

게르마늄 강화 송이균사체와 효모가 Streptozotocin 유발 당뇨 쥐의 혈당 및 혈청 지질에 미치는 영향

김완겸¹⁾ · 김혜자¹⁾ · 정명수^{2),3)} · 조화은¹⁾ · 최윤희¹⁾ · 이기남^{1),3)}*

¹⁾원광대학교 한의학전문대학원, ²⁾원광대학교 한의과대학, ³⁾원광대학교 한국전통의학연구소

Effects of Germanium-fortified *Tricholoma matsutake* Mycelium and Yeast on Blood Glucose and Serum Lipid in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Wangyeom Kim,¹⁾ Haeja Kim,¹⁾ Myongsoo Chong,^{2),3)} Hwaeun Cho,¹⁾
Yunhee Choi¹⁾ & Kinam Lee^{1),3)}*

¹⁾Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

²⁾College of Oriental Medicine, Wonkwang University,

³⁾Research Center of Korean Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

Abstract

Objectives : The purpose of this study was evaluated hypoglycemic effect of culture broth of germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium and yeast.

Methods : We examined α -glucosidase inhibitory activity, blood glucose level, concentration of serum lipid, and serum metabolic variables of *Tricholoma matsutake* mycelium and yeast fortified Germanium. in streptozotocin induced diabetic rat.

Results : In the α -glucosidase inhibitory activity, germanium-fortified yeast was significantly higher than germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium. The hypoglycemic effects of germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium was higher than germanium-fortified yeast. The activity of alkaline phosphatase(ALP), aspartate aminotransferase(AST) and alanine aminotransferase(ALT) was significantly lower in the germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium and yeast than in diabetic

· 접수 : 2009년 7월 23일 · 수정접수 : 2009년 8월 21일 · 채택 : 2009년 8월 22일

* 교신저자 : 이기남, 원광대학교 한의학전문대학원

Tel : 063-850-6836, Fax : 063-852-5594, E-mail : kinam1@wku.ac.kr

control(DC) group and diabetic positive control(PC) group. The concentration of total cholesterol and triglyceride of germanium-fortified yeast was significantly lower than germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium, DC group and PC group.

Conclusions : The results suggest that germanium-fortified *Tricholoma matsutake* mycelium and yeast have improvement effects in blood glucose, serum lipid and liver function.

Key words : organic germanium, *Tricholoma matsutake* mycelium, Yeast, diabetes mellitus, Streptozotocin(STZ).

I. 서론

게르마늄(Germanium dioxide, GeO_2 , 锗曼寧)은 1886년 독일의 화학자 Clemen Winkler가 최초로 발견한 아금속 반도체 물질로 자연계에는 동식물, 흙, 암석 등에 널리 분포되어 있다.¹⁾ 1930년 스페인 국경 Lourdes 지역의 게르마늄 함유 샘플이 질병치료 효과가 있는 것으로 최초로 알려지면서²⁾ 면역증강, 항산화, 항암활성 등의 약리효과가 연구되고 있으며³⁾ 식물계에서는 유기게르마늄(Organic germanium)의 형태로 인삼, 마늘, 영지, 명일엽, 알로에 등에 천연상태로 다량(100~160 ug/kg) 함유되어 있는 것으로 보고되었다.²⁾⁻⁴⁾

이러한 유기게르마늄은 게르마늄으로부터 촉매반응에 의해 화학적으로 합성되는 것으로 천연 생합성 유기게르마늄, 생체 함유 유기게르마늄, 화학 합성 유기게르마늄 등으로 분류되고 있으며, 특히 효모 등의 미생물은 무독화된 유기게르마늄을 자체적으로 합성하여 축적할 수 있는 것으로 보고되어 있어⁵⁾ *Saccharomyces sp.*를 이용하여 게르마늄이 결합된 단백질을 함유하는 효모를 대량 생산 하려는 시도가 이루어지고 있다.⁶⁾ 또한 효모 등의 미생물 세포 내에 축적된 게르마늄은 주로 수용성으로 대부분 핵산이나 단백질과 결합되어 있고⁷⁾ 균체

내에 축적된 게르마늄은 대부분 유기게르마늄으로 전환되어 있어 인체에 무독하며 다양한 생리활성능을 갖고 있는 것으로 보고되어 있다.⁸⁾ 이러한 지속적인 연구결과 효모는 게르마늄을 흡수하여 균체내에 자체적으로 축적시킬 수 있으며 이러한 균체내의 게르마늄은 대부분 유기게르마늄으로 전환되었음을 Wei 등⁹⁾이 보고하고 있어 최근에는 효모 외에 버섯류 균사체를 이용한 무기게르마늄의 유기게르마늄 전환에 관한 연구도 지속적으로 수행되고 있다.¹⁰⁾

송이버섯은 고등균류에 속하는 담자균류로서, 맛과 향이 뛰어나 식용으로 이용되고 있으며 β -glucan 등 다당체 성분이 함유되어 있어 면역증강, 항암활성, 콜레스테롤, 혈당 저하 등의 성인병 예방 효과가 있는 것으로 보고되어 있다.^{11,12)}

한편, 현대 산업사회의 대표적 대사관련 질환인 당뇨병은 췌장의 랑게르한스섬의 β -세포에서 인슐린 분비에 장애가 발생하거나 혈액내의 인슐린 저항성에 의해 당이 흡수 분해되지 않고 고혈당을 유지하여 발생하는 질병으로 주요사망원인인 심혈관계 질환의 독립위험인자로 인식되면서 천연물에서 혈당강하 물질을 찾고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.¹³⁻¹⁵⁾

이에 본 연구에서는 게르마늄 강화 배지에 송이 자실체와 동일한 효능을 지닌 송이균사체와 효모균체를 배양하는 방법을 통해 균체내로 게르마늄을 유입시켜 유기게르마늄을 생

김완겸 외 5인: 게르마늄 강화 송이균사체와 효모가 Streptozotocin 유발 당뇨 쥐의 혈당 및 혈청 지질에 미치는 영향

성하였으며 이렇게 생성된 송이균사체 유기게르마늄과 효모균체 유기게르마늄이 혈당 및 혈청지질에 미치는 효능을 streptozotocin(STZ)으로 유발된 당뇨쥐에서 비교 실험하였다.

서, 효모균체(*Saccharomyces cerevisiae* 7268)는 한국생명공학연구원에서 분양받아 계대 배양 후 실험에 사용하였다.

