

인삼의 암에 대한 1차 예방효과에 관한 연구

윤 택 구

원자력병원 암병리학연구실

연자는 1970년대 중반기부터 암의 적극적 예방법의 개발을 위하여 전세계적으로 노력하는 경향이 있게 되자 인공적 합성물질에 의한 암예방은 독성문제로 바람직하지 못하다고 판단하고 우리 인류가 오래전부터 섭취 또는 복용하여 온 자연산 생물질 중에서 암의 화학적 또는 면역학적 예방제를 발굴하여야 한다고 믿어왔다.

특히 동양의 영약인 인삼은 오래 전부터 「장기복용하면 장수한다」고 알려져 있다. 이것이 사실이라면 「인삼을 복용함으로써 암과 같은 난치병이 예방되어서 장수하게 된다」라고 가설하고 이를 증명하기 위하여 1978년부터 아래와 같은 실험적 연구와 역학(疫學)적 연구를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 생후 24시간 이내의 ICR마우스에 화학적 발암물질인 urethane, 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA), N-2-fluorenylacetamide(FAA), aflatoxin B₁ 및 담배연기농축물(한산도)을 투여한 후 3주(이유시)부터 급수에 홍삼정분을 용해하여 매일 투여하고 26주 내지 56주에 도살하여 관찰한 결과 urethane, DMBA 및 aflatoxin B₁ 투여군에서 통계적으로 유의있는 폐선종의 발생억제현상을 볼 수 있었다.
2. 그 후 환경성 발암물질이며 다환성 탄화수소인 benzo(a)pyrene과 urethane을 투여한 실험에서, 이들 발암물질을 각각 실험 마우스에 투여하면 자연살해세포(natural killer cell)의 활성도가 현저히 감소되었다가 홍삼정분의 투여로 재차 회복되면서 urethane에 의한 폐선종의 발생을 억제함을 볼 수 있었다. 한편 benzo(a)pyrene을 투여한 경우에도 자연살해세포가 감소되었다가 홍삼의 투여로 재차 회복되나 benzo(a)pyrene은 잠복기가 길어 폐선종발생이 늦어짐으로서 폐선종발생을 억제하지 못하는 현상에 착안하여 benzo(a)pyrene을 투여 후 9주에 폐선종이 발생하는 중기 발암실험법을 확립할 수 있었다.
3. 중기 9주 실험법에 의하여 홍삼정분이 역시 benzo(a)pyrene의 투여로 폐선종의 발생을 억제함을 볼 수 있어서 재확인할 수 있었으나 수삼을 갈아 급수에 부유시켜 동량 투여한 실험에서는 폐선종의 발생을 억제하지 못하였다.
4. 여기에 연자는 동물실험에서 확인된 홍삼의 암예방작용이 사람에서 재현되는가를 확인하기 위하여 환자-대조군 연구(case-control study)를 수행하였다. 암전문병원인 원자력병원에 1987년 2월부터 1988년 1월까지의 기간에 내원한 환자 중 세포학적 진단 또는 병리조직학적 진단에 의하여 암으로 최종진단된 암환자 중 발생불능 또는 중태로 설문에 응하기 곤란한 환자를 제외한 905명을 무작위 선택하였고, 대조군의 선정은 선택된 암환자와 개별적 응답(1:1)에 의하여 성별, 연령별(±2세), 병원내원인(3개월 이내)을 고려하여 905명을 충당하였다. 이 연구를 위한 설문은 면접을 통하여 수행하였고, 인삼의 첫 복용년도, 그 후 매년 복용상황, 복용기간, 복용회수에 대하여 설문하였으며, 인삼의 종류는 수삼, 백삼, 홍삼제품으로 구분하여 복용상태별로 세분하여 설문하였다. 이 연구는 면접시 조사자의 편견을 제거하기 위하여 가능한 한 설문환경자의 환경을 동일하게 하고 설문대상자가 환자인지 대조군환자인지를 모르게 하였으며 수집된 자료는 전산프로그램을 이용하여 분석하였다. 분석방법은 1) 두 집단간의 빈도에 따른 관련요인과 비교는 X² 검정법을 이용하였고, 2) 환자군과 대조군과의 추정상태위험도는 odds ratio로 표시하였으며, 이외의 검정은 Mantel-Haenzel X²에 의하였다. 또한 설문대상자들의 진술의 정확성을 판단하기 위하여 Kappa치를 산출하여 다음의 결과를 얻었다.

