

인삼사포닌 (ginsenoside) 저밀도 지방단백질 수용체 생합성에 미치는 영향*

주충노·강인철·이희봉*

연세대학교 이과대학 생화학과

*강원대학교 자연대학 생화학과

(1988년 9월 21일 접수)

Effect of Ginsenosides on the Biosynthesis of Low density Lipoprotein Receptor in Cultured Chinese Hamster Ovary(CHO) Cell

Chung No Joo and In Chul Kang, Hee Bong Lee*

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University, Seoul 120, Korea

*Department of Biochemistry, College of Natural Sciences, Kangwon National University

(Received September 21, 1988)

Abstract

Effect of the purified ginsenoside -Rb₁ and -Rb₂ on LDL receptor biosynthesis of CHO cell cultured in a high cholesterol medium was investigated.

Cholesterol uptake by CHO cell cultured in a medium containing various amounts of cholesterol was traced and found that the cholesterol uptake was proportional to the concentration of cholesterol in the medium, and the population of LDL receptors were proportionally decreased as the increasing cholesterol level in the cell. However, when the CHO cells were cultured in the medium containing ginsenosides, no significant decrease of LDL receptor population occurred. The biosynthesis of protein and RNA of the above cells was higher than that of CHO cells cultured in the absence of the ginsenosides, suggesting that the ginsenosides might stimulate LDL receptor biosynthesis. It was also observed that the ginsenosides stimulated the biosynthesis of estradiol and progesterone from cholesterol in the CHO cell.

From the above results, it seemed that the ginsenosides lowers the cholesterol level by stimulating the cholesterol metabolism including steroid hormone biosynthesis, resulting in the lowering of inhibitory action of cholesterol on LDL receptor biosynthesis.

서 론

저밀도 지방단백질 (LDL)은 혈액에서의 cholesterol의 중요한 운반체이지만 혈액내

*이 연구는 1986년도 삼반기 과학재단 차관 연구비로 이루어진 것임

LDL이 축적되면 고혈압, 동맥경화증 등을 유발하는 주요원인이 되기도 한다.

일반적으로 LDL은 세포표면의 LDL 수용체에 결합되어 coated vesicle을 형성한 후 endocytosis 과정을 거쳐 세포내로 흡입되어 lysosome과 융합하여 가수분해되고, 방출된 cholesterol은 세포들의 수요에 따라 이용된다. 한편 유리형 cholesterol은 세포내의 cholesterol 대사를 조절한다. Cholesterol이 축적되면 1) Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase 활성이 억제되므로 결과적으로는 cholesterol 합성이 억제되고¹⁾, 2) Acyl-CoA ; Cholesterol acyltransferase(ACAT)의 활성이 촉진되어 과량의 cholesterol은 저장형인 ester형으로 전환된다. 또한 과량의 cholesterol은 3) LDL 수용체 합성에 있어서 posttranscriptional modification을 억제함으로써 LDL 수용체의 생합성이 억제되어 혈액으로 부터의 LDL 흡입이 감소된다. 특히 cholesterol의 LDL 수용체의 생합성 억제작용은 고 cholesterol 혈증을 유발하는 원인이 되고 있으므로 생리적인 문제점으로 제시되고 있다.

Brown과 Goldstein²⁾은 familial hypercholesterolemia(FH) 환자가 LDL 수용체를 합성하지 못한다는 것을 발견하고 LDL 수용체가 혈중 cholesterol 농도조절에서 중요한 역할을 한다고 주장하였다. FH 환자는 LDL 수용체를 합성하지 못하기 때문에 혈액으로부터 LDL을 제거하지 못하며 따라서 혈액내, LDL의 농도가 높아짐으로서 동맥경화 및 여러 심장질환 등이 야기된다는 것이다.

LDL 수용체는 LDL 이외에도 apo B와 apo E를 함유한 지방단백질과도 결합하며 apo E를 함유한 지방단백질은 apo B만 함유한 LDL보다 LDL 수용체에 대한 친화력이 훨씬 높으며 지방단백질의 apo B와 apo E에 존재하는 lysyl기와 arginyl기가 LDL 수용체와 작용하는 것으로 알려져 있다³⁻⁶⁾.

