

누에 나방에 있어서 한국산 겨우살이(*Viscum album coloratum*) 추출물의 생명연장 효과

정희윤¹ · 이안나¹ · 김세중¹ · 박성민¹ · 송태준¹ · 고병웅¹ · 김영훈¹ · 안효선¹ · 유영춘² · 민병렬³ · 김종배*

¹한동대학교 생명식품과학부 생명과학 연구실, ²건양대학교 의과대학 미생물학교실, ³익투스 교육센터

Effect of Korean Mistletoe (*Viscum album coloratum*) Extract (KME) on the Extensions of Life span in Silkworm Moth, *Bombyx Mori*

Hoe-Yune Jung¹, An-Na Lee¹, Sae-Jung Kim¹, Sung-Min Park¹, Tae-Jun Song¹, Byung-Woong Ko¹,
Young-Hoon Kim¹, Hyo-Sun An¹, Yung-Choon Yoo², Byeng-Ryel Min³ and Jong-Bae Kim*

¹School of Life and Food Sciences, Handong Global University, Pohang, Gyungbuk 791-708, Korea

²Department of Microbiology, College of Medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

³Centro Educativo Ichthus, Chiapa, Mexico

Abstract – *Viscum album coloratum* (Korean mistletoe; KM) is a semi-parasitic plant growing on various trees. This plant has been shown to possess a variety of biological functions such as immunomodulation, apoptosis-induction and antitumor activity. However, there is no information about how the extract of KM affects life span of the host. In this study, in order to examine the effect of KM on the longevity of the host, we investigated whether a Korean mistletoe extract (KME) was able to extend the life length in an experimental model using the spring silkworm moth of *Bombyx mori* (*Lepidoptera bombycidae*). We established a model test for survival in which all of the male and female moths died within 18 days after the beginning of the experiment. Mean survival time of female moths was longer than that of male moths. Both male and female moths fed with KME containing diet (200 or 400 µg/head/day) showed significantly higher mean survival times than those of the control moths. Studying the effect of KME on prolongation of mean survival time showed that male moths were more susceptible than female moths. The moths fed with KME-containing diet showed a slight decrease in body weight. Interestingly, however, no difference in food intake was observed between moths fed with KME-containing diet and those with control diet. In analysis for mRNA increase in the SIRT2 gene, a member of the Sir2 gene family playing important roles in regulation of cell death and prolongation of life span, moths fed with KME-containing diet showed a significant increase in SIRT2 gene expression. These results suggest that KME has a potential to extend the life span in *Bombyx mori*, and its effect is partly associated with increase in SIRT2 gene expression.

Key words – Extension of life span, Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract, moth (*Bombyx mori*), SIRT2,

생명연장은 생명과학 관련 연구의 최대 목표요 인간의 최대 관심이기도 하다. 그러나 이에 관한 연구는 그 중요성에 비해 아직 획기적이고 뚜렷한 기전을 찾지 못하고 있을 정도로 복잡하고 어려운 과제다. 노화를 시간경과에 따라 생체기능의 불가역적인 저하로 생명력이 감퇴되어가는 현상으로 말한다면 결국은 이로 인해 생명기간이 결정된다고 볼 수 있다. 생명연장 기전이 밝혀지면 이에 근거한 생명연장

방법도 강구될 수 있기 때문에 매우 중요한 연구분야중 하나이다. 최근에는 Resveratrol (RSV)이라는 포도껍질 속의 polyphenol류 성분이 항산화, 항노화, 생명연장, 대사기능 촉진 등 다양한 생리활성이 밝혀지고 있어 RSV와 같은 새로운 물질탐색과 개발에도 지대한 관심을 나타내고 있다.^{1,4)} 특히 노화과정에서의 에너지대사에 관한 연구는 생명연장과 관련하여 높은 관심을 받고 있다.³⁾ 에너지 대사에 관여하는 조절 유전자를 변이시키면 수명연장의 효과가 있다는 것이 입증되었기 때문이다. Guarente 등은 효모 (*Saccharomyces cerevisiae*)에 있어서 유전자 Sir2 (Silent information regulator

