxidase 활성

적혈구와 간의 SOD 활성은 Floh 등의 방법²⁵⁾으로 측정하였다. 이 방법은 xanthine이 xanthine oxidase의 작용을 받아 superoxide를 생성하고 이 superoxide가 ferricytochrome C(Fe^{+++})를 ferrous cytochrome C(Fe^{++})로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면 이 반응이 저해되는 원리를 이용한 것이다. 이때 SOD의 분당활성 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1unit으로 하여 나타내었고, 1unit을 흔히 MaCord and Fridovich unit라고 한다.

간조직의 xanthine oxidase(XOD) 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C 에서 10분간 반응시켜 생성된 노산을 파장 292nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe와 Della Corte의 방법²⁶⁾에 준하여 측정하였다. 이때 XOD의 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 분당 반응하여 기질로부터 생성된 노산양을 nmole농도로 표시하였다. 각 효소원의 단백질 함량은 Lowry법²⁷⁾으로 측정하였다.

4) 면역능 측정

(1) 비장세포의 세포증식 능력 측정

비장 세포를 분리하여 mitogen으로 자극시킨 후 증식능력을 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma)를 이용하여 측정하였다.^{28,30)} 본 실험시 사용한 mitogen은 ConA(Concanavalin A)와 LPS(Salmonella typhimurium lipopolysaccharide)로, ConA는 T-cell mitogen, LPS는 B-cell mitogen으로 알려져 있다. 쥐를 희생 직후, 비장을 무균적으로 적출하여 즉시 RPMI 1640(Sigma) medium 용액에 옮기고 scapel을 이용하여 지방을 제거한 후 single cell dispersion을 만들었다. PBS로 2회 세척하고 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640 용액에 세포를 부유시킨 후 각 well당 세포수가 1×10^6 개가 되도록 96-well round bottom plate의 각 well당 100μ씩 분주하였다. 각 well당 ConA(Sigma) 10μg/ml, 20μg/ml, LPS(Sigma) 10μg/ml, 20μg/ml를 10μ씩 첨가하였고, control well에는 mitogen을 첨가하지 않았다. 분주된 plate는 37°C , humidified CO_2 incubator에서 68시간 배양하였다.

배양이 끝나면 MTT(2 mg/ml PBS)를 50μ씩 각 well에 분주하고 다시 4시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 원심분리하여 상층액을 제거한 후 DMSO(Dimethyl-sulfoxide, Sigma)를 각 well에 150μ씩 첨가하여 cell을 녹인 후 20분 동안 흔든 후(shaking) ELISA reader(Bio Rad, microplate reader Model 550)로 492nm에서 흡광도를 측정하였다. Mitogen에 의한 세포증식정도는 stimulation index로 구하였다.

Stimulation index(SI)

$$= \frac{\text{mitogen을 넣은 well의 흡광도}}{\text{mitogen을 넣지 않은 well의 흡광도}}$$

(2) 말초혈액의 면역세포 분리

채혈한 혈액을 20분 방치한 후 원심분리하여 채취한 백혈구에 Tris- NH_4Cl 용액(pH 7.2) 3ml를 첨가하여 30분 incubation시킨 후 다시 2,000rpm에서 5분간 원심분리시

켜 적혈구를 제거하고 면역세포만을 남겼다. 이를 PBS로 2회 세척하고, 비특이적인 결합을 방지하기 위해 1% BSA (Bovine Serum Albumin)가 포함된 PBS 3ml씩을 넣어 4℃에서 30분 방치시킨 뒤, PBS를 넣어 세포수를 1×10^6 으로 맞추고 이중 100μ씩 에펜도르프 튜브에 담아 놓았다.

Mouse 유래 단클론항체 MCA 55R(anti-CD4), MCA 48R(anti-CD8), MCA 45R(anti-MHC class II), MCA 620(anti-G/M), MCA 194(anti-IgG₁)을 1차 항체로 사용하였고, 모두 Serotec(Kidlington, Oxford, U.K)으로부터 구입하였다. 이들은 제조사의 추천 희석 농도에 의거하여 MCA 55R, MCA 48R 및 MCA 45R은 100배, MCA 620은 400배, MCA 194는 200배 각각 희석하여 사용하였다.

앞에서 준비한 에펜도르프 튜브에 희석한 1차 항체를 각각 100μ씩 넣어 혼합하고 4℃에서 30분 반응시킨 후, 4℃ 400 × g에서 5분 원심분리시키고 PBS로 3회 원심세척하였다. 그 후 2차 항체로서 25배 희석한 FITC(fluorescein isothiocyanate)가 결합된 goat anti-mouse IgG(Serotec)를 100μ씩 첨가하고 4℃에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 세포를 3회 세척하였다. 이를 500μ의 PBS에 재부유시킨 다음 reading tube에 담아 각 항체가 인식하는 세포의 표면 항원의 발현을 flow cytometry(FACSCalibur, Becton Dickinson, USA)로 측정하였고, 분석은 Cell Quest(Becton Dickinson, USA)를 사용하였다.

5. 자료처리

본 연구의 동물사육 실험 결과는 실험군 당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

실험 결과

1. 식이섭취량, 체중증가량 및 장기무게

실험동물의 하루 평균 식이섭취량, 실험기간동안의 체중증가량 및 식이효율은 Table 2에 나타내었다. 하루 평균 식이 섭취량을 보면, 대조군과 실험군 간에 유의적인 차이가 없었고, 식이내 *P. tenuipes* 건분 함량을 달리하여 섭취시킨 경우와 물추출물군 간에도 차이가 없었다.

실험기간동안의 체중증가량은 TP-2군이 가장 높았고, 나머지군들 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. *P. tenuipes* 건분을 섭취시킨 경우 TP-4군보다 TP-2군이 유의적으로 높았으며, 물추출물군들의 경우 *P. tenuipes*와 *C. mil-*

Table 2. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio¹⁾

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/4 weeks)	Food efficiency ratio
C	19.5 ± 0.76 ^{NS2)}	126.2 ± 10.19 ^{b3)}	0.22 ± 0.01 ^b
TP-4	17.7 ± 0.25	124.6 ± 5.70 ^b	0.25 ± 0.01 ^{ab}
TP-2	18.6 ± 0.71	164.1 ± 9.42 ^a	0.26 ± 0.01 ^a
TE-4	18.7 ± 0.72	135.5 ± 7.50 ^b	0.25 ± 0.01 ^{ab}
ME-4	19.1 ± 0.62	129.9 ± 6.45 ^b	0.24 ± 0.01 ^{ab}

1) Mean ± Standard Error(n = 7).

2) Not significant at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 3. Organ weights¹⁾

Groups	(g/100g WT)		
	Liver	Kidney	Spleen
C	3.0 ± 0.07 ²⁾	0.6 ± 0.01 ^{NS2)}	0.2 ± 0.00 ^{NS}
TP-4	2.9 ± 0.09 ^{ab}	0.6 ± 0.01	0.2 ± 0.00
TP-2	2.7 ± 0.06 ^c	0.6 ± 0.03	0.2 ± 0.00
TE-4	2.9 ± 0.04 ^a	0.6 ± 0.03	0.2 ± 0.00
ME-4	2.7 ± 0.06 ^{bc}	0.6 ± 0.03	0.2 ± 0.00

1-3) See Table 2.

*itaris*에 따른 차이를 보이지 않았다. 식이효율은 TP-2군이 가장 높았고, 이를 제외한 나머지 군들은 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

동충하초 섭취가 장기 무게에 미치는 영향을 알아보기 위하여 체중 100g 당 간, 신장, 비장의 무게를 측정하였다. 체중 100g 당 간 무게는 TP-2, ME-4군들이 대조군과 비교할 때 낮았으며, 나머지 군들은 대조군과 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 체중 100g 당 신장 무게와 체중 100g 당 비장 무게 모두 대조군과 실험군들 간에 차이가 없었다(Table 3).

