고려인삼이 마우스의 악하선 DNA 합성능에 미치는 영향(I)

가톨릭대학 의학부 생리학교실

<지도 김 철 교수>

권 영 진 · 채 유 병 · 장 원 상

=Abstract=

Influence of Panax Ginseng on DNA Synthesis of Submandibular Gland in Mice

Y.C. Kwon, Y.B. Chae and W.S. Chang

Department of Physiology, Catholic Medical College
Seoul, Korea

(Directed by Prof. Chul Kim)

It was planned to evaluate the influence of Panax Ginseng upon DNA synthesis of submandibular gland in mice by observing incorporation of [^{3}H] thymidine into the tissue cells. Thirty male mice (body weight: 18~20 g) were divided equally into two groups. One group received every day (subcutaneously) 0.05 ml/10 g body weight of ginseng extract(4 mg of ginseng alcohol extract in 1 ml of saline), while the other group received the same amount of saline, for 5 days. On the 5th experimental day, all animals received 1 μCi/g body weight of [^{3}H] thymidine intraperitoneally 2 hours after the last medication. Five animals, at a time, of each group were sacrificed 1, 10, and 24 hours after [^{3}H] thymidine administration, and the radioactivity of cells in their mandibular gland was measured autoradiographically in terms of the % number of radioactive cells in 1,000 cell counts (Radioactive Index, R.I.).

It was found that the radioactive indices of mice that received ginseng were lower than the corresponding values of mice that received saline.

The inference from the above result was that the ginseng suppressed DNA synthesis of cells in the mandibular gland.

머 리 말

본 교실의 김승훈(1971)은 고려 인삼주정추출액이 흰쥐의 악하선 조직 핵산 함유량에 미치는 영향을 알기 위하여 악하선 조직의 핵산 함유량을 화학적 방법으로 정량 분석하였던 바 인삼군의 RNA 함유량은 식염수군의 값보다 현저하게 많으나 DNA 함유량에 있어서는 도리어 인삼군의 값이 식염수군의 그것에 비하여 현저하게 적었다고 한다.

본 실험에서는 김승훈(1971)의 실험에서 얻은 사실을 더욱 확증하기 위한 실험의 일환으로서 고려 인삼 주정추출액을 투여한 마우스의 악하선 조직 DNA 합성능이 어떻게 변동하는지를 구명할 목적으로 [^{3}H] thymidine을 이용한 자기 방사법(自記放射法)을 사용하여 DNA 합성능을 측정하였다.

본 연구와 관련이 깊은 업적으로 서병호와 정일천(1969), 강준원과 정일천(1970), 본 교실의 김철과 최천규(1971), 김철과 김원배(1972), 김철과 정하영(1972), 김철과 김병호(1973) 및 김철과 최수년(1973)은 [^{3}H]

thymidine 을 이용한 자기 방사법을 써서 고려 인삼이 마우스의 위장관 점막 상피세포, 부신피질, 비장 및 흉선조직의 DNA 합성능을 촉진시킨다고 밝힌 바 있다.

재료 및 방법

실험동물은 몸 무게 18~20 g 되는 마우스 수컷 30 마리로서 실험 시작 1주일 전부터 실온 20±2°C에서 일정한 사료로 사육한 후 실험에 사용하였다.

실험동물에 투여할 인삼주정추출액은 고려 인삼 300 g을 95% 에칠 알코홀로 중탕 남비위에서 약 300 시간 동안 추출하여 54.2 g의 흑갈색 추출물을 얻고, 생리적 식염수 1 ml 속에 이 추출물 4 mg을 함유하는 용액 즉 인삼주정추출액을 만들어 사용하였다.

마우스 30 마리를 각각 15 마리씩 2 무리 즉 인삼군과 식염수군으로 나누고 식염수군에는 생리적 식염수를, 인삼군에는 인삼주정추출액을 각각 몸 무게 100 g에 대하여 0.5 ml의 비율로 날마다 한번씩 5일 동안 일정한 시각에 마우스의 등부위 피하에 주사하였다.

인삼주정추출액 및 식염수 투여가 시작된지 제 5 일째 되는 날에는 해당 약물을 투여한지 2시간만에 [^{3}H] thymidine을 주사하였다. 사용한 방사선 동위원소는 C,E,A, Gif-Sur-Yvette, France에서 만든 methyl-T, [^{3}H] thymidine (specific activity: 6.5 Ci/mM)으로서 그 수용액을 1 μCi/g 몸 무게의 비율로 복강속에 단 한번에 주사하고, 주사 후 1, 10 및 24시간 만에 도살하였다. [^{3}H]-thymidine을 주사하는 시간은 세포 갱신 활동의 일내주기성 변동(Bullongh, 1948; Leblond & Walker, 1956; Messier & Leblond, 1960; Pilgrim et al., 1963; Thrusher, 1966; 김한화, 1968; 최월봉과 정일천, 1969)을 고려하여 오전 10시를 택하였다. 도살 직후에 악하선을 떼어내어 Bouin액 속에서 고정한 후 일반표본 제작방법에 따라 파라핀에 포매한 다음 4 μ 두께의 부분적 연속절편을 만들었다.

