J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 1, pp. 78~85 (2009)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯 복합추출물 복용이 인체의 혈중 조혈모세포와 면역세포에 미치는 영향

배형석* · 강성근 · 신일섭 · 우상규 · 김윤정 · 김미애 · 라정찬
(주)알앤엘바이오 중앙연구소

The Effects of Extracts Mixture Drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum* on Hematopoietic Stem Cells and Lymphocyte Subset of Blood in Human

Hyung Suk Bae*, Sung Keun Kang, Il Seob Shin, Sang Kyu Woo, Yun Joung Kim, Mi Ae Kim, and Jeong Chan Ra
Central Research Institute, RNL BIO Co., Ltd. 2-305, IT Castle, 550-1 Gasandong, Geumcheon-Gu, Seoul, 153-804, Korea
(Received December 19, 2008/Revised March 6, 2009/Accepted March 25, 2009)

ABSTRACT – This study was performed to investigate the effect of extract mixture(IPGE) drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum* on hematopoietic stem cells and lymphocyte subset[lymphocyte, $CD4^+$ T cell, $CD8^+$ T cell, Natural Killer(NK) cells] of blood in 37 participants who were healthy and about 40~70 years old. They were divided into two groups; extract mixture drink administration group(n=27) and placebo administration group(n=12). They were given the test drink daily for 4 weeks. Blood was obtained from the subjects every two week in the beginning of administration day to evaluate the $CD34^+$ hematopoietic stem cells and immune cells. As results, $CD34^+$ hematopoietic stem cells were significanly increased after taking IPGE drink for 4 weeks compared to that before taking the drink ($p < 0.001$). There was no significant changes in number of lymphocytes, $CD4^+$ T cells, $CD8^+$ T cells, NK cells and in the ratio of $CD4^+/CD8^+$ cell after taking the test drink. From these results, it was suggested that IPGE have a good health effect by promoting the proliferation of the hematopoietic stem cells.

Key words : *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus*, *Ganoderma Luciderm,* Hematopoietic Stem Cells and Lymphocyte Subset

버섯은 향미성분이 풍부하고 단백질과 지질의 함량이 낮은 반면 다당류, 비타민 및 무기질과 같은 특수 영양소를 다량 함유하고 있어서 옛 부터 건강식품으로 인식되어 왔으며 최근에는 항암활성, 면역증강, 항산화 등의 약리효과가 밝혀지면서 의약품과 건강기능식품의 소재로 많이 이용되고 있다[1].

버섯의 약리효과는 1968년 이케가와(池川)의 의해 구멍장이버섯의 열수추출액이 동물에 이식한 Sarcoma 180에 대하여 숙주매개성 항종양활성을 현저하게 높게 나타내었다고 보고되면서 크게 주목받게 되었다[2]. 이후 많은 연구자들에 의해 담자균류에서 다양한 생리활성 물질들이 분리정제 되었으며[3,4,5] 버섯의 주요 생리활성 작용은 면역증강[6,7], 항산화[8,9], 혈압상승 억제[10], 혈당 강하[11,12], 혈소판 응집저해[13], 아토피 피부염 개선[14] 등으로 밝혀졌다. 그리고 버섯의 주요 성분인 다당류 β-D-glucan, 당단백질, 식이섬유, 스테로이드 및 유기 게르마늄(Ge)은 높은 항암활성을 나타내는 것으로 보고되었다[15]. 버섯에서 분리된 항종양활성 다당류들은 세포를 파괴하는 일반 항암 화학요법제와 같은 부작용 없이 종양 발생으로 손상된 면역기능을 회복증강시킴으로써 항암활성을 나타내기 때문에 새로운 면역요법제(biological response modifier, BRM)로서 연구의 대상이 되었다[16,17,18]. 그 후 여러 가지 버섯으로부터 분리된 단백다당체인 Krestin[19], Copolang[20], Lentinan[21] 등이 면역요법제로 상품화 되어 각종 암의 치료에 활용되고 있다.

그리고 버섯의 항암작용 기전을 명확히 규명하기 위해

*Correspondence to: Hyung Suk Bae, Central Research Institute, RNL BIO Co., Ltd. 2-305, IT Castle, 550-1 Gasandong, Geumcheon-Gu, Seoul, 153-804, Korea
Tel:82-2-858-8021, Fax: 82-2-858-8140
E-mail:hsbael@rnl.co.kr

서 버섯 성분들이 면역세포들의 증식 및 활성 촉진에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 수행되었으며 특히 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯이 면역세포들의 활성을 크게 증강시키는 것으로 보고되었다.

차가버섯(*Inonotus obliquus*)은 북방 고위도 시베리아 지역의 자작나무에 기생하여 자라는 버섯으로 이를 차와 커피처럼 달여 먹는 원주민들에게는 위장암 환자와 당뇨 환자가 거의 없는 것으로 알려져 있다. 이 버섯 추출물의 활성 성분은 다당류, 플라보노이드, 토리텔페노이드, 이노시톨, 차가산, 알칼로이드로 밝혀졌으며 주로 위장의 항궤양 작용, 항종양 활성, 혈당강하 및 SOD 활성을 높게 나타내는 것으로 보고된 바 있다[22].