*교신저자 (E-mail): jbkim@handong.edu
(Tel): 054-260-1350

2)가 생명연장과 관련이 있음을 처음으로 밝힌 바가 있다.⁵⁾ 이후 이에 근거하여 생명연장과 관련한 연구에서는 Sir2 관련 유전자 발현의 조사는 필수적인 사항으로 인식 되었다. Sir2 관련 유전자는 포유동물에 있어서는 SIRT1을 비롯하여 일곱가지가 알려져 있고 이들은 PGC-1 α 와 함께 에너지저장에 적응력을 높이고 간에 있어서 glycogen합성과 해당작용 조절에도 관여함은 물론 생명연장, apoptosis, DNA수정(repair) 등과도 밀접한 관련이 있는 것으로 보고 되었다.⁶⁻⁹⁾ 이중 SIRT2는 탈아세틸화 효소로, DNA 손상을 포함하는 다양한 스트레스 자극에 반응하는 세포사를 조절하고, 유사분열 (M 기)을 하는 동안 풍부하게 증가되는 하나의 세포질 단백질이다.

생명연장을 위한 실험적인 모델로 지금까지 사용된 대상은 주로 꼬마선충 (*C.elegans*), 초파리, killfish, 효모 및 포유동물로 생쥐가 사용되었다. 각각마다 특징이 있어 어느 것이 좋다고 말하기는 어렵다. 따라서 보다 새로운 모델이 확립된다면 생명연장관련연구에 상당한 영향력을 미칠 수가 있다. 본 연구에서 사용된 누에나방은 (*Bombyx mori*) 나비목 누에나방과 (*Lepidoptera bombycidae*)에 속하는 완전변태를 하는 나방이다. 예로부터 동의보감을 비롯한 동양 의약서에는 누에가 소갈증, 고혈압, 당뇨 및 불면증에 효과가 있다고 기록하고 있으며,¹⁰⁾ 실크단백질은 체중 및 체지방 감소, 항산화 활성, 뇌기능 활성화와 항종양 효과 등도 알려져 있어 누에의 생리활성에 관한 정보는 많이 보고되어 있다.¹¹⁾ 또한 누에 나방의 수명에 관한 연구도 몇몇 연구자들에 의하여 일부 이루어진 바 있으나,¹²⁻¹³⁾ 약물 혹은 생리활성을 가지는 천연소재를 누에에 적용하여 수명연장효과를 검토한 연구보고는 없는 실정이다.

겨우살이는 참나무, 팽나무, 오리나무, 동백나무 등에 기생하는 반기생식물로 매우 다양한 생리활성을 갖고 있다. 특히 유럽 에서는 오래 전부터 암을 비롯한 여러 질병에 대하여 임상적으로 사용하여 왔다.¹⁴⁻¹⁵⁾ 본 논문의 저자들은 10여 년에 걸친 한국산 겨우살이 (KME)의 생리활성에 관한 연구를 통해 한국산 겨우살이가 항암효과¹⁶⁾ 뿐만 아니라 점막면역 증진효과,¹⁷⁾ 항산화,¹⁶⁾ 항당뇨,¹⁹⁾ 항치매 등의 실로 다양한 활성을 갖는다는 사실을 입증하였고, 최근에는 KME가 포도의 RSV처럼 미토콘드리아 기능을 증진시키는 효과도 있음을 확인한 바가 있다 (미발표 자료).

흥미로운 사실은 미토콘드리아 기능을 증진시키는 효과는 생명연장과의 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있으며,²⁰⁾ 이를 근거로 본 연구에서는 누에와 누에 나방을 생명연장 효과 조사를 위한 실험모델로 선택하여, 겨우살이 추출물의 생명연장 효과를 조사하였고, 동시에 누에의 체중 변화와 누에나방의 SIRT2 유전자의 발현을 측정하여 생명연장과의 상호 관련성을 확인하였다. 그 결과 겨우살이 추출물을 급이 시킨 누에나방에 있어서 수명연장 효과가 관찰되었으며, 또한 수명연장에 관련된 SIRT2 유전자의 발현

량이 크게 증가하는 것을 확인하였다. 이 연구결과는 한국산 겨우살이가 생명체의 생명을 연장시키는 효과가 있음을 제시하는 최초의 보고이며, 아울러 누에가 천연물을 비롯하여 생명체의 수명연장에 관여하는 약제의 활성을 스크리닝하기 위한 *in vivo* 모델로서 적용 가능한 실험모델 곤충임을 입증하였다.