2. 시료 제조

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 연구에서는 PDB(Potato Dextrose Broth) 배지를 기본으로 하여 게르마늄(germanium dioxide, GeO₂)을 바이오헬스(주)에서 구입하여 게르마늄 함유 PDB배지의 원료로 사용하였으며, 사용균주로는 송이균사체(*Tricholoma matsutake* mycelium, 경북 울진산)는 국립산림과학원에

송이균사체와 효모균체 배양배지는 게르마늄(GeO₂)을 0, 1,000, 3,000 ppm의 농도로 PDB배지에 각각 용해한 후, 게르마늄 입자의 분산을 위해 2,450 MHz(1Kw)의 microwave로 10분간 처리하여 제조한 다음 121°C에서 20분간 멸균한 후 배지로 사용하였다. 농도를 달리해 제조한 게르마늄 함유 PDB배지(PDB+Ge medium)에 송이균사체와 효모균체 전배양액을 각각 5%(v/v)씩 접종하여 송이균사체는 24°C에서 14일간 진탕(170 rpm) 암배양 하고, 효모균체

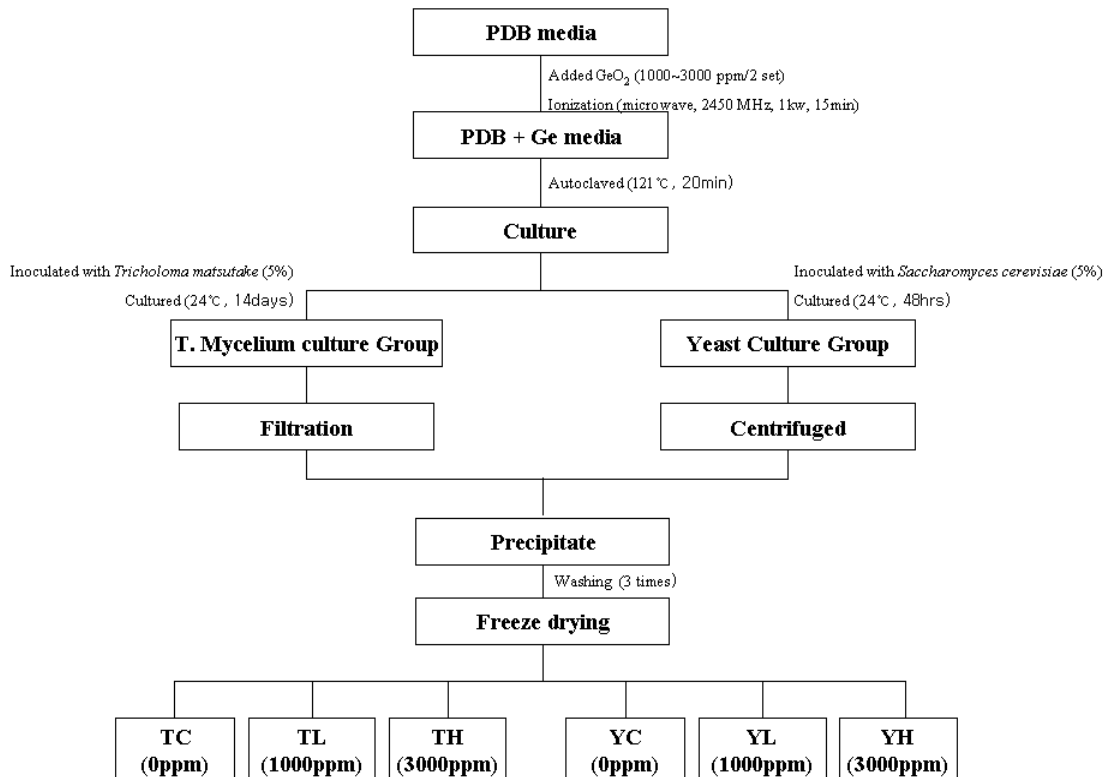


Fig. 1. Preparation of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium dioxide(GeO₂)

는 24°C에서 48시간 진탕배양하였다. 배양 후 송이균사체는 여과하여, 효모균체는 원심분리로 각각의 균체를 회수하여 증류수로 3회 세척한 후 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

0, 1,000, 3,000 ppm의 게르마늄 함유 PDB 배지에서 송이균사체를 배양한 배양물을 각각 TC, TL, TH로 명명하였으며, 효모균체를 배양한 배양물을 각각 YC, YL, YH로 명명하였다.

3. α -glucosidase 저해활성 측정

α -glucosidase 저해활성 측정은 Gua 등¹⁶⁾의 방법을 변형하여 수행하였다. 동결건조한 각 시료를 10ug/mL로 희석 후 0.1unit/mL의 α -glucosidase(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 효소액 50uL, 200mM PBS buffer(pH 7.0) 50 uL에 넣고 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 3mM pNPG(p-nitrophenyl- β -D-galactoside, Sigma, Co, U.S.A)를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 1 M glycine-NaOH를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다. 배양물에 대한 양성 대조군으로 acarbose를 사용하였다.

4. 실험동물 및 당뇨유발

실험동물은 6주령의 Sprague Dawley계(♂)의 흰쥐를 (주)샘타코에서 분양받아 실험실 환경(온도 22 ± 2°C, 습도 50 ± 5%, 명암주기 12시간)에서 한 마리씩 stainless cage에 넣어 일주일 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

당뇨유발은 실험동물을 16시간 절식시킨 후 streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 0.01 M citrate buffer(pH 4.5)에 50 mg/kg BW(body weight) 농도로 녹여 복강에 투여하여 유도하였다. 정상군은 동일한 스트레스를 주기 위해 동량의 citrate buffer 용액을 주사하였다. 당뇨유발 확인은 24

시간 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 비공복시 혈당농도가 300mg/dL 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 실험에 사용하였다.

실험동물은 정상대조군(normal control group; NC)과 당뇨유발군으로 분류하였으며, 당뇨유발군은 다시 당뇨대조군(diabetic control group; DC)과 양성대조군(positive control group; PC), T-0 투여군(TC), T-1000 투여군(TL), T-3000 투여군(TH), Y-0 투여군(YC), Y-1000 투여군(YL), Y-3000 투여군(YH)의 총 9군으로 나누었다. NC군과 DC군은 0.9% 식염수를, PC군은 경구용 당뇨치료제인 acarbose를 50 mg/kg BW 농도로, 각 배양물은 식염수에 200 mg/kg BW 농도로 희석하여 1일 1회 일정시간에 경구 투여하였으며 고형사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

5. 동물시료채취 및 분석

식이섭취량과 체중, 혈당은 3일 간격으로 일정시간에 측정하였고, 혈당측정은 혈당측정기(Accuchek Active, Roche Diagnostics Cmb, Germany)를 이용하여 꼬리정맥에서 채혈하여 측정하였다. 실험동물의 혈액은 실험종료 후 12시간 절식시켜 ether로 마취하여 개복한 후 복대동맥에서 취하였다. 채취한 혈액은 2시간 방치한 후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리한 후 분석시료로 사용하였다. 채혈 후 즉시 간, 신장, 고환을 분리 적출하여 생리식염수로 세척한 후 거즈로 수분을 제거하였고 각각의 무게를 측정하였으며 체중 100g 당 장기무게로 환산하였다.