상황버섯(*Phellinus linteus*)은 소화기 계통의 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암 및 간암 수술 후 떨어진 면역기능을 항진시키며, 본초강목에 의하면 자궁출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장기능을 활성화시키고 해독작용을 나타내는 것으로 기록되어 있다[4]. 상황버섯은 인체 내 NK(natural killer) 세포의 수적인 증가를 유도하지 않지만 그 기능의 활성을 통해 면역력을 향상시키고[23] 골수유래 수상세포(Dendritic Cell)를 활성화함으로써 헬퍼 T 세포 수를 증가시켜 항암효과를 나타낸다고 보고된 바 있다[24]. 서[25]는 20세 초반의 운동선수들에게 4주간의 상황버섯 복용은 NK 세포와 $CD8^+$ T 세포의 기능 활성으로 인한 IFN-γ의 생산 증가와 IL-4의 활성도에 영향을 나타낸 것으로 보고하였다. 오 등[26]은 상황버섯의 열수추출물이 항체생산을 하는 B세포의 활성을 현저히 증가하였다고 보고했으며 김 등[27]은 상황버섯 다당류가 대식세포의 활성을 증가시켜 NO(Nitric Oxide) 생산을 유도함으로써 항암작용을 나타낸다는 사실을 밝혔다.

영지버섯(*Ganoderma lucidum*)은 동양권에서는 불로초로 별명이 붙을 정도로 사람들에게 장수를 가져다주는 신비한 약초로 인식되어 왔으며 신농본초경에는 이뇨, 보간, 강장, 정신안정, 관절염 및 기관지염에 효과가 있다고 언급되어 있다[28]. 영지버섯은 혈압강하, 정혈, 고지혈증 개선, 혈당강하, 면역증강, 항종양 효과가 있는 것으로 보고되었다[29,30]. 문[31] 등은 영지와 표고 융합체의 열수추출 단백다당체가 조혈모세포의 분화와 증식에 관여하고 B 세포의 항체생성 능력을 현저히 증가시켰으며 T세포의 면역반응이 증강됨을 확인하였다고 하였다. 오 등은 영지의 단백다당체가 대식세포의 식균능력 증가, MHC classII분자와 TNF 유전자 발현을 밝힘으로써 대식세포의 강력한 활성촉진제라는 것을 입증하였다[32,33,34]. 백 등[35]은 영지버섯 균사체로부터 추출한 단백다당체가 복강투여로 마우스의 폐 전이암 억제효과를 확인하였으며, 이는 대식세포나 NK 세포의 활성화에 의한 인터루킨 분비촉진에 의한 결과라고 하였다. 이러한 결과들은 대부분 동물실험에서 확인된 것이지만 차가버섯, 상황버섯과 영지버섯이 인체 내 면역세포의 수와 생리활성 증가에 효과가 있을 가능성을 시사해 준다.

본 연구는 면역세포 활성 촉진에 효과가 있는 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯의 혼합추출물이 건강하지만 면역기능이 저하되는 40대 이후의 피험자를 대상으로 한 인체시험에서 혈액 내 줄기세포인 조혈모세포와 면역세포의 수치 증가 변화를 조사하여 세포의 활성을 도와주는 건강식품으로서 사용 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

피험자 선정 및 복용

피험자는 건강한 지원자들로서 40~70대의 남여 일반인들로 하였다. 시험에 들어가기 1주일 전에 채혈하여 혈액분석을 통해 GPT, GOT 수치가 높은 중증의 간질환 피험자는 제외하였다. 전체 39명을 모집하여 무작위 배정을 통해 27명, 12명 씩 2그룹으로 나누고 버섯 복합추출물과 위약 음료를 각각 따로 지급하여 4주 동안 복용하게 하였다. 피험자들 성별 구성은 여자가 33명 남자가 6명이었다. 각 피험자들은 버섯 복합추출물(IPGE)을 1회 80 ml 씩 아침, 저녁으로 하루에 2회 복용하거나 위약도 같은 방법으로 총 4주간 섭취하였다. 피험자들에게 실험기간 4주 동

Table 1. Characteristics of the group subjects included in this study

Group		IPGE[1] (N=27)	placebo (N=12)	Total (N=39)
Gender	Femal	23[2]	10	33
	Male	4	2	6
Age(year)	40~50	8	2	10
	50~60	15	6	21
	>60	4	4	8
Alcohol drinking	Never	21	10	31
	=≤1times/week	6	2	8
	=≥1times/week	0	0	0

[1]Extract mixture drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum*
[2] No.

안 시험에 사용한 버섯추출물과 위약 외에 다른 건강식품과 술의 섭취를 엄격하게 제한하였다. 버섯 복합추출물 복용군과 위약군의 신체적 특징은 Table 1과 같았다.