자기방사법은 Kodak 제 "NTB_2" nuclear track emulsion을 사용하는 Messier와 Leblond (1957)의 담그기 방법(dipping method)을 이용하였으며, 암등으로부터 2 m 이상 떨어진 거리에서 가급적 빨리 조작하여 건조시킨 슬라이드를 흡수제가 들어있는 암상자 속에 넣어 밀봉하고, 4°C에서 25일 동안 노출시켰다. 그 다음 현상(D-19 Kodak 제) 정착(acid fixer)과정을 거쳐 탈수하고, Harris-Hematoxyline으로 염색한 후 balsam으로 봉하여 표본을 만들었다. 관찰방법은 970배 현미경 하에서 중첩된 교막(膠膜)면에 나타나는 은입자를 확인하고 이를 지닌 세포를 표지된 세포로 간주하였다.

성 적

악하선 조직 표본에서 세포들을 점액세포, 장액세포 및 도관세포로 구분하고 각기 해당 세포 1,000개를 세는 동안에 나타나는 표지된 세포의 수효를 백분률로 고쳐 방사능 지수(radioactive index)로 삼았다(Messier & Leblond, 1960). [^{3}H] thymidine 주사후 1, 10 및 24시간 만에 관찰한 식염수군과 인삼군 마우스 악하선 조직의 방사능 지수를 제 1 표에 제시하였다.

제 1 표에 제시된 바와 같이 [^{3}H] thymidine 주사 1시간 만에 관찰된 식염수군 악하선 조직의 방사능지수는 점액세포에서 19.4±0.52, 장액세포에서 15.0±0.32, 도관세포에서 10.2±0.42이었으며, 그 평균치는 14.9±0.42이고 이들 값의 총화 즉 총 방사능 지수는 44.6이었다. [^{3}H] thymidine 주사 10시간 및 24시간 만에 얻은 식염수군의 방사능 지수는 각각 점액세포에서 24.0±0.60 및 28.5±0.42, 장액세포에서 11.2±0.32 및 8.2±0.24, 도관세포에서 13.2±0.29 및 15.2±0.35이었으며 그 평균치는 16.1±0.40 및 17.3±0.34이고 총 방사능 지수는 48.4 및 51.9이었다.

Table 1. Average radioactive indices±S.D. of the submandibular gland of the saline and the ginseng groups at different hours after intraperitoneal injection of [^{3}H] thymidine.

hours after injection	group	mucosus cell	serous cell	duct cell	mean
1	Saline	19.4±0.52	15.0±0.32	10.2±0.42	14.9±0.42
	Ginseng	18.2±0.32	13.2±0.42	8.2±0.41	13.2±0.40
10	Saline	24.0±0.60	11.2±0.32	13.2±0.29	16.1±0.40
	Ginseng	20.2±0.52	10.0±0.50	11.0±0.33	13.7±0.41
24	Saline	28.5±0.42	8.2±0.24	15.2±0.35	17.3±0.34
	Ginseng	22.3±0.42	6.9±0.42	13.6±0.35	14.3±0.48

한편 [^{3}H] thymidine 투여 1시간만에 관찰된 인삼군의 방사능 지수는 점액세포에서 18.2±0.32, 장액세포에서 13.2±0.42, 도관세포에서 8.2±0.41이고 그 평균치는 13.2±0.40이었으며 이들 값을 합친 총 방사능 지수는 40.6이다. 그리고 [^{3}H]-thymidine 투여 후 10 및 24시간만에 얻은 인삼군의 방사능 지수는 점액세포에서 20.2±0.52 및 22.3±0.42, 장액세포에서 10.0±0.50 및 6.9±0.42, 도관세포에서 11.0±0.33 및 13.6±0.35이며 평균 방사능 지수는 13.7±0.41 및 14.3±0.48이고 총 방사능 지수는 41.4 및 42.4이다. 따라서 인삼군의 악하선 조직 방사능 지수는 해당 식염수군의 값에 비하여 일반적으로 낮은 값을 나타내나 통계적으로 유의한 차이는 아니다($p>.05$).

고　　찰

위의 실험결과를 종합하여 보건대 식염수군에서 관찰된 악하선의 점액세포, 장액세포 및 도관세포의 방사능 지수는 이상만(1967)에 의하여 보고된 마우스 악하선 조직중 점액세포, 장액세포 및 도관세포의 방사능 지수와 거의 일치된다.