재료 및 방법

겨우살이 추출물의 제조 - 본 연구를 위한 시료는 강원도 양양 지역에서 서식하는 참나무를 숙주로 하여 성장하는 겨우살이로서 2월에 채취한 것을 사용하였다. 겨우살이 추출은 먼저 세절한 겨우살이의 잎과 줄기에 증류수를 넣고 분쇄한 후, 4°C에서 16시간 동안 교반 하였다. 원심분리 (8,000 rpm/30 min, 4°C)를 실시하여 얻은 상등액을 membrane filter (0.45 μ m)를 사용하여 여과한 후, 그 내액을 동결건조 하였다 (이하 KME로 약칭).¹⁵⁾ 이 동결건조물은 증류수 1 ml로 1, 2 mg을 녹여 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

누에 사육 및 겨우살이 추출물의 투여방법 - 공시 품종인 누에 (*Bombyx mori*; *Lepidoptera bombycidae*)는 영천양잠농업협동조합에서 양잠하고 있는 4령 백옥잠 품종을 분양 받아 사용하였다. 누에 사육방법은 잠업시험 표준사육관리법에 준하여 온도 23~24°C, 습도 65-75%로 하였다. 4령째부터 겨우살이 추출물 (1~2 mg/ml) 6 ml을 뿔잎 100 g에 분무하고 저온 건조 시킨 후 매일 먹이로 사용하였다.

누에 번데기 및 누에 누에나방의 보호 및 암수 구분 - 번데기 및 누에나방의 보호조건은 온도 23~24°C, 습도 70~75% 이었고, 번데기에서 누에나방으로 새로 나올 때 교미 시키지 않고 이른 아침부터 저녁까지 관찰하여 누에 나방이 고치를 틀고 나올 때 각각을 페트리 디쉬 (지름 55 mm, 높이 13 mm)에 보관하였다. 암수 감별은 무정란을 낳는 것을 통해 확인하였다.

생명연장 효과 실험 - 수명조사는 겨우살이 추출물을 먹고 자란 누에나방과 일반 뿔잎을 먹고 자란 누에나방을 각각 암수 구별하여 매일 오후 4시를 기준으로 하여 생사를 판정하였다. 암수 생존율은 10~15마리의 나방의 생존기간을 합산하여 나방수로 나누어 각각의 평균수명으로 하였다.

노화 관련 유전자 (SIRT2)의 발현조사 - 누에나방의 RNA를 추출하기 위하여 Trizol (Invitrogen)이 1.5 ml이 들어있는 homogenizer에 그룹당 누에나방 (나방으로 변태 후 7일째)을 5마리씩 날개와 다리를 절개한 나머지 부분을 넣어 같은 후 23 Gage 주사바늘로 3회 통과 시킨 후 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액에 chloroform (Sigma)을 이용하여 단백질을 제거한 후 isopropanol로 RNA를 침전시켜 분리하였다. 그 후 위에서 분리한 전체 RNA를 5 μ g/ μ l의 농도로 맞춘 후 oligo DT primer를 사용하여

superscript II reverse transcriptase (BD bioscience, USA)로 1시간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. cDNA합성을 종료한 후, real-time RT-PCR을 통해 유전자의 증폭을 행하였으며, real-time RT-PCR assay는 7500 real-time RT-PCR system (Applied biosystems; Roche Diagnostics Ltd, Lewes, UK) 기기를 사용하였다. Optical 96well plate에 2X SYBR green Mix를 10 μ l 넣은 후에 10 pmol 농도의 primer와 cDNA 그리고 증류수로 20 μ l을 맞추는 후에 40회의 relative quantitative real-time RT-PCR을 실시하였다. Real-time RT-PCR을 위한 조건은 ABI에서 제공하는 순서에 따라 실시하였다. 간단히 요약하면 처음 50°C로 2분 동안 유지시킨 다음 hot-state인 polymerase를 활성화 시키기 위해서 90°C로 10분 가열하고 난 후 95°C로 15초 가열한 다음 60°C에서 1분 동안 반응시켰다. 이 과정을 40회 반복하였으며 melting curve는 65°C에서 95°C까지 0.1°C씩 상승시키며 작성하였다. 유전자의 발현 정도를 확인하기 위해 사용된 primer의 구조는 다음과 같다. Sense strand β -actin, 5'-CTC GCC TCC CTC TCT ACC TT-3', Anti-sense strand β -actin, 5'-CAA CAA CAA CAT TCC GTT CG-3'; Sense strand SIRT2, 5'-GGG ATG AAC TCC GAG CAT TA-3', Anti-sense strand SIRT2, 5'-TGG CTT TTC TTC GCT TCA TT-3'. 누에에 대한 유전정보는 NCBI를 참고 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 하였으며 그 정보를 바탕으로 MIT에서 제공하는 Primer Input 0.4.0 프로그램 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)을 통해 primer를 디자인하고 (주)바이오니아에 의뢰하여 합성하였다.