버섯 복합추출물 제조

차가버섯(러시아산), 상황버섯(국내 두원농산) 및 영지버섯(국내 여주산)은 (주)유원에이치티를 통해서 구입하여 사용하였다. 차가버섯은 정제수 50 내지 60 °C에서 4 내지 8시간, 상황버섯과 영지버섯은 정제수 70 내지 80 °C에서 8 내지 16시간 추출하여 1 내지 10 μm 필터로 여과한 후 60 내지 80 °C에서 감압 농축하였다. 소량 첨가되는 다른 식물추출물은 정제수 70 내지 80 °C에서 8 내지 16시간 추출하여 60 내지 80 °C에서 감압 농축하여 사용하였다. 버섯 복합추출물(IPGE)은 정제수에 차가버섯추출액(고형분 5%) 15%, 영지버섯추출액(고형분 5%) 1.3%, 상황버섯추출액(고형분 5%) 0.7% 되게 혼합하고 보조적으로 홍삼농축액(사포닌 70 mg/g) 0.6%, 프로폴리스농축액(플라보노이드1%) 0.3%, 인진쑥추출액(고형분 5%) 0.6%, 울금추출액(고형분 5%) 1%, 감초추출액(고형분 32%) 1%, 돈태반농축액(고형분 55%) 0.6%, 액상과당(F-55) 7.5% 첨가하여 제조하였다. Placebo 음료는 정제수에 인진쑥추출액(고형분 1.5%) 30%, 액상과당(F-55) 12.5%를 첨가하여 제조하였다.

말초혈액 백혈구 분리

피험자들의 상완 주정맥(antebracheal vein)으로부터 채취한 말초혈액 10 ml에 D-PBS 10 ml를 첨가하여 희석하였다. 50 ml Conical tube에 Ficoll-Plaque™plus(GE Healthcare) 15 ml를 넣고 그 위에 희석한 혈액 20 ml를 천천히 넣은 후 50분간 원심분리(× 700g)하였다. 상층에 생긴 Buffy coat만을 회수하여 D-PBS로 2회 세척하였다.

조혈모세포(CD34$^+$) 분석

염색 방법

말초혈액 백혈구 시료는 1×10^6 cells/m*l*의 single cell 현탁 상태로 준비하였다. 대조용 Tube에 백혈구 시료 100 μ*l*와 CD45-FITC 10 μ*l*를 넣고 시험용 Tube에는 백혈구 시료 100 μ*l*, CD45-FITC 10 μ*l* 및 CD34-PE 10 μ*l*를 각각 넣은 후 혼합하고 실온의 암실에서 15분간 반응하였다. 각 Tube에 Lysing Solution(1X, BD, USA) 2 m*l* 씩 각각 넣고 바로 잘 섞어준 후 실온 암실에서 10분 간 반응하였다. 각각의 반응 시료를 실온에서 5분간 원심분리(× 300g)하고 상층액을 제거한 후 PBS 2 m*l* 씩 넣고 잘 섞어서 5분간 원심분리(× 200g)하였다. Tube의 상층액을 제거하고 PBS(with 0.5% paraformaldehyde) 0.5 m*l* 를 넣었다. 본 실험에 사용한 항체들은 BD(USA)사로부터 구입하였다.

유세포 분석(flow cytometric analysis)

Becton Dickenson 사의 유세포분석기인 FACScalibur와 Cell Quest™ 프로그램을 이용하여 다음과 같이 분석하였다.

ISHAGE 법[36]에 따라 SSC(side scatter) vs CD45 FL-1 모드에서 CD45을 발현하지 않거나 죽은 세포를 제외하고 CD45 항원을 발현하는 세포를 모두 선택한 뒤, SSC vs CD34 FL-2 모드를 이용하여 CD34 항원을 발현하는 세포를 선택하였다. 이들 세포 중 비특이적인 반응을 보이는 세포의 오염을 방지하기 위하여 다시 SSC vs CD45 F-L1와 FSC(forward scatter) vs SSC 모드에서 SSC가 낮고 CD45 FL-1 및 FSC가 낮거나 중등도인 세포만을 선택하였다. CD45$^+$ 세포는 100,000개 분석하였으며 CD34$^+$ 세포 비율(%)은 '(CD34$^+$, low SSC, low to intermediate FSC and CD45 FL-1 cells/ CD45$^+$cells) × 100'의 공식으로 구하고, CD34$^+$ 세포 수는 '백혈구 수 × CD34(%)'의 공식에 의하여 계산하였다.

CD4$^+$/CD8$^+$, NK세포(CD56$^+$) 비율 분석

염색 방법

말초혈액 백혈구 시료를 1×10^6 cells/m*l*의 single cell 현탁 상태로 준비하였다. 백혈구 시료에 Paraformaldehyde를 1% 농도로 첨가하고 4 °C에서 1시간 고정한 후 normal goat serum(Vector, USA)을 2.5%와 normal horse serum(Vector, USA) 2.5% 농도로 각각 첨가하고 4 °C에서 1시간 반응하였다. 반응한 시료를 96-well plate에 well 당 40 μ*l* 씩 분주하였다. 시료가 분주된 well에 CD3 항체를 4 μ*l* 씩 첨가하였다. CD4, CD8, CD56 항체를 4 μ*l* 씩 CD4, CD8, CD56으로 라벨링 된 well에 넣고 4 °C에서 1시간 동안 double staining 하였다. 다시 DPBS로 3회 세척하였다. 반응 시료를 각각 FACS용 tube에 옮겼다. 본 실험에 사용한 항체들은 BD(USA)사로부터 구입하였다.