진체적으로 동충하초 첨가 식이가 흰쥐의 성장에 미치는 영향을 보면, *P. tenuipes* 건분군을 식이내 2% 첨가한 군을 제외한 나머지군들 간에는 유의적 차이가 나지 않았다. TP-2군의 경우 실험기간동안의 체중증가량이 유의적으로 가장 높았고, 체중 100g 당 간의 무게는 유의적으로 가장 낮았다.

2. 지방대사

1) 혈장내 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도

지방대사를 알아보기 위해 측정된 혈장내 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 수준 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 Table 4에 나타내었다. 혈장의 총지방 농도는 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 TP-4군이 다소 낮은 경향을 나타내었다. 물추출물을 첨가시킨 군 간에는 차이가 없었으나, TP-4군과 TE-4군 비

Table 4. Plasma total lipid, triglyceride, total cholesterol, HDL- cholesterol concentrations and HDL : total cholesterol ratio¹⁾

Groups	Plasma total lipid (mg/100ml)	Plasma triglyceride (mg/100ml)	Plasma total cholesterol (mg/100ml)	Plasma HDL-cholesterol (mg/100ml)	HDL : total cholesterol ratio
C	300.95 ± 29.55 ^{NS2)}	56.36 ± 10.87 ^{NS}	94.14 ± 11.97 ^{NS}	52.77 ± 5.88 ^{ab3)}	0.58 ± 0.06 ^{NS}
TP-4	271.19 ± 19.57	57.22 ± 6.22	79.60 ± 9.19	39.68 ± 2.02 ^b	0.54 ± 0.07
TP-2	299.90 ± 25.93	74.05 ± 5.59	77.22 ± 6.29	50.46 ± 6.13 ^{ab}	0.65 ± 0.06
TE-4	297.16 ± 25.63	51.90 ± 7.24	96.16 ± 7.62	56.50 ± 2.60 ^a	0.61 ± 0.05
ME-4	284.49 ± 21.29	53.20 ± 7.09	93.01 ± 8.21	59.11 ± 6.86 ^a	0.65 ± 0.08

1-3) See Table 2.

교시 TP-4군의 혈장내 총지방 농도가 다소 낮았다.

혈장의 중성지방 농도는 대조군과 실험군 간에 유의적인 차이가 나지 않았으나, TP-2군이 가장 높았다. *P. tenuipes* 건분의 경우 식이내 함량을 달리하여 첨가하였을 때 TP-4군의 중성지방수준이 유의적이지 않으나 다소 낮았으며, 물추출물을 첨가시킨 군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았고 TP-4군과 TE-4군 간에도 차이가 없었다.

혈장의 총콜레스테롤 농도 또한 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, *P. tenuipes* 건분을 식이내 첨가한 군들이 다소 낮은 경향을 나타내었고, TP-4군의 경우 TE-4군에 비해 다소 낮았다.

혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 두 가지 물추출물군들이 높은 경향을 보였고 TP-4군이 가장 낮았다. *P. tenuipes* 건분의 경우 식이내 함량에 따라 차이가 나 TP-2군의 HDL-콜레스테롤 농도가 TP-4군에 비하여 높은 경향을 보였고, 두 가지 물추출물군들은 유의적인 차이가 나타나지 않아 동충하초 품종에 따른 차이를 볼 수 없었으며, TE-4군은 TP-4군보다 HDL-콜레스테롤 농도가 유의적으로 높게 나타났다. 혈장의 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 모든 실험군들 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 4).

2) 간의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 농도

간의 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤 농도는 Table 5와 같았다. 간의 총지방 농도는 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 TP-2군이 가장 높고 TP-4군이 가장 낮은 경향을 보였다.

간의 중성지방 농도는 TP-2군의 경우 대조군에 비해 유의적으로 높았으며, 이를 제외한 나머지 군들은 대조군과 비교해 유의적이지 않으나 높은 경향을 나타내었다. *P. tenuipes* 건분의 경우 TP-4군의 중성지방 농도가 TP-2군보다 다소 낮았으며, 물추출물군들 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았고 TP-4군과 TE-4군 간에도 차이가 없었다.

간의 총콜레스테롤 농도는 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 모든 실험군들이 대조군보다 낮은 경향이었

Table 5. Liver total lipid, triglyceride and cholesterol concentrations¹⁾

Groups	Liver total lipid (mg/g wet weight)	Liver TG (mg/g wet weight)	Liver cholesterol (mg/g wet weight)
C	19.21 ± 1.96 ^{NS2)}	2.78 ± 0.74 ^{ab3)}	3.74 ± 0.64 ^{NS}
TP-4	18.98 ± 2.01	3.36 ± 0.96 ^{ab}	3.44 ± 0.50
TP-2	24.59 ± 2.97	5.26 ± 0.92 ^a	2.78 ± 0.38
TE-4	21.86 ± 2.82	3.44 ± 0.82 ^{ab}	2.62 ± 0.30
ME-4	20.24 ± 2.07	3.50 ± 0.52 ^{ab}	2.30 ± 0.38

1-4) See Table 2.

고, 특히 물추출물을 첨가한 군들이 건분을 첨가한 군들에 비해 낮은 경향을 보였다(Table 5).

3) 변의 무게 및 변의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량

일일 평균 변의 무게와 변의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤의 배설량은 Table 6에 나타내었다. 일일 평균 변무게는 TP-4군만이 대조군에 비해 유의적으로 높았고, 나머지 군들간에는 유의적 차이가 보이지 않았다.

일일 총지방 배설량은 TP-4군이 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 나머지군들은 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 다소 높은 경향을 보였다. 물추출물군들의 경우에 차이가 없었으나, TP-4군은 TE-4군에 비해 유의적으로 높았다.

변의 중성지방 배설량은 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 TP-2군이 가장 높고 TE-4군이 가장 낮게 나타났다. 물추출물을 첨가한 군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 TE-4군의 경우 TP-4군보다 중성지방 배설량이 다소 낮았다.

변의 콜레스테롤 배설량은 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 *P. tenuipes* 건분군들이 대조군과 비교해 높았으며, 물추출물을 첨가한 군들 비교시 ME-4군이 TE-4군보다 다소 높은 경향을 나타내었으며, TE-4군이 TP-4군에 비해 다소 낮은 경향을 보였다. 전반적으로 TP-4군의 변무게 및 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량이 대조군 및 다른 실험군들에 비하여 높게 나타났(Table 6).

전체적으로 동충하초 첨가 식이가 흰쥐의 혈장, 간, 변의

Table 6. Fecal weight and total lipid, triglyceride and cholesterol excretions¹⁾

Groups	Fecal weight (g dry weight/day)	Fecal total lipid (mg/day)	Fecal TG (mg/day)	Fecal cholesterol (mg/day)
C	0.44 ± 0.07 ^{bc3)}	10.66 ± 2.77 ^b	0.37 ± 0.11 ^{NS2)}	2.28 ± 0.62 ^{NS}
TP-4	1.01 ± 0.13 ^a	24.07 ± 4.80 ^a	0.52 ± 0.08	3.91 ± 1.33
TP-2	0.72 ± 0.14 ^b	21.32 ± 6.09 ^{ab}	0.56 ± 0.14	3.80 ± 0.94
TE-4	0.42 ± 0.03 ^c	12.77 ± 0.89 ^{ab}	0.30 ± 0.04	1.38 ± 0.19
ME-4	0.60 ± 0.02 ^{bc}	13.43 ± 1.24 ^{ab}	0.40 ± 0.13	2.70 ± 0.62

1-4) See Table 2.