생존시수 및 유전자 발현의 통계적 분석방법 - 실험 결과의 통계처리는 GraphPad Prism (version 4.0 GraphPad Software, USA)을 이용 하였다. 통계적 의미는 student's *t*-test로 평가하였으며 P value는 0.05 미만을 의미 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

누에 나방에서 암수간의 생존율 비교 - 겨우살이 추출물의 생명연장효과를 조사하기에 앞서서 이미 알려진 연구결과를 확인하고 대조구로서 실험 조건의 재현성을 확인하고자 암수 누에나방간의 생존기간의 차이를 조사하였다. Fig. 1. A 와 B 에서 보는 바와 같이 생존율에 있어서 암컷이 수컷에 비해 높았으며, 평균수명에 있어서도 수컷은 10.5일, 암컷은 13.7일로 암컷이 3일 이상 (30%) 높은 것으로 관찰되었다. 한편 Murakami¹²⁻¹³⁾는 이전 연구결과에서 누에나방의 평균생존기간은 암컷이 7-8일, 수컷이 4-5일 정도로 암컷의 생존기간이 수컷보다 평균 1.7배(약 70%) 정도 긴 것으로 보고하였다. 평균생존일수를 비교해 볼 때, 본 연구에서 사용한 누에나방의 평균생존기간이 다소 긴 것으로 나타났다. 이는 누에의 품종이 다르기 때문인 것으로 추정된다. 하지만 암컷과 수컷의 수명 비교결과는 Murakami의 연구결과와 비슷한 경향을 나타내는 것으로 확인되었다.

겨우살이 추출물의 생명연장 효과 - 겨우살이 추출물의 생명연장 효과를 확인하기 위하여 누에에 추출물을 급여한 후 누에 나방의 생존율을 조사하였다. Fig. 2. B 와 D 에서 보는 바와 같이 겨우살이 섭취군 암수 누에나방의 평균수명은 대조군의 암수 평균수명보다 현저하게 증가함을 알 수 있다. 수컷의 평균수명은 10.5일인데 반하여 겨우살이 200 μ g/head/day를 섭취한 수컷은 13.5일, 겨우살이 400 μ g/head/day를 섭취한 수컷에서는 14.5일로 대조군에 비해 30~40% 가까이 평균수명이 연장되었으며, 암컷에 있어서도 대조군 암컷의 평균수명은 12.7일을 나타낸 반면 겨우살이 처리군 암컷의 평균수명은 15.5일로 20% 가까이 연장되었다. 겨우살이를 급여했을 때의 암수의 평균수명의 변화를 비교해보면, 특별히 수컷에서 생존일수가 현저하게 증가하여 암컷과 거의 비슷한 수치를 나타내었고,

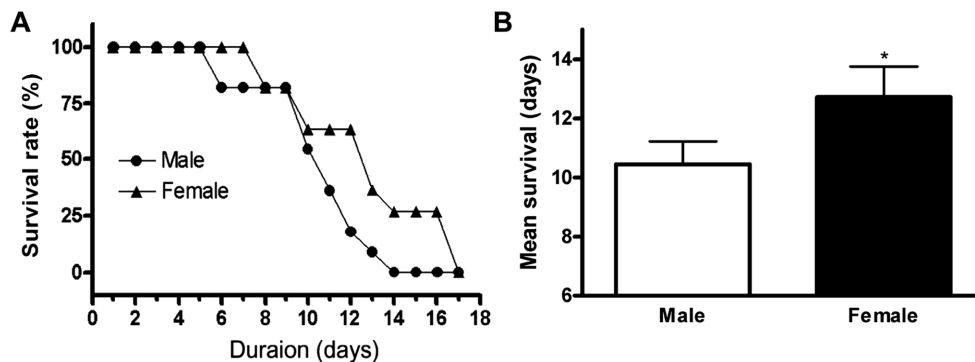


Fig. 1. Comparison of survival rates between male and female silkworm moths. Female or male silkworm moths (11 moths per group) were fed with control diet for the indicated days. Survival rates were calculated as the percentage of the survivors of each group at the indicated period. Mean survival time was expressed as the mean period of survival (day) of silkworm moths per group. * $P < 0.001$ by Student's two-tailed *t* test compared with the male group.