본 연구실에서는 인삼의 사포닌 성분이 토끼에서 cholesterol 부여로 인한 LDL 수용체 합성억제 작용을 효과적으로 완화시켜 cholesterol 혈증 유발을 억제한다는 것을 관찰하였다^{7,8)}.

또한 쥐에게 고 cholesterol 식이와 인삼 사포닌 분획 또는 정제된 ginsenoside를 함께 부여한 후 혈청 및 각 장기(간, 신장, 부신피질, 정소)의 cholesterol 농도 및 LDL 수용체를 조사한 결과 인삼 사포닌이 혈청 및 각 장기의 cholesterol을 현저히 저하시키며 LDL 수용체의 생합성도 크게 촉진한다는 것도 보고한 바 있다⁹⁾.

본 연구에서는 인삼 사포닌 분획 및 정제된 몇가지 ginsenoside의 고 cholesterol 혈증억제작용 메카니즘을 규명하기 위해 CHO 세포를 이용하여 cholesterol에 의한 LDL receptor 합성능 억제를 관찰하고 cholesterol 존재시 LDL receptor 합성능에 미치는 ginsenoside의 영향을 조사하며 동시에 RNA 및 단백질 합성능을 조사하였다. 또한 ginsenoside의 세포내 cholesterol 대사에 미치는 영향을 관찰하기 위해 cholesterol로부터의 steroid hormone 생합성에 미치는 ginsenoside의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시 약

Eagle's minimum essential medium(EMEM)과 Fetal bovine serum은 Gibco제품, tissue culture flask, dish, 24 well plate 등은 (주)녹십자 의공과 costar제품, filter mem-

brane은 Gelman제품을 사용하였다. HEPES, Trypsin-EDTA, NaHCO_3 , Tris, Bovine serum albumin(BSA), Cholesterol, 2,5-diphenyloxazol(PPO), 1,4-bis(Phenyl-2-oxazol)-benzene(POPOP) 등은 Sigma제품, $\text{Na-}^{125}\text{I}$ 와 $[4\text{-}^{14}\text{C}]\text{-cholesterol}$ 은 Amersham제품, ICI은 Junsei제품을 사용하였다. 그림의 모든 시약은 국내에서 구입하여 사용하였다.

실험 세포주

동물세포인 chinese hamster ovary(CHO) 세포의 세포농도가 2×10^5 cells/ml가 되게하여 Eagle's minimum essential medium[5% (v/v) Fetal bovine serum, 20 mM HEPES (pH 7.4), 24 mM NaHCO_3 , streptomycin(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), Penicillin G(100 unit/ml)]을 25 cm^2 culture flask에 담아 CO_2 배양기(5% CO_2 , 95% air)에서 monolayer로 배양하였다.

3일에 한번씩 배지를 바꾸어 주면서 monolayer로 자라는 CHO 세포의 성장상태를 inverted microscope로 확인하였다.

실험방법

LDL의 분리

정상취의 혈청으로부터 Havel의 방법¹⁸⁾에 따라 밀도가 1.085 g/ml인 NaCl-KBr 용액을 가하여 밀도를 1.019 g/ml로 맞춘 후에 Beckman L8-70 Ultracentrifuge(SW 50.1 swining bucket)로 104,000 $\times g$ 에서 18시간 원심분리하여 chylomicron과 VLDL(상층)을 분리하고 나머지 분획(infranate)에 다시 밀도가 1,200 g/ml인 NaCl-KBr 용액을 가하여 밀도를 1,064 g/ml로 맞춘 후 위와같은 방법으로 원심분리하여 LDL(상층)을 분리하였다. 분리한 LDL은 0.1% EDTA를 함유한 0.15 M NaCl(pH 7.4) 용액으로 4°C, 12시간 투석한 후 사용하였다.

^{125}I -labeled LDL의 제조

^{125}I -LDL은 McFarlane의 iodine monochloride 방법⁵⁾을 변형한 Lancer의 방법¹⁰⁾에 따라 다음과 같이 제조하였다.