지방대사에 미치는 뚜렷한 효과를 볼 수 없었다. 그러나 대조군과 비교시 유의적이지 않으나 *P. tenuipes* 건분군의 혈장내 콜레스테롤 수준이 낮았고, 물추출물군들의 간내 콜레스테롤 농도가 낮았으며, *P. tenuipes* 건분군들의 변 무게, 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량이 높았다.

3. 항산화능

1) 혈장과 간의 지질과산화물 함량

혈장과 간의 지질의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질과산화물(TBARS) 함량을 측정된 결과는 Table 7과 같았다. 혈장의 지질과산화물 함량은 동충하초 건분 섭취에 의해 영향을 받아 대조군보다 낮은 수준이었고, 특히 TP-2군이 대조군에 비해 유의적으로 낮아 동충하초의 지질과산화 억제 효과가 큰 것으로 나타났다. *P. tenuipes* 건분의 경우 식이내 함량에 따라 유의적인 차이가 나 TP-2군의 지질과산화가 낮게 나타났으며, 물추출물을 첨가한 군들의 경우 유의적은 아니나 ME-4군의 지질과산화가 낮게 나타났고, TE-4군의 경우 TP-4군과 유사하게 나타났다.

간의 지질과산화물 함량 또한 혈장에서와 마찬가지로, 모든 군이 대조군보다 낮은 경향을 보였으며 특히 물추출물을 첨가한 군들의 지질과산화가 유의적으로 낮았다. 물추출물을 첨가한 두 군 간에는 차이가 없었고, TE-4군의 경우 TP-4군보다 다소 낮았다(Table 7).

2) 적혈구와 간의 SOD와 XOD 활성

적혈구와 간의 항산화능을 알아보기 위해 SOD와 XOD 활성을 측정된 결과는 Table 8에 나타내었다. 적혈구의 SOD 활성은 모두 실험군들이 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 다소 높은 경향을 나타내었다. 간의 SOD 활성은 TP-2군이 가장 낮았고 나머지 군들은 대조군과 유의적인 차이가 보이지 않았다. TP-4군이 TP-2군에 비해 높은 경향을 나타내었으며 ME-4군이 TE-4군보다 높은 경향을 나타내었다. 실험군들 중 적혈구의 SOD 활성이 가장 높았던 ME-4군이 간의 SOD 활성도 가장 높았다.

Table 7. Plasma and liver TBARS levels of rat¹⁾

Groups	Plasma TBARS (nmol/100ml plasma)	Liver TBARS (nmol/g wet liver)
C	33.16 ± 5.33 ^{2b)}	7.52 ± 0.38 ^a
TP-4	30.48 ± 1.90 ^a	6.56 ± 0.40 ^{ab}
TP-2	17.39 ± 0.89 ^b	6.58 ± 0.20 ^{ab}
TE-4	31.71 ± 1.28 ^a	6.31 ± 0.20 ^b
ME-4	26.96 ± 1.81 ^a	6.39 ± 0.29 ^b

1) Mean ± Standard Error(n = 7).

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 8. Erythrocyte and liver superoxide dismutase and xanthine oxidase activities of rat¹⁾

Groups	RBC SOD ⁴⁾ (Unit/min/mg protein)	Liver SOD ⁴⁾ (Unit/min/mg protein)	Liver XOD ⁵⁾ (nmol/min/mg protein)
C	8.57 ± 0.96 ^{NS2)}	30.62 ± 1.92 ^{3b)}	2.70 ± 0.25 ^{NS}
TP-4	9.29 ± 0.59	28.90 ± 0.93 ^{ab}	2.28 ± 0.16
TP-2	9.24 ± 1.06	25.84 ± 0.93 ^b	2.06 ± 0.34
TE-4	9.70 ± 0.70	28.21 ± 1.47 ^{ab}	2.33 ± 0.23
ME-4	10.30 ± 1.10	30.09 ± 0.63 ^a	2.17 ± 0.17

1-3) See Table 2.

4) Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit is defined by the inhibition of cytochrome c reduction by 50%).

5) Xanthine oxidase(XOD) activities are expressed as the formation of nmole of uric acid per minute per mg of protein.

간의 XOD 활성은 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 대조군보다 낮았다. *P. tenuipes* 건분의 함량을 달리 하여 첨가한 군들 간에는 유의적인 차이가 없었으나 대조군에 비해 낮은 경향을 나타내었으며, ME-4군이 TE-4군보다 다소 낮았고, TE-4군의 경우 TP-4군보다 높은 경향을 보였다(Table 8).

전체적으로 동충하초 섭취시 대조군과 비교하여 항산화능은 높은 경향을 나타내었다. 특히 ME-4군의 경우, 지질과산화물 함량이 낮았고 유의적은 아니나 SOD 활성은 높았고 XOD 활성은 낮게 나타나 다른 실험군들에 비하여 항산화 효과가 뛰어났다.

Table 9. Mitogen stimulation index by MTT method¹⁾

Groups	ConA ⁴⁾		LPS ⁵⁾	
	10µg/ml	20µg/ml	10µg/ml	20µg/ml
C	1.34 ± 0.09 ^{NS2)}	1.22 ± 0.08 ^{NS2)}	1.24 ± 0.10 ^{NS}	1.22 ± 0.13 ^{ab}
TP-4	1.41 ± 0.07	1.27 ± 0.06 ^b	1.31 ± 0.09	1.39 ± 0.09 ^{ab}
TP-2	1.39 ± 0.06	1.60 ± 0.12 ^a	1.46 ± 0.08	1.53 ± 0.05 ^c
TE-4	1.32 ± 0.06	1.24 ± 0.03 ^b	1.31 ± 0.08	1.21 ± 0.08 ^b
ME-4	1.21 ± 0.05	1.25 ± 0.05 ^b	1.23 ± 0.04	1.14 ± 0.05 ^b

1-3) See Table 2.

4) ConA: Concanavalin A

5) LPS: lipopolysaccharide

Table 10. Immunophenotyping of leukocytes¹⁾

Groups	CD4 ³⁾ (%)	CD8 ³⁾ (%)	CD4/CD8 ³⁾ (ratio)	MHC Class II ³⁾ (%)	G/M ³⁾ (%)	IgG ₁ ³⁾ (%)
C	37.42 ± 1.96 ^{ab2)}	17.83 ± 1.32 ^b	2.16 ± 0.19 ^{ab}	14.74 ± 2.26 ^b	18.91 ± 2.74 ^b	0.29 ± 0.08 ^{ab}
TP-4	36.88 ± 3.26 ^{ab}	30.70 ± 7.52 ^a	1.76 ± 0.43 ^{bc}	37.47 ± 8.34 ^a	12.83 ± 2.59 ^b	0.23 ± 0.04 ^{ab}
TP-2	12.02 ± 2.41 ^c	12.92 ± 1.34 ^b	1.05 ± 0.30 ^c	12.86 ± 1.41 ^b	30.05 ± 4.13 ^a	0.87 ± 0.20 ^a
TE-4	31.87 ± 1.91 ^b	16.54 ± 1.07 ^b	1.94 ± 0.10 ^{ab}	14.13 ± 0.82 ^b	17.44 ± 4.91 ^b	0.71 ± 0.40 ^{ab}
ME-4	41.38 ± 4.13 ^a	15.94 ± 1.65 ^b	2.62 ± 0.20 ^a	18.77 ± 2.73 ^b	10.73 ± 1.66 ^b	0.18 ± 0.03 ^b

1-2) See Table 7.