혈청 중의 aspartate transferase(AST)와 alanine transferase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), 총 콜레스테롤, 중성지방, creatinine, BUN, uric acid의 농도는 각각의 측정용 kit (Bayer, USA)를 이용하여 자동분석기(Advia 1650, Tokyo, Japan)로 측정하였다.

6. 통계처리

모든 실험 결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이 검증은 일원 배치 분산 분석 (one-way ANOVA)를 사용하였으며 Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였으며 모든 값은 mean standard deviation 값으로 표기하였다.

사체 배양물의 경우 TC 17.27%, TL 8.06%, TH 5.05%의 활성을 나타내 게르마늄의 첨가로 α -glucosidase 저해활성이 낮아지는 것으로 나타났고, 효모균체 배양물은 YC 24.77%, YL 24.74%, YH 29.04%의 활성을 나타내 게르마늄의 첨가량과 관계없이 모든 시료가 acarbose 보다 활성이 높은 것으로 나타났다.

2. 체중증가, 식이섭취량 및 식이효율에 미치는 영향

III. 결 과

1. α -glucosidase 저해활성

각 배양물의 α -glucosidase 저해활성을 당뇨 치료제인 acarbose를 양성대조군으로 하여 비교 측정된 결과 거의 모든 농도에서 효모균체 배양물이 양성대조군인 acarbose와 송이균사체 배양물보다 유의적으로 높게 나타났다. 송이균

실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율의 변화를 3일 간격으로 측정한 결과 15일간의 체중 증가량은 NC군이 5.55 g/day로 가장 높게 나타났고 나머지 실험군은 NC군에 비해 체중증가량이 낮게 나타났으며 군 간의 유의적 차이는 없었다. 식이섭취량에서는 큰 차이는 나타나지 않았으나 TL군이 유의적으로 NC군과 DC군에 비해 낮은 것으로 나타났고 다른 실험군들은 NC, DC군보다 다소 높은 것

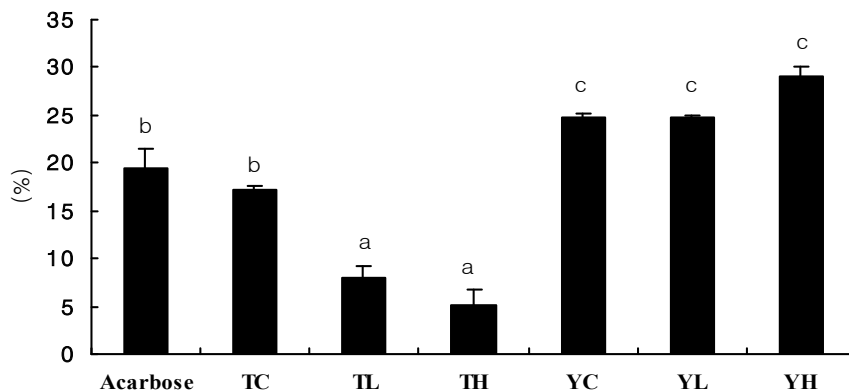


Fig. 2. α -glucosidase inhibitory activities of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium All values are mean \pm S.E.

Alphabet: Different superscripts in the columns indicate significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

TC: T-0 ppm GeO_2 culture group, TL: T-1000 ppm GeO_2 culture group, TH: T-3000 ppm GeO_2 culture group, YC: Y-0 ppm GeO_2 yeast culture group, YL: Y-1000 ppm GeO_2 culture group, YH: Y-3000 ppm GeO_2 culture group

Table 1. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on body weight gains, feed intake and feed efficiency ratio in STZ-induced diabetic rats

Group	Body weight gain (g/day)	Feed intake (g/day)	Feed efficiency ratio (%)
NC	5.55 ± 0.24 ^b	25.43 ± 0.32 ^{ab}	21.88 ± 1.09 ^b
DC	0.73 ± 0.46 ^a	26.42 ± 0.51 ^{ab}	2.77 ± 1.78 ^a
PC	1.11 ± 0.39 ^a	27.33 ± 0.39 ^b	4.17 ± 1.53 ^a
TC	0.56 ± 0.44 ^a	26.66 ± 0.55 ^b	2.15 ± 1.71 ^a
TL	0.40 ± 0.36 ^a	24.40 ± 1.78 ^b	2.05 ± 1.86 ^a
TH	-0.12 ± 0.39 ^a	27.17 ± 0.15 ^b	-0.47 ± 1.42 ^a
YC	1.06 ± 0.35 ^a	26.98 ± 0.27 ^b	3.96 ± 1.33 ^a
YL	0.54 ± 0.10 ^a	27.70 ± 0.40 ^b	2.00 ± 0.42 ^a
YH	0.46 ± 0.48 ^a	26.51 ± 0.27 ^b	1.72 ± 1.84 ^a

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test (p<0.05).

NC: normal control group; DC: diabetic control group; PC: diabetic positive control group; TC: T-0 ppm GeO₂ culture group; TL: T-1000 ppm GeO₂ culture group; TH: T-3000 ppm GeO₂ culture group; YC: Y-0 ppm GeO₂ culture group; YL: Y-1000 ppm GeO₂ culture group; YH: Y-3000 ppm GeO₂ culture group.

으로 나타났다. 식이효율 또한 NC군이 21.88%로 가장 높게 나타났고 다른 군들 간에는 유의적 차이가 나타나지 않았다.

비해 유의적으로 낮았으며, 그 밖의 실험군은 1.10~1.22g/100g BW로 유사한 경향을 보였다.