- ① 환자 905명 중 인삼을 복용한 경험이 있는 환자수는 562명으로 62.0%였으며 대조군에서는 674명으로 75.0%로 암환자군에서 인삼을 복용한 빈도가 현저히 낮았다.
 - ② 인삼 전제품의 추정상대위험비는 인삼비복용군의 위험도를 1.00으로 하였을 때에 0.56으로서 통계학적으로 유의한 감소를 보였다.
 - ③ 인삼제품별 추정상대위험도는 수삼열탕, 수삼열탕 및 신선수삼절편, 수삼열탕 및 백삼분말, 백삼열탕, 백삼분말, 백삼열탕 및 백삼분말을 병용 복용한 사람에서 공히 유의하게 추정상대위험도가 감소되었으나 신선수삼절편, 신선수삼즙 또는 백삼차를 복용한 사람에서는 위험도의 감소가 통계학적으로 유의하지 않았다.
 - ④ 인삼의 복용빈도에 따른 암에 대한 추정위험도는 남성에서 1년에 1~3회 복용시에 0.58, 4~11회 복용시에 0.43, 12회 이상 복용시에 0.25를 보였고, 여성에서는 0.81, 0.56, 0.52를 보임으로서 용량 반응관계에 있어서 남녀 공히 통계학적으로 유의한 소견을 보였다.
 - ⑤ 또한 총 인삼복용회수에 따른 추정위험도는 1~5회에서 0.84, 40~50회에서 0.60, 101~200회에서 0.49, 201~300회에서 0.58, 501회 이상에서 0.34를 보임으로써 용량반응과제를 재차 확인할 수 있었다.
 - ⑥ 면접대상자들에 의한 진술의 정확성을 판단하기 위한 Kappa치는 0.71로서 $p < 0.01$ 으로 통계학적으로 유의하였다.
5. 여기에 연자는 암환자군과 비암환자군의 증례를 각각 2배 이상으로 증례하여, 1) 어떠한 종류의 인삼에서 암예방작용이 가장 현저한지, 2) 암예방효과는 복용빈도 또는 기간에 분명히 비례하는지, 3) 인삼의 암예방효과가 남성과 여성에서 어떻게, 어느 정도 차이가 있는지, 4) 남성과 여성에게 가장 현저한 암예방작용을 보이는 암은 각각 어떤 것인지, 5) 인삼을 복용한 깃연자에게서 암예방현상이 관찰되는지 등을 분석 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.
- ① 환자 1,987명 중 인삼을 복용한 경험이 있는 환자수는 1,066명으로 52.0%였으며 대조군에서는 69.8%로 암환자군에서 인삼을 복용한 빈도가 현저히 낮았다.
 - ② 인삼제품별 추정상대위험도는 수삼열탕 : 0.38, 수삼열탕 및 신선수삼절편 : 0.43, 수삼열탕 및 백삼분말 : 0.33, 백삼열탕 : 0.55, 백삼열탕 및 신선수삼절편 : 0.57, 백삼분말 : 0.31, 백삼분말 및 신선수삼절편 : 0.44, 백삼열탕 및 백삼분말 : 0.24, 그리고 홍삼제품 : 0.23을 보임으로써 홍삼제품에서 추정상대위험도가 최고로 감소되었다.
 - ③ 인삼제품 중 신선수삼절편 복용자에서의 상대위험도는 0.80, 수삼즙 복용자에서 0.72, 인삼차 복용자에서는 0.69를 보임으로써 통계학적으로 의의를 보이지 않았다.
 - ④ 인삼제품의 복용빈도, 복용기간, 복용총회수에 비례하여 상대위험도가 감소되었다.
 - ⑤ 남녀양성 인삼복용자에 있어서 장기별 암의 추정위험도는 구강 및 후두암 : 0.46, 식도암 : 0.23, 위암 : 0.38, 대장 및 직장암 : 0.42, 간암 : 0.49, 폐암 : 0.54를 각각 보여 모두 통계학적으로 의의를 보였다.
 - ⑥ 그러나 여성에서 빈발하는 유방암, 자궁경부암 및 갑상선암에서의 추정상대위험도는 0.68, 0.64, 0.72를 보임으로써 통계학적으로 의의를 보이지 않았다.
 - ⑦ 인삼복용이 흡연으로 인한 암발생위험도에 어떠한 영향을 미치는가를 보기 위하여 폐암, 입술, 구강 및 인두암, 식도암, 위암, 간암, 대장 및 직장암에서 분석한 결과는 다음과 같다.
 - ㄱ) 276명의 폐암환자를 대상으로 분석한 결과, 인삼을 복용한 경험이 없는 비흡연자의 추정상대위험도를 1.00으로 보았을 때에 인삼을 복용한 경험이 없고 흡연한 경우 추정상대위험도가 2배인 2.18($p < 0.01$)로 통계학적으로 유의있는 증가를 보였다. 그러나 인삼을 복용하면 추정상대위험도는 1.09($p < 0.01$)로 감소되었을 뿐 아니라, 인삼복용빈도가 년 1~3회인 경우 2.01, 년 4~11회 복용하면, 1.08($p < 0.05$)였고, 월 1회 이상 복용하면 0.72($p < 0.01$)로 인삼복용빈도가 빈번할수록 흡연에 따른 폐암발생 추정상대위험도는 감소되었다.
 - ㄴ) 입술, 구강 및 후두암(159명)의 경우에도, 인삼을 복용한 경험이 없고 흡연하였을 경우 추정