3) CD4: helper T cell MHC class

CD8: cytotoxic T cell

CD4/CD8: helper/cytotoxic T cell ratio

II: Major histocompatibility complex class II

G/M: Granulocyte/Monocyte

IgG₁: Immunoglobulin G1

4. 면역능

1) 비장세포의 세포증식 능력 측정

비장세포의 세포증식 능력을 알아보기 위해 MTT 방법을 이용하여 mitogen의 SI를 측정된 결과는 Table 9와 같았다. Mitogen으로 ConA를 10µg/ml 넣은 경우 SI를 보면, 모든 처리군 간에 유의적인 차이는 없었고, *P. tenuipes* 건분을 식이내 첨가한 군들이 대조군보다 높은 경향을 보여 주었다. Mitogen으로 ConA 20µg/ml 넣은 경우에는 TP-2군이 대조군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며, 물추출물을 첨가한 군들 간에는 차이가 나지 않았다.

Mitogen으로 LPS를 10µg/ml 넣은 경우에 SI를 보면, 모든 군간에 유의적인 차이는 없었으나, ME-4군을 제외한 모든 실험군이 대조군보다 높은 경향을 보여주었다. 특히 TP-2군이 다른 군들에 비해 높은 경향을 나타내었다. Mitogen으로 LPS를 20µg/ml 넣은 경우에는 SI를 보면, 물추출물을 첨가한 군들을 제외한 나머지 건분군들의 SI는 대조군보다 높게 나타났으며 그 중 TP-2군의 LPS에 의한 B cell 증식이 가장 활발하였다. 즉 *P. tenuipes*의 경우 TP-4군보다 TP-2군의 LPS에 의한 B cell 증식이 더 활발한 것으로 보여졌으며, 물추출물군들은 유의적은 아니나 건분군들보다 낮았다(Table 9).

2) 말초혈액 면역세포 측정

말초혈액에서 백혈구를 분리한 후, 단클론항체(monoclonal antibody)를 이용하여 T cell subpopulation(CD4,

CD8), MHC class II, G/M, IgG₁의 분포를 flow cytometry로 immunophenotyping을 한 결과는 Table 10과 같았다.

Helper T cell(CD4)은 ME-4군이 가장 높았고 TP-4군과 TE-4군은 대조군과 유사하게, TP-2군은 대조군보다 유의적으로 낮게 나타났다. *P. tenuipes* 건분군들을 보면 식이내 함량이 낮은 군일수록 helper T cell 비율이 낮았으며, 물추출물을 첨가한 군들의 경우 ME-4군의 helper T cell 비율이 TE-4군보다 유의적으로 높게 나타났다. TP-4군은 TE-4군보다 높은 경향을 보였다.

Cytotoxic T cell(CD8)은 TP-4군이 유의적으로 가장 높았으며, 다른 군들은 대조군과 비교해 유의적인 차이를 나타내지 않았다. TP-4군의 경우 TP-2군보다 유의적으로 높았으며, 물추출물을 첨가한 군들의 경우 두 군이 유사하게 나타났고 TP-4군은 TE-4군보다 유의적으로 높았다.

Helper/cytotoxic T cell ratio(CD4/CD8)은 ME-4군이 가장 높았으며, 대조군과 비교해 TE-4군은 유사하게, 나머지 실험군들은 낮거나 낮은 경향을 보였다. *P. tenuipes* 건분의 경우 TP-4군이 TP-2군보다 helper/cytotoxic T cell ratio(CD4/CD8) 비율이 높은 경향을 나타내었다. 물추출물을 첨가한 군들을 비교시 ME-4군이 TE-4군보다 높은 경향을 보였고, TE-4군은 TP-4군보다 높은 경향을 보였다.

MHC class II를 보면, TP-4군이 유의적으로 높았으며 나머지 실험군들과 대조군 간에는 유의적인 차이가 없었다.

TP-4군은 TP-2과 TE-4군보다 유의적으로 높았으며 물추출물을 첨가한 군들 간에는 유의적 차이가 없었다.

백혈구 중에서 granulocyte와 monocyte가 차지하는 비율인 G/M 값을 보면, TP-2군이 유의적으로 높았으며 나머지 실험군들과 대조군 간에는 유의적인 차이가 없었다. TP-4군은 TP-2군에 비하여 G/M가 유의적으로 낮았으며, 물추출물을 첨가한 군들의 경우 유의적인 차이가 없었으며 두 군 모두 대조군과 비슷한 수준이었다. TE-4군과 TP-4군 간에도 유의적인 차이가 없었다.

B lymphocyte의 항원 수용체인 IgG의 subclass인 IgG₁을 보면, TP-2군이 가장 높았고, 그 다음으로 TE-4군이 대조군에 비해 높은 경향을 나타내었으며, TP-2군은 TP-4군에 비하여 더 높은 경향을 보였고, 물추출물을 첨가한 군들의 경우에는 TE-4군이 ME-4군보다 더 높은 경향을 나타내었다(Table 10).

전체적으로 동충하초 첨가 식이가 흰쥐의 면역능에 미치는 효과를 보면, mitogen으로 ConA와 LPS를 사용하여 비장세포의 증식정도를 측정된 결과, 전반적으로 동충하초 섭취군이 대조군에 비해 유사하거나 높게 나타났다. 말초혈액 면역세포 측정시, ME-4군의 경우 helper T cell(CD4)이 가장 높았고 helper/cytotoxic T cell ratio(CD4/CD8)도 가장 높게 나와 T lymphocyte의 기능이 활발함을 알 수 있었으며, TP-4군의 경우 cytotoxic T cell(CD8)과 MHC class II가 가장 높게 나타났다.

고 찰

본 연구에서는 품종이 다른 동충하초 즉 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 첨가한 식이가 흰쥐의 성장, 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

1. 흰쥐의 성장에 미치는 영향

*P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물 첨가 식이가 흰쥐의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험동물의 식이섭취량, 체중증가량 및 각 장기의 무게를 측정하였다.

식이섭취량, 체중증가량은 모든 실험군들이 대조군과 유사하게 나타났으나 TP-2군과 TP-4군의 경우 대조군에 비해 식이섭취량은 차이가 없었으나 TP-2군의 체중증가량이 더 높게 나타나 *P. tenuipes* 식이 수준이 높은 군에서 성장률이 낮음을 볼 수 있었다.

선행 연구시 *C. militaris* 건분을 식이내 1%, 2%, 4% 첨가한 군의 경우에는 혈변을 배설하고 식이를 제대로 섭취하

지 못하였으나 *C. militaris* 물추출물인 ME-4군의 경우 대조군과 유사한 정상적인 성장을 하여, *C. militaris* 건분이 성장을 저해하는 것은 *C. militaris*의 과도한 섭취 혹은 불용성 물질 중 독성 성분이 함유되어 있기 때문으로 사료된다.

2. 흰쥐의 지방대사에 미치는 영향

*P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 첨가한 식이가 흰쥐의 지방대사에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 혈장, 간, 변의 지방수준을 분석하였다. 본 실험에서 동충하초 첨가 식이로 인한 실험동물 지방대사의 유의한 효과는 뚜렷이 볼 수 없었다. 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 혈장의 총지방 농도의 경우 TP-4군이 가장 낮았고, 혈장 중성지방 농도의 경우 TP-2군이 가장 높게 나타났다.

