

FOOD&CHEMISTRY

Hepatoprotective effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* extract powder on high fat diet-induced hepatic steatosis in obese (ob/ob) mice

Ju-Hye Kim^{1,2,†}, Heejin Park^{2,†}, Mun-Hyoung Bae³, Youngha Seo³, Eun-Young Gu², Taek-Keun Oh^{1,*}, Byoung-Seok Lee^{2,*}

¹Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

²Department of Advanced Toxicology Research, Korea Institute of Toxicology (KIT), Daejeon 34114, Korea

³Functional Materials Research Team, Rpbio Research Institute, Rpbio Co., Ltd., Suwon 16229, Korea

[†]These authors equally contributed to this study as first author.

^{*}Corresponding authors: ok5382@cnu.ac.kr, bslee@kitox.re.kr

Abstract

Herbal medicinal mushroom *Cordyceps militaris* has been traditionally used as tonic medicine for metabolic syndrome. Cordycepin, main extract of *C. militaris*, has been reported with immunomodulatory, anticancer, and hepatoprotective effects. This study was conducted to evaluate the potential hepatoprotective effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* extract powder on high fat diet (HFD)-induced hepatic steatosis (HS) in male obese (ob/ob) mice. HFD was provided to ob/ob mice *ad libitum* (except negative control). Cordycepin-enriched *C. militaris* extract powder (CM) was orally administered once daily at dose levels of 0, 125, 250, and 500 mg · kg⁻¹ for 4 weeks. During the study, body weight gain was statistically increased in all HFD fed groups compared to negative control, but body weight gain in CM 500 mg · kg⁻¹ treated group shows a low tendency compared to HS model group. In organ weights, absolute and relative weights (to body weight) in liver and perirenal adipose tissue were increased in all HFD treated groups except CM 500 mg · kg⁻¹ treated group compared to the negative control. In clinical chemistry, serum glucose and total cholesterol levels in CM 250 and/or 500 mg · kg⁻¹ treated groups were lower than HS model group. In microscopical examination, hepatocyte vacuolation with macrovesicles in HS model group was increased compared to negative control, but this finding was decreased in CM 500 mg · kg⁻¹ treated group compared to HS model group. In this study, CM exhibited hepatoprotective effects against hepatic steatosis at mg · kg⁻¹ in ob/ob mice.

Keywords: *Cordyceps militaris* extract, high fat diet-induced hepatic steatosis, liver damage, ob/ob mice

OPEN ACCESS

Citation: Kim JH, Park H, Bae MH, Seo Y, Gu EY, Oh TK, Lee BS. 2024. Hepatoprotective effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* extract powder on high fat diet-induced hepatic steatosis in obese (ob/ob) mice. Korean Journal of Agricultural Science 51:159-167. <https://doi.org/10.7744/kjoas.510206>

Received: March 20, 2024

Revised: April 01, 2024

Accepted: May 02, 2024

Copyright: © 2024 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

지방간(hepatic steatosis)은 지방이 간 조직에 과다하게 축적되어 간 무게의 5% 이상이 되는 경우를 말하며, 크게 알코올성 지방간과 비알코올성 지방간으로 구분된다(Lee et al., 2023). 알코올성 지방간을 유발하는 과도한 음주는 알코올 대사산물인 acetaldehyde (ADH)의 산화를 촉진하고, 간세포 내 중성지방의 비정상적인 축적과 지질 과산화를 유도한다(Kim et al., 2022). 또한, 과도한 음주자의 90% 이상에서 알코올성 지방간이 발병하며 알코올성 지방간은 간염, 간경변(cirrhosis)을 동반할 수 있다(Kim et al., 2022). 반면, 비알코올성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 발병 원인이 알코올에 기인하지 않고, 중성지방이 과다하게 축적되어 발병하는 지방간을 총칭하며, 비만, 인슐린 비의존성 당뇨병, 고지혈증 등이 원인이다. 비알코올성 지방간은 단순 지방간(simple steatosis), 비알코올성 지방간염(non-alcoholic stathohepatitis, NASH), 그리고 간경변을 모두 포함한다(Angulo, 2022; Lee et al., 2023). 전 세계 비알코올성 지방간 유병률은 약 25%로 추정되며, 국내에서는 꾸준히 증가하여 약 22% (16 - 33%)으로 알려져 있다(Lee et al., 2016). 비알코올성 지방간의 위험성으로 제2형 당뇨병, 이상지질혈증, 비만, 그리고 대사증후군 등이 알려져 있으며, 지속적인 고 탄수화물 식사로 인한 과체중 및 비만, 체내 유리지방산 농도 증가, 지방대사 교란을 통해 간에 중성지방이 축적되는 지방간 발병을 초래한다(Jun, 2013). 따라서, 비알코올성 지방간의 개선을 위해 항산화 활성을 갖는 천연 소재에 대한 연구 및 기능 검증과 관련된 연구가 활발하게 수행되고 있다.