세포비율 분석

Becton Dickenson 사의 유세포분석기인 FACScalibur와 Cell Quest™ 프로그램을 이용하여 다음과 같이 분석하였다.

CD3 FL-2(x축)에 대한 CD4 FL-1(y축), CD8 FL-4(y축)의 negative control density plot을 기준으로 사분면을 나누었다. 각 CD3/CD4, CD3/CD8에 대한 분석을 실시하고, CD3$^+$/CD4$^+$인 Helper T cell의 비율은 2/4분면에 나타나는 값을 취하였다. 같은 방법으로 CD3$^+$/CD8$^+$인 Cytotoxic T cell의 비율도 2/4분면에 나타나는 값을 취하였다. 이와 같이 분석한 CD4$^+$세포와 CD8$^+$세포의 각 비율을 이용하여 CD4:CD8 비율을 분석하였다.

NK cell의 비율을 분석하기 위하여 CD3 FL-2(x축)에 대한 CD56 FL-4(y축)의 negative control density plot을 기

준으로 사분면을 나누었다. CD3/CD56으로 면역형광염색을 실시한 시료를 분석하여 $CD3^-/CD56^+$인 Natural Killer cell의 비율은 1/4분면에 나타나는 값을 취하였다.

임파구(lymphocyte) 분석

Beckman 사의 자동 혈구 분석기인 Beckman Coulter STKS 기계를 이용하여 피험자들로부터 채혈한 혈액의 임파구 수를 측정하였다.

GOT, GPT 측정

Toshiba 사의 자동 혈청 분석기인 TBA-20R 기계를 이용하여 피험자들로부터 채혈한 혈액의 GOT, GPT 수치를 측정하였다.

자료 분석

본 연구의 자료 처리는 변인별로 평균과 표준편차를 산출하였으며 자료 분석은 SPSS 16.0 통계프로그램을 이용하였다. 측정 세포 변수들에 대하여 위약과 버섯 복합추출물 복용 기간(복용 전, 복용 2주 후, 복용 4주 후)에 따른 차이를 비교하기 위해 pared t-test를 적용하여 분석하였다. 그리고 위약과 버섯 복합추출물 복용에 따른 그룹 간 차이를 비교하기 위해 independent t-test를 적용하여 분석하였고, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$로 하였다.

결과 및 고찰

조혈모세포(hematopoietic stem cell) 수 변화

조혈모세포는 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯 복합추출물(IPGE) 복용군에서 복용 전 말초혈액의 총 백혈구 10만개 당 평균 3.89개에서 복용 2주 후와 4주 후에 각각 8.78개($p < 0.01$), 7.14개($p < 0.001$)로 현저하게 증가하였으며 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다. 그러나 위약 복용군에서 조혈모세포는 복용 전 말초혈액의 총 백혈구 10만개 당 평균 8.67개에서 복용 2주 후와 4주 후에 각각 2.75개($p < 0.01$), 4.38개($p < 0.05$)로 유의하게 감소하였다(Table 2). 복용 전에 IPGE군과 Placebo군의 조혈모세포 수가 각각 3.89와 8.67로서 상당한 차이를 보였는데 말초혈액의 조혈모세포 수는 전체 백혈구의 0.01~0.1% 존재[37]하므로 개인차와 시험 군 간 무작위 배정으로 나타날 수 있는 결과라고 생각된다. 또한 IPGE 음료 복용군에서 피험자 27명 중 15명에 대해서 조혈모세포 수가 복용 6주 후 8주 후에도 각각 9.86개, 10.73개로 높게 유지되는 것으로 관찰되었다(Data not shown). 한편 independent t-test를 적용하여 위약 복용군과 IPGE 복용군 간에 복용기간 별 조혈모세포 변화를 분석한 결과 복용 전에 이미 두 군 간에 유의한 차이($p < 0.05$)가 나타났으며 복용 2주 후와 4주 후에 나타난 두 군 간의 유의한 차이는 인정하기 어려웠다. IPGE 음료 복용군에서 복용 4주 후 조혈모세포 수가 증가한 사람은 27명 중 15명이었으며 감소한 사람은 7명, 변화가 거의 없는 사람은 5명으로 나타났다. 그리고 IPGE 음료 복용군에서 27명 중 여자 1명이 음용 초기에 가벼운 복통을 겪은 외에는 다른 부작용은 나타나지 않았다. 문 등[31]은 영지와 표고의 융합체 추출물인 단백다당체가 마우스의 골수유래 조혈모세포의 분화, 증식에 관여한다고 보고한 바 있다. 혈액세포는 하나의 조혈모세포에서 분화 증식된 임파구, 과립구, 대식세포, 적혈구, 혈소판으로 구성되어 있는데, 이중 백혈구에 속하는 면역세포들은 생체 내에 존재하면서 상호 보완적으로 연계된 각종 면역반응에 참여하여 생체를 보호하는 기전이 확인되었다[38]. 이러한 결과들은 IPGE 음료 복용이 인체 내 조혈모세포 증식을 통해 각종 면역세포의 증식 분화를 유도함으로써 생체의 손상된 면역기능 회복에 긍정적인 효과를 나타낼 것을 시사한다.