- 상대위험도가 1.78로 증가되나 인삼을 년 1~3회 복용하면 1.63, 년 4~11회 복용하면 1.12($p < 0.01$), 월 1회 이상 복용하면 0.37($p < 0.01$)로 인삼의 복용빈도가 빈번하면 빈번할수록 흡연량에 따른 위험도가 감소되었다($p < 0.001$).
- ㉒) 식도암(87명)인 경우, 인삼을 복용한 일이 없이 흡연한 경우의 추정상대위험도는 2.15로 약 2배로 증가되었으며, 인삼을 복용하면 0.48($p < 0.01$)로 위험도가 감소되었고 복용빈도에 따라 서도 역시 감소하였다($p < 0.001$).
- ㉓) 위암(299)의 경우, 인삼을 복용한 경험이 없이 흡연하면 위암발생 추정상대위험도가 1.78배로 증가되었고, 인삼을 복용하면 0.51($p < 0.01$)로 위험비가 감소되었으며, 인삼복용빈도에 따라서도 역시 감소하였다.
- ㉔) 간암(264명)인 경우, 인삼을 복용한 일이 없이 흡연하면 간암발생 추정상대위험도는 1.50배로 증가되었고, 인삼을 복용하면 0.73($p < 0.01$)로 감소되며 복용빈도에 따라 더욱 감소된다.
- ㉕) 대장 및 직장암(118명)의 경우, 인삼을 복용한 경험이 없이 흡연한 경우 대장 및 직장암의 발생 추정상대위험도는 2.48로 증가되나, 인삼을 복용하면 0.64($p < 0.01$)로 위험비가 감소될 뿐 아니라 복용빈도에 따른 용량반응관계를 보였다($p < 0.05$).
- ㉖) 이 증례-대조군 연구를 위한 환자의 설문자료에 대한 응답내용의 정확성을 평가하기 위하여 2차 면담한 결과와 1차 면담 내용과의 일치도를 분석한 결과 Kappa치는 0.78($p < 0.001$)로 훌륭한 일치도를 보였다.
- ㉗) 결론적으로 인삼의 복용은 용량비례적으로 암을 1차 예방하였으며 인삼제품 중 홍삼에서 가장 낮은 추정상대위험도를 보였고 장기별 또는 암종류별로 보면 호르몬의존 암보다는 환경성 인자가 크게 관련될 것이라고 생각되는 암에서 위험도가 현저히 감소되었다.
6. 연자는 위에서 관찰한 증례-대조군 연구에 의한 인삼의 암예방작용을 코호트연구(cohort study)에 의하여 재차 규명하고자 이 연구를 수행하였다. 국내에서 오랫동안 인삼의 주생산지로 알려진 4개 지역과 1개 비교집단 지역에 거주하는 40세 이상의 주민들을 대상으로 1987년 8월부터 각 지역에 거주하는 훈련된 설문요원에 의하여 강화읍에서 4,634명, 풍기읍에서 2,952명, 금산읍에서 2,044명, 무주읍에서 3,367명, 그리고 금촌읍에서 1,654명, 총 14,651명을 대상으로 개별 면접조사를 수행하였다. 면접조사내용은 조사대상자들의 연령, 성별, 결혼상태, 교육수준, 직업, 경제상태 등 일반적인 사항과 흡연, 음주 등 생활습관에 관한 사항을 조사하였다. 한편 이들의 암발생 및 사망여부를 확인하기 위하여 1차 설문 후 5년이 경과한 후에 2차 방문 설문하여 그후의 복용현황과 질병발생 또는 사망여부를 확인하는 한편 행정기관의 사망자 신고자료, 의료보험기관의 진료명세서, 진료병원의 의무기록부 등으로 질병상태를 확인하고 있다. 이들 5개 지역 중 경기도 강화군 강화읍은 1993년 1월까지 5년간의 추적조사와 2차 방문 설문자료를 추적할 수 있었기에 Mantel-Haenzel 방법을 이용하여 연령, 성별을 보정하였으며 용량반응관계를 검정하여 유의한 결과를 얻었기에 1차 보고하는 바이다.
- ① 1987년 당시 경기도 강화군 강화읍에 거주하는 40세 이상의 주민 4,634명(남성 : 2,362명, 여성 : 2,272명)에 있어서 사망자수는 335명이었으며, 그중 암 사망자가 22.3%(79명), 암 이외의 사망자는 64.5%(229명) 그리고 병명 불명자가 13.2%(47명)이었다. 한편, 암발생 생존자수는 58명이었다.
- ② 조사대상자의 인삼복용상태를 보면 4,634명 중 70.5%가 인삼을 복용한 경험이 있으며, 29.5%는 인삼을 전연 복용한 일이 없었다.
- ③ 인삼복용에 따른 암발생 위험비는 0.48%(95% CI : 0.34~0.67)으로 유의하게 낮았고, 그 이외에서는 위험비가 낮았으나 유의한 차이를 보이지 않았다.
- ④ 인삼 종류별로 보면 수삼열탕복용시 0.23(95% CI : 0.08~0.63)으로 유의하게 낮았고, 그 이외에서도 위험비가 낮았으나 유의한 차이를 보이지 않았다.
- ⑤ 한편 인삼복용빈도에 따른 암발생 위험비는 1년에 1~3회 복용시 0.54, 1년에 4~11회 복용시 0.49 그리고 월 1회 이상 복용시 0.41로 복용빈도가 빈번할수록 위험비가 낮았으며, 용량반응관계를 보였다.

- ⑥ 복용 총회수에 따른 암발생 위험비는 50회 미만시 0.44, 201회 내지 300회 복용시 0.40, 그리고 500회 이상 복용시 0.38로 인삼복용회수가 증가할수록 위험비는 낮았으며, 용량반응관계를 보였다.
- ⑦ 각종 암중 가장 많았던 암은 위암(42명)이었으며 그 다음은 폐암(24명), 간암(14명)순으로 많았고 기타 암은 57명이었다.
- ⑧ 각종 인삼복용자의 위암에 있어서는 위험비는 0.34(95% CI : 0.19~0.60)이었으며, 폐암에서는 0.27(95% CI : 0.12~0.60)로 통계학적으로 유의하였다.
- ⑨ 특히 수삼열탕을 복용하였던 사람들의 위암 발생위험도는 0.19(95% CI : 0.04~0.98)로 유의하게 낮았으며 폐암에서도 수삼열탕복용자에서 낮은 위험비를 보였으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

이상의 코호트 연구결과는 연자와 공동연구자들이 이미 보고한 동물실험 및 증례-대조군 연구결과와 유사하였으며, 본 코호트 연구는 인삼의 암에 대한 1차 예방효과를 뒷받침하여 주는 결과라고 판단하였다.