정상취의 혈청에서 초원심분리하여 얻은 LDL 용액 3 ml에 1.0 M Gly-NaOH buffer(pH 9.0) 0.5 ml를 가하여 완충화하였다. $\text{Na-}^{125}\text{I}$ (1 mCi)를 3 mM ICI 용액 0.3 ml에 가하여 혼합한 다음 1.0 M Gly-NaOH buffer(pH 9.0) 0.5 ml를 가하고 이 혼합액을 위에서 만든 완충화된 LDL 용액에 가하여 4°C에서 8분간 방치한 후 1.66 M KI 용액 0.05 ml를 가하여 다시 4°C에서 15분간 방치하였다. LDL에 결합하지 않고 반응액에 남아있는 free ^{125}I 을 제거하기 위하여 0.1% EDTA를 함유한 0.15 M NaCl(pH 7.4) 용액으로 1시간 간격으로 투석액을 갈아 주면서 5시간 동안 투석한 후 같은 용액으로 하룻밤 동안 투석하였다. 이와같은 투석처리를 한 후에 ^{125}I -LDL 용액에서 회수된 방사능은 20.3%이었다. ^{125}I -LDL 용액 50 μl 에 30% Trichloroacetic acid 50 μl 를 가하고 원심분리하여 얻은 상층액과 단백질 침전물의 방사능을 측정할 결과 전체 방사능중 4%가 상층액에서 검출되었고 나머지 96%는 단백질 침전물에서 검출되었다. 따라서 LDL에 결합하지 않고 ^{125}I -LDL 용액에 남아있는 free ^{125}I 은 4% 미만임을 확인하였다.

LDL receptor의 활성측정¹¹⁾

서로 다른 조건에서 성장시킨 CHO 세포의 LDL receptor 활성을 측정하기 위해 제조한 ^{125}I -LDL을 배지에 넣고 37°C에서 rotary shaker를 사용하여 2시간 배양후 4°C에서 각

monolayer를 Buffer A (50 mM Tris-Cl pH 7.4 ; 0.15 M NaCl ; 2 mg/ml BSA)로 3번 세척하고 같은 Buffer A에 2분간 방치를 두번 행한다. 각 monolayer를 마지막으로 Buffer B (50 mM Tris-Cl, pH 7.4 ; 0.15 M NaCl)로 세척한 후 0.1 N NaOH에 세포를 용해시켜 단백질 정량과 방사능을 Packard Tri-Carb 4530 scintillation counter로 측정하였다.

Cholesterol의 CHO 세포내로의 흡입량 측정

Cholesterol을 ethanol에 용해시켜 serum free medium에 혼합하여 최종농도가 $20 \mu\text{g/ml}$ 가 되도록 하였다. 이때 ethanol의 최종농도를 0.5% 이상이 되지않게 한다. 이렇게 제조된 cholesterol 배지로 cholesterol 농도가 2.5, 5, 10, $15 \mu\text{g/ml}$ 가 되도록 한 후 일정량의 [$4\text{-}^{14}\text{C}$]cholesterol $0.14 \mu\text{Ci}$ 를 배지에 가하고 CHO 세포를 8시간 배양한 후 배지를 제거하고 남은 monolayer 세포를 1% ethanol을 함유한 PBS로 세척한 후 다시한번 더 PBS로 세척하고, 세포를 trypsin으로 처리하여 수확한 다음 0.1 N NaOH에 용해시켜 세포내로 흡입된 방사능을 측정하였다.

Cholesterol의 정량

Cholesterol 양은 Kenny의 방법¹²⁾에 따라 측정하였다. 일정량의 지방질 추출물을 취하여 건조한 후 chloroform을 가하여 5ml가 되게 한 후 acetic anhydride 1ml를 가하고 37°C에서 3분간 방치하였다. 여기에 황산 0.1ml를 가하여 37°C에서 30분간 방치한 후 Shimadzu UV-240 spectrophotometer로 430 nm에서 흡광도를 측정하였다.

RNA 및 단백질의 합성^{13,14)}

48시간 동안 정상배지에서 배양한 세포를 cholesterol 배지 또는 cholesterol과 ginsenoside를 함께 함유한 배지로 바꿔주고 24시간 동안 배양한 후 [$U\text{-}^{14}\text{C}$] leucine과 [^3H] Uridine 0.25nCi 를 가하고 37°C에서 2시간 방치한 다음 PBS로 세번 세척하고 세포를 모아 초음파로 균질화한 것에 TCA를 가하여 침전물을 얻은 다음 TAC로 두번 세척하였다. 이것에 0.5N NaOH를 가하여 60°C에서 1시간 가열한 후 2.5N HCl로 중화하고 TCA로 처리하여 원심분리 한 후 상층액을 모아 ^3H 의 방사능을 측정하고, 침전물의 ^{14}C 방사능 측정하여 합성된 RNA와 단백질 양을 추적하였다.