임파구(Lymphocyte) 수 변화

말초 혈액의 임파구는 IPGME 음료 복용군에서 복용 전 평균 1,850개/μl에서 복용 2주 후와 4주 후 1,780개/μl, 1,720개/μl로 각각 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이

Table 2. The number of the hematopoietic stem cells in peripheral blood after administration of extracts form mushrooms(*Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus*, and *Ganoderma lucidum*)

	Placebo(12)	IPGE[1](27)	p-value[2]
	Cell No.(/10^5Leukocytes, Mean ± SD)		
Before	8.67 ± 4.66	3.89 ± 2.53	0.011*
After 2 weeks	2.75 ± 2.49	8.78 ± 9.23	0.004**
After 4 weeks	4.38 ± 3.20	7.14 ± 3.19	0.014*
p-value[3] after 2 weeks	0.001**	0.008**	
after 4 weeks	0.021*	0.000***	

[1]Extract mixture drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum*
[2]Comparison of IPGE vs. placebo group, by independent t-test,
[3]Before and after comparison by pared t-test.
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Table 3. The number of lymphocyte cells in peripheral blood after administration of extracts of mushrooms(*Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus*, and *Ganoderma lucidum*)

	Placebo(12)	IPGE[1](27)	p-value[2]
	Cell No.($\times 10^3/\mu l$, Mean ± SD)		
Before	1.80 ± 0.59	1.85 ± 0.40	0.795
After 2 weeks	1.70 ± 0.54	1.78 ± 0.46	0.639
After 4 weeks	1.81 ± 0.42	1.72 ± 0.64	0.646
p-value[3] After 2 weeks	0.454	0.278	
After 4 weeks	0.949	0.125	

[1]Extract mixture drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum*
[2]Comparison of IPGE vs. placebo group, by independent t-test,
[3]Before and after comparison by pared t-test.
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

를 나타내지 않았으며, 위약 복용군에서 복용 2주 후와 4주 후에도 임파구 세포의 수적인 변화에 대한 유의한 차이가 나타나지 않았다 (Table 3). 소 등[39]은 상황버섯 추출물을 20대 초반의 운동선수에게 4주간 복용했을 때 혈중 임파구 수가 유의하게 감소하였다고 보고한 바는 있다. 그러나 IPGE 음료는 피험자들의 임파구 수 변화에 부정적인 영향을 나타내지 않았기 때문에 40세 이후의 장년층들에게 정상인의 임파구 수준(1,800~2,000개/μl)을 유지하는데 나쁜 영향을 미치지 않을 것으로 사료되었다.

T세포 아형($CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$) 비율 변화

$CD4^+$ T 세포(Helper T Cell)

$CD4^+$ T 세포는 IPGE 음료 복용군에서 복용 전 42.35%에서 복용 4주 후 42.41%로 차이가 나타나지 않았으며 위약 복용군에서도 복용 전 후 변화에 대한 유의한 차이가 없었다. 위약 복용군과 IPGE 복용군 간에 복용기간 별 $CD4^+$ T 세포의 변화에 대한 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table 3).

$CD8^+$ T 세포(Cytotoxic T Cell)

$CD8^+$ T 세포는 IPGE 음료 복용군에서 복용 전 22.25%에서 복용 4주 후 24.08%로 현저하게 증가하였으나 ($p < 0.05$), 위약 복용군에서도 복용 전 19.88%에서 복용 4주 후 23.14%로 현저하게 증가하였다($p < 0.01$). $CD8^+$ T 세포는 IPGE 음료 복용의 영향으로 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다고 보기 어려웠다(Table 3). 위약 복용군과 IPGE 복용군 간에 복용기간 별 $CD8^+$ T 세포의 수적인 변화에 대한 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table 3).

$CD4^+/CD8^+$ 비율 변화

$CD4^+/CD8^+$ 비율은 IPGE 음료 복용군에서 복용 전 2.21%에서 복용 2주 후, 4주 후에 각각 2.16, 2.06으로 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 위약 복용군의 경우 복용 전 2.53에서 복용 2주 후, 4주 후에 각각 2.32, 2.19로 감소하였으나 유의한 차이를 나타내지 않았다. $CD4^+/CD8^+$ T세포 비율은 세포성 면역기능을 나타내는 중요한 지표로 활용되고 있는데 정상인의 수치는 1.8~2.2 정도며[40] 1.5이하로 감소되면 면역기능이 약화되어 바이러스 감염이 증가될 수 있다. 본 연구의 IPGE 음용군에서는 복용 전후에 $CD4^+/CD8^+$ T세포 비율이 2.0 이상에서 정상인의 수치를 계속 유지하는 것으로 나타났다 (Table 4). 이와 같은 결과를 볼 때 4주간의 IPGE 음료 복용은 T 세포의 면역기능에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보여 졌다.