동충하초(*Cordyceps militaris* L.)는 곤충의 체내에서 양분을 흡수하며 서식하는 버섯 중 하나로, 전 세계에 수백 종 이상이 서식하는 것으로 알려져 있다(Hong et al., 2016). 동충하초 내에는 cordycepin (3'-deoxyadenosine)와 같은 생리활성 물질이 다량 포함되어 있어 간 보호, 항산화 활성, 면역력 증진 등의 효능이 있어 국내에서도 동충하초 재배지역에 꾸준히 확산되는 추세이다(Kim, 2013). 일반적인 동충하초 자실체 내에는 cordycepin 외에도 탄수화물 3.10%, 조단백질 11.05%, 조지방 0.16%, 무기질 0.14 g·L⁻¹, 그리고 비타민 1.4 mg·L⁻¹이 포함된다고 알려져 있다(Park et al., 2023). *Cordyceps militaris* 추출물이 마우스의 혈당에 미치는 영향을 평가한 선행연구에서는 *Cordyceps militaris* 추출물을 투여한 실험동물에서 체중 감소 억제, high density lipoprotein (HDL) 농도 증가, 혈중 내 인슐린 농도 감소 등을 유발하였다고 보고하였으며, 이를 통해 *Cordyceps militaris* 내 cordycepin의 혈당 개선 효과를 확인한 바 있다(Davaa et al., 2010).

본 연구에서는 고지방 식이를 통한 비만 유도 수컷 마우스 모델을 이용하여 *Cordyceps militaris* 추출 분말의 간기능 개선 약효를 평가하고자 하였다.

Materials and Methods

Test material

Cordyceps militaris 추출 분말(유효물질 Cordycepin 2.0% 이상 함유, COA, SK bioland, Korea)은 (주)알피바이오(Korea)로부터 제공받아 사용하였다. *Cordyceps militaris* 추출 분말은 상온에서 보관하였으며, 측정된 추출물 분말은 멸균 증류수와 함께 magnetic stirrer로 교반하여 조제하였다.

Animal house

동물은 폴리카보네이트사육상자(180 W × 240 L × 130 H mm)에 사육상자 당 5마리 이하로 수용하여 사육하였다. 실험동물실은 온도 22 ± 3°C, 상대습도 50 ± 20%, 조명 12 h (12시간 간격 점등/소등), 환기 횟수 10 - 15회·h⁻¹, 조도 150 - 300 lux, 소음 60 db 이하 및 암모니아 농도 5 ppm 이하로 유지하였다. 투여 군에 따라 고지방식이 사료(Evigo #TD.06414 Adjusted Calories Diet [60/fat], USA) 또는 실험동물용 고체사료(Lab Diet® #5053 PMI Nutrition

International, USA)와 미세여과기 및 자외선 유수살균장치를 통과한 상수도수를 자유 급이 하였다(Table 1). 규정의 준수에 따라 안전성평가연구소 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인(승인 번호: 1802-0059)을 거쳐 수행되었다.

Animal and experimental design

5주령의 수컷 마우스(C57BL/6-ob/ob)를 (주)중앙실험동물(Korea)에서 공급받았다. 마우스는 SPF (specific-pathogen-free) 동물실에 입수하여 2일간 순화하였다. 일반증상을 관찰하여 건강한 체중을 근거로 Pristima System (Version 7.3 Xybion Medical System Co., USA)을 6개 군 당 각 6마리씩 배정하였다. 음성대조군(일반식이), 고지방식이 유도 간 지방증 군(HFD 단독군), *Cordyceps militaris* 추출 분말 투여군(HFD + CM₁₂₅; HFD + CM₂₅₀; HFD + CM₅₀₀) 및 양성대조군(HFD + Silymarin₂₅₀)으로 나누었다. 이때, CM₁₂₅, CM₂₅₀, 그리고 CM₅₀₀은 투여한 *Cordyceps militaris* 추출 분말의 용량(mg·kg⁻¹)에 따라 구분하였다(Table 1).

Table 1. Group designation and dose level.

