

고려인삼이 ACTH를 받은 마우스의 간 조직 DNA 합성능에 미치는 영향(II)

가톨릭대학 의학부 생리학교실

<지도 김 철 교수>

장 원 상 · 홍 용 하 · 김 기 연

=Abstract=

Influence of Panax Ginseng on Hepatic DNA Synthesis in Mice Receiving ACTH (II)

Won Sang Chang, Yong Ha Hong and Kee Yun Kim

Dept. of Physiology, Catholic Medical College, Seoul, Korea

(Directed by Prof. Chul Kim)

It was planned to investigate, by observing incorporation of [³H] thymidine into liver cells, the influence of Panax Ginseng upon hepatic DNA synthesis in mice that received ACTH. Thirty male mice (body weight; 18~20 g) were divided equally into the ginseng-ACTH and the saline-ACTH groups. Each animal of the ginseng-ACTH and the saline-ACTH groups 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) and the same amount of saline, respectively, for 5 days. On the 5th experimental day, all animals received 0.01 unit of ACTH intraperitoneally one hour after the last medication, and 1 μ Ci/g body weight of [³H] thymidine after one more hour. Five animals, at a time, of each group were sacrificed 1, 10, and 24 hours after thymidine administration, and their hepatic radioactivity was measured autoradiographically in terms of the % number of radioactive cells in 1,000 cell counts (Radioactive Index, R.I.).

Following results were obtained:

1. The hepatic radioactive indices obtained from the saline-ACTH group 1, 10, and 24 hr after [³H] thymidine administration were 1.50 \pm 0.32, 2.16 \pm 0.33 and 2.79 \pm 0.31 (mean \pm S.D.), respectively.
2. The corresponding values obtained from the ginseng-ACTH group (2.71 \pm 0.22, 3.85 \pm 0.29, and 5.06 \pm 0.31) were significantly higher than the values of the saline-ACTH group.

It is inferred from the above results that the ginseng tends to prevent reduction in hepatic DNA synthesis caused by ACTH administration.

머 리 말

본 교실의 김철(1970)은 인삼주정추출액이 ACTH를 투여받은 흰쥐의 부신, 췌장, 비장 및 간 조직의 핵산 함유량에 미치는 영향을 알기 위하여 이들 조직의 핵산 함유량을 화학적 방법으로 정량분석하였던 바 인삼-ACTH군의 부신 DNA 함유량은 대조군인 식염

수-ACTH군의 그것에 비하여 현저하게 증가하였으나 비장, 췌장 및 간 조직 DNA 함유량은 식염수-ACTH군의 그것에 비하여 감소되었다. 한편 본 교실의 김철(1970)은 [³H] thymidine을 이용한 자기방사법을 써서 부신, 췌장, 비장 및 간 조직의 DNA 합성능을 측정 한 결과 [³H] thymidine 주사 후 1 시간만에 인삼-ACTH군의 부신 및 췌장 조직의 방사능 지수는 DNA 함유량의 변동하는 모습과 거의 일치되었으나 비장 및

간 조직의 방사능 지수는 인삼-ACTH 군의 값이 식염수-ACTH 군의 값에 비하여 현저하게 증가하는 결과를 얻었다. 그러므로 비장 및 간 조직에서는 화학적 정량법과 자기방사법으로 각각 얻은 DNA 함유량과 DNA 합성능이 서로 부합되지 않은 결과를 얻었다.

본 실험에서는 김철들(1970)의 실험에서 얻은 간 조직의 DNA 함유량과 DNA 합성능이 서로 다른 이유를 밝히기 위한 실험의 일환으로서 인삼을 주사한 마우스가 ACTH를 받았을 때 DNA 합성능이 어떻게 변동하는지를 알기 위하여 [³H] thymidine을 주사한 후 1, 10 및 24 시간만에 마우스를 도살하여 DNA 합성능을 측정하였다.

재료 및 방법

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

실험동물에 투여할 인삼주정추출액은 다음과 같이 조제하였다. 고려인삼 300g을 95% 에칠알콜로 중탕 남비 위에서 약 300시간 동안 추출하여 54.2g의 흑갈색 추출물을 얻고, 생리적 식염수 1ml 속에 이 추출물 4mg을 함유하는 용액 즉 인삼주정추출액을 만들어 사용하였다.

마우스 30마리를 각각 15마리씩 2무리 즉 인삼군과 식염수군으로 나누고 식염수군에는 생리적 식염수를, 인삼군에는 인삼주정추출액을: 각각 몸무게 10g에 대하여 0.05ml의 비율로 5일 동안 날마다 한번씩 같은 시간에 마우스의 등부위 피하에 주사하였다.