3. 장기무게에 미치는 영향

각 실험군의 간, 신장 및 고환 조직 무게를 측정된 결과 간 조직은 DC군이 3.81g/100g BW, PC군과 TC, TH군이 동일하게 3.72 g/100g BW로 나타난 것에 비해, YH군은 2.86 g/100g BW로 유의적으로 낮았으며, NC군을 포함한 다른 실험군은 3.37~3.52g/100g BW로 유사한 수준이었다. 신장 조직은 NC군이 0.69g/100g BW로 다른 실험군에 비해 유의적으로 낮았으며, 그 다음으로 PC군과 YH군이 각각 0.89, 0.88g/100g BW로 낮았으며, 그 밖의 실험군은 0.90~0.97g/100g BW로 유사한 수준이었다. 고환 조직 또한 NC군이 0.90g/100g BW로 다른 실험군에

4. 혈당에 미치는 영향

게르마늄 강화 균사체의 농도별 혈당에 미치는 영향을 측정된 결과 15일간의 실험 기간 중 DC군은 지속적으로 고혈당을 유지한 반면, 다른 실험군들은 시간이 경과되면서 혈당이 낮아지는 경향을 나타내었다. 배양물 투여군 중에서는 송이균사체 배양물 투여군이 효모균체 배양물 투여군보다 모든 농도에서 낮은 혈당농도를 나타내 TC군이 366.50 mg/dL로 가장 낮았고, TL군 375.50 mg/dL, TH군 380.0 mg/dL, YC군 380.25 mg/dL, YL군 395.50 mg/dL, YH군 402.00 mg/dL로 각각 나타났다.

김완겸 외 5인: 케르미늄 강화 송이균사체와 효모가 Streptozotocin 유발 당뇨 쥐의 혈당 및 혈청 지질에 미치는 영향

Table 2. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on organs weight in STZ-induced diabetic rats (g/100g BW)

Group	Liver	Kidney	Testis
NC	3.37 ± 0.19 ^{ab}	0.69 ± 0.02 ^a	0.90 ± 0.04 ^a
DC	3.81 ± 0.06 ^b	0.94 ± 0.02 ^{bc}	1.11 ± 0.04 ^b
PC	3.72 ± 0.11 ^b	0.89 ± 0.01 ^b	1.10 ± 0.05 ^b
TC	3.72 ± 0.05 ^b	0.96 ± 0.03 ^{bc}	1.19 ± 0.06 ^b
TL	3.52 ± 0.08 ^{ab}	0.90 ± 0.04 ^{bc}	1.15 ± 0.05 ^b
TH	3.72 ± 0.17 ^b	0.97 ± 0.02 ^c	1.22 ± 0.04 ^b
YC	3.50 ± 0.09 ^{ab}	0.91 ± 0.03 ^{bc}	1.12 ± 0.03 ^b
YL	3.43 ± 0.11 ^{ab}	0.93 ± 0.01 ^{bc}	1.11 ± 0.07 ^b
YH	2.86 ± 0.56 ^a	0.88 ± 0.01 ^b	1.10 ± 0.03 ^b

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05).

Abbreviations are same as Table 1.

Table 3. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on blood glucose levels in rats (mg/dL)

	0	1	3	6	9	12	15(day)
NC	117.20 ± 7.65	117.20 ± 7.65 ^a	123.80 ± 3.15 ^a	120.20 ± 8.13 ^a	124.20 ± 6.06 ^a	132.80 ± 4.24 ^a	127.80 ± 2.78 ^a
DC	103.00 ± 7.49	444.00 ± 27.76 ^b	431.25 ± 48.42 ^c	477.75 ± 28.41 ^b	402.50 ± 10.25 ^c	396.00 ± 9.95 ^c	418.00 ± 20.83 ^b
PC	115.00 ± 7.67	445.50 ± 17.76 ^b	355.25 ± 37.14 ^{bc}	430.0 ± 23.49 ^b	384.00 ± 28.89 ^{bc}	342.50 ± 16.81 ^{bc}	387.75 ± 4.17 ^b
TC	125.00 ± 2.61	422.50 ± 18.63 ^b	417.00 ± 21.06 ^{bc}	424.00 ± 15.26 ^b	376.25 ± 5.61 ^{bc}	367.25 ± 4.44 ^{bc}	366.50 ± 11.03 ^b
TL	120.25 ± 12.01	439.25 ± 53.77 ^b	413.75 ± 46.65 ^{bc}	390.0 ± 53.87 ^b	339.25 ± 29.47 ^b	318.00 ± 58.34 ^b	375.50 ± 36.78 ^b
TH	126.00 ± 3.18	409.25 ± 29.92 ^b	360.00 ± 5.59 ^{bc}	462.00 ± 43.00 ^b	385.00 ± 14.62 ^{bc}	382.75 ± 13.97 ^{bc}	380.00 ± 8.34 ^b
YC	116.50 ± 7.03	446.50 ± 23.77 ^b	362.25 ± 9.09 ^{bc}	402.25 ± 32.46 ^b	394.75 ± 7.20 ^{bc}	358.50 ± 7.79 ^{bc}	380.25 ± 12.87 ^b
YL	117.75 ± 4.13	432.25 ± 20.44 ^b	342.50 ± 13.09 ^b	396.00 ± 36.59 ^b	382.75 ± 12.23 ^{bc}	362.75 ± 13.11 ^{bc}	395.50 ± 13.81 ^b
YH	108.00 ± 4.02	441.00 ± 22.61 ^b	380.00 ± 10.65 ^{bc}	400.75 ± 23.35 ^b	365.00 ± 8.03 ^{bc}	378.75 ± 11.88 ^{bc}	402.00 ± 12.20 ^b

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05).

Abbreviations are same as Table 1.

5. 혈청 ALP, AST 및 ALT 활성에 미치는 영향

혈청의 대사 지표물질들 중 간 조직 상태를 반영하는 지표인 ALP, AST, ALT의 활성도를

측정한 결과 ALP는 NC군이 211.80 IU/L로 가장 낮은 활성을 나타내는데 반해 DC군은 484.60 IU/L로 가장 높게 나타났다. PC군은 372.25 IU/L로 TC군 312.25 IU/L, YC군 318.75 IU/L 보다 높았다. AST는 PC군이 221.25 IU/L로

가장 높게 나타났고, DC군이 119.40 IU/L인 반면, YH군이 79.25 IU/L로 가장 낮았고, 그 다음으로 TC군이 87.25 IU/L로 낮은 활성을 보였다. ALT 또한 PC군이 98.50 IU/L로 가장 높게 나타났고, DC군이 54.80 IU/L인 반면, YC군이 32.00 IU/L로 NC군과 유의적으로 ($p<0.05$) 동일한 수준으로 나타났다. 그 다음으로 TC군이 35.50 IU/L, TL군이 38.75 IU/L

로 낮았다.