한편 인삼주정추출액을 주사한 마우스의 악하선 조직의 방사능지수는 식염수군의 해당 세포의 방사능 지수에 비하여 약 6~21% 정도 낮다. 이 결과는 본 교실의 김승훈(1971)이 인삼주정추출액을 투여한 흰쥐의 악하선 조직 DNA 함유량을 화학적 방법으로 정량하여 얻은 값이 식염수만을 투여한 흰쥐의 그것에 비하여 현저하게 감소함을 관찰한 사실과 거의 일치되는 소견이다. 또한 김철들(1970)에 의하면 인삼주정추출액을 주사받은 마우스의 췌장 DNA 함유량과 DNA 합성능은 식염수군의 그것에 비하여 적다고 하였는데 이러한 사실과도 잘 부합된다. 그러므로 인삼은 악하선 조직의 점액세포, 장액세포 및 도관세포 DNA 합성능도 어느 정도 억압한다고 믿어진다. 그러나 본 교실의 김철과 최천규(1971), 김철과 김원배(1972), 김철과 정하영(1972), 김철과 김병호(1973) 및 김철과 최수년(1973), 서병호와 정일천(1969), 강준원과 정일천(1970)은 인삼을 투여받은 마우스의 부신피질, 십이지장, 흉선, 결장 및 비장조직 DNA 합성능이 식염수만을 투여받은 마우스의 그것에 비하여 현저하게 촉진된다고 밝힌 사실과는 서로 부합되지 않는다. 그러므로 인삼은 마우스의 조직에 따라서 DNA 합성능을 촉진 또는 억압시키는 것이 아닌가 믿어지나 인삼이 마우스의 조직에 따라 DNA 합성능에 달리 영향을 미치는 기전에 관하여는 앞으로 더욱 많은 실험을 수행함으로써 밝혀질 것이라고 믿어진다.

요　　약

인삼주정추출액 투여에 의하여 마우스 악하선 조직의 DNA 합성능이 어떤 영향을 받는지를 알기 위하여 30마리의 마우스(몸 무게 18~20 gm) 수컷을 15마리씩 두 무리로 나누어 한 무리에는 생리적 식염수를 다른 무리에는 인삼주정추출액(인삼주정추출물 4 mg을 생리적 식염수 1 ml 속에 용해시켜 만든 용액)을 마우스의 몸 무게 10 gm에 대하여 0.05 ml씩 5일 동안 주사한 후 [^{3}H]-thymidine을 복강 속에 주사하고 1, 10 및 24시간 만에 도살하여 자기방사법을 이용하여 악하선의 합성능을 비교 관찰한 바 인삼주정추출액을 투여받은 마우스의 악하선 조직의 표지 세포수는 식염수만을 투여받은 마우스의 그것에 비하여 적었다. 그러므로 인삼주정추출액은 마우스의 악하선 조직 DNA 합성능을 어느 정도 억압한다고 믿어진다.

인 용 문 헌

Bullough, W.S.: *Mitotic activity in the adult male mouse, Mus musculus L. The diurnal cycles and their relation to waking and sleeping. Proc. Roy. Soc. B. 135, 212-232, 1948.*

최월봉·정일천 : 정상 수 생쥐 부신피질의 세포갱신에 관한 자기방사법적 연구. 가톨릭대학 의학부 논문집, *17, 1-14, 1969.*

강준원·정일천 : 인삼이 정상 및 스트레스를 받은 생쥐 중층평편 상피세포에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, *18, 1-14, 1970.*

김　철·최천규 : 인삼이 마우스의 부신피질 *DNA* 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집. *21, 211-224, 1971.*

김　철·김원배 : 고려 인삼이 마우스의 *12*지장 상피세포 *DNA* 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, *22, 169-179, 1972.*

김　철·정하영 : 고려 인삼이 마우스의 흉선조직 *DNA* 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, *22, 13-23, 1972.*

김　철·김병호 : 인삼이 마우스의 결장 상피세포의 *DNA* 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, *25, 105-113, 1973.*

김 철·최수년 : 고려 인삼이 마우스의 비장 *DNA* 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, *25, 143-151, 1973.*

김한화 : 성숙된 정상 수생쥐 위점막의 세포갱신에 관한 〔^3H〕 *thymidine*을 이용한 자기방사법적 연구. 가톨릭대학 의학부 논문집, *14, 119-130. 1968.*

김승훈 : 고려 인삼이 흰쥐의 악하선 조직 핵산함유량에 미치는 영향. 최신의학, *14, 559-563, 1971.*

이상만 : 마우스 악하선 및 췌장의 세포갱신에 관한 자기방사법적 연구. 수도의대잡지, *4, 43-53, 1967.*

Leblond, C.P. & Walker, B.E.: *Renewal of cell populaitons. Physiol. Rev. 36, 255-276, 1956.*

Messier, B. & Leblond, C.P.: *Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine-H^3 into male rats and mice. Am. J. Anat. 106, 247-285, 1960.*

Messier, B. & C.P. Leblond: *Preparations of coated radioautography by dipping sections in fluid emulsion. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 96, 7-10, 1957.*

Pilgrim, C., Erb, W. & Maurer, W.: *Diurnal fluctuations in the numbers of DNA synthesizing nuclei in various mouse tissue. Nature 199, 862, 1963.*

서병호·정일천 : 인삼이 정상 및 스트레스를 받은 생쥐 위장관점막상피에 미치는 영향에 대한 자기방사법적 연구. 가톨릭대학 의학부 논문집, *17, 17-25, 1969.*

Thrasher, J.D.: *Analysis of renewing epithelial cell population. In Methods in Cell Physiology, 2, 323-336. New York, Academic Press. 1966.*