NK 세포 비율(%) 변화

말초혈액의 임파구 중에서 NK 세포($CD3^-$, $CD56^+$)가 차지하는 비율은 IPGE 음료 복용 전 17.54%에서 복용 4주 후에 17.01%로 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 위약 복용군에서 위약 음료 복용 전에 비하여 복용 4주 후에 NK 세포가 감소하였으나 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 5). 엄[23] 등은 인체시험에서 상황버섯 추출물의 복용이 말초혈액 내 NK 세포의 수적인 증가를 유도하지는 않지만 그 기능의 활성화를 통해 세포성면역을 향상시킨다고 보고하였다. NK 세포는 선천적(natural)으로 살상력(killer)을 갖추고 있으며 활성화되면 IFN-γ와 TNF-α 등의 다양한 cytokine이 분비되면서 이들의 상호작용으로 표적 세포를 효율적으로 죽이는 것으로 알려져 있다[41]. 김헌 등[42]은 인체시험에서 상황버섯 8주 간 복용으로 말초혈액의 IFN-γ가 유의할만한 활성 증가(p=0.0001)를 나타내었다고 보고하였다. 본 시험에서는 NK 세포의 활성도를 분석하지 못 했기 때문에 이에 대한 추후 확인 연구가 필요하다고 사료된다.

요 약

본 연구는 차가버섯, 상황버섯, 영지버섯 혼합추출물

Table 4. The ratio of T cells in lymphocytes of peripheral blood after administration of extracts of mushrooms(*Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus*, and *Ganoderma lucidum*)

	Placebo(12)	IPGE[1](27)	p-value[2]
	Cell Ratio(%, Mean ± SD)		
CD4+(%)			
Before	39.63 ± 12.32	42.35 ± 7.38	0.434
After 2 weeks	39.98 ± 7.06	41.94 ± 8.70	0.498
After 4 weeks	40.55 ± 8.44	42.41 ± 7.63	0.486
p-value[3] After 2 weeks	0.885	0.619	
After 4 weeks	0.636	0.607	
CD8+(%)			
Before	19.88 ± 8.27	22.25 ± 7.51	0.437
After 2 weeks	22.00 ± 9.05	23.08 ± 8.24	0.717
After 4 weeks	23.14 ± 8.88	24.08 ± 7.52	0.727
p-value[3] After 2 weeks	0.014*	0.050	
After 4 weeks	0.002**	0.012*	
CD4+/CD8+			
Before	2.53 ± 2.13	2.21 ± 1.16	0.579
After 2 weeks	2.32 ± 1.65	2.16 ± 1.27	0.747
After 4 weeks	2.19 ± 1.54	2.06 ± 1.30	0.778
p-value[3] After 2 weeks	0.268	0.381	
After 4 weeks	0.206	0.281	

[1]Extract mixture drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum*
[2]Comparison of IPGE vs. placebo group, by independent t-test,
[3]Before and after comparison by pared t-test.
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Table 5. The ratio of NK cells in lymphocytes of peripheral blood after administration of extracts of mushrooms(*Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus*, and *Ganoderma lucidum*)

	Placebo(12)	IPGE[1](27)	p-value[2]
	Cell Ratio.(%, Mean ± SD)		
Before	19.99 ± 10.24	17.54 ± 8.72	0.523
After 2 weeks	17.77 ± 6.83	17.53 ± 9.51	0.938
After 4 weeks	18.65 ± 8.54	17.01 ± 7.71	0.546
p-value[3] After 2 weeks	0.174	0.987	
After 4 weeks	0.554	0.443	

[1]Extract mixture drink from *Inonotus Obliquus*, *Phellinus Linteus* and *Ganoderma Lucidum*
[2]Comparison of IPGE vs. placebo group, by independent t-test,
[3]Before and after comparison by pared t-test.
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