6. 혈청의 creatinine, BUN, uric acid 농도에 미치는 영향

혈청의 대사 지표 물질들 중 creatinine, BUN 및 uric acid 농도를 측정된 결과 혈중 creatinine 은 DC군이 0.80mg/dL로 가장 높게 나타난 반

Table 4. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on serum ALP, AST and ALT activities in STZ-induced diabetic rats (IU/L)

Group	ALP	AST	ALT
NC	211.80 ± 18.64 ^a	145.40 ± 9.25 ^{bc}	32.40 ± 2.50 ^a
DC	484.60 ± 62.39 ^b	119.40 ± 18.05 ^{bc}	54.80 ± 4.32 ^{ab}
PC	372.25 ± 21.49 ^{ab}	221.25 ± 98.74 ^c	98.50 ± 54.16 ^b
TC	312.25 ± 42.76 ^{ab}	87.25 ± 7.43 ^a	35.50 ± 2.78 ^a
TL	414.75 ± 77.92 ^b	95.25 ± 13.00 ^a	38.75 ± 1.79 ^{ab}
TH	406.50 ± 51.08 ^b	138.25 ± 34.37 ^{bc}	68.50 ± 22.07 ^{ab}
YC	318.75 ± 41.33 ^{ab}	93.75 ± 7.98 ^a	32.00 ± 2.04 ^a
YL	411.50 ± 57.55 ^b	93.75 ± 10.49 ^a	46.00 ± 3.18 ^{ab}
YH	430.00 ± 79.82 ^b	79.25 ± 9.72 ^a	39.75 ± 1.88 ^{ab}

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test($p<0.05$). Abbreviations are same as Table 1

Table 5. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on serum creatinine, BUN and uric acid in STZ-induced diabetic rats (mg/dL)

Group	Creatinine	BUN	Uric acid
NC	0.62 ± 0.02 ^a	16.82 ± 1.64 ^a	2.22 ± 0.33 ^b
DC	0.80 ± 0.03 ^d	40.88 ± 4.46 ^{bcd}	1.26 ± 0.10 ^a
PC	0.67 ± 0.02 ^{abc}	31.87 ± 3.03 ^b	1.30 ± 0.19 ^a
TC	0.67 ± 0.06 ^{abc}	31.67 ± 4.42 ^b	1.00 ± 0.12 ^a
TL	0.67 ± 0.02 ^{abc}	32.60 ± 6.88 ^b	1.75 ± 0.39 ^{ab}
TH	0.72 ± 0.02 ^{abcd}	52.00 ± 7.88 ^d	1.42 ± 0.08 ^a
YC	0.65 ± 0.02 ^{ab}	33.57 ± 2.43 ^b	1.77 ± 0.21 ^{ab}
YL	0.77 ± 0.04 ^{cd}	49.57 ± 5.78 ^{cd}	1.17 ± 0.21 ^a
YH	0.75 ± 0.02 ^{bcd}	35.80 ± 3.09 ^{bc}	1.25 ± 0.25 ^a

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test($p<0.05$). Abbreviations are same as Table 1

김완겸 외 5인: 게르마늄 강화 송이균사체와 효모가 Streptozotocin 유발 당뇨 쥐의 혈당 및 혈청 지질에 미치는 영향

면, YC군이 0.65mg/dL, PC군, TC군 및 TL군이 동일하게 0.67mg/dL으로 DC군보다 유의적으로($p<0.05$) 낮았다.

BUN은 DC군이 40.88mg/dL로 높게 나타났으며, TC군이 31.67mg/dL, PC군이 31.87mg/dL, TL군이 32.60mg/dL, YC군이 33.57mg/dL의 순으로 낮게 나타나 creatinine과 유사한 경향을 보였다.

반면, Uric acid는 NC군이 2.22mg/dL로 다른 실험군보다 유의적으로($p<0.05$) 가장 높았고, PC군이 1.30mg/dL인데 비해 TC군이 1.00mg/dL, YL군이 1.17mg/dL로 실험군 중에서 낮은 수치를 보였다

7. 혈청의 지질 함량에 미치는 영향

혈청의 중성지질과 총콜레스테롤 농도는 송이균사체와 효모균체 각각의 배양물 투여군이 DC군 및 PC군 보다 유의적으로($p<0.05$) 낮은 수치를 보였고, 송이균사체 배양물 투여군보다 효모균체 배양물 투여군이 낮은 수치를 보였

으나 유의적인 차이는 없었으며, 게르마늄 농도에 따른 영향은 동일 배양물 투여군간에서는 크게 나타나지 않았다. 총콜레스테롤은 PC군이 95.25mg/dL, DC군이 94.20mg/dL로 높은 수치를 보인 반면, YL군이 64.00mg/dL, YC군이 67.00mg/dL, YH군이 70.75mg/dL, TL군이 76.50mg/dL, TC군이 79.00mg/dL, TH군이 79.75mg/dL의 순으로 DC 및 PC군과 각각 유의적인 차이($p<0.05$)를 보였다. 중성지질은 PC군이 144.50mg/dL, DC군이 133.80mg/dL로 높은 수치를 보인 반면, YC군이 41.50mg/dL, YL군이 53.00mg/dL, YH군이 59.50mg/dL, TH군이 66.75mg/dL, TC군이 73.50mg/dL, TL군이 74.50mg/dL의 순으로 PC군과 각각 유의적인 차이($p<0.05$)로 낮은 수치를 보였다.

8. 간 및 췌장조직의 형태학적 분석

간과 췌장조직의 형태변화를 관찰한 결과 간 조직의 경우 TH군에서 약간의 지방변성이 일어난 것을 제외하고는 모든 실험군에서 특

Table 6. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on serum lipid concentration in STZ-induced diabetic rats

Group	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol
NC	118.40 ± 15.57 ^{bcd}	73.20 ± 3.18 ^a	22.00 ± 1.64 ^a
DC	133.80 ± 28.05 ^{cd}	94.20 ± 4.31 ^b	36.80 ± 3.12 ^c
PC	144.50 ± 44.90 ^d	95.25 ± 7.31 ^b	37.00 ± 3.10 ^c
TC	73.50 ± 17.60 ^{abc}	79.00 ± 6.59 ^{ab}	29.75 ± 2.49 ^{abc}
TL	74.50 ± 14.70 ^{abc}	76.50 ± 3.47 ^a	29.75 ± 3.35 ^{abc}
TH	66.75 ± 3.30 ^{ab}	79.75 ± 8.61 ^{ab}	31.75 ± 3.77 ^{bc}
YC	41.50 ± 8.39 ^a	67.00 ± 4.16 ^a	23.50 ± 2.06 ^{ab}
YL	53.00 ± 4.14 ^{ab}	64.00 ± 7.71 ^a	25.75 ± 3.44 ^{ab}
YH	59.50 ± 4.85 ^{ab}	70.75 ± 1.70 ^a	27.25 ± 1.03 ^{ab}

All values are mean ± S.E.

Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

Abbreviations are same as Table 1

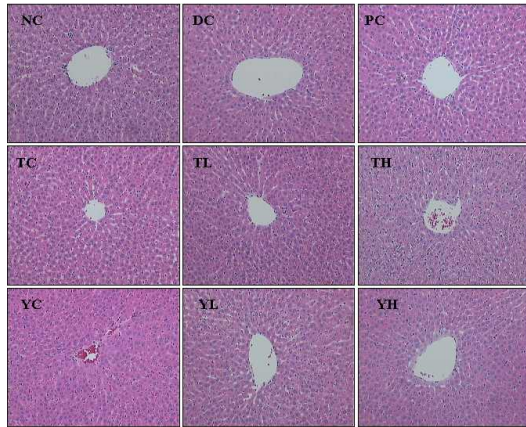


Fig. 3. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on histopathological changes of the liver in STZ-induced diabetic rats. Abbreviations are same as Table 1

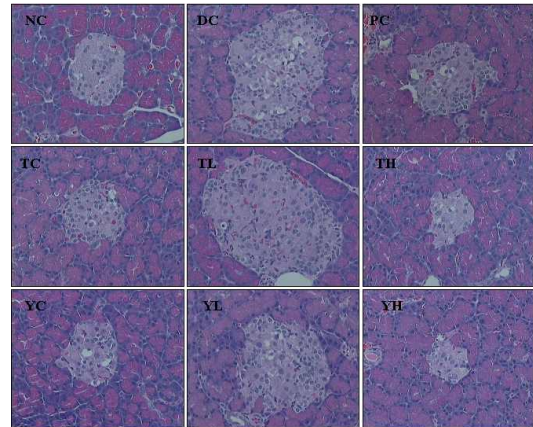


Fig. 4. Effect of *Tricholoma* mycelium and yeast fortified Germanium on histopathological changes of the pancreas in rats. Abbreviations are same as Table 1.

별히 이상적인 변화는 관찰되지 않았다.

췌장조직의 경우 외분비선은 모든 실험군이 정상적인 상태로 판정되었고, 내분비선은 NC군에서는 정상적인 상태로 공포 등의 손상이 발견되지 않은 반면, DC군과 YH군은 내분비선의 변연이 불규칙하며 내부에 다수의 공포가 발견되어 손상 정도가 큰 것으로 나타났으며, 그 외 다른 실험군의 경우 다소간의 차이는 있으나 공포가 관찰되었다

IV. 고찰

게르마늄(Germanium dioxide, GeO_2 , 锗曼寧)은 그 동안의 실험연구 결과 다양한 질병 예방 및 치료효과가 확인되고 있다.

특히 유기게르마늄(Organic germanium)은 면역증강, 산소공급 및 해독작용, 활성산소 제거 등에 효과가 있는 것으로 Goodman 등이 보고하고 있으며¹⁷⁾ 유기게르마늄의 효과 실험에 있어서 화학적 합성 유기게르마늄인 Ge132의 항암활성 및 대식세포 활성도 보고되고 있

으며¹⁸⁾, Ge132의 원료물질인 GeO_2 에 함유된 미량의 화학 오염물질에 의한 신경독성, 신장독성 등 다수의 인체 독성도 보고되고 있다.^{19,20)}

본 연구에서는 각종 실험을 통하여 입증되고 있는 유기게르마늄의 효능을 극대화시키고 또한 무기게르마늄(GeO_2)의 독성 등의 부작용을 제거하기 위하여 송이균사체의 배양과 효모발효 과정을 이용하여 유기게르마늄을 송이균사체와 효모균체 내에서 생합성시키고²¹⁾ 이들의 α -glucosidase 저해활성과 streptozotocin (STZ)으로 유도된 당뇨쥐에서의 송이균사체와 효모균체 내에 함유된 유기게르마늄의 항당뇨에 관한 효능을 검증하였다.

소장내 탄수화물 분해효소인 α -glucosidase는 탄수화물의 분해를 활성화하여 식후의 혈당을 급격하게 상승시키고 인슐린의 과잉요구를 일으킴으로써 지속적인 고혈당을 유지하게 되는 원인중의 하나로 작용하며 당뇨병의 합병증 발병을 용이하게 하는 요소가 된다. 당뇨병의 치료에 있어서 식후 단당류의 흡수를 지연시킴으로써 혈당 감소 효과를 가져오게 되는 α -glucosidase 저해 활성제는 acarbose,

boglibose 등의 약으로 개발되어 임상에서 활용되고 있으며 식 후 탄수화물의 가수분해를 억제하여 식 후 혈당을 떨어뜨리며 인슐린 요구량을 감소시켜 당대사 이상에 의한 병증을 완화시킬 수 있게 해준다. 이에 본 연구에서 α -glucosidase 저해활성을 살펴본 결과 YL군에서 24.74%로 비교적 높게 나타났고 게르마늄 강화 효모균체 배양물이 송이균사체 배양물보다 다소 높았다. 이는 *in vivo* 실험상의 STZ 유발 당뇨쥐의 혈당 및 혈액분석 결과와 일치하지 않는 것으로서 유기게르마늄의 혈당강화 효과는 α -glucosidase 저해활성 이외의 다른 기전이 관여한 것으로 판단되었으며 이 부분 또한 향후 세밀한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

임상에서의 당뇨병은 만성적인 대사성 질환으로 유전적 요인과 더불어 비만, 운동부족, 불균형적인 식생활, 스트레스 등의 후천적 요인에 의해 발병하게 되는 것으로 알려져 있다²²⁾. 그리고 당뇨병에 의한 당질대사 이상과 더불어 단백질, 지질 등의 대사 조절 기능도 이상이 발생되어 혈중 지방산 농도도 증가하게 되며 간에서의 케톤체 형성이 촉진되고 케톤체 배설로 인한 부작용으로 탈수현상이 나타나고 나아가 단백질 대사이상도 나타나 혈중 아미노산 농도가 증가하여 조직세포의 파괴 현상도 발생하게 되는 것으로 보고되어 있다.²³⁾ 현재 임상에서 활용되고 있는 약물요법으로는 인슐린 분비 촉진제, 인슐린 유사 활성제, 인슐린 저항성 개선제, 당분해 효소 억제제, 인크레틴 효소활성제 등의 경구 혈당강화제가 이용되고 있다. 그러나 이러한 약물요법에 의한 심혈관계 및 소화기계의 부작용이 나타나고 있어²⁴⁾ 천연물의 생리활성 물질을 이용한 기능성 물질 및 신약의 처방 및 개발이 요구되고 있는 실정이다.