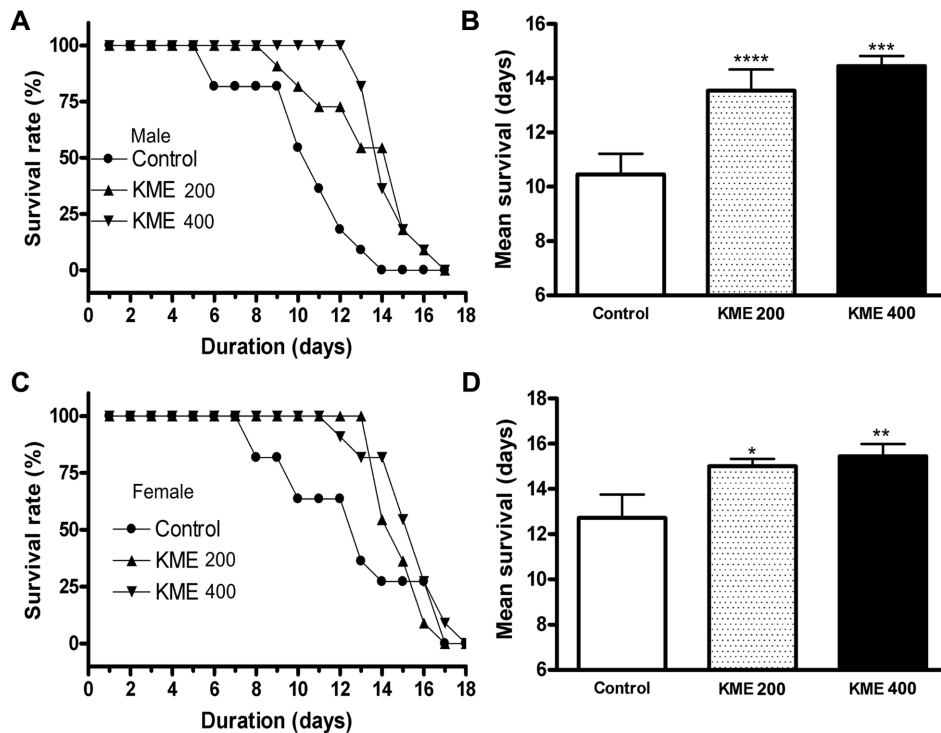


Fig. 2. Effect of KME-containing diet on the survival of silkworm moths. Groups of eleven silkworm moths were given diet admixed with or without KME (200 or 400 $\mu\text{g}/\text{head}/\text{day}$) according to the methods described in Material and Methods. Survival rates (A, C) and mean survival time (B, D) for male (A, B) and female (C, D) silkworm moths were calculated using the same method as for Fig. 1. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.000005$, **** $P < 0.0000005$ by Student's two-tailed t test compared with the control group.

겨우살이를 투여하지 않았을 때의 암수의 차이에 비해 투여하였을 시는 30%에서 7%정도로 현저히 감소하는 것으로 확인되었다. 정확한 기전은 알 수 없지만, 아마도 수컷이 암컷에 비해 한국산 겨우살이 추출물에 대한 감수성이 높은 것이 아닌가 추정된다. 지금까지 생명연장에 관한 연구는 소식 (caloric restriction) 또는 polyphenol류인 RSV에 의한 효과가 보고되었으나, 그 연구결과를 보면 *C. elegans*인 경우 15%, 초파리인 경우 29%, 효모에선 60%, killfish에서는 27~59%, 포유동물인 생쥐의 경우 20%의 수명연장 효과를 나타내었다고 보고하고 있다.^{2,3,21-24} RSV는 대상에 따라 다른 효과를 나타내었고 또한 누에 나방의 경우 아직 보고한 사례가 없기 때문에 KME와 직접 비교는 어렵지만 본 실험에서 보여준 누에나방의 경우 30% 이상의 연장효과를 나타낸 것은 주목할만한 효과라 여겨지며 생명연장 또는 미토콘드리아 기능 촉진 등에 있어서 새로운 물질 탐색을 위한 후보 원료로 그 가치가 기대할 만한 것으로 사료된다. 보다 직접적인 연구는 향후 겨우살이 추출물을 이용해 이미 보고된 *C. elegans* 나 효모 또는 초파리 등을 대상으로 비교 실험하거나 누에에 있어서 RSV의 연장효과를 조사하면 상호 비교할 수 있을 것으로 기대된다.