Groups	No. of animals	Test material	Dose (mg·kg ⁻¹)
Negative control (standard pellet diet)	6	N.T.	0
HFD control (high fat diet)	6	N.T.	0
HFD + CM ₁₂₅ (high fat diet)	6	CM	125
HFD + CM ₂₅₀ (high fat diet)	6	CM	250
HFD + CM ₅₀₀ (high fat diet)	6	CM	500
Positive control (HFD + Sil ₂₅₀)	6	Sil	250

HFD, high fat diet; N.T., not treated; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

HFD + CM 및 양성대조군의 마우스에게 4주 동안 *Cordyceps militaris* 추출 분말(125, 250, 500 mg·kg⁻¹)과 silymarin (250 mg·kg⁻¹)을 1일 1회 경구 투여하였으며 동시에 지방간 유발을 위해 고지방 사료를 급이하였고, 음성대조군은 일반 실험동물용 사료를 급이 하였다(Table 2).

Table 2. Composition of experimental diets.

Ingredients	High fat diet (%)
Casein	26.5
L-Cystine	0.4
Maltodextrin	16.0
Sucrose	9.0
Lard	31.0
Soybean oil	3.0
Cellulose	6.6
Mineral mix ^y	4.8
Calcium phosphate, dibasic	0.3
Vitamin mix ^z	2.1
Choline bitartate	0.3
Blue food color	0.01

^{y, z} AIN-93G-MX (94046) mineral and AIN-93X (94047).

Clinical chemistry

모든 동물에 대하여 부검 당일 isoflurane으로 마취하고 회복하여 후대 정맥에서 주사기를 이용하여 채혈하였다. 채취한 혈액을 부드럽게 섞은 후 약 60분간 실온에 방치하였다가 응고시켜 원심분리(3,000 rpm, 10분, RT)하여 얻어진 혈청을 혈액생화학분석기(Toshiba 200FR NEO chemistry analyzer, Toshiba, Japan)를 이용하여 TP (total protein), ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase), ALB (albumin), A/G (albumin/globulin ratio), TBIL (total bilirubin), GGT (gamma(γ)-glutamyl transferase), BUN (blood urea nitrogen), CREA (creatinine), GLU (glucose), TCHO (total cholesterol), TG (triglyceride), HDL (high density lipoprotein cholesterol), LDL (low density lipoprotein cholesterol), LDH (lactate dehydrogenase), CK (creatine phosphokinase) 및 FFA (free fatty acid)을 측정하였다.

Anatomical pathology

모든 동물의 비정상 유무를 판단하기 위하여, 모든 장기를 육안 관찰하였으며 신장, 간, 부고환주위 지방 조직, 신장 주위 지방조직에 대하여 중량을 측정하고 부검 시 측정된 체중에 대해 상대 장기중량비를 계산하였다. 모든 동물의 간 조직의 일부를 10% 중성 완충 포르말린(Sigma Aldrich, USA)에 고정하였다. 고정된 한 조직을 파라핀에 포매하고 박절하여 Hematoxylin (MA0101090MIRA01, StatLab, USA) 및 Eosin (3610MIRA01, StatLab, USA) (H&E) 시약과 Oil-red O (ORK-1, ScyTek Laboratories, USA) 시약으로 각각 염색하여 현미경으로 평가하였다.

Statistical analysis

통계분석은 Prisma system (Version 7.3 Xybio Medical System Co., USA)을 이용하여 분석하였다. 군간 비교는 다중비교분석을 실시하였다. 데이터는 Bartlett's test를 이용하여 등분산 검정을 실시한 후, 등분산된 데이터는 일원배치분산분석(ANOVA)으로 검정하고, 군간 차이는 Dunnett's test로 분석하였다. 등분산되지 않은 데이터는 Kruskal-Wallis test로 분석하고, 투여군과 HFD 단독군 간의 차이는 Dunn's rank sum test로 분석하였다.

음성대조군과 HFD 단독군의 두 군간 등분산 검정을 위해 F-test를 실시하였다. 등분산된 데이터는 Student's t-test를 실시하고, 등분산되지 않은 데이터는 Wilcoxon rank sum test로 분석한다.