(IPGE) 음료 복용이 인체의 혈중 조혈모세포와 임파구 아형(Lymphocyte, $CD4^+$ T cell, $CD8^+$ T cell, Natural Killer cell) 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 수행하였다. 피험자는 건강한 지원자들로서 40~70대의 남여 일반인들로 하였다. 전체 39명을 모집하여 무작위 배정을 통해 27명, 12명 씩 2그룹으로 나누고 각각 버섯 복합추출물과 위약 음료를 따로 지급하여 4주 동안 매일 복용하게 하였다. 혈액은 복용 첫날부터 시작하여 2주 간격으로 피험자들로부터 채취되었으며 면역세포 수 측정에 사용되었다. 조혈모세포(hematopoietic stem cell)는 IPGE 음료 복용군에서 복용 전에 비하여 현저하게 증가하였으며 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다($p < 0.001$). 임파구(lymphocyte)는 IPGE 음료 복용 전과 후 간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. $CD4^+$ T 세포, $CD8^+$ T 세포 및 $CD4^+/CD8^+$ 비율은 시험 음료 복용 전과 후 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 그리고 NK 세포도 IPGE 음료 복용 전과 후 간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 본 연구결과를 종합해 볼 때 차가버섯, 상황버섯 및 영지버섯 혼합추출물(IPGE) 음료는 조혈모세포의 증식효과를 현저하게 높게 나타내었기 때문에 총체적인 혈액세포 정상화를 통해 인체 건강증진에 긍정적인 효과를 나타낼 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. Franz, H., Suganuma, M., Okabe, S., Sueoka, N., Kozu, T. and Sakai Y.: Japanese green tea as a cancer preventive in Humans. Nutr. Rev. **54**, 56~70 (1996).
2. Ikekawa, T., Nakanish, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F.: Antumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. Gann **59**, 155~157(1968).
3. Bea, W.C., Kim, Y.S. and Lee, J.W.: Bioactive Substances from *Ganoderma luciderm* Kor. J. Microbiol. Biotechnol. **33**, 75~83 (2005).
4. Lee, J.W. and Bang, K.W.: Biological activity of *Phellinus* spp. Food Industry and Nutrition **6**, 25~33(2001).
5. Shon, M.Y., Seo, K.I., Choi, S.Y., Sung, N.J., Lee, S.W. and Park, S.K.: Chemical Compounds and Biological Activity of *Phellinus baumii*. J. Korean Soc Food Sci Nur **35**, 524~529(2006).
6. Chung, K.S., Kim, S.B. and Chung S.H.: Immunoactivities of the Protein-polysaccharides of the Tips of the Growing Carpophores of *Ganoderma lucidum*. Yakhak Hoeji, **41**, 105~110(1997).
7. Oh, Y.S., Oh, M.S., Son, C.K., Cho, C.K. and Song, T.W.: The Effects of PSM on Immune Response. J. Kor. Oriental Med. **22**, 46~52(2001).
8. Cha, E.J., Hwang, Y.J. and Kim, S.H.: Studies on physiological functionality proposal of *Coriolus versicolor*(Fr.) *Quel* and *Ganoderma Lucidum* (Fr.)*Karst*. Kor. J. Human Ecology **7**, 31~46(2004).
9. Lee, S.M., Lee, S.B., and Lee M.C.: The Effect of Phellinus Igniarius Extract Administration on Exercise-Performing Ability, the Level of Muscle Fatigue and Antioxidant System. The Kor. J. Exer. Nutr. **10**, 173~179(2006).
10. Yearul, K., Shuichi, K. and Tsutomu, T.: Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats(SHR). J. Nutr. Sci. Vitaminal. **34**, 433~438(1988).
11. Kim, Y.D., Kim, N.S., Eom, S.Y., Kim, S.H., Kang, J.W., Lee, S.W., Park, S.Y., Kim, J.S., Kim, H., Hong, J.S.: Effects of Extracts from the Mushroom Keumsa Sangwhang (*Phellunus linteus*) on Fasting Blood Glucose and Cholesterol Levels in Human. Kor. J. Food Culture, **23**, 68~72(2008).
12. Shin, K.A., Kwon, D.K., and Song, Y.J.: The Effect of Phellinus Linteus Extract Supplementation on Exercise Performance, Mustle Fatigue and Related Blood Components. The Kor. J. Exer. Nutr. **11**, 117~122(2007).
13. Shimizu, A., Yano, T., Saito, Y., and Inada, Y.: Isolation of an inhibitor of platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma lucidum*. Chem. Pharm. Bull. **33**, 3012~3015(1985).
14. Hong, W.K., Shin, J.H., Lee, Y.H., Park, D.K. and Choi, G.S.: The clinical Effect of *Phellinus Linteus* Grown on Germinated Brown Rice in the Treatment of Atopic Dermatitis. Kor. J. Herbology, **23**, 103~108(2008).
15. Hwang, B.H. and Lee, J.K.: Antitumor Substances from Mushrooms J. Kor. For. En. **24**, 1~12(2005).
16. Hengst, J.C.D. and Mitchel, M.S.: Principles of combining biological response modifier with cancer chemotherapy. In Fundamentalis of cancer chemotherapy. Hellman, K. and Carter, S.K. (Eds.) Mcgraw-Hill Book Co., New York 64 (1987).
17. Kim, H.M., Han, S.B., Oh, G.T., Kim, Y.H., Hong, D.H., Hon, N.D. and Yoo, I.D.: Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. Int. J. Immunopharm. **18**, 295~303(1996).
18. Chung, K.S., Kim, S.S., Kim, H.S., Han, M.W. and Kim, B.K.: Antitumor activity of Kp, Protein-Polysaccharide from the Mycelial Culture of *Phellinus linteus*. Yakhak Hoeji, **38**, 158~165 (1994).
19. Tsukagoshi, S., Ohashi, F.: Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma by oral use. Gann **65**, 557~560 (1974).
20. Moon, C.K., Lee, H.S., Mock, M.S. and Kim D.O.: Antitumor Activity of the Polysaccharide Fraction (Copolang) from *Coriolus versicolor* and its Effects on the Immune Function. Yakhak Hoeji **31**, 126~ (1987).
21. Chihara, G., Hamura, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. and Fukuoka, F.: Fractionation and Purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom)[1]. Cancer Res. **30**, 2776~2781(1970).
22. 심재성, 이병화, 강석중: 차가버섯의 실체와 응용. 국제농업개발원, pp.35~173 (2003).
23. Eom, S.Y., Zhang, Y.W., Kim, N.S., Kang, J.W., Hahn, Y.S., Song, H.G., Park, S.Y., Kim, J.S., Kim, H. and Kim, Y.D.: Effects of Keumsa Sangwhang (*Phellinus Linteus*) Mushroom Extracts on the Natural Killer Cell Activity in Human. Korean J. Food Sci. **38**, 717~719 (2006).
24. Kim, G.Y., Oh, W.K., Shin, B.C., Shin, Y.I., Park, Y.C., Ahn, S.C., Lee, J.D., Bae, Y.S., Kwak, J.Y., Park, Y.M.: Proteoglycan isolated from Phellinus linteus inhibits tumor growth through mechanisms leading to an activation of CD11c+CD8+ DC and type I helper T cell-dominant immune state. FEBS Letters **576**, 391~400(2004).
25. Seo, J.H.:The Effects of *Phellinus Linteus* Administration on Lymphocyte Subset and Cytokines of Blood by Athletic Player. The Kor. J. Exercise Nutr. **11**, 109~116(2007).
26. Oh, G.T., Han, S.B., Kim, H.M., Han, M.W. and Yoo, I.D. Immunostimulating activity of *Phellinus linteus* extracts to B-lymphocyte. Arch. Pharm. Res. **15**, 379~381(1992).
27. Kim, G.Y., Choi, G.S., Lee, S.H. and Park, Y.M.: Acidic polysaccharide isolated from Phellinus linteus enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor-α from peritoneal macrophages. J. Ethnopharmacology **95**, 69~76(2004).
28. Shin, H.W., Kim, H.W., Choi, E.C., Tho S.H. and Kim B.K.: Studies on Inorganic Composition and Immunopotentiating Activity of *Ganoderma lucidum* in Korea. Kor. J. Pharmacogn. **16**, 181~190(1985).
29. Shiao, M.S., Lee, K.R., Lin, J.J. and Wang, C.T.: Phytochemicals for Cancer Prevention II. P. 342 In Ho, C.T.(eds), *Teas, Spices and Herbs*. Amreican Society, Washington. (1994).