겨우살이 추출물 섭취 시 누에 체중의 변화 - 4령제부

터 겨우살이 추출물 (1~2 mg 추출건조물/1 ml 증류수) 6 ml 뿌린 빙잎 100 g을 5령제까지 매일 10일간 섭취 실험을 수행하였다. 체중은 겨우살이 추출물을 섭취하기 시작한 시점에서 실험 종료 시까지 2일 간격으로 일정시간에 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 3A에 제시하였다. 빙잎 섭취 후 증가한 체중을 섭취 실험을 시작하였던 4령제 누에의 초기 체중으로 나누어 체중 증가의 현상을 분석한 결과, 겨우살이 추출물 급이군이 급이량에 의존하여 대조군에 비해 체중 증가의 경향이 감소하는 것으로 관찰되었다. 이는 겨우살이 추출물이 누에의 체중증가를 억제하는 효과가 있음을 시사하는 결과이다. 이러한 체중감소는 빙잎 섭취량의 감소에 의한 결과일 수도 있으므로, 그 가능성을 조사하기 하여 각 급이군의 1일 빙잎 섭취량을 측정 한 결과, 대조군과 겨우살이 추출물 투여군 사이에 섭취량의 차이는 없었다 (Fig. 3B). 생명연장효과를 나타내는 RSV도 비만억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있고,⁶ 칼로리 제한 (caloric restriction)도 비만억제에 의한 생명연장효과가 있으며 또한 SIRT1유전자 발현을 증가시키는 효과가 있음도 보고된 바가 있다.²⁵ 따라서 겨우살이 추출물 급이군에서 생명연장 효과와 더불어 체중증가 억제효과가 함께 관찰된 것은 상당히 의미 있는 결과라 여겨지며, 겨우살이 추

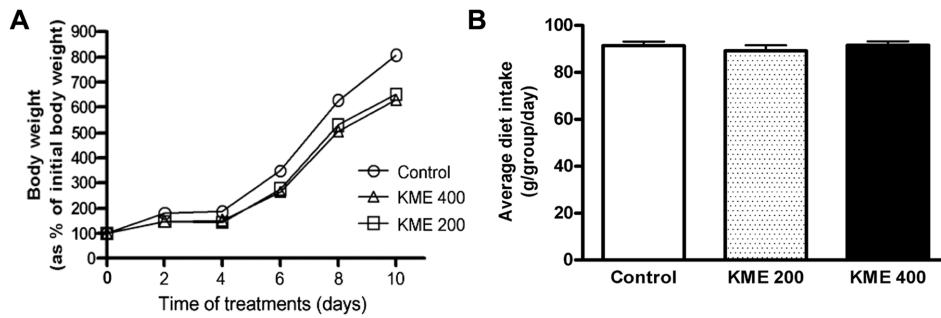


Fig. 3. Influence of KME-containing diet on body weight and diet intake of silkworm moths. Groups of 30 silkworm moths were fed with KME-containing diet, and the changes of body weight were expressed as % increase of each group. Average diet intake means the average weight (g) of diet ingested by each group per day.

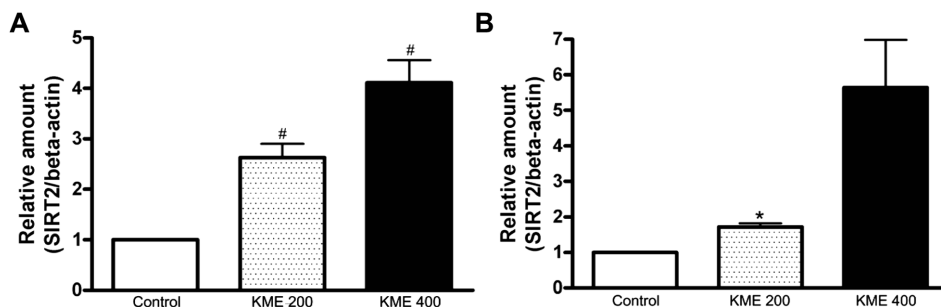


Fig. 4. SIRT2 mRNA expression in silkworm moths. Total RNA was extracted from each group of male (A) or female (B) silkworm moths fed with diet admixed with or without KME (200 or 400 µg/head/day) 7 days after the beginning of diet feeding. Expression of SIRT2 mRNA was detected by the method described in Materials and Methods. * $P < 0.05$, # $P < 0.01$ by Student's two-tailed t test compared with the control group.

출몰이 RSV와 유사한 작용을 통해 생명연장 효과를 유도하는 가능성이 있는 것으로 추정된다.