Polyamine 대사에 관한 연구

조 영 동

연세대학교 이과대학 생화학과

간단한 탄소 골격에 2개 이상의 amine기가 결합되어 생리적 pH에서 다가 양기온의 특징을 나타내는 polyamine은 동물, 식물 및 미생물에서 발견되는 천연물질로 세포대사의 중요한 조절역할을 하는 것으로 알려져 있다. Polyamine류에 속하는 물질에는 주로 putrescine, spermidine, spermine과 cadaverine이 있으며 이미 300여년 전에 Leeuwenhoek에 의해 사람의 정액으로부터 이들의 성질과 유사한 물질이 확인되었으나, 이런 물질들의 생리적 중요성에 대한 인식은 1960년대부터 시작되었다.

고등식물에서는 1965년 Bertossi 등이 polyamine에 대한 연구를 처음 보고한 이래 지난 20여년 동안 이 분야에 대한 연구가 활발히 진행되어왔다. 식물에서 polyamine은 세포의 성장, 분열, 분화 그리고 노화에 있어서 생리적, 생화학적으로 중요하며 세포의 대사과정을 조절하는 것으로 알려져 있다. Polyamine은 생리적 pH에서 polycation으로 존재하므로 세포내의 다양한 anionic biosystem의 구조, 특성 및 기능에 영향을 미친다고 생각된다. 예를 들면, polyamine은 핵산의 phosphate groups와 결합하므로써 핵산의 2차, 3차 구조에 영향을 미친다고 알려져 있다. Polyamine은 특히 핵산 중에서 GC rich DNA 및 여러 가지 RNA와 화합한다고 보고되었으며 핵산과 관련된 효소인 DNA 및 RNA polymerase, methylase, topoisomerase 등의 효소활성에 영향을 미친다고 알려져 있다. 또한, polyamine은 formyl-Met-tRNA가 30S ribosomal subunit에 결합하는 것을 촉진시키며 여러 작용과 함께 polypeptide 합성을 촉진시킨다고 알려졌다. Polyamine은 polycation으로써 핵산과의 상호작용 뿐만 아니라 membrane과도 결합을 한다. 예를 들어, spermine은 thylakoid membrane과 결합하여 membrane을 안정화 시킨다고 보고되었다. 이밖에 polyamine은 poly(ADP-ribose)polymerase, D-glucose-6-phosphate cyclohydrolase, protease, RNase, β -glucan synthetase, nuclear N kinase 등의 효소활성에 영향을 미친다고 보고된 바 있다. 이상과 같이 polyamine은 동물, 식물, 미생물에서 방대한 생물학적 반응에 관여하며, 생장 및 생리과정에서 polyamine의 역할은 polyamine을 주입시켰을 때의 변화 뿐만 아니라 생체내의 polyamine 합성, 분해효소의 활성 및 농도의 변화 그리고 이 효소들의 성질로부터 알 수 있을 것이다.

Polyamine 생합성의 주된 경로는 동물과 식물이 서로 상이한데 동물에서는 arginine으로부터 arginase에 의해 ornithine으로 전환된 후, ornithine decarboxylase(ODC)에 의해 putrescine으로 전환된다. 일단 합성된 putrescine은 aminopropyltransferase에 의하여 spermidine을 형성하고 다시 한 분자의 aminopropyl기를 받아서 spermine으로 전환되는데, 이 과정에서 aminopropyl기의 공여체는 decarboxylated S-adenosylmethionine이다. 따라서 S-adenosylmethionine(SAM)을 decarboxylation시키는 S-adenosylmethionine decarboxylase(SAMDC) 또한 polyamine 생합성의 key enzyme으로 생각된다. 이 효소들은 turnover rate가 빠르고, 호르몬이나 발생 또는 세포성장에 관계되는 effector들에 의해 영향을 받는다. 식물세포에서 polyamine의 생합성은 arginine decarboxylase(ADC)에 의하여 arginine이 agmatine을 경유하여 putrescine으로 합성되는 ADC pathway와 ornithine이 ornithine decarboxylase(ODC)의 작용으로 decarboxylation되어 직접 putrescine으로 전환되는 ODC pathway에 의하여 일차적으로 이루어진다. 식물체가 발아에서부터 시작하여 완전한 개체로 성장하기까지는 끊임없는 외부의 자극에 적절히 대응할 필요가 있다. 그런데, acid feeding나 SO_2 에의 노출, nitrogen source로서 NH_4^+ 공급, potassium의 결핍 등 환경적인 stress하에 처해질 때 putrescine의 수준이 급격히 높아지는데, 증가된 putrescine의 합성경로를 추적한 결과 K^+ -deficient oat leaves에서 ADC활성은 대조구에 비하여 8배 증가하였으며, H^+ stress나 osmolarity의 변화를 준 경우에도 ADC의 활성이 현저히 높아짐을 볼 수 있었다. 식물체의 이러한 반응이 ODC inhibitor인 DFMO를 처리한 경우에는

별 변화가 없으나 ADC inhibitor인 DFMA를 처리했을 때 억제되는 것으로 보아 stress를 받은 식물의 putrescine 합성은 ADC pathway를 통해 일어남을 알 수 있다. 축적된 putrescine의 생리적인 중요성에 대해서 알려진 사실은 그리 많지 않으나 분명히 것은 putrescine과 같은 free amine이 고농도로 세포내에 축적되는 것은 nitrogen metabolism, protein 합성, 세포의 pH 유지 및 ion homeostasis 등의 조절 결과일 것이라는 사실이다.