이에 본 연구에서는 송이균사체와 효모균체를 이용한 유기게르마늄의 생합성 및 생합성된 균체내의 유기게르마늄에 의한 혈당강화 및

지질대사에 관한 실험을 STZ 유발 당뇨쥐를 이용하여 실시하였다. 본 연구에서의 STZ 유발 당뇨쥐를 이용한 게르마늄의 당뇨치료 등에 관한 효과²⁵⁾에 있어서 식이효율은 YC군에서 3.96%로 식이효율이 높게 나타났으며 그 외의 모든 실험군은 유사한 경향을 나타내었다. 일반적으로 STZ 유발 당뇨쥐는 식이량은 증가하고 체중은 감소하여 식이효율이 감소하는 현상이 나타나는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 또한 간, 신장 및 고환의 무게는 NC군보다 모든 실험군에서 대체로 높게 나타났으나 각 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않고 있는데 이는 당뇨유발에 의한 당대사 활동의 저하에 의한 지질성분 축적에 기인한 것²⁷⁾으로 판단된다.

본 연구에서 각 실험군에 대한 각각의 배양물 경구투여 후 15일간의 혈당농도 실험에 있어서 경구용 혈당 강하제인 acarbose 투여군인 PC군이나 DC군보다 모든 송이균사체 배양물 투여군(TC, TL, TH)에서는 유의적으로 혈당이 낮게 나타났으며 게르마늄 강화 효모균체 배양물 투여군(YL, YH)은 PC군보다는 다소 높은 혈당치를 나타내고 있었다. 특히 TC군은 366.50 mg/dL로 PC군에 비해 5.48% 혈당 농도가 유의적으로 감소하여 혈당저하 효과가 높은 것을 확인할 수 있었다.

그리고 혈청 중 대사관련 지표 물질에 있어서 간 조직의 괴사, 간 조직의 비대화 등 간 조직 상태를 반영하는 지표인 ALP, AST, ALT의 활성도가 TC군에서 DC군, PC군에 비해 현저히 낮게 나타났으나, 모든 게르마늄 강화 배양물 투여군(TL, TH, YL, YH)에서는 다소 높게 나타났다. 그리고 DC군보다 PC군에서 낮은 활성을 보였고 게르마늄 무첨가 시료군이 게르마늄 첨가 시료군보다 낮은 활성을 보였으며, 게르마늄 농도에 따른 변화에 경향성이 없어서 향후 세부적인 실험 분석이 필요할 것으로 판단된다. 또한 혈청 중 creatinine과 uric acid는 각 실험군 중 DC군이 가장 높게

나타났고 PC군, TC군, TL군에서 DC군 보다 유의적으로 낮았으며, BUN의 경우는 TC군, YC군, YH군에서 PC군과 유사하였다.

콜레스테롤은 인체의 필수생명 물질이나 지질대사 이상, 지방과잉 섭취, 당뇨병 등에 의한 합병증과 연계되어 고지혈증을 유발시키고²⁸⁾ 이러한 고지혈증은 죽상동맥경화를 발생시키며, 특히 당뇨병은 죽상동맥경화를 더욱 가속화시킨다. 이러한 당뇨병에 의한 합병증의 악화는 지질대사 이상에 의한 병변을 발생시키며, 특히 인슐린 비의존성 당뇨병환자에서 많이 발생되고 있다. 또한 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는 것이 고지혈증, 동맥경화증, 심혈관계 질환 등의 순환기계 질환의 발병을 낮출 수 있는 것으로 보고되고 있는 바,²⁹⁾ 본 연구에서는 각 실험군에서의 중성지질과 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤의 함량을 분석하였다.

중성지질과 총콜레스테롤은 혈중 농도에 있어서는 모든 실험군에서 PC군과 DC군보다 현저하게 낮아 본 연구에서의 게르마늄 강화 송이균사체와 게르마늄 강화 효모균체는 모두 혈중 지질 농도를 낮추어 주고 나아가 고지혈증 등을 예방 또는 치료할 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 HDL-콜레스테롤의 경우 각 실험군간의 경향성에 있어서는 다른 요인들과 일관성은 없었다.

간과 췌장조직의 형태변화는 간 조직의 경우 TH에서 약간의 지방변성이 일어난 것을 제외하고는 모든 실험군에서 특별히 이상적인 변화는 관찰되지 않았으며 췌장조직의 경우 외분비선은 모든 실험군이 정상적인 상태로 판정되었다. 또한 내분비선은 DC와 YH에서의 손상이 관찰되었고 기타의 실험군에서는 특별한 이상이 발견되지는 않았으나 소수의 공포는 관찰되었다.

당뇨병에서의 혈당조절 기능의 장애는 혈중 단백질, 지방대사 이상으로 연계되고 나아가 허혈성 심장질환 등 심혈관계 합병증의 발생

으로 이어진다.³¹⁾ 따라서 혈중 지질, 단백질의 조절 또한 당뇨병에 의한 합병증에 중요한 영향을 미치게 되며 이러한 혈당조절의 실패에 기인된 간장의 HMG-CoA (Hydroxymethyl Glutaryl-CoA) reductase의 활성에 따른 고지혈증의 발생도 보고되고 있다.³²⁾ 당뇨병의 치료에 있어 당뇨병 자체 병증보다 당뇨병에 의해 발생된 혈관관련 합병증이 임상적으로 더욱 심각한 의미를 갖게 되므로 본 실험에서 게르마늄 강화 송이균사체와 게르마늄 강화 효모균체의 혈중지질농도 저하효과는 당뇨병의 개선에 있어서 중요한 요인으로 작용할 수 있을 것으로 보인다.

V. 결 론

게르마늄(Germanium dioxide, GeO₂, 鍺曼寧) 강화 송이균사체와 효모균체 배양물에 함유된 유기게르마늄이 STZ 유발 당뇨쥐의 혈당강하 및 지질대사에 미치는 효과를 분석한 결과 α-glucosidase 저해활성은 효모균체 배양물이 양성대조군인 acarbose와 송이균사체 배양물보다 유의적인 차이로 높았다. STZ 유발 당뇨쥐에서 송이균사체 배양물 투여군이 효모균체 배양물 투여군보다 모든 농도에서 혈당강하 효과가 더 높았고, 저농도 게르마늄 강화 송이균사체 배양물과 게르마늄 무첨가 효모균체 배양물이 각각 가장 높았으며, 양성대조군보다 더 높은 효과를 보였다. 각 배양물 투여군에서의 ALP, AST 및 ALT의 활성도는 대부분이 당뇨대조군과 양성대조군보다 낮은 활성을 보였고, 게르마늄 무첨가 시료군이 게르마늄 강화 시료군보다 낮았다. 혈청 중성지질과 총콜레스테롤 농도는 송이균사체와 효모균체 각각의 배양물 투여군이 당뇨대조군과 양성대조군보다 유의적인 차이로 낮았고, 송이균사체 배양물 투여군보다 효모균체 배양물 투

여균이 더 낮은 수치를 보였다.