혈중 총콜레스테롤의 경우 유의적 차이는 없었으나 *P. tenuipes* 건분군들이 낮은 경향을 나타내었다. Kiho 등¹³⁾에 따르면 정상적인 쥐에게 50mg/kg 농도로 *C. sinensis*에서 추출한 다당류인 CS-F30 분획을 복강주사하고 혈장내 중성지질을 분석한 결과 CS-F30 투여한 지 3시간 후와 6시간 후에는 중성지방 강하 효과가 나타나 시간이 경과할수록 효과가 점점 사라졌으며, 콜레스테롤 농도는 CS-F30 분획을 복강주사 한 후 3시간만에 유의적으로 감소하였으나 6시간만에 원래의 상태로 회복되었다고 한다. 즉 콜레스테롤 강하효과는 인정되지만 유지기간은 짧은 편이었다. Li 등¹¹⁾에 따르면 자연산 *C. sinensis*으로부터 분리된 Cs-4가 in vivo 실험시 체내 콜레스테롤 생합성을 억제하는 것 같으나, 소화기관에서의 콜레스테롤의 흡수와 배설에서는 영향을 끼치지 못하는 것으로 보여져, Cs-4의 콜레스테롤 낮추는 메카니즘에 대한 연구가 계속 이루어지고 있다. 쥐에게 *C. sinensis* 분말 10g/kg을 매일 1회, 연속 10일간 복용시킨 후 혈청 콜레스테롤의 함량이 뚜렷이 감소하였다고 한다.¹⁴⁾ 본 실험에서도 혈장의 콜레스테롤 수준이 동충하초 건분을 첨가한 군에서 대조군보다 낮은 경향으로 나타나 *P. tenuipes* 건분 내에도 hypocholesterolemic 효과가 있는 성분이 포함되어 있으리라 여겨진다.³²⁾ 특히 TP-2군의 총 콜레스테롤이 가장 낮고, 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율도 높았다. 동충하초내 어떤 성분이 이러한 콜레스테롤 저하 효과를 일으키는지는 계속 연구해야 할 과제이다. 중국 청해대학교 Lin¹⁴⁾에 의하면, *C. sinensis*와 동충하초 균사체는 혈압이 높은 사람에게서 혈압을 낮추는 역할을 하고 심혈을 감소시키며 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율이 현저히 하강하는 사람에게에는 높이는 역할을 한다고 한다.

간의 총콜레스테롤 농도를 보면 유의적은 아니나 물추출물군들이 건분군들에 비해 낮은 경향을 나타내었는데 혈장 총콜레스테롤 농도는 물추출물군에서 높은 경향을 보였다. 이는 동충하초의 물추출물 중의 성분 때문에 혈장 콜레스테롤이 높은 것은 HDL 콜레스테롤 농도가 높았던 데 기인하고, 간 콜레스테롤 농도가 낮은 것은 간에서 콜레스테롤 자체의 합성이 낮거나 담즙산으로의 전환이 높기 때문으로 여겨진다. 그러나 변 중 콜레스테롤 배설량이 높지 않았으므로 담즙을 통한 배설량이 높아져 콜레스테롤 농도가 낮아지는 기전은 배제 할 수 있겠다.

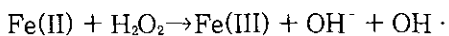
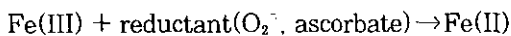
전반적으로 *P. tenuipes* 건분군을 첨가한 군들이 변의 무게, 총지방, 중성지방, 총 콜레스테롤 배설량이 대조군에 비하여 높은 경향을 나타내었다. 특히 *P. tenuipes* 건분군들은 변의 콜레스테롤 배설량이 높은 경향을 나타내었는데 변의 콜레스테롤 배설량이 증가하고 이로 인해 혈장 및 간 조직 콜레스테롤 농도가 낮아졌다는 설명이 가능하다.

3. 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향

*P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 첨가한 식이가 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈장과 간의 지질과산화물(TBARS) 함량, 적혈구와 간의 SOD 활성, 간에서의 XOD 활성을 측정하였다.

최근 superoxide anion(O_2^-)과 hydroxy radical($OH\cdot$)과 같은 free radical을 비롯한 각종 reactive oxidants에 의해 지질의 과산화, DNA의 손상이 일어나고 이러한 과산화 물질에 의하여 노화, 암 등의 여러 질병이 발생하게 된다고 한다.³³⁻³⁵ 생체 내에는 이러한 free radical을 비롯한 활성 산화제로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한 항산화 기전이 존재하는데 그 중 하나는 SOD, catalase, glutathione peroxidase(GSH-px) 등과 같은 항산화 효소에 의한 효소적 방법이고, 나머지는 항산화 비타민이나 flavonoids와 같은 항산화제에 의한 비효소적 방법이다.³⁶

Shin 등³⁶은 쥐의 간 균질물에 대한 지질과산화물 함량 측정 결과 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 물추출물이 모두 용량 의존적으로 지질과산화를 억제한다고 보고하였다. 생체 내 대사과정 중에 발생하는 산소 radical에 의한 산화적 스트레스를 막을 수 있는 항산화 정도는 지질 과산화의 억제 정도로 측정되는데, 지질 과산화의 원인 물질은 여러 가지의 free radical들에 의해 생성되는 $OH\cdot$ (hydroxy radical)이며 이 $OH\cdot$ 가 생성되는 경로는 아래의 Haber-Weiss 반응에 의한다고 일반적으로 알려져 있다.



위의 Haber-Weiss 반응에서 *C. militaris* 물추출물의 경우 iron과 킬레이트를 형성하여 항산화 효과를 나타내며, *P. tenuipes* 물추출물의 경우 생성된 $OH\cdot$ 를 소거하여 항산화 효과를 나타내는 경향이 있는 것으로 나타났다.

Liu 등¹⁹은 생쥐의 균질화한 간을 0.1mg/ml와 0.3mg/ml 농도의 동충하초 물추출물과 잘 섞은 후에 37°C에서 진탕 배양한 후 SOD 활성을 측정하였는데 0.3mg/ml 동충하초가 SOD 활성을 증가시켰다고 발표하였다. 또한 생물체의 산소 대사과정에서 발생하는 superoxide ion이나 체내로 흡수된 약물이나 독극물 대사에서 발생하는 superoxide ion의 작용에 의한 손상을 동충하초가 줄여줄 수 있고, 세포막을 과산화물에 의한 손상으로부터 보호해 준다고 하였다.¹⁹

본 실험에서 동충하초를 섭취한 모든 처리군의 혈장과 간의 과산화지질 함량이 대조군에 비하여 낮게 나타났다. 혈장의 과산화지질 함량은 TP-2군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았고 간에서의 과산화지질 함량은 물추출물군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮아서 동충하초 섭취시 전반적으로 지질과산화 억제 효과가 나타나는 것으로 보인다. 동충하초 섭취시 적혈구에서의 SOD 활성은 모든 군이 유의적 차이를 나타내지 않았고 간에서의 SOD 활성은 TP-2군만이 대조군에 비해 낮았고 나머지군들은 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이유는 본 실험에서 사용한 동물의 나이와 식이 구성을 비롯한 실험조건이 과도한 과산화를 유도하지 않았고 산화적 스트레스를 적게 주어 생체 내의 superoxide anion(O_2^-)의 양이 낮았거나 해독 효소의 활성화를 증가시키지 않은 범위 내에서 대사되었기 때문으로 사료된다. 또한 동충하초내 SOD 기능을 대체하거나 수행할 수 있는 성분이 존재하는 것으로 추측되며, 체내 비효소적 항산화 효과가 증진하여 동충하초가 직접적으로 자유기를 포착(scavenge)하는 것으로 생각된다. 인용된 논문들과 본 실험의 결과가 다른 경향을 나타내므로 동충하초가 SOD 활성을 증가시키는 기작에 대해 추가적인 연구가 요구되는 바이다.