한편, polyamine을 분해하는 효소에는 putrescine을 분해하는 diamine oxidase와 spermidine, spermine을 산화시키는 polyamine oxidase가 존재한다. 이들은 목초류에 널리 존재하며 특히 옥수수의 맥관, 귀리의 기공, 세포벽, 잎에서 높은 활성을 나타낸다고 보고된 바 있다. Hill은 1971년 처음으로 완두 묘목에서 putrescine을 분해하는 diamine oxidase를 순수하게 정제하여 이 효소가 구리이온을 포함하는 효소임을 보고하였다. Yanagisawa 등은 완두 epicotyl에서 diamine oxidase가 총단백질의 3%를 차지한다고 보고하였다. 또한, 목초류에서는 세포벽에 polyamine oxidase가 존재한다고 보고된 바 있다. 이와 같은 보고는 이 효소가 세포 내에서 polyamine 농도를 조절하는 중요한 효소임을 시사한다. 동물에서는 amine oxidase로서 serum에서 많은 연구가 진행되고 있는데, 활성부위에 6-hydroxdopa가 존재한다고 보고되었으며, copper-containing amine에 존재하는 organic functional group에 관한 보고, structure-function studies 등 구조적 측면까지 연구가 확대되고 있으나, 식물의 diamine oxidase에 대한 연구는 초보적인 단계에 머물러 있는 실정이다.

생체 내에서 polyamine 함량의 변화는 효소의 활성에 변화를 줄 수 있으며 그밖에 각종 생화학적 및 생리적 변화 등을 초래할 수 있어서 대단히 중요한 것으로 간주된다. 그러나 현재까지 polyamine에 관한 연구는 상기한 바와 이외도 많이 진행되어 왔으나 아직도 함량의 조절 기작에 관한 보고는 부진한 상태이다. 따라서 본 주제에서는 고려인삼을 포함한 타식물과 동물에서 polyamine 합성효소와 분해효소의 활성에 관하여 언급하고자 한다. 또한 이 효소활성에 미치는 endogenous metabolite에 관하여 논의하고 이들의 응용 가능성에 관하여도 언급하고자 한다.

Immunostimulating Activities of Polysaccharide Fraction from *Panax ginseng* in Normal or Cyclophosphamide-Treated Mice

Young Sook Kim, Kyu Sang Kang and Shin Il Kim

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

First, ginseng components were examined for their ability to modify immunotoxicity of cyclophosphamide. Ginseng polysaccharide fraction (FO, 300 mg/kg) inhibited decreases in the ratio of spleen to body weight, white blood cells (WBC) count and the number of plaque forming cells (PFC) induced by cyclophosphamide (50 mg/kg, i.p.), and increased these variables in normal mice. Ginseng saponin fraction (50 mg/kg) showed to increase hemoglobin content as well as the number of PFC/spleen in normal mice. On the other hand, panaxytriol (20 mg/kg) prevented decrease in WBC count by cyclophosphamide. Neither saponin fraction nor panaxytriol had any significant effect on the number of PFC and antibody titers in cyclophosphamide-treated mice. These results suggest that ginseng polysaccharide fraction may reduce the immunotoxicity of cyclophosphamide and may be effective in stimulating immune function in normal mice.

Second, the crude polysaccharide form *Panax ginseng* prepared by hot water extraction and precipitation with ethanol was further fractionated into neutral and acidic fraction by DEAE-cellulose ion exchange chromatography. The chemical compositions were 85.0% carbohydrate and 15.0% protein for the neutral fraction, and 28.4% carbohydrate, 10.0% protein and 29.0 uronic acid for the acidic fraction. The acidic fraction (FA) was more effective in increasing the ratio of spleen to body weight, the number of antibody secreting cells to SRBC and phagocytic activity of reticuloendothelial system, as well as antitumor activity against the solid form of sarcoma 180 in ICR mice than the neutral fraction (FN). All polysaccharide fractions were mitogenic to cultured spleen cells of C57BL/6 mice. However, FA was different from FN in the co-mitogenic activities with lectin mitogens. Both crude and acidic fractions potentiated remarkably the mitogenic activity of PHA-P or LPS in dose-dependent manner but neutral fraction enhanced only that of LPS. Three polysaccharide fractions had no effect on that of Con A. These results suggest that the acidic fraction may stimulate B and T cells as well as macrophages while the neutral fraction may stimulate only B cells and macrophages.

인삼으로부터 항암작용 및 방사선장애 억제작용이 있는 면역증강제의 분리

윤 연 숙

한국원자력연구소 부설 원자력병원 면역학연구실

인삼으로부터 항암작용 및 방사선장애 억제작용을 나타내는 Fr.III-2를 분리하였다. 이 분획은 hexose 47.1%, uronic acid 43.4%, 단백질 3.7%로 구성되어있으며 분자량은 50,000에서 150,000 사이였고 구성당은 glucose, galactose 및 galacturonic acid였다.

Fr.III-2는 시험관내에서 T세포 mitogen인 concavalin(Con A) 및 B세포 mitogen인 lipopolysaccharide (LPS)와 동등하거나 그 이상으로 마우스 비장세포를 증식시켰으며, 증식된 임파구의 subset을 flow cytome-

try로 분석한 결과 CD_3^+ 세포, IgM^+ 세포 및 IL-2 receptor⁺ 세포가 증식된 것으로 나타났고 LPS와는 상가적으로 Con A와는 상승적인 임과구 증식능을 보여주었다. 흉선세포와 비장세포로부터 T세포 또는 B세포를 제거하였을 때도 증식효과를 나타냈으므로 Fr.III-2는 T 세포 및 B 세포 mitogen임을 알 수 있었다.