SIRT2 유전자의 발현에 미치는 영향 - 저자들은 이전 연구에서 겨우살이 추출물이 생명연장과 관련이 있는 SIRT1 유전자를 *in vitro* (생쥐근아세포)상에서 현저하게 증가시키는 작용이 있음을 관찰하고 (미발표 결과), 또한 Fig. 2에 제시된 바와 같이 *in vivo*상에서도 누에나방의 생명을 연장한 결과를 보였으므로, 누에에 있어서도 Sir2 관련 유전자인 SIRT2 유전자 발현을 증가시키려는가를 조사하였다. SIRT2 유전자 발현의 변화는 누에고치에서 나온 후 7일째의 누에나방을 이용하여 real-time PCR을 통해 측정하였다. Fig. 4의 결과에서 보는 바와 같이 수컷의 경우 급이량의존적으로 대조군에 비해 3~4배 SIRT2 유전자의 발현이 증가하였으며, 암컷의 경우도 양 의존적으로 2~6배 정도 발현이 증가하는 것으로 관찰되었다. 이는 겨우살이 추출물에 의한 생명연장 효능을 입증하는 분자생물학적 근거로서, 향후 보다 발전적인 연구를 위해 매우 의미 있는 연구 결과로 사료된다. 향후 겨우살이 추출물이 이들 유전자의 발현에 미치는 영향을 분자수준에서 해석함으로써 새로운 정보를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서 목표로한 두 가지의 큰 목적 중 첫째, 누에

를 생명연장 효과와 관련한 실험모델로의 적용 가능성에 관한 검토에서 누에는 생존기간이 10일 전후로 매우 짧고 또한 누에-고치-나방의 과정이 뚜렷이 구별할 수 있음은 물론 관찰과 사용이 매우 용이한 장점을 지니고 있어 생명연장효과 조사를 위한 실험모델로 충분히 적용 가능한 것으로 확인되었다. 더욱이 본 실험에서 보여준 바와 같이 생명연장 관련 유전자 SIRT2의 발현 변화와도 관련성이 있음을 보여주어 분자수준에서의 다양한 연구 가능성도 제시하였다. 둘째로, 겨우살이도 포도껍질의 RSV처럼 생명연장 효능이 있음을 누에 나방을 이용하여 입증하였다. 겨우살이 추출물이 이런 효능을 갖는다는 사실은 최초로 보고하는 것으로 겨우살이 관련 연구에서 새로운 연구분야를 여는 계기도 되며 또한 향후 생명연장에 관여하는 겨우살이 추출물 내의 활성성분을 동정함으로써 보다 구체적인 연구를 진행할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 건양대학교 고령친화 RIS사업단 2단계 지역연구고산업진흥사업 (2007-2010)의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