생체 내에서 XOD는 주로 purine 체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는데 촉매로 작용하는 효소이다.³⁷⁻³⁹ 본 실험에서 모든 실험군이 대조군과 유의적 차이를 보이지 않았으나 XOD 활성이 감소되었다. 즉 동충하초 섭취로 O_2^- 생성이 감소되고 산화적 손상이 감소되는 효과도 가능함을 생각하게 한다.

전체적으로 본 실험에서는 동충하초 섭취가 항산화능에 미치는 영향이 뚜렷하지는 않았지만, 대조군과 비교해 항산

화능이 높은 경향을 띄었다. 특히 ME-4군의 경우 지질과 산화물 함량이 유의적으로 낮았고 SOD 활성이 높은 경향을 띤 데 반해 XOD 활성이 낮은 경향을 띄어 실험군 증가 효과적인 항산화능을 나타내었다. 동충하초의 식이내 첨가 수준에 따른 차이는 크게 나타나진 않았으나, *P. tenuipes* 건분군의 혈장내 지질과산화물 함량을 보면 TP-2군이 TP-4군보다 유의적으로 낮았다. 산화적 스트레스를 가하거나 노화된 쥐를 실험대상으로 실험하였다면 동충하초의 더 뚜렷한 항산화능 효과를 볼 수 있지 않았을까 생각된다.

4. 흰쥐의 면역능에 미치는 영향

*P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 첨가한 식이가 흰쥐의 면역능에 미치는 영향을 알아보기 위해 비장 세포의 세포증식 능력과 말초혈액에서 분리한 백혈구의 면역세포의 분포를 측정하였다. 본 실험에서 동충하초를 섭취한 실험동물에서 mitogen에 의한 비장세포 증식정도(SI)를 알아보았는데, ConA와 LPS를 10 μ g/ml로 처리시 실험군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 ConA와 LPS를 20 μ g/ml로 처리시에는 TP-2군이 대조군보다 높게 나타나 mitogen 첨가량에 따른 차이를 보여 주었고 동충하초 건분이 식이의 2% 수준에서 mitogen과 같은 비특이적인 항원에 대한 B 임파구 및 T 임파구의 반응성을 증가시키는데 기여하고 있음이 확인되었다. 물추출물군들의 경우 mitogen 함유량에 관계없이 대조군과 유사하게 나타났다. 비장 세포 증식정도 측정 결과가 말초혈액의 면역세포 측정결과와 다소 다른 경향을 나타내었는데 그 이유는 예비 실험을 통해 적당하다고 판단된 10 μ g/ml, 20 μ g/ml의 mitogen 농도가 타 논문들에서 사용한 농도인 5~10 μ g/ml에 비해 높았고, MTT 방식이 분열하는 세포 수만을 측정하는 민감한 방법이 아니며 mitogen에 의한 세포분열 능력을 정확히 측정하지 못하기 때문으로 보인다.

말초혈액에서 면역세포 측정결과 TP-4군과 ME-4군을 제외한 나머지 실험군들의 보조/유도(helper/inducer)세포인 CD4 양성 T 세포는 유의적으로 낮았고, 세포독성(cytotoxic) 기능을 가진 CD8 양성 T 세포는 낮은 경향을 띄었다. Helper/cytotoxic T cell ratio의 경우 대조군에 비교해 ME-4군은 높게 나타나고 TP-2군은 낮게 나타났으며 나머지 군들은 유의적이지 않았으나 낮은 경향을 나타내었다. 이로써 동충하초 건분군들의 경우 세포성 면역는 대조군에 비해 낮은 경향을 나타내었다고 볼 수 있다. 성숙된 T 세포는 antigen presenting cell(APC)에 의해 처리(processing)되어 MHC(major histocompatibility complex) 분자에 결합된 항원만을 인식하는데, 항원 제공세포에 의해 처리된

항원의 peptide 중 MHC class II molecule과 함께 발현된 항원은 CD4의 도움으로 helper T-cell에 의해 인식된다. 본 실험에서 MHC class II는 TP-4군만이 대조군보다 높게 나타났으며, G/M와 IgG₁는 TP-2군이 대조군과 비교해 유의적으로 높게 나타나거나 높은 경향을 보였다. Polymorphonuclear granulocyte(PMNs)에는 초기 염증 반응에 관여하고 식균 작용을 하는 neutrophil과 eosinophil, basophils이 존재하며, 혈액 중에서 monocyte로 존재하다가 조직으로 이동하여 tissue macrophage로 발달되는 Mononuclear phagocyte는 MHC class II를 발현하여 항원들을 T lymphocyte에 효과적으로 노출시켜 주는 APC 역할을 하며, effector phase에서는 염증반응에 관여하고 종양이나 미생물을 죽이는 세포로 작용한다.^{40,45} 또한 본 실험에 사용한 IgG₁은 B 세포에서 생산되고 분비되는 면역글로블린인 IgG의 subclass 중 하나이다.

TP-4군은 대조군과 비교해 helper T cell(CD4)는 유사하지만 cytotoxic T cell(CD8)이 유의적으로 증가해 세포성 면역이 증가하였고 또한 MHC class II의 발현은 유의적으로 증가하였으나 APC 역할을 하는 G/M와 B cell의 IgG₁이 다소 감소하여 세포의 항원 제시 능력이 증가했을 가능성이 있기에, 정상 쥐일 경우 높은 수준의 *P. tenuipes* 건분 성분은 특이적 세포성 면역을 활성화시킬 수 있음을 보여준다. 이런 현상이 정상적으로 성장을 보인 TP-4군에서 나타났으므로, 식이에 의한 비특이적 GI tract 손상에 의한 면역 활성화가 아닌 동충하초 식이 성분에 의한 특이적 세포성 면역 활성화로 간주 할 수 있으며, 더 나아가 altered self를 없앨 수 있는 항암 효과도 기대할 수 있겠다. Shin 등³⁰의 연구에 따르면 *P. tenuipes*는 항암 효능이 있으며 또한 면역증강, 항피로, 항스트레스 등의 매우 다양한 생리활성을 나타낸다. Sarcoma-180 복수암에 걸린 웅성 ICR계 쥐에게 *P. tenuipes* 추출 시료를 하루에 50mg/kg씩 15일간 복강내 투여한 결과 쥐의 생존 일수가 36일로써 대조군(생존 일수 17.8일)에 비해 102.6%의 강력한 수명연장 효과를 나타내어 현재 임상에서 항암제로 쓰여지고 있는 krestin보다도 1.5배 정도의 더 높은 항암 효과를 나타내었다. *P. tenuipes*가 갖는 항암 작용은 세포독성에 기인한 것이라고 보기보다는 면역 증진 효과 때문으로 사료되며 다양한 생물활성 성분의 존재를 예측할 수 있다고 하였다. 그러나 본 실험시 TP-4군에서는 볼 수 있었던 이런 효과가 TP-2군에서는 나타나지 않아 *P. tenuipes*의 식이내 첨가 수준에 따른 차이를 볼 수 있었다. 또한 동충하초 추출물을 웅성 ICR계 쥐의 복강 내에 3일간 매일 투여한 다음 24시간 후에 carbon 현탁액을 생쥐의 꼬리 정맥에 주사하고 3분 간격으로 5회 채혈하여 면

역세포의 식균 활성을 측정된 결과 *P. tenuipes* 물추출물을 하루에 50mg/kg 투여한 군에서 매우 강력한 식세포 활성화 증강효과가 발견되었으며 이는 특히 면역부활제 또는 항암제로 쓰고 있는 zymosan보다도 약 2배의 강력한 면역증강 효과를 나타내었다고 한다.³⁶⁾ TP-2군의 경우 대조군에 비해 MHC class II는 유사하고 G/M는 높아진 것으로 보아 비특이적 면역 반응이 증가되었고 이는 호중구 등의 증가로 인한 항균 면역증강으로 생각되나,³⁶⁾ 임파구 subpopulation 활성 억제가 나타나므로 정확한 판단을 하기 어려웠다. 물추출물군 중 TE-4군의 경우 대조군과 유사한데 반해, ME-4군의 경우 대조군과 비교시, helper T cell(CD4)의 증가로 helper T cell/cytotoxic T cell ratio가 증가되었고, 유의적이지는 않았으나 MHC class II는 높은 경향을, G/M와 IgG₁은 낮은 경향을 띄어 면역세포 분포의 급격한 변화를 유발하지 않고 항상성이 유지되면서 세포성 면역이 증가되는 형태를 나타내었다.