Fr.III-2와 함께 5일간 배양된 비장세포는 NK세포에 살해되는 암세포 및 NK세포에 살해되지 않는 암세포를 조직적합성 항원의 제한없이 살해하였다. Fr.III-2에 의해 활성화되는 암세포 살해 면역세포는 $ASGM_1^+$ 인 NK세포와 CD_8^+ T세포였으며 이들 세포가 활성화 되는데는 helper T세포와 거식세포를 필요로 하였고, 저농도의 재조합 interleukine 2(IL-2)와 상승작용을 나타냈다. Fr.III-2는 lectin류에 속하지 않았으며 열이나 단백질분해효소 처리에 의해 활성이 억제되지 않아 활성부위가 단백질이 아님을 알 수 있었다. Fr.III-2에 의해 활성화된 암세포 살해 면역세포가 생성되는데는 IL-2, interferon γ (INF γ), interleukine-1(IL-1), tumor necrosis factor(TNF α)가 가담하였다.

Fr.III-2의 gel-filtration하기 전단계 물질인 Fr.III에 대한 생체내 항암활성 및 방사선장애 억제실험을 실시하였다. Fr.III는 정맥주사한 B16 흑색종세포가 폐로 전이되는 것을 억제하였고, sarcoma 180세포에 의해 발생된 종양의 무게를 감소시켰으며, 5-fluorouracil과 병용 투여하였을 때 L1210에 의한 사망율을 억제하였고, benzo(a)pyrene에 의해 유발된 폐선종 발생율을 억제하였다. 또한 치사선량의 $^{60}Co-\gamma$ 선 1000R 피폭시 마우스의 사망율을 감소시켰다. 따라서 인삼으로 분리한 다당체 분획인 Fr.III-2는 항암작용 및 방사선장애 억제작용이 있는 새로운 생체응답조절제로서의 가치가 고려되는 물질이라 사료된다.

인삼다당체의 성분 연구

한용남 · 변상희 · 김선영 · 이희주* · 황우익** · 한병훈

서울대학교 천연물과학연구소, *덕성여자대학교 약학대학, **고려대학교 의과대학

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 다당체는 다종다양하며 혈당강화작용, 항암작용, 면역증강작용, 항보체활성, 독소흡몬 L유도 지질분해 저해작용 등 여러 가지 생물활성이 있는 것으로 보고되고 있다. 인삼다당체에는 homogeneous glucans, heterogeneous glycans, peptidoglycans, polygalacturonans, pectic substances 등이 포함되어 있고, 그 중에서도 인삼의 산성다당체가 여러 가지 생물활성을 나타낸다고 보고되어 있다. 연자 등은 인삼에도 점액질(mucilage)이 함유되어 있을 것으로 가정하여 알시안블루 색소와의 복합체 형성능과 carbazole법에 의한 uronic acid 분석을 실시하였다. 그 결과 인삼의 점액질 함량은 홍삼이 수삼보다 약 3배 많고, uronic acid 함량은 서로 비슷하며, 홍삼 및 수삼의 부위별 점액질 함량은 주근이 새근보다 많음을 알았다. 또한 인삼다당체의 추출조건, 인삼의 가공방법에 따라 추출되는 인삼다당체가 서로 상이함을 겔여과법, 이온교환 크로마토그래피법 등을 통해 알게 되었다. 그러므로 인삼다당체의 성분연구를 재검토할 필요성이 높다.

白蔘의 容積密度와 根重과의 關係

백 훈 · 김영희* · 양차범**

한국인삼연구소연구원, *양산전문대학, **한양대학교

백삼 4년근(15번급)의 동체중과 용적밀도(g/cm^3)를 비중과 용적-무게법에 의하여 조사하였다. 용적밀도(y)와 동체중(x) 회귀식은 $Y=0.006x+0.925$ 로서 회귀계수($r=0.272$)로 $p=0.05$ 에서 유의성이 있다. 비중별 분포는 0.8~1.2 사이에서 대략 정류분포를 하고 있다. 동체중 등급의 평균동체중(x)과 고비중삼빈도(y)간의 회귀식은 $Y=4.325 X-7.045$ 이고 $R=0.980$ 으로 고도의 유의성($p=0.01$)을 갖는다. 각 동체중 등급에서의 평균용적밀도(Y)도 평균동체중(X)과 $Y=0.009 x+0.887$ 의 관계로 유의상관($R=0.947$, $p=0.01$)을 보였다. 이들 결과는 대편삼 생육조건이 조직의 치밀도를 높인다는 것을 의미한다.

根重 分佈에 의한 白蔘의 品質評價

박 훈 · 김영희* · 양차범**

한국인삼연구소연구원, *양산전문대학, **한양대학교

고려삼 편급제도의 수치화를 위한 평가를 15편급 4년근 백삼 13갑을 사용 시도하였다. 이 경우 이론적 수치에 대한 충족도(15편급 이상의 삼비율)는 근중에서 58%였고 근수에서는 50%였다. 갑내 개체 중의 변동계수는 컸다(35%). 갑간 동체중 비율의 변동이 가장 적었으나(7.1%) 동체중과 지근중 간에는 유의 상관이 없었다. 갑내 개체근에서 동체 비율의 평균값은 61~74% 범위였고 변동계수는 16.5~33.2%였다. 1차 및 2차 지근중의 변동계수는 큰 차이가 없이 컸다(60% 이상). 편급제도의 수치정의의 철저한 시행은 고려인삼의 화학표준화의 전제조건이 된다.