Results and Discussion

Body weight and food consumption

실험동물의 체중변화 및 식이를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 최종 체중 측정시, HFD 단독군의 경우 50.32 ± 1.63 g으로 음성대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), CM 투여군과 양성대조군은 통계적 유의성은 없었지만 음성대조군에 비해 모두 체중이 증가하였다. 또한, CM $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 투여군의 체중 증가량은 $16.0 \pm 2.25 \text{ g} \cdot \text{day}^{-1}$ 로 HFD 단독군과 비교하여 체중 증가량이 유의적으로 감소되었다. 식이 섭취량은 투여 8일 차부터 음성대조군에 비해 HFD 단독군의 섭취량이 감소하는 경향을 보였고, CM $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 투여군의 경우 투여 13일 차부터 음성대조군보다 감소하였다. 이러한 결과로 보아 고지방식이와 *Cordyceps militaris* 추출 분말의 투여는 체중 증가뿐 아니라 식이 섭취량에도 영향을 미친 것으로 사료된다(Table 3; Fig. 1).

Table 3. Body weight and body weight gain.

Group	Negative control	HFD control	HFD + CM ₁₂₅	HFD + CM ₂₅₀	HFD + CM ₅₀₀	Positive control
Initial body weight (g)	30.0 ± 3.9	30.5 ± 2.7	31.4 ± 2.7	31.5 ± 2.9	31.3 ± 2.2	32.7 ± 3.5
Final body weight (g)	40.9 ± 5.3	50.3 ± 1.6 ⁺	51.6 ± 2.0	50.3 ± 2.8	47.3 ± 3.3	52.9 ± 2.7
Body weight gain (g·day ⁻¹)	9.2 ± 2.7	19.8 ± 2.9 ⁺⁺	20.2 ± 2.5	18.8 ± 2.3	16.0 ± 2.3 [*]	19.8 ± 1.2

Data are presented as mean ± standard deviation; n = 6 animals/group.

HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

⁺ and ⁺⁺ denote the significant differences at p < 0.05 and 0.01, respectively, compared to the negative control group.

^{*} represent the significant differences at p < 0.05 compared to the HFD control group.

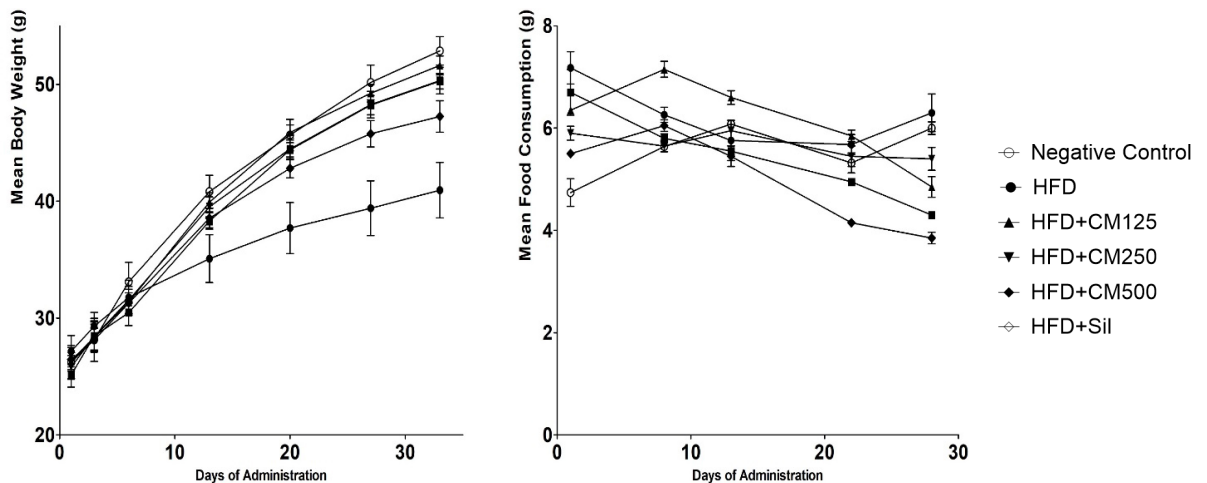


Fig. 1. Time-course changes of body weight and food consumption in ob/ob mice. HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