Ginsenoside의 steroid hormone 생합성에 미치는 영향에 관한 실험

3일간 정상배지에서 배양한 CHO 세포를 cholesterol만을 함유한 배지와 ginsenoside를 함께 첨가한 배지로 같이주면서 일정량의 [$4\text{-}^{14}\text{C}$]cholesterol(0.18nCi)를 가하여 24시간 배양후 배지와 세포를 각각 따로 수확하여 methylene chloride로 2회 추출하고 ethyl acetate로 다시 더 2회 추출하여 얻은 추출액을 농축하였다. 추출한 cholesterol 및 steroid hormone을 TLC plate에 점적하고 cholesterol-acetone(90 : 10 v/v)으로 전개한 후 I_2 증기로 발색시켜 cholesterol, estradiol, Progesterone에 해당되는 띠를 잘라서 방사능 측정하였다.

결과 및 고찰

인삼 사포닌이 고cholesterol 혈증의 혈중 cholesterol 양을 저하시킨다는 보고는 많다.

주 등¹⁵⁾과 이 등¹⁶⁾은 인삼 사포닌의 고 cholesterol 혈증의 혈청 cholesterol 농도 저하작용은 인삼 사포닌이 cholesterol 대사를 촉진하는데 기인할 것으로 예측하고, 인삼 사포닌의 phospholipid 합성에 미치는 영향, lipoprotein lipase(E. C. 3, 1, 1, 34 ; LPL)에 미치는 영향, 지방질 및 cholesterol 대사에 미치는 영향 등을 검토하는 실험에서 인삼 사포닌이

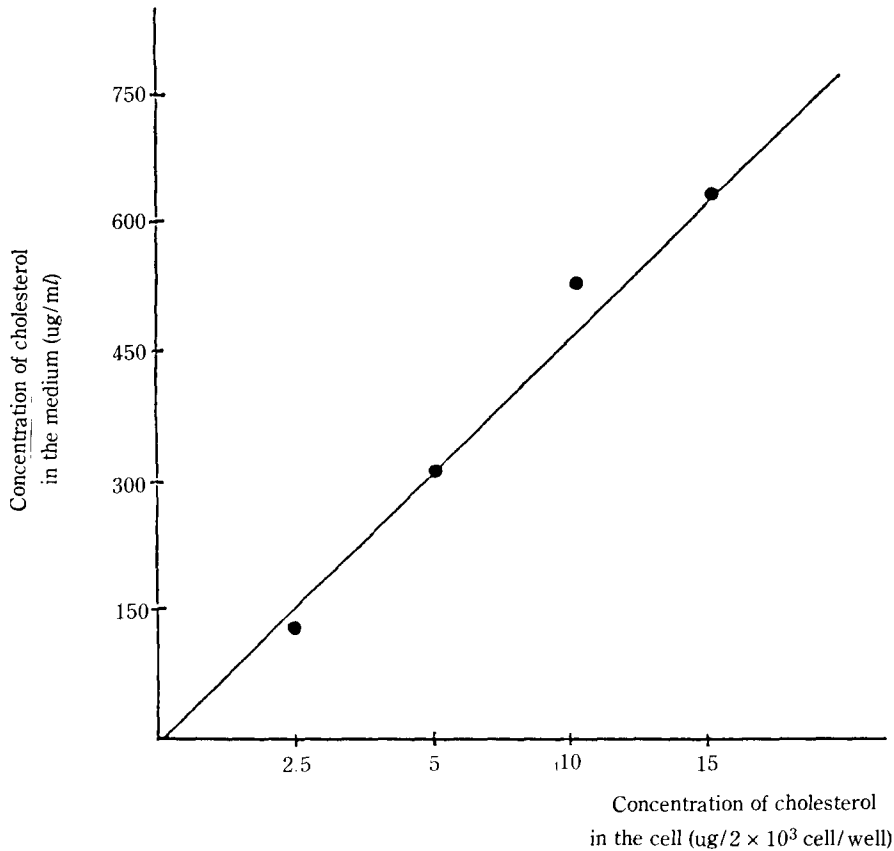


Fig. 1. Uptake of cholesterol by CHO cell cultured in medium containing both cholesterol and [4-¹⁴C] cholesterol.

phospholipid 합성 (*in vitro*와 *in vivo*)과 LPL 활성 (*in vitro*)을 촉진하며, 지방산이나 cholesterol의 대사회전을 촉진함을 관찰한 바 있다.