30. Oh J.Y. and Chung, K.S.: Flowcytometric Analysis of the Antitumor and Immunomodulatory Activities of GLB-A and GLB-B, the Protein-Polysaccharide Fractions of the Growing Tips of *Ganoderma Luciderm*. Yakhak Hoeji, **42**, 487~493(1998).
31. Moon, C., Hyun, J.W., Kim, H.W., Shim, M.J. and Kim, B.K.: Immunostimulating Activity by Protoplast Fusants between Ganoderma lucidum and Lentinus edodes J. Appl. Pharmacol. **8**, 199~205(2000).
32. Bae, J.H.: Effects of *Ganoderma luciderm* on the IL-1, TNF and IL-2 Gene Expression of Macrophages. J. Korean Soc Food Sci Nutr. **26**, 978~982(1997).
33. O, J.Y., Cho, K.J., Chung, S.H., Kim, J.H., Lillehoj, H.S. and Chung K.S.: Activation of Macrophages by GLB, a Protein-polysaccharide of the Growing Tips of *Ganoderma Lucidum*. Yakhak Hoeji, **42**, 302~306(1998).
34. Kim, S.W. and Kim, E.S.: Studies on the Immunomodulating Effects of Polysaccharide Extracted from *Ganoderma lucidum* on Macrophage. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. **26**, 148~153(1997).
35. Baek, S.J., Kim, Y.S., Yong, H.M., Chae, J.B., Lee, S.A., Bae, W.C., Park, D.W., Kim, D.H., Lee, J.W., Park, S.K.: Antimetastatic Effect of Proteoglycan Isolated from the Mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009 *in vitro* and *in vivo*. Yakhak Hoeji, **46**, 11~17(2002).
36. Sutherland, D.R., Anderson, L., Keeney, M., Nayer, R. and Chin-Yee, I.: The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. J Hematother **5**, 221~226 (1996).
37. Kim, M.J. M.D., Kim, H.S. M.D., Park, Q. M.D., Kim, H,O. M.D., and Song K.S. M.D.: Multicenter Study on Flow Cytometric Enumeration of CD34+ Hematopoietic Stem Cells. Kor. J. Clin. Pathol. **18**, 265~270(1998).
38. Bjorksten, B., Quie, P.G.: Abnormalities of circulating phagocyte function ; recent advance in clinical immunology. Edited (Thompson RA) Churchill Livingston and New York, pp. 181~202 (1977).
39. So, J.M., Seo, J.H.: The Effects of Phellinus Linteus Extract Supplement on Immune Cell by Athletes. Kor. J. Physical Education, **45**, 501~511(2006).
40. Golub, E.S., Green, D.R.: Immunology. Sunderland, NY: Sinaur Associate. (1991).
41. Orange, J.S., Ballas, Z.K.: Natural killer cells in human health and disease. Clinical Immunology, **118**, 1~10(2006).
42. Kim, H., Kim, Y.D., Eom, S.Y., Zhang, Y.W., Kim, N.S., Hahn, Y.S., Shin, K.S., Song, H.G., Park, S.Y., Kim, J.S. and Kang, J.W.: Effects of Keumsa Sangwhang (*Phellinus linteus*) Mushroom Extracts on the IL-12, IFN-γ and TNF-α expression in Human. Kor. J. Promot. Dis. Prev., **6**, 245~249(2006).