Organ weight

음성대조군과 비교하여, 모든 고지방식이군의 간과 신장주위 지방 조직의 절대 무게가 증가했다. 선행연구에서 고지방식이 또는 고콜레스테롤을 급여시 쥐의 간 비대가(Koh and Choi, 2001; Koh, 2003) 보고된 바 있으며, 본 실험의 고지방식이군의 간의 무게가 증가한 것과 일치하는 결과이다. Koh (2003)는 10 - 30%의 *Cordyceps militaris* 균사 배양액을 5주간 투여하였을 시 쥐의 간의 비대를 억제하는 효과가 없다고 보고하였으나, 본 실험의 *Cordyceps militaris* 추출 분말을 500 mg·kg⁻¹ 투여한 군에서 간의 무게가 HFD 단독군과 비교하여 다소 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한, 신장주위 지방조직의 무게가 HFD 단독군과 CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 각각 2.066 ± 0.3614 g과 1.729 ± 0.2454 g으로, CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 지방조직의 무게가 감소되었다. 이러한 변화는 간 세포내의 거대 공포의 감소 및 신장주위 지방 조직의 세포질 크기 감소와 같은 조직병리학적 소견과 관련된 것으로 사료된다. 모든 부고환주위 지방조직의 절대적 음성대조군과 비교하여 증가했지만, HFD 단독 군과는 차이가 없었다. 또한, CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 신장의 절대무게는 0.363 ± 0.0242 g로 HFD 단독군 0.457 ± 0.0693 g과 비교하여 감소했지만, 조직병리학적 소견에서 관련된 변화는 관찰되지 않았다(Table 3 and 4).

Table 4. Absolute organ weight in ob/ob mice.

Group	Absolute weight (g)			
	Liver	Kidney	Epididymal adipose	Perirenal adipose tissue
Negative control	2.557 ± 0.6227	0.404 ± 0.0802	2.423 ± 0.5836	1.363 ± 0.5256
HFD control	3.304 ± 0.2140 ⁺⁺	0.457 ± 0.0693	3.600 ± 0.2150 ⁺⁺	2.066 ± 0.3614 ⁺
HFD + CM ₁₂₅	3.471 ± 0.4727	0.447 ± 0.0671	3.724 ± 0.2112	2.196 ± 0.3270
HFD + CM ₂₅₀	3.448 ± 0.3489	0.638 ± 0.6081	3.703 ± 0.3489	2.125 ± 0.4507
HFD + CM ₅₀₀	2.848 ± 0.3374	0.363 ± 0.0242 [*]	3.599 ± 0.3894	1.729 ± 0.2454
Positive control (HFD + Sil ₂₅₀)	3.002 ± 0.5456	0.480 ± 0.0740	3.813 ± 0.2003	2.059 ± 0.0857

Data are presented as mean ± standard deviation; n = 6 animals/group.

HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

⁺ and ⁺⁺ significant differences at p < 0.05 and p < 0.01, respectively, compared to the negative control group.

^{*} significant differences at p < 0.05 compared to the HFD control group.

Clinical chemistry

CM 250 및 500 mg·kg⁻¹ 투여군의 혈중 포도당은 각각 662.1 ± 74.0, 578.2 ± 108.7 mg·dL⁻¹으로 HFD 단독군 679.9 ± 109.4 mg·dL⁻¹보다 유의성 있게 낮았다. 혈중 중성지방 및 유리지방산 농도는 음성대조군에 비해 HFD 단독군에

Table 5. Clinical chemistry data in ob/ob mice.