인삼 사포닌의 고 cholesterol 혈증 개선작용 메커니즘을 규명하기 위해 고 cholesterol 식이로 사육한 토끼 간의 ¹²⁵I-LDL 흡인 및 혈액으로부터의 제거속도에 미치는 인삼 사포닌의 영향을 검토한 결과 인삼 사포닌은 간의 LDL 흡인을 증가시키고, 고 cholesterol 식이로 증가된 VLDL 및 LDL의 혈액으로부터의 제거속도를 촉진하였으며, 인삼 사포닌에 의한 혈청 cholesterol 농도감소가 주로 VLDL과 LDL의 농도감소에 기인된 것으로 밝혀졌다^{7,8)}.

주 등^{10,17)}은 토끼와 쥐에게 고 cholesterol 혈증을 유발시켜 혈청의 단백질의 농도 분포와 LDL 및 cholesterol 대사에 미치는 인삼 사포닌의 영향을 검토한 결과, 인삼 사포닌은 간에서 cholesterol로부터의 담즙산 합성을 촉진하여 간의 cholesterol 농도를 저하시켜 고 cholesterol 식이 투여로 인한 LDL 수용체의 합성저해를 완화함으로써 혈액으로부터 VLDL과 LDL을 효과적으로 제거시킬 뿐 아니라 혈액에서의 지질 micelle의 생성을 용이하게 하여 혈액으로부터의 지질제거 속도가 증가되며 cholesterol 혈증 유발을 억제한다고 하였다.

본 실험에서는 위와 같은 인삼 사포닌 분획(ginsenoside 혼합물) 뿐 아니라, 정제된 몇가지 ginsenoside(ginsenoside Rb₁, -Rb₂, -Re, -Rg₁)가 유사한 작용을 하는지의 여부를 확인하

기 위해 CHO 세포를 사용하여 LDL 수용체의 생합성과 cholesterol 대사에 미치는 영향을 조사함으로써 ginsenoside의 고 cholesterol 혈증 억제작용 메카니즘을 규명하고자 하였다.

Fig. 1은 여러가지 cholesterol 농도를 함유한 배지에서 CHO 세포를 배양하여 세포내로 흡입되는 cholesterol 농도를 나타낸 실험으로, cholesterol 농도가 증가됨에 따라 cholesterol의 흡입율이 증가하는 것으로 보아 cholesterol 흡입이 확산에 의한 것임을 알게 되었다. 따라서 cholesterol 농도가 다른 배지로 CHO 세포를 배양하여 세포내 cholesterol 농도를 변화시킨 후 ^{125}I -LDL에 대한 결합활성을 조사한 결과 ^{125}I -LDL에 대한 결합활성이 CHO 세포의 cholesterol 농도 증가에 따라 점차 감소되는 양상을 보였으나 (Table 1), ginsenoside의 영향을 조사하였을 때는 cholesterol만을 포함한 배지에서 배양한 대조군에 비해 ginsenoside를 포함한 배지에서 배양한 CHO 세포(시험군)의 경우에는 ^{125}I -LDL에 대한 결합능이 크게 증가됨을 관찰할 수 있었으며 특히 ginsenoside Rb_1 (배양액의 농도: $10^{-6}\%$ ~ $10^{-7}\%$)과 ginsenoside Rb_2 ($10^{-4}\%$)에서는 정상군(cholesterol을 함유하지 않은 배양액에서 성장한 세포)에 가까운 값을 나타내었다 (Table 2). CHO 세포내의 cholesterol 농도는 대조군에 비해 시험군에서 크게 저하됨을 관찰할 수 있었으며 특히 ginsenoside- Rb_1 과 - Rb_2 의 효과가 현저하였다 (Table 3).

한편 각 세포 배양군의 RNA와 단백질 합성능을 조사한 결과 cholesterol을 투여한 대조군에 비해 ginsenoside를 첨가한 시험군의 경우 RNA 합성과 단백질 합성이 모두 15%~20% 정도 증가되었다 (Table 4). 이와같은 실험결과는 ginsenoside가 세포내 cholesterol을 저하시켜 LDL receptor 합성억제를 완화시킨다는 본 연구실의 연구결과들과 맥락을 같이 하고 있다.