Cloning and Nucleotide Sequence Analysis of *atpA* Gene in Korean Ginseng Mitochondria

Kab-Sig Kim*, Ui-Sun Park†, Kwan-Sam Choi† and Kwang-Tae Chol

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

†*Dept. Agri. Biol., Chungnam National Univ., Taejon 305-764, Korea*

Mitochondrial (mt) *atpA* gene, encoding the α -subunit of F_1 ATP synthase, was cloned from the genomic library of mt DNA in Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Southern blot analysis showed that mt genome of Korean ginseng contained a single copy of this gene. The nucleotide sequence was analysed and its similarity with other plants was determined. Korean ginseng showed a different nucleotide sequence GTG at the position of the ATG initiation codon in other plants. A probable initiation codon of ATG in Korean ginseng could be found at the position of 150 bp in front of GTG codon and another probable initiation codon ATG is located also 159 bp downstream of GTG codon. It is not certain in this study from which codon the translation of this gene occurs in Korean ginseng.

Singnal Transduction in *Panax ginseng* C.A. Meyer by the Response of Elicitors

Chong-Hwa Lee, Ji-Chang Park, Jeong-Heon Lee and Kwang-Tae Choi

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

It had been well known that phytoalexin (hR_f 72.6 in TLC, UV spectrum-278 and 312 nm) is biosynthesized in *Panax ginseng* C.A. Meyer by the response of the spore of *Fusarium solani*. This compound, which accumulated from 15 hrs after the infection of elicitors, inhibited 18 percent of the mycellial growth and 58.2 percent of the spore germination of *Fusarium solani*.

When the chitosan, the cell wall components of the *Fusarium solani*, was added to the $^{32}P_i$ -labelled ginseng cells (PGL 2), the phosphorylation of cytosolic protein was fluctuated in the presence of 1 mM $[Ca^{2+}]_o$, plus 3 mM [EGTA] $_o$ in the medium. However, in the presence of 1 mM $[Ca^{2+}]_o$ only, a predominant phosphorylation of the protein was revealed at 10 minutes. In contrast, EGTA effect was not appeared in the acid-soluble proteins and faster phosphorylation of the acid-soluble protein than the

one of the cytosolic proteins was also observed in the presence of chitosan and 1 mM $[Ca^{2+}]_0$.

Phosphorylations of individual cytosolic proteins were classified as two groups by the chitosan response in the presence of 1 mM $CaCl_2$; 1) Ca^{2+} dependent phosphorylation (87.1, 47.0, and 243 kDa) and 2) Ca^{2+} -dependent dephosphorylation (84.1, 79.4, 50.7, 26.4 and 18.4 kDa).

For identifying whether phosphorylations of the cytosolic proteins and acid-soluble proteins were dependent or independent on changes of the intracellular calcium ion, the effect of calcium blocker (120 μ M of verapamil) was studied. Phosphorylations of 47.0 kDa and histone fraction I were decreased by the chitosan treatment under the verapamil. Although the clear mechanism is not yet known, it can be supposed that the phosphorylations of 47.0 kDa protein and histone fraction I depend on the changes of the intracellular calcium ions at an appropriate time.

The highest increase of total proteins and the maximum increase in activity of phenylalanine ammonia lyase in ginseng root tissue were observed at 4 hours and at 6 hours after the infection of the spore of *Fusarium solani* and chitosan, respectively. The phenylalanine ammonia lyase activity was 9.072 μ g t-cinnamic acid/30 min/200 μ g protein and 9.446 μ g t-cinnamic acid/30 min/ μ g protein at 6 hours after the response of the 1.36×10^6 spore of *Fusarium solani* and 160 μ M of chitosan respectively.

반응표면분석법을 이용한 인삼우유 중 사포닌 추출조건의 최적화

이승수 · 오훈일 · 광해수*

세종대학교 식품공학과, *서울우유협동조합 기술연구소

인삼우유 개발에 따른 품질지표 중 가장 중요하다고 생각되는 사포닌 정량을 위하여 인삼우유에 함유된 사포닌의 최적 추출조건을 Response Surface Methodology(RSM)을 이용하여 조사하였다.

최적 추출조건 결정을 위한 실험 design은 추출온도, 추출시간 및 냉각온도의 3변수를 독립변수로 하여 3수준의 full factorial design을 설정하였으며 추출된 사포닌량을 vanillin- H_2SO_4 비색법으로 측정된 후 우유에 첨가한 인삼엑기스의 사포닌에 대한 회수수율로 환산하였다. 이 값을 종속변수로 설정하여 다중 회기분석에 의해 model식을 세운 후 RSM에 의한 등고분석(contour plot)과 3차원 분석을 수행한 결과 인삼우유에서 사포닌을 가장 효율적으로 추출할 수 있는 조건은 추출온도 90 $^{\circ}C$ 부근, 추출시간 3시간 전후이며 냉각온도는 4 $^{\circ}C$ 부근인 것으로 나타났다.

에탄올 농도별 홍삼엑스의 가열처리에 따른 갈색화반응과 pH 및 사포닌성분의 변화

최강주* · 고성룡 · 김석창 · 김나미

한국인삼연구소연구원

홍삼의 에탄올 농도별 엑스 수율은 물추출에 비하여 고농도 에탄올 추출엑스의 수율이 낮았으나 사포닌 추출량은 70% 에탄올 > 90% 에탄올 > 50% 에탄올 > 30% 에탄올 > 물추출의 순이었으며 향미도 다소 상이하였다. 에탄올 농도별 교차추출은 1차 : 70% 에탄올, 2차 50% 에탄올, 3차 : 30% 에탄올, 4차 : 물추출 방법의 엑스 수율과 사포닌 추출량이 높았으며 갈색도와 향미의 경우도 양호하였다.