Group	Negative control	HFD control	HFD + CM ₁₂₅	HFD + CM ₂₅₀	HFD + CM ₅₀₀	Positive control
TCHO (mg·dL ⁻¹)	83.8 ± 54.7	270.2 ± 72.5	294.8 ± 56.8	264.8 ± 29.7	256.8 ± 20.6	273.0 ± 71.7
TG (mg·dL ⁻¹)	386.1 ± 126.8	83.8 ± 48.6 ⁺⁺	93.5 ± 5.6	56.0 ± 8.0	41.9 ± 14.3	112.5 ± 72.6
HDL (mg·dL ⁻¹)	95.3 ± 30.3	98.4 ± 25.0	106.9 ± 24.2	93.3 ± 20.0	87.0 ± 13.3	101.9 ± 20.3
LDL (mg·dL ⁻¹)	10.1 ± 2.1	18.6 ± 6.9 ⁺⁺	20.6 ± 3.7	23.7 ± 4.7	22.4 ± 4.6	15.8 ± 5.9
LDH (IU·L ⁻¹)	754.2 ± 296.4	1,712.7 ± 712.5 ⁺⁺	2,256.5 ± 1,056.4	40,223.8 ± 2,072.6	5,870.0 ± 0.7	1,148.8 ± 381.7
FFA (mEq·L ⁻¹)	2,285.5 ± 204.0	1,705.0 ± 220.4	2,062.2 ± 352.1	1,756.2 ± 180.3	1,561.9 ± 177.0	1,978.9 ± 268.1
AST (IU·L ⁻¹)	183.9 ± 108.7	497.6 ± 382.5 ⁺	557.1 ± 398.0	1,005.9 ± 607.7	1,163.0 ± 1,432.3	241.6 ± 70.6
ALT (IU·L ⁻¹)	221.4 ± 183.4	349.3 ± 133.1	392.6 ± 151.8	716.2 ± 337.0	908.1 ± 1,091.1	201.1 ± 114.4
GGT (IU·L ⁻¹)	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.3	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.14 ± 0.2
ALP (IU·L ⁻¹)	857.6 ± 135.5	850.0 ± 90.4	901.3 ± 205.3	1,093.7 ± 223.8	916.4 ± 323.2	721.5 ± 154.3
GLU (mg·dL ⁻¹)	619.8 ± 120.1	679.9 ± 109.4 ⁺	662.1 ± 74.0 [*]	578.2 ± 108.7 [*]	580.1 ± 119.8 [*]	658.8 ± 56.1
BUN (mg·dL ⁻¹)	27.4 ± 5.6	18.9 ± 2.5 ⁺	16.3 ± 2.2	17.0 ± 2.7	15.2 ± 1.6	17.1 ± 3.2
CREA (mg·dL ⁻¹)	0.56 ± 0.1	0.58 ± 0.1	0.59 ± 0.0	0.54 ± 0.0	0.51 ± 0.1	0.55 ± 0.0
TP (g·dL ⁻¹)	6.98 ± 0.8	6.32 ± 0.5	6.82 ± 0.27	3.81 ± 0.2	3.67 ± 0.3	6.25 ± 0.3
ALB (g·dL ⁻¹)	3.87 ± 0.4	3.50 ± 0.3	3.76 ± 0.1	3.81 ± 0.2	3.67 ± 0.1	3.44 ± 0.3
A/G (%)	1.25 ± 0.1	1.25 ± 0.1	1.23 ± 0.1	1.31 ± 0.1	1.32 ± 0.1	1.23 ± 0.1
TBIL (mg·dL ⁻¹)	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1 ⁺⁺	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1 ⁺⁺
CK (IU·L ⁻¹)	94.0 ± 11.3	83.8 ± 18.6	110.5 ± 27.5	122.3 ± 15.8	113.2 ± 40.5	96.2 ± 7.8

Data are presented as mean ± standard deviation; n = 6 animals/group.

HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; TCHO, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL, high density lipoprotein cholesterol; LDL, low density lipoprotein cholesterol; LDH, lactate dehydrogenase; FFA, free fat acid; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; GGT, gamma glutamyl transpeptidase; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; BUN, blood urea nitrogen; CREA, creatinine; TP, total protein; ALB, albumin; A/G, albumin/globulin ratio; TBIL, total bilirubin; CK, creatine phosphokinase.

⁺ and ⁺⁺ denote the significant differences at p < 0.05 and p < 0.01, respectively, compared to the negative control group.

^{*} represent the significant differences at p < 0.05 and p < 0.01, respectively, compared to the HFD control group.

서 유의적인 감소 또는 감소 경향을 보였고, HFD 단독군 비해 CM 250 및 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서의 혈중 중성지방 또는 유리지방산 농도는 감소하는 경향을 보였다(Table 5). Koh와 Choi (2001)는 높은 콜레스테롤혈증의 흰쥐에 *Cordyceps militaris*의 균사를 3% 수준으로 투여하였을 때 혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 동맥경화지수를 낮추는 효과가 있다고 보고하였다.

Anatomical pathology

고지방 식이(HFD)를 투여한 모든 투여군에서 간세포 내의 미세 공포와 거대 공포의 증가와 염증 세포의 증가가 관찰되었다. 이러한 변화는 HFD 단독군과 비교하여 CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군의 간세포에서 거대공포가 감소되어 관찰되었다. HFD를 섭취한 그룹에서 신장 주위 지방조직의 지방 세포 크기가 음성 대조군과 비교하여 증가했지만, CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서는 HFD 단독군과 비교하여 감소하였다(Fig. 2 - 4). 선행 연구에 의하며 Oil-Red O염색을 통해 Cordycepin이 간 조직의 지방의 분포를 감소시켜 간 조직 중의 지질 축적을 막는다는 보고가 있었다(Guo et al., 2010).