주 등^{7,8)}은 토끼와 쥐에서 인삼 사포닌이 LDL에 대한 LDL 수용체의 친화력에는 별다른 영향이 없지만 고 cholesterol 식이로 인해 LDL 수용체의 수가 감소되는 것을 막아줌으로써 고 cholesterol 식이로 인한 혈중 cholesterol 농도 증가를 억제한다고 보고하였고 간의 경우 cholesterol의 담즙산으로의 전환이나 ACAT의 활성 등의 증가에 인삼 사포닌이 결정적인 역할을 한다고 주장하였다.

최근 Yamanoto(山本昌弘)¹⁹⁾는 고지혈증 쥐에서 인삼 사포닌이 혈청 cholesterol과 triglyceride 농도를 현저하게 강하시킴을 확인하고 정제된 인삼 사포닌을 사용하여 그 메카니즘을 추구한 결과 인삼 사포닌이 sterol의 배설과 담즙산으로의 전환을 촉진한다고 보고하였다.

주 등^{9,20)}은 쥐의 간에서 ginsenoside가 간 cholesterol의 cholesterol ester로의 전환

Table 1. LDL receptor activities of CHO cells cultured in medium containing various amounts of cholesterol. The values are mean value of three determinations.

Conc. of cholesterol ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	LDL receptor activity (ng bound mg/LDL pro.)	Relative (%)
0	1,158 \pm 113	100
2.5	1,026 \pm 186	87
5	977 \pm 106	84
10	816 \pm 81	70*
15	793 \pm 103	68*

* $P < 0.05$

Table 2. LDL receptor activities of CHO cells cultured under various conditions. *The values are mean value of three determination.

Group	Concentration of ginseng saponin (%)						
	0	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
Normal	1,326 ± 500 (100)						
Control	797 ± 90 (60)						
Ginseng saponin				911 ± 70 (69)	924 ± 40 (70)	881 ± 80 (66)	
Ginsenoside Rb ₁		1,024 ± 75 (77)	1,325 ± 380 (100)	1,498 ± 670 (113)	978 ± 540 (74)		
-Rb ₂				812 ± 40 (66)	876 ± 190 (75)	1,390 ± 390	1,000 ± 400
-Re		701 ± 20 (53)	1,062 ± 200 (80)	1,025 ± 120 (77)	697 ± 220 (53)	672 ± 220 (51)	
-Rg ₁		832 ± 130 (63)	850 ± 40 (64)	875 ± 70 (66)			

Normal group was cultured in standard medium.

Control group was cultured in standard medium containing cholesterol (10 ug/ml) *Test groups* were cultured under similar conditions of control group but either with ginseng saponin mixture or with ginsenoside Rb₁, -Rb₂, -Re and -Rg₁ fractions.

The figure in brackets are relative percentage assuming that of normal group being 100.

*LDL receptor activities were defined as ng LDL bound in 2 hours at 37 °C by mg protein.

Table 3. Cholesterol concentration of CHO cells cultured under various conditions. The values are mean value of three determinations.

Group	Cholesterol concentration (ug)	Relative (%)
Normal	37 ± 1.51	100*
Control	56 ± 2.16	150
Ginseng saponin mixture (100-5%)	34 ± 3.92	91
Ginsenoside Rb ₁ (10 ⁻⁶ %)	32 ± 2.39	86*
Ginsenoside Rb ₂ (10 ⁻⁴ %)	23 ± 1.41	61*
Ginsenoside Re (10 ⁻⁷ %)	40 ± 7.32	107
Ginsenoside Rg ₁ (10 ⁻⁶ %)	36 ± 0.82	96

*P<0.05

및 담즙산 합성을 촉진하여 간 세포내의 cholesterol 농도를 크게 저하시킴으로써 고농도의 cholesterol에 의한 LDL 수용체 합성억제를 완화하여 고cholesterol 식이로 인한 고 cholesterol 혈증 유발을 억제한다고 해석하였다. Table 5는 ginsenoside의 steroid hormone 합성에 미치는 영향을 조사한 결과로서 cholesterol 만을 첨가한 대조군에 비해 ginsenoside를 함께 첨가한 시험군이 경우 steroid hormone 합성이 증가하였고 또한 cholesterol