이상의 실험결과에서 게르마늄 강화 송이균 사체 및 효모균체 배양물에 함유된 유기게르마늄이 혈당강하 효과 및 혈중지질과 간기능 개선에 유용한 효능이 있음을 확인하였으며, 향후 지속적인 실험과 면밀한 연구검토 후 건강기능 식품 및 의약품 소재로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Lee JS, Park JL, Kim SH, Park SH, Kang SK, Park CB, Sohn TU, Jang JY, Kang JK, Kim YB: Oral Single and repeated-dose toxicity studies on Geranti Bio-Ge yeast, organic germanium fortified yeasts, in rats. *J Toxicol sci* 2004; 29: 541-553.
2. Sandra G: Therapeutic effect of organic germanium. *Medical Hypotheses* 1988; 26: 207-215.
3. Lee HK, Kim JS, Kang TB: Extraction of organic germanium compound from garlic. *Inst Natural Sci Sangmyung Univ* 2004; 12: 1-18.
4. Schroeder HA, Balassa JJ: Arsenic germanium, tin and vanadium in mice: Effects on growth, survival and tissue levels. *J Nutr* 1967; 92: 297-316.
5. Gadd GM: Microbial formation and transformation of organometallic and organometalloid compounds. *FEMS Microbiology Review* 1993; 11: 297-316.
6. Nobohiro W, Osamu I, Takuro K, Koichi Y: New approaches to using spent brewer's yeast. *ASBC journal* 1980; 38: 5-8.
7. Klapcinska B, Chmielowski J: Binding of germanium to *Pseudomonas putida* cells. *Appl Environ Microbiol* 1986; 51: 1144-1147.
8. Lynn MR, Geoffrey MG: Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* defective in vacuolar function a role for the vacuole in toxic metal ion detoxification. *Microbiol Lett* 1997; 152: 293-298.
9. Wei XS: Effects of yeast on bioenrichment of germanium. *Food science* 1992; 149: 49-54.
10. Son WJ, Lee SC, Oh, TK: Preparation of organic germanium by yeast cell. *Kor J Appl Microbial Biotechno* 1995; 23: 87-90.
11. Korean Forestry Reports, Reports on the pine musbroom in Korea. Forest Research Institute, Seoul, Korea. 1981; 18: 44-46.
12. An JS, Lee KH: Studies on the mineral contents of Korean mushroom. *Korean J Food Hygime and Safety* 1986; 1(2): 177-179.
13. Yadav H, Jain S, Prasad GBKS, Yadav M. Preventive effect of diabegon, a polyherbal preparation, during progression of diabetes induced by high-fructose feeding in rat. *J Phamacol Sci.* 2007; 105: 12-21.
14. Lee IS, Lee SO, Lee IZ. Effects of tissue cultured ginseng on blood glucose and lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol.* 2003; 35: 280-285.
15. Lim SJ, Han HK, Ko JH. Effects of edible and medicinal plants intake on blood glucose, glycogen and protein levels in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Nutr.* 2003; 36: 981-989.
16. Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH: Studies for component

- analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2006; 49(1): 77-81.
17. Goodman S: Therapeutic effects of organic germanium. *Medical hypothesis* 1988; 26: 207-215.
 18. Arimori S, Watanabe K, Yoshida M, Nagato T: Effect of Ge132 products and related synthetic compounds. Amsterdam ISBN Elsevier Science 1981, pp.536-539.
 19. Bigitta EL, Mann H, Melzer H, Dunemann L, Begerow J: Renal and other failure caused by germanium intoxication. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2464-2468.
 20. Tao SH, Bolger PM: Hazard assessment of germanium supplements. *Regulatory Toxicology and pharmacology* 1997; 25: 211-219.
 21. Joo SS, Won TT, Lee YJ, Kim MJ, Park SY, Lee SH, Hwang KW, Lee DI: Effect of Geranti Bio-ge yeast, a dried yeast containing biogermanium, on the production of antibodies by B cells. *Immune Network* 2006; 6: 86-92.
 22. Morris RD, Rimm DL, Harts AJ, Kalkhott RK, Rimm AA: Obesity and heredity in the etiology of non-insulin dependent diabetes mellitus in 33,662 adult white women. *Am Epidemiol* 1989; 130: 112-121.
 23. Sakurai T, Tsuchiya S: Superoxide production from non enzymatically glycated protein. *FEBS Letters* 1988; 236(2): 406-410.
 24. Dillman WH: Diabetes mellitus induced changes in cardiac myosin of the rat. *Diabetes* 1980; 29: 579-582.
 25. Kim EJ, Lee KI, Park KY: Effect of germanium treatment during cultivation of soybean sprouts. *J Korean Soc food sci nutr* 2002; 31(4): 615.
 26. Jenkins DJA, Wolever TMS, Hockaday TDR, Leeds AR, Haworth R, Bacon S, Apling EC, Dilawari J: Treatments of diabetes with guar gum. *Lancet* 1977 Oct 15; 2(8042): 779-780.
 27. Randle PJ, Garland MS, Hales CN, Newsholme EA: The glucose fatty acid cycle: Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbance of diabetes mellitus. *Lancet* 1963 Apr 13; 1(7285): 785-789.
 28. Ditzel J: Oxygen transport impairment in diabetes. *Diabetes* 1976; 25(2 suppl): 832-838.
 29. Rifkind BM: Diet, plasma cholesterol and coronary heart disease. *J nutrition* 1986; 116: 1578-1580.
 30. Choi HJ, Kim NJ, Kim DH: Inhibitory effect of GE 994, isolated from *Gyropora esculenta* on α -glucosidase. *Kor J Pharmacogn* 2000; 31(2): 196-202.
 31. Konno C, Murakami M, Oshima Y, Hikino H: Isolation and hypoglycemic activity of panaxans Q, R, S, T, and U, glycans of *Panax ginseng* roots. *J Ethnopharmacol* 1985(sep); 14(1): 69-74.