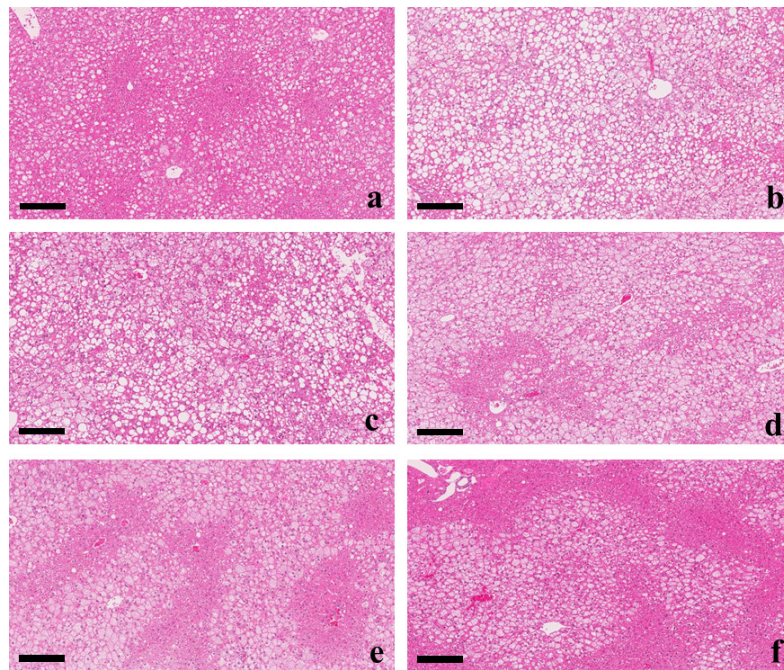


Fig. 2. Histopathology of liver by hematoxylin and eosin (H&E) (black scale bar = 200 μ m). a: Negative control, b: HFD, c: HFD + CM₁₂₅, d: HFD + CM₂₅₀, e: HFD + CM₅₀₀, f: HFD + Sil. Microvesicular and macrovesicular vacuolation in the liver were increased in all HFD groups. Vacuolation, especially macrovesicular, was decreased in HFD + CM₂₅₀ and HFD+CM₅₀₀ compare to HFD only group. HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

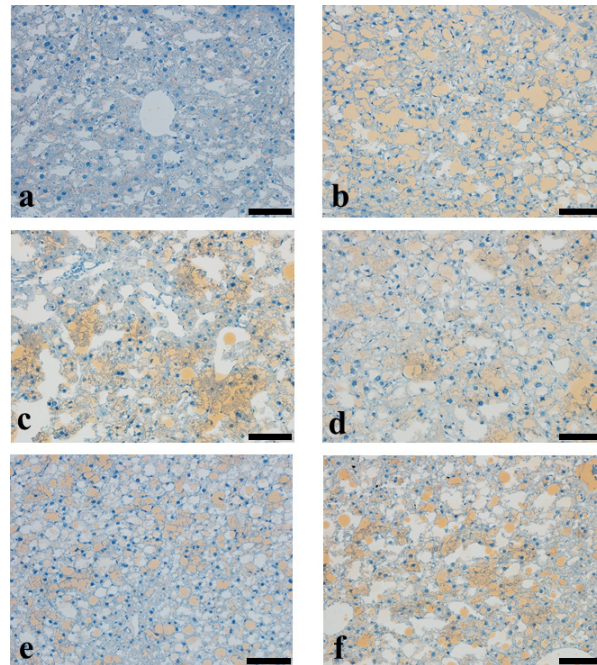


Fig. 3. Histopathology of liver by Oil-red O (black scale bar = 100 μ m). a: Negative control, b: HFD, c: HFD + CM₁₂₅, d: HFD + CM₂₅₀, e: HFD + CM₅₀₀, f: HFD + Sil. Intracellular lipid was stained in all HFD groups. The amounts of lipid were decreased in HFD + CM₂₅₀ and HFD + CM₅₀₀ compare to HFD only group. This lipid was located in hepatocellular vacuolation. HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