Table 4. The biosynthesis of RNA and protein of CHO cells cultured under various conditions*

	Radioactivity of ³ H-Uridine incorporated into RNA (cpm)	Radioactivity of ¹⁴ C-Leucine incorporated into protein (cpm)
Normal	8,239 ± 1,461 (100)**	18,383 ± 4,628 (100)
Control	2,730 ± 194 (33)**	10,473 ± 1,445 (57)
Ginseng saponin mixture	4,103 ± 125 (50)**	12,774 ± 1,862 (69)
Ginsenoside Rb ₁	4,099 ± 1,1296 (50)**	11,438 ± 969 (62)
-Rb ₂	4,095 ± 1,391 (50)**	11,274 ± 996 (61)
-Re	2,821 ± 53 (34)**	11,391 ± 216 (62)
-Rg ₁	3,799 ± 1,140 (46)**	11,439 ± 614 (62)

Normal group was cultured in standard medium.

Control group was cultured in standard medium containing Cholesterol (10 ug/ml) Test groups were cultured under similar conditions of control group but either with ginseng saponin mixture (10⁻⁵%) or with ginsenoside Rb₁(10⁻⁶), -Rb₂(10⁻⁴%), -Re(10⁻⁷%), -Rg₁(10⁻⁶%) fractions.

*The figure in brackets are relative percentage assuming that of normal group being 100.

**P<0.05.

Table 5. The effect of ginsenoside on the biosynthesis of progesterone and estradiol from [4-¹⁴C] cholesterol in cultured CHO cell

	Radioactivity(DPM)					
	Prog.	Cell Est.	Chol.	Prog.	Medium Est.	Chol.
Control	1,168 ± 421 (1.5)	885 ± 231 (1.2)	75,472 ± 25,128 (100)	412 ± 212 (0.4)	885 ± 340 (0.8)	109,355 ± 21,269 (100)
Ginseng saponin mixture	2,691 ± 968 (4)	962 ± 57 (1.4)	67,659 ± 19,457 (100)	414 ± 98 (0.6)	855 ± 32 (1.3)	64,818 ± 4,659 (100)
Ginsenoside Rb ₁	1,690 ± 279 (3.6)	1,054 ± 144 (2.2)	47,033 ± 15,854 (100)	1,016 ± 203 (1.6)	2,349 ± 48 (3.6)	64,866 ± 15,717 (100)
-Rb ₂	1,546 ± 211 (2.2)	1,242 ± 1,089 (1.8)	70,892 ± 7,398 (100)	1,115 ± 585 (1.3)	1,612 ± 1,361 (1.9)	84,396 ± 19,145 (100)
-Re	2,265 ± 719 (3.2)	915 ± 147 (1.6)	68,704 ± 14,487 (100)	1,005 ± 722 (0.6)	1,083 ± 561 (2.8)	64,052 ± 12,635 (100)
-Rg ₁	1,813 ± 113 (3.2)	938 ± 81 (1.6)	57,544 ± 6,244 (100)	514 ± 121 (0.6)	2,472 ± 1,510 (2.8)	88,197 ± 21,216 (100)

*The figure in brackets are relative percentage assuming that of cholesterol being 100.

양도 시험군이 대조군에 비해 저하되었다.

따라서 이상과 같은 연구결과에 의하면 CHO 세포가 생식세포임을 감안할 때 ginsenoside가 세포내 cholesterol 대사를 촉진하여 cholesterol의 steroid hormone 으로의 전환촉진 등으로 세포내 cholesterol 농도를 효과적으로 낮추어 cholesterol로 인한 LDL 수용체 합성억제를 완화시켜준 결과라고 해석된다.

요 약

여러가지 농도의 cholesterol을 함유한 배지에서 배양한 CHO 세포내로 흡입된

cholesterol 양을 조사한 결과 흡입량이 배지의 cholesterol 농도에 비례하였으므로 cholesterol 흡입은 확산에 의한 것으로 생각된다.

¹²⁵I으로 표지된 저밀도 지방단백질 (¹²⁵I-LDL)을 이용하여 여러가지 농도의 cholesterol을 함유한 배지에서 배양한 CHO 세포와 cholesterol이 없는 정상배지에서 배양한 CHO 세포에서의 LDL 수용체의 합성양상을 조사한 결과 배지에 가해준 cholesterol이 LDL 수용체 합성을 억제함을 확인하였다.