현재까지 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 면역능 효과에 관한 연구가 미미한 실정이며, 대표적인 동충하초인 *C. sinensis*의 경우 면역능을 향상시킨다는 의견과 면역능에 효과가 없다는 상반된 결과가 있어 아직 논란의 여지가 있는데 이런 효과의 차이는 실험 조건의 차이로 생각하거나 *C. sinensis*가 면역계에서 bi-directional modulator로 작용한다고 가정할 수 있겠다.¹⁵⁾

본 실험 결과를 전체적으로 살펴볼 때 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 면역 증강 효과가 있었으며 아울러 면역 modulator로서의 작용을 기대할 수 있었다. 특히 ME-4군의 경우 면역세포 분포의 급격한 변화를 유발하지 않고 세포성 면역증강 형태를 나타내었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 동충하초가 흰쥐의 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 누에 번데기를 이용(100%)하여 인공 재배한 품종이 다른 동충하초인 *P. tenuipes*와 *C. militaris*의 건분 및 물추출물을 첨가한 식이로 동물을 4주간 사육하였다. 혈장, 간, 변의 총지방 및 중성지방, 콜레스테롤을 분석하여 지방대사를 알아보고, 혈장과 간의 TBARS 함량 및 적혈구와 간의 SOD 활성, 간에서의 XOD 활성을 측정함으로써 항산화능을 알아보았다. 또한 면역능에 미치는 효과를 알아보기 위해 비장세포의 세포증식 능력과 말초혈액 면역세포 분포를 측정하였다.

식이섭취량, 실험기간 동안의 체중 증가량을 보면 모든 실험군들이 대조군과 유사하게 나타났으나 TP-2군과 TP-

4군의 경우 대조군에 비해 식이섭취량은 차이가 없었으나 TP-2군의 체중증가량이 더 높게 나타나 *P. tenuipes* 섭취 수준이 높으면 성장률이 낮음을 볼 수 있었다.

지방대사에는 *P. tenuipes*와 *C. militaris* 건분 및 물추출물 첨가 식이가 뚜렷한 영향을 미치는 않았으나, *P. tenuipes* 건분군들의 혈장내 콜레스테롤 수준이 대조군보다 낮은 경향을 나타내었다. 그리고 두 가지 물추출물군들의 경우 대조군에 비해 혈장 콜레스테롤 농도는 높은 경향을, 간 콜레스테롤 농도는 낮은 경향을 나타내었는데, 혈장 콜레스테롤 농도가 높은 것은 이 실험군들의 혈장 내 HDL-콜레스테롤 농도가 높았던 것에 기인하는 것으로 보이고, 간 콜레스테롤 농도가 낮은 것은 간에서 콜레스테롤 자체의 합성이 낮거나 담즙산으로의 전환이 높기 때문으로 여겨진다. 그러나 이들 같은 군에서 변 중 콜레스테롤의 배설량이 높지 않았으므로 담즙을 통한 배설량이 높아져 콜레스테롤 농도가 낮아지는 기전은 배제할 수 있겠다.

동충하초 섭취시 모든 실험군의 혈장과 간의 지질 과산화는 대조군에 비해 낮거나 낮은 경향을 나타내었고 특히 혈장에서는 TP-2군들의 지질과산화 농도가 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 적혈구에서의 SOD 활성은 모든 군이 유의적 차이를 나타내지 않았고, 간에서의 SOD 활성은 TP-2군을 제외한 나머지 군들이 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이는 본 실험에서 생후 4주된 어린 동물을 사용하였고 식이 구성을 비롯한 실험조건이 산화적 스트레스가 적어 과도한 과산화를 유도하지 않고, 생체내 항산화 효소의 활성을 증가시키지 않은 범위 내에서 활성산화 물질들이 대사 되었기 때문으로 사료된다. 또한 간에서의 XOD 활성은 유의적이지 않으나 모든 군이 대조군보다 낮은 경향을 나타내어, 동충하초의 free radical 생성 억제 효과를 기대하게 한다. 전체적으로 동충하초를 섭취시 대조군과 비교하여 항산화능이 높은 경향을 나타내었고 실험군 중 ME-4군의 항산화능이 가장 뛰어났다.

Mitogen에 의한 비장세포 증식 정도를 알아보았는데, ConA와 LPS를 첨가하여 MTT 방식으로 측정된 결과, TP-2군에서 20µg/ml 농도의 mitogen에 대한 T 임파구 및 B 임파구의 증식능이 대조군에 비해 증가됨을 볼 수 있었다. 말초 혈액의 면역세포 분포를 측정된 결과에서는 각 실험군에서의 면역 효과가 달리 나타났다. 즉 TP-4군의 경우 대조군과 비교시 helper T cell(CD4)는 감소하지 않으면서 cytotoxic T cell(CD8)이 증가하였고, MHC class II는 증가하고 APC 역할을 하는 G/M와 B cell이 증가하지 않아 정상 쥐일 경우 높은 수준의 *P. tenuipes* 건분 성분은 과도하게 특이적 세포성 면역을 활성화시킬 수 있음을 보여

주었다. TP-2군의 경우 대조군과 비교시 MHC class II는 유사하지만 G/M가 높아져 항균 면역증강 효과를 기대하게 하나, 임파구 subpopulation 활성 억제가 나타나므로 정확한 판단은 하기 어렵다. ME-4군의 경우는 대조군과 비교해 helper/cytotoxic T cell ratio가 증가하였고 MHC class II는 높은 경향을, G/M와 IgG₁은 낮은 경향을 띄어 면역세포 분포의 급격한 변화를 유발하지 않고 세포성 면역증강 효과를 나타내었다.

따라서 본 실험에 따르면, 품종이 다른 동충하초 *P. tenuipes*와 *C. militaris* 모두 항산화능과 면역능을 향상시키는 데 기여하나 제조방법을 달리한 동충하초 시료의 효과가 품종과 식이내 수준에 따라 다르게 나타남을 볼 수 있었다. 즉 *C. militaris*의 물추출물(ME-4)은 항산화 및 면역능을 가장 효과적으로 향상시켰으나, *P. tenuipes*의 경우에는 전분을 2% 수준으로 첨가한 군(TP-2)의 항산화능이 *C. militaris* 물추출물군에는 못 미치나 대조군에 비해 다소 증가됨을 볼 수 있었다.