1. Stivala, L. A., Savio, M., Carafoli, F., Perucca, P., Bianchi, L., Maga, G., Forti, L., Pagnoni, U. M., Albini, A., Prosperi, E. and Vannini, V. (2001) Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *J. Biol. Chem.*, **276**: 22586-22594.
2. Valenzano, D. R., Terzibasi, E., Genade, T., Cattaneo, A., Domenici, L. and Cellierino, A. (2006) Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr. Biol.*, **16**: 296-300.
3. Baur, J. A., Pearson, K. J., Price, N. L., Jamieson, H. A., Lerin, C., Kalra, A., Prabhu, V. V., Allard, J. S., Lopez-Lluch, G., Lewis, K., Pistell, P. J., Poosala, S., Becker, K. G., Boss, O., Gwinn, D., Wang, M., Ramaswamy, S., Fishbein, K. W., Spencer, R. G., Lakatta, E. G., Le couteur, D., Shaw, R. J., Navas, P., Puigserver, P., Ingram, D. K., deCabo, R. and Sinclair, D. A. (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, **444**: 337-342.
4. Zang, M., Xu, S., Maitland-Toolan, K. A., Zuccollo, A., Hou, X., Jiang, B., Wierzbicki, M., Verbeuren, T. J. and Cohen, R. A. (2006) Polyphenols stimulate AMP-activated protein kinase, lower lipids, and inhibit accelerated atherosclerosis in diabetic LDL receptor-deficient mice. *Diabetes*, **55**: 2180-2191.
5. Guarente, L. (2000) Sir2 links chromatin silencing, metabolism, and aging. *Genes Dev.*, **14**: 1021-1026.
6. Marie, L., Carmen, A., Zachary, G., Hamid, M., Carles, L., Frederic, D., Nadia, M., Jill, M., Philip, L., Peter, E., Bernard, G., Marllu, L., Pere, P. and Johan, A. (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell*, **127**: 1109-1122.
7. Blander, G. and Guarente, L. (2004) The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.*, **73**: 417-435.
8. Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M. and Puigserver, P. (2005) Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, **434**: 113-118.
9. Sinclair, D.A. (2005) Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech. Ageing Dev.*, **126**: 987-1002.
10. Ryu, K. S., Lee, H. S. and Kim, Y. S. (1999). Pharmacodynamic study of power in mice administered to maltose, sucrose and lactose. *Korean J. Seric. Sci.*, **41**: 9-13.
11. Choi, J. H. and Kim, D. I. (1999) Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzyme in serum of rats. *Korean J. Seric. Sci.*, **41**: 141-146.
12. Murakami, A., Kuroda, Y. and Fukase, Y. (1986) Sex and strain differences in the life span of the adult silkworm, *Bombyx mori*. *Ann. Rept. Natl. Inst. Genetics (Japan)*, **36**: 49-50.
13. Murakami, A. (1989) Genetic studies on the silkworm adult lifespan heredity of the short adult lifespan (*sdi*). *Ann. Rept. Natl. Inst. Genetics (Japan)*, **39**: 67-68.
14. Rentea, R., Lyon, E. and Hunter, R. (1981) Biologic properties of Iscador: A *Viscum album* preparation: I. Hyperplasia of the thymic cortex and accelerated regeneration of hematopoietic cells following X-irradiation. *Lab Invest.*, **44**: 43-48.
15. Yoon, T. J., Yoo, Y. C., Hong, E. K., Cho, Y. H., Lee, S. W., Azuma, I., Yoo, B. L. and Kim, J. B. (1994) Effect of Korean mistletoe extracts on the induction of IL-1 and TNF- α from mouse macrophage. *Kor. J. Pharmacogn.*, **25**: 132-139.
16. Yoon, T. J., Yoo, Y. C., Choi, O. B., Do, M. S., Kang, T. B., Lee, S. W., Azuma, I. and Kim, J. B. (1995) Inhibitory effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on tumour angiogenesis and metastasis of haematogenous and non-haematogenous tumour cells in mice. *Cancer letter*, **97**: 83-91.
17. Song, S. K., Moldoveanu, Z., Nguyen, H. H., Kim, E. H., Choi, K. Y., Kim, J. B. and Mestecky, J. (2007) Intranasal immunization with influenza virus and Korean mistletoe lectin C (KML-C) induces heterosubtypic immunity in mice. *Vaccine*, **25**: 6359-6366.
18. Yao, H., Liao, Z. X., Wu, Q., Lei, G. Q., Liu, Z. J., Chen, D. F., Chen, J. K. and Zhou, T. S. (2006) Antioxidative flavanone glycosides from the branches and leaves of *Viscum coloratum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **54**: 133-135.
19. Gray, A. M. and Flatt, E. R. (1999) Insulin-secreting activity of the traditional antidiabetic plant *Viscum album* (mistletoe). *J. endocrinol.*, **160**: 409-414.
20. Pallàs, M., Verdaguer, E., Tajés, M., Gutierrez-Cuesta, J. and Camins, A. (2008) Modulation of sirtuins: new targets for antiageing. *Recent Patents CNS Drug Discov.*, **3**: 61-69.
21. Wood, J., Rogina, B., Lavu, S., Howitz, K., Helfand, S. L., Tatarb, M. and Sinclair, D. A. (2004). Sirtuin activators mimic calorie restriction and delay aging in metazoans. *Nature*, **430**: 686-689.
22. Johannes, H., Bauer, S. G., Graham, B. G. and Stephen, L. H. (2004) An accelerated assay for the identification of lifespan-extending interventions in *Drosophila melanogaster*. *PNAS*, **101**: 12980-12985.
23. Konrad, T. H., Kevin, J. B., Haim, Y. C., Dudley, W. L., Siva, L., Jason, G. W., Robert, E. Z., Phuong, C., Anne, K., Zhang, L. L., Brandy S. and David, A. S. (2003) Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* life span. *Nature*, **425**: 191-196.
24. Weindruch, R. and Walford, R. L. (1982) Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science*, **215**: 1415-1418.
25. Chen, D., Steele, A. D., Lindquist, S. and Guarente, L. (2005). Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. *Science*, **310**: 1641.

(2008년 10월 20일 접수)