Cholesterol의 LDL 수용체 생합성 억제작용에 미치는 ginsenoside의 영향을 조사하기 위해 ginsenoside와 cholesterol을 함께 함유한 배지에서 배양한 CHO 세포(시험군)과 cholesterol만을 포함한 배지에서 배양한 CHO 세포(대조군)에서의 LDL 수용체의 합성양상을 분석한 결과 대조군에 비해 시험군에서의 LDL 수용체 합성이 크게 증가하였다. RNA 및 단백질 합성도 시험군이 대조군보다 증가하였음을 관찰하였다. 그러나 이와같은 실험조건하에서의 대조군과 시험군의 cholesterol 농도를 측정할 결과 시험군의 cholesterol 농도가 대조군보다 훨씬 저하되고 있었다.

Ginsenoside의 cholesterol 농도 저하작용을 관찰하기 위해 CHO 세포에서의 cholesterol의 steroid hormone(estradiol, progesterone)으로의 전환에 미치는 ginsenoside의 영향을 조사한 결과 ginsenoside는 cholesterol의 hormone으로의 전환을 촉진하였음이 확인되었다.

위와 같은 실험결과로 볼 때 ginsenoside는 CHO 세포내부에서의 cholesterol 대사를 촉진하여 세포내의 cholesterol 농도를 저하시킴으로써 cholesterol의 LDL 수용체 합성억제를 완화시켜 주는 것이라고 생각된다.

사 사

본 실험에서 사용한 사포닌 분획과 정제된 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rg₁, Re는 한국인삼연초 연구소에서 얻은 것이며 이에 깊이 감사를 드립니다.

인용문헌

1. Brown, M.S. and J.L. Goldstein (1974). *J. Biol. Chem.*, **249**, 789.
2. Brown, M.S. and J.L. Goldstein (1979). *Harvey Lect.*, **73**, 163.
3. Pitas, R.E., T.L. Innerarity and R.W. Mahley (1980). *J. Biol. Chem.*, **255**, 5454.
4. Basu, S.K., J.L. Goldstein, R.G.W. Anderson and M.S. Brown (1976). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3178.
5. Weisgraber, K.H., J.L. Innerarity and R.W. Mahley (1978). *J. Biol. Chem.*, **253**, 9053.
6. Mahley, R.W., T.L. Innerarity, R.E. Pitas, K.H. Weisgraber, J.H. Brown and E. Gross (1977). *J. Biol. Chem.*, **252**, 7279.
7. Kang, B.H. and C.N. Joo (1986). *Korean Biochem. J.*, **19**, 168.
8. Kang, B.H. and C.N. Joo (1986). *Korean Biochem. J.*, **19**, 173.
9. Joo, C.N., Y.W. Lee and J.H. Koo (1987). *Korean Biochem. J.*, **20**, 362.
10. Lancer, T., W. Strober and R.I. Levy (1972). *J. Clin. Invest.*, **51**, 1528.
11. Goldstein, J.L. and M.S. Brown (1974). *J. Biol. Chem.*, **249**, 5153.
12. Kenny, A.P. (1952). *Biochem. J.*, **52**, 611.
13. Pollack, R. and Arthen vogel (1973). *J. Cell. Physiol.* **82**, 93.
14. 최입순, 주충노, 최춘근, 주상욱, 김재원 (1987).

15. Joo, C.N., J.H. Koo, H.B. Lee, J.B. Yoon and Y.S. Byun (1982) *Korean Biochem. J.*, **15**, 189.
16. Lee, S.O., J.H. Koo and C.N. Joo (1981) *Korean Biochem. J.*, **14**, 161.
17. Joo, C.N., (1980). Proceeding of 3rd International ginseng symp., Korean ginseng res. Inst., 27.
18. Havel, R.J., H.A. Eder and J.H. Bragdon (1957). *J. Clin. Invest.*, **34**, 1345.
19. 山本昌弘, 林良明, 態谷朗(1977) 和漢藥 symposium, **10**, 90.
20. Joo, C.N., J.Y. Choi and Y.W. Lee (1987). *Korean Biochem., J.*, **20**, 368.