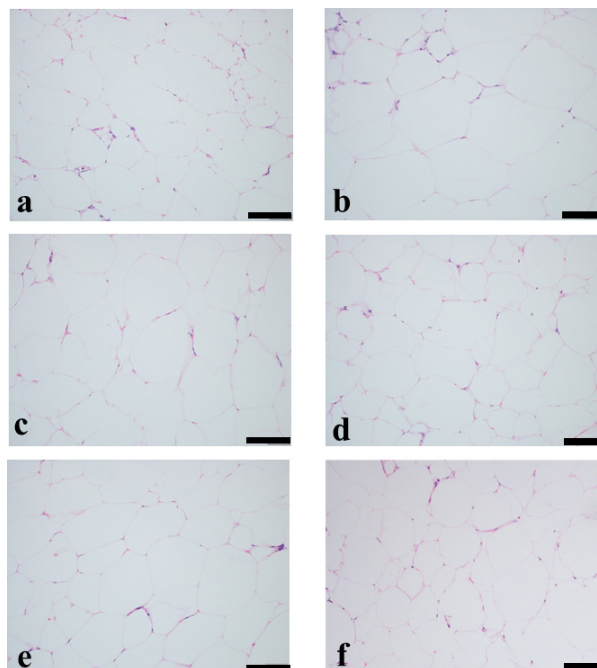


Fig. 4. Histopathology of adipose tissue by hematoxylin and eosin (H&E) (black scale bar = 100 μ m). a: Negative control, b: HFD, c: HFD + CM₁₂₅, d: HFD + CM₂₅₀, e: HFD + CM₅₀₀, f: HFD + Sil. Although the size of adipocytes of perirenal adipose tissues in all HFD-fed groups was increased compared to negative group, the size of adipocytes in CM 250 and 500 mg \cdot kg⁻¹ was decreased compared to HFD-induced HFD only group. HFD, high fat diet; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

Conclusion

본 연구는 *Cordyceps militaris* 추출분말이 수컷 ob/ob 마우스의 고지방식으로 유발된 간 지방증을 감소시키는 효과가 있음을 입증하였다. HFD + 500 mg·kg⁻¹ 군은 HFD 단독군에 비해 체중 증가량과 장기 무게(간, 신장, 및 신장주위 지방 조직)가 감소되었으며, 간지방증(hepatic steatosis)의 감소와 함께 신장주위 지방조직의 지방세포 크기도 감소하였다. 이러한 연구 결과는 *Cordyceps militaris* 추출물 분말이 지방조직 감소를 통해 지방간으로 인한 간 보호 효과를 가질 수 있음을 시사하였다.

*Cordyceps militaris*의 지방 감소에 대한 명확한 메커니즘 측면과 HFD + CM 투여군의 동물에서 간 독성을 평가하는 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgements

본 연구는 본 연구는 안전성평가연구소(1711195885; B-S Lee)의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Angulo P. 2022. Nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine* 346:1221-1231.
- Davaa V, Han JT, Park JK, Choe SY. 2010. Effects of *Cordyceps militaris* on blood glucose level in db/db mouse. *Bulletin of the Animal Biotechnology* 3:15-23. [in Korean]
- Guo P, Kai Q, Gao J, Lian ZQ, Wu CM, Wu CA, Zhu HB. 2010. Cordycepin prevents hyperlipidemia in hamsters fed a high-fat diet via activation of AMP-activated protein kinase. *Journal of Pharmacological Sciences* 113:395-403.
- Hong SM, Cho HD, Kim JH, Lee JY, Park JM, Seo KI. 2016. Anti-oxidant and anti-proliferative effects of water extract mixture of *Cordyceps Militaris* and *Allium Tuberosum*. *Journal of Life Science* 26:805-811. [in Korean]
- Jun DW. 2013. The role of diet in non-alcoholic fatty liver disease. *The Korean Journal of Gastroenterology* 61:253-251. [in Korean]
- Kim J, Lee TJ, Noh SK. 2022. Blueberry wine relieves ethanol-induced fatty liver in rats. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 51:1245-1251. [in Korean]
- Kim JY. 2013. Development and industrialization of functional bioactive material from the medicinal plant. *Food Industry and Nutrition* 12:1-6. [in Korean]
- Koh JB, Choi MA. 2001. Effect of *Cordyceps militaris* on lipid and protein metabolism in rats fed cholesterol diet. *Korean Journal of Nutrition* 34:265-270. [in Korean]
- Koh JB. 2003. Effect of liquid cultures of *Cordyceps militaris* on lipid metabolism and enzyme activities in hyperlipidemic female rats. *Korean Journal of Life Science* 13:265-272. [in Korean]
- Lee H, Bae EY, Kim KA, Ly SY. 2023. Protective effect of chlorophyll-removed ethanol extract of *Lycium barbarum* leaves against non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Nutrition and Health* 56:123-139. [in Korean]
- Lee KE, Song JL, Jeong BJ, Jeong JS, Huh TG, Park KY. 2016. Anti-lipogenic effect of functional cereal samples on high sucrose diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 45:789-796. [in Korean]
- Park E, Ryu SI, Lee M, Paik JK. 2023. Quality characteristics and antioxidant activity of Yanggaeng containing *Pae-cilomyces japonica* powder. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition* 52:990-996. [in Korean]