인삼주정추출액 또는 식염수 투여가 시작된지 제 5일에는 해당 약물을 투여한지 1시간 후에 1마리에 대하여 0.01 unit씩 ACTH(Parks Davis & Co 제)를 복강속에 주사하고, 다시 1시간 후에 [³H] thymidine을 투여하였다.

사용한 방사선 동위원소는 C.E.A. Gif-Sur-Yvette, France에서 만든 methyl-T, [³H] thymidine(specific activity: 65 Ci/mM)으로서 그 수용액을 1μCi/g 몸무게의 비율로 복강속에 단 한번에 주사하고, 주사후 1, 10 및 24 시간만에 도살하였다. [³H] thymidine을 주사하는 시간은 Bullough(1948), Leblond & Walker(1956), Messier & Leblond(1960), Pilgrim 들(1963) 및 Thrusher(1966)가 주장하는 세포갱신 활동의 일내주기성 변동을 고려하여 오전 10시를 택하였다. 실험동물을 도살한 직후 간 조직을 떼어내어 Bouin 액속에서

고정한 후 일반표본 제작 방법에 따라 파라핀에 포매한 다음 4μ 두께의 부분적 연속 절편을 만들었다.

자기방사법은 Kodak 제 NTB₂ nuclear track emulsion을 사용하는 Messier와 Leblond(1957)의 담그기 방법(dipping method)을 이용하였으며 암동으로 부터 약 2m 이상 떨어진 거리에서 가급적 빨리 조작하여 건조시킨 슬라이드를 흡수제가 들어 있는 암상자 속에 넣어 밀봉하고, 4°C에서 25일 동안 노출시켰다. 그 다음 현상(D-19 Kodak 제), 정착(acid fixer)과정을 거쳐 탈수하고, Harris-hematoxyline으로 염색을 한 후 balsam으로 봉하여 표본을 만들었다. 관찰방법은 970배 현미경하에서 중첩된 교막(膠膜)면에 나타나는 은입자를 확인하고, 이를 지닌 세포를 표지된 세포로 간주하였다.

성 적

마우스의 간조직 표본에서 간 세포 1,000개를 세는 동안에 나타나는 표지된 세포의 수효를 백분율로 고쳐 방사능 지수(radioactive index)로 삼고 (Messier & Leblond, 1960), [³H] thymidine 주사후 1, 10 및 24 시간만에 관찰한 식염수-ACTH 군과 인삼-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수를 선험 결과를 제 1 표에 제시하였다.

Table 1. Average radioactive indices±S.D. of the hepatic cell of the saline-ACTH and the ginseng-ACTH groups at different hours after intraperitoneal injection of [³H]-thymidine

Hours after injection	Ginseng-ACTH group(N=5)	Saline-ACTH group(N=5)
1	2.71±0.22	1.50±0.32
10	3.85±0.29	2.16±0.33
24	5.06±0.31	2.79±0.31

[³H] thymidine 주사후 1 시간만의 간 조직 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 값이 1.50±0.32인데 인삼-ACTH 군에서는 2.71±0.22로서 인삼-ACTH 군의 값이 식염수-ACTH 군의 값에 비하여 약 80% 가량 증가하였으며, [³H] thymidine 주사후 10 시간만의 값에서는 식염수-ACTH 군이 2.16±0.33이고, 인삼-ACTH 군이 3.85±0.29로서 인삼-ACTH 군의 방사능 지수가 식염수-ACTH 군의 해당 값에 비하여 약 79% 정도 증

가하였다. 그리고 $[^3\text{H}]$ thymidine 주사후 24 시간만의 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 값이 2.79 ± 0.31 이며 인삼-ACTH 군의 해당 값은 5.06 ± 0.31 로서 인삼-ACTH 군의 값이 식염수-ACTH 군의 그것에 비하여 약 81% 가량 증가되어 있어 이 결과도 역시 $[^3\text{H}]$ thymidine 주사 후 1 및 10 시간 후의 성적과 거의 일치된 성적이다. 통계적으로도 위의 모든 인삼-ACTH 군의 값이 식염수-ACTH 군의 값보다 유의하게 많았다($p < .05$).