Literature cited

- 1) Han D, Song HN, Kim SH. Dongchunghacho: A new functional food material. *Food Science and Industry* 32(3): 56-63, 1999
- 2) Cho SY, Ji SD, Lim SH, Jung YY, Nam SH, Lee SY, Bang GH, Song BK, Woo GH, Lee HS. Research report: Collection of useful entomopathogenic fungi(*Cordyceps*) and mass production of *Cordyceps* using the silkworm, *Bombyx mori* L. *Rural Development Administration, Korea* 3-67, 1999
- 3) Seong JM, Kim SH, Lee HJ. Research report: Classification and identification of entomopathogenic fungi species. *Rural Development Administration, Korea* 215-234, 1999
- 4) Liang YL, Liu Y, Yang JW, Liu CX. Studies on pharmacological activities of cultivated *Cordyceps sinensis*. *Phytotherapy Res* 11: 237-239, 1997
- 5) Manabe N, Sugimoto M, Azuma Y, Taketomo N, Yamashita A, Tsuboi H, Tsunoo A, Kinjo N, Nian-Lai H, Miyamoto H. Effects of the mycelial extract of cultured *Cordyceps sinensis* on in vivo hepatic energy metabolism in the mouse. *Jpn J Pharmacol* 70: 85-88, 1996
- 6) Guan YJ, Hu Z, Hou M. Effect of *Cordyceps sinensis* on T-lymphocyte subsets in chronic renal failure. *Chin J Integr Med* 12(6): 338-339, 1992
- 7) Bao ZD, Wu ZG, Zheng F. Amelioration of aminoglycoside nephrotoxicity by *Cordyceps sinensis* in old patient. *Chin J Integr Med* 14(5): 271-273, 1994
- 8) Zhu JL, Liu C. Modulating effects of extractum semen persicae and cultivated *Cordyceps sinensis* hyphae on immuno-dysfunction of inpatients with posthepatic cirrhosis. *Chin J Integr Med* 12(4): 207-209, 1992
- 9) Kuo YC, Lin CY, Tsai WJ, Wu CL, Chen CF, Shiao MS. Growth inhibitors against tumor cells in *Cordyceps sinensis* other than cordycepin and polysaccharides. *Cancer Invest* 12(6): 611-615, 1994
- 10) Chen GZ, Chen GL. Effects of *Cordyceps sinensis* on murine T lymphocyte subsets. *Chin Med J* 104(1): 4-8, 1991
- 11) Kuo YC, Tsai WJ, Shiao MS, Chen CF, Lim CY. *Cordyceps sinensis* as an immunomodulatory agent. *Am J Chin Med* 24(2): 111-125, 1996
- 12) Liu Y, Wu C, Li C. Antioxidation of *Paecilomyces sinensis*(S. pnov.). *Chin Med J* 16(4): 240-242, 1991
- 13) Kiho T, Yamane A, Hui J, Usui S, Ukai S. Polysaccharide(CS-F30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effect on glucose metabolism in mouse liver. *Biol Pharm Bull* 19: 294-296, 1996
- 14) Lin Y. Pharmacological Effect on *Cordyceps sinensis*. Paper presented at 1st international Symposium on *Cordyceps*. The Korean Society of Sericultural Science and the Korean Society of Life Science, Seoul, Korea 35-44, 1999
- 15) Zhu JS, Halpern GM, Jones K. The Scientific Rediscovery of an Ancient Chinese Herbal Medicine: *Cordyceps sinensis* Part II. *The Journal of Alternative and Complementary medicine* 4(4): 429-457, 1998
- 16) Cho SY. Cultivation and Distribution of Silkworm-dongchunghacho (*Paecilomyces japonica*). Paper presented at 1st international Symposium on *Cordyceps*. The Korean Society of Sericultural Science and the Korean Society of Life Science, Seoul, Korea 73-82, 1999
- 17) Cho SY. Effect and use of *Paecilomyces japonica*. *Nutrition and Diets* 217: 20-26, 2000
- 18) Han D, Song HN, Kim YY. The present condition, the point at issue and the prospect of research of dongchunghacho. *Food Science and Industry* 32(4): 67-71, 1999
- 19) Zhu JS, Halpern GM, Jones K. The Scientific Rediscovery of an Ancient Chinese Herbal Medicine: *Cordyceps sinensis* Part I. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 4(3): 289-303, 1998
- 20) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
- 21) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vallin reaction. *Am J Clin Nutr* 53: 89, 1970
- 22) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
- 23) Yagi K. Assay for Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymology Academic Press Inc. NY* 105: 328-331, 1984
- 24) Buckingham KW. Effect of Dietary Polysaturated/Saturates Fatty Acid Ratio and Dietary Vitamin E on Lipid Peroxidation in the Rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
- 25) Floh L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, tting F. Convenient Assays for Superoxide Dismutase. In: Miguel J, Quintanilha AT, Weber H. eds. *CRC Handbook of free Radicals and antioxidants in Biomedicine* 287-293, 1992
- 26) Stripe F, Della Corte E. The Regulation of Rat Liver Xanthine Oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863, 1969
- 27) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 28) Manthorpe M, Fagnani R, Skaper S, Varon S. An Automated Colorimetric Microassay for Neuronotrophic Factor. *Devel Brain Res* 25: 191-198, 1986
- 29) Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *Journal of Immunological Methods* 94: 57-63, 1986
- 30) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65: 55-63, 1983
- 31) Li L, Bao TT, Song ZY. A preliminary study on mechanisms of lowering cholesterol by *Cordyceps sinensis* Cs-4. *Pharmacology Clinics Traditional Chinese Med* 8(2): 6-9, 1992
- 32) Nam HK. Some Factors Affecting Lipid Metabolism. *J Korean Soc Food Nutr* 15(2): 191-200, 1986
- 33) Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: aged-related disease. *Bulletin of Food Technology* 10(2): 4-26, 1997
- 34) Han D, Kim SJ. The SOD-like activity and development of functional food. *Bulletin of Food Technology* 7(4): 41-49, 1994
- 35) Husain SR, Cillard J, Cillard P. Hydroxyl Radical Scavenging activity of Flavonoids. *Phytochemistry* 26(9): 2489-2491, 1987

- 36) Shin KH, Lim SH, Ku KA, Lee SH, Yu NM, Jung SH. Research report: Screening and evaluation of pharmacologically active principles from cultivated fungus of *Cordyceps sp.* growing on the silkworm, *Bombyx mori* L. *Rural Development Administration, Korea*, 69-171, 1999
- 37) Krenitsky TA. Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism. *Exp Med Biol* 41: 57-64, 1973
- 38) Kato S, Kawase T, Aiderman J, Inatomi N, Lieber CS. Role of Xanthine Oxidase in Ethanol-Induced Lipid Peroxidation in Rats. *Gastroenterology* 98: 203-210, 1990
- 39) Klinenberg JR, Goldfinger SE, Seegmiller TE. The Effectiveness of the Xanthine Oxidase Inhibitor Allopurinol in the Treatment of Gout. *Annals of Internal Medicine* 62(4): 639-647, 1965
- 40) Roitt, Brostoff, Male. Immunology, Forth edition. *Mosby*, 1996
- 41) Kuby J. Immunology, Second edition. *W. H. Freeman and Company New York*, 1994
- 42) Jung TH. A lecture of Immunology. *Kyungpook National University, Korea*, 1993
- 43) Sherman AR, Hallquist NA. Immunology. *Korean J Nutrition* 25(4): 287-306, 1992
- 44) Park SH. Ontogenesis of B cell and T cell. *Korean J Nutrition* 25(4): 307-311, 1992
- 45) Jung TJ. The assessment method of human's immune function. *Korean J Nutrition* 25(4): 321-325, 1992
- 46) Choi MA, Lee WK, Kim MS. Identification and Antibacterial Activity of Volatile Flavor Components of *Cordyceps militaris*. *J Food Sci Nutr* 4(1): 18-22, 1999