고 찰

위의 결과들을 종합하건대 식염수-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수는 1.50 ± 0.32 (1시간 후 값), 2.16 ± 0.33 (10 시간 후 값) 및 2.79 ± 0.31 (24 시간 후 값)인데 본 교실의 김철철(1970)은 $[^3\text{H}]$ thymidine 주사후 1시간만의 식염수-ACTH 군 간 조직 방사능 지수가 1.62 ± 0.27 이었다고 한다. 이 성적은 저자들이 얻은 성적과 거의 일치하는 값이다. 그리고 본 교실의 채유병(1974)에 의하면 $[^3\text{H}]$ thymidine 주사 후 1, 10 및 24 시간만에 식염수군 마우스 간 조직 방사능 지수는 각각 3.23 ± 0.23 , 5.20 ± 0.21 및 6.00 ± 0.30 이었다고 한다. 이들 성적과 저자들이 얻은 성적을 비교하건대 ACTH 투여로 인하여 마우스 간 조직 방사능 지수가 현저하게 감소함을 알 수 있다.

한편 인삼-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수의 1시간 값은 2.71 ± 0.22 , 10 시간 값은 3.85 ± 0.29 , 그리고 24 시간 값은 5.06 ± 0.31 인데 본 교실의 김철철(1970)이 얻은 인삼-ACTH 군의 간 조직 1시간 방사능 지수는 2.54 ± 0.44 로써 저자들이 얻은 해당 값과 거의 일치되는 소견이다. 그리고 본 교실의 채유병(1974)이 얻은 인삼군의 해당 방사능 지수는 4.02 ± 0.33 (1시간 값), 6.32 ± 0.32 (10시간 값) 및 7.42 ± 0.35 (24시간 값)로써 저자들이 얻은 인삼-ACTH 군의 해당 값이 현저하게 적다. 그러나 1, 10 및 24 시간 인삼-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 해당 값에 비하여 각각 80%, 79% 및 81% 정도 증가되었는데 김철철(1970)의 보고에 의하면 $[^3\text{H}]$ thymidine 주사후 1시간만에 인삼-ACTH 군의 방사능 지수가 식염수-ACTH 군의 그것보다 약 55% 가량 증가되었다고 한다. 저자들이 얻은 결과와는 다소의 차이는 있으나 두 실험결과는 모두 인삼-ACTH 군에서 식염수-ACTH 군보다 간 조직 방사능 지수가 현저하게 증가함을 시사한다. 이 사실은 ACTH 주사에 앞서 미리 투여된 인

삼은 ACTH에 의하여 방사능 지수가 심히 떨어지는 것을 막는다고 추측된다. 이는 이미 본 교실의 채유병(1974)이 밝힌 바와 같이 인삼이 간 조직 DNA 합성능을 항진시키기 때문이라고 하겠다. 그러나 본 교실의 김철철(1970)이 인삼주정추출액을 투여받은 흰쥐에 ACTH를 주사하였을 때 간 조직 핵산 함유량을 화학적 방법으로 분석하여 얻은 결과와 저자들이 자기 방사법으로 얻은 결과는 일치되지 않으나 그 원인이 어디에 있는지 속단하기 어려우며 앞으로 더욱 주시하여야 밝혀질 것이라고 생각된다.

요 약

인삼주정추출액이 ACTH를 받은 마우스의 간 조직 DNA 합성능에 미치는 영향을 알기 위하여 30마리의 마우스 (18~20 gm) 수컷을 인삼-ACTH 군과 식염수-ACTH 군으로 나누어 다음과 같은 실험을 하였다.

인삼주정추출액 혹은 식염수 투여가 시작되지 5일째 되는 날에 해당 약물을 주사한 후 1시간만에 ACTH를 투여하고 다시 1시간만에 $[^3\text{H}]$ thymidine을 단 1회에 복강속에 주사하고 이어서 이들 마우스를 1, 10 및 24 시간 후에 각각 도살하여 간 조직을 적출하고 자기방사법을 이용하여 방사능 지수를 계수한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. $[^3\text{H}]$ thymidine 주사 후 1, 10 및 24 시간만에 관찰된 식염수-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수는 각각 1.50 ± 0.32 , 2.16 ± 0.33 및 2.79 ± 0.31 이었다.

2. 인삼-ACTH 군의 간 조직 방사능 지수는 1, 10 및 24 시간만의 값이 각각 2.71 ± 0.22 , 3.85 ± 0.29 및 5.06 ± 0.31 로 나타났다. 그러므로 인삼-ACTH 군 간 조직 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 해당 값보다 현저하게 증가하였다.

이상의 결과로 미루어 보아 인삼은 ACTH 주사로 인하여 야기되는 마우스의 간 조직 DNA 합성능의 저하를 어느 정도 막는 것으로 추측된다.

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.*

채유병, 장원상, 권영진 : 고려인삼이 간 조직 DNA 합성능에 미치는 영향(I). 대한생리학회지 8, 1-4,

1974.

김철 외 : 고려인삼이 흰쥐의 장기조직 핵산 함유량에 미치는 영향. 대한생리학회지, 5, 23-42, 1970.

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

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

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