한편 에탄올 농도별 홍삼 엑스류 수용액의 pH는 3.87~4.79로 약산성이었으며, 100 $^{\circ}C$ 에서 가열처리 시간이 8, 16, 32, 64시간으로 증가됨에 따라 갈색화반응은 현저하게 촉진되었고, pH는 3.73~4.32로 더욱

낮아지면서 사포닌의 함량은 현저하게 감소되었다.

홍삼 엑스류의 가열처리에 따른 사포닌 함량의 주된 감소요인은 20(S)-protopanaxadiol과 20(S)-protopanaxatriol의 C₂₀ 위치에 결합된 β-D-glucopyranoside가 약산성의 가열조건에서 가수분해되어 여러 종류의 prosapogenin으로 전환됨으로써 사포닌 함량이 감소되는 것으로 고찰되었다.

혈관 평활근에서의 인삼의 작용 : Inducible Nitric Oxide Synthase의 역할

김낙두 · 한정숙

서울대학교 약학대학

인자는 인삼사포닌을 정맥으로 투여하였을 때 랫드의 혈압이 강하되며, 이 작용은 인삼사포닌이 혈관 내피로부터 nitric oxide(NO)를 유리하는 것과 관련이 있음을 시사한 바 있다. NO는 혈관내피에서 뿐만 아니라, 혈관 평활근에서도 생성됨이 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 혈관 평활근에서 NO 생성에 미치는 인삼의 작용을 연구하였다. 인삼사포닌을 혈관 평활근에 노출시켰을 때(30, 120 및 360분) phenylephrine에 의한 혈관 수축도가 억제되었으며, 이 수축의 억제가 N^G-nitro-L-arginine(NO synthase 억제제)의 전처리에 의해 방지되었다. 또한 단백 합성 억제제인 dexamethasone, cycloheximide 및 actinomycin D의 전처리에 의해서도 phenylephrine에 의한 수축억제가 방지됨을 관찰하였다. 또한, 인삼을 혈관 평활근에 2시간 노출시 평활근 내 cyclic GMP 함량이 인삼 비처리군에 비해 3배 이상 유의성 있게 증가함을 관찰하였다. Cyclic GMP의 증가는 N^G-nitro-L-arginine 및 단백질 합성 억제제의 전처리에 의해 억제되었다. 이상의 결과로 보아 인삼사포닌은 혈관 평활근에서 유도형 NO synthase의 유도로 NO의 생성을 증가시켜 혈관 이완작용 등 생리적 역할을 할 것으로 사료된다.

인삼복방제의 항당뇨 효과 연구

나기정* · 정소영 · 김용규 · 안대진 · 이종철

한국인삼연초연구원

Streptozotocin(STZ, 75 mg/kg, sc) 유발 당뇨쥐에 대하여 인삼을 주원료로 제조한 “인삼복방제 C”의 항당뇨 효과를 요화학 검사, 일반 혈액검사, 병리조직학 검사를 통하여 검정하였다. “인삼복방제 C”는 500 mg/kg 용량으로 1일 1회 경구투여하거나, 사료에 배합하여 STZ 당뇨쥐에 식이시켰다. “인삼복방제 C”를 투여하면 STZ 당뇨쥐의 1일 요량은 162±42 ml/day에서 106±60 ml/day로 유의적으로 감소하였고(p<0.05), 요 삼투압은 917±63 mOsm에서 1016±129 mOsm로 상승하였다. STZ 당뇨쥐의 식이시 혈당은 “인삼복방제 C” 투여로 변화가 없었으나, 1일 질식시 혈당은 유의적으로 감소하였고(p<0.01), 1일 urea 배설량은 “인삼복방제 C” 투여로 894±266 mg/day에서 679±250 mg/day로 유의적으로 감소하며(p<0.05), 혈중 BUN 농도는 46.3±8.4 mg/dl에서 32.8±8.5 mg/dl로 감소하였다(p<0.05). 이는 당뇨병 상태에서 당이용률 저하에 따른 체단백분해 촉진반응이 “인삼복방제 C” 투여로 개선되어짐을 의미한다. 특히 “인삼복방제 C”는 STZ 당뇨쥐의 hyponatremia, hypocalcaemia, hypercalciuria, aciduria와 같은 ion 불균형을 유의적으로 개선시켰으며(p<0.01), 신장 피질부위의 근위도세관 혼탁증상과 괴사, 수질부위의 집뇨관의 손상 및 간세포의 혼탁증상과 같은 병리조직학적 병변을 현저히 감소시켰다.

Inhibitory Effect of Panaxatriol from Korean Red Ginseng on the Breakdown of Membrane Phosphoinositides during Activation of Human Platelets by Thrombin

Kyong Mee Park, Man Hee Rhee, Jong Wha Lee, Ki Yeul Nam,
Hwa Jin Park and Ki Hyun Park

Division of Biochemical Pharmacology, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

Panaxatriol (PT) from Korean red ginseng inhibited the breakdown of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) phosphatidylinositol 4-monophosphate (PIP) and phosphatidylinositol (PI) on the human platelet aggregation by thrombin. And also PT inhibited Ca²⁺ influx, the production of thromboxan A₂ (TXA₂) and the release of serotonin by thrombin.

These results suggest that PT has the antiplatelet function during platelet aggregation by inhibiting the breakdown of phosphoinositides (PIP₂, PIP, PI).

Inhibitory Effects of Ginseng Saponins on Glutamate-Induced Swelling of Cultured Astrocytes

Seong Yeon-Hee, Shin Chang-Sik* and Kim Hack-Seang*

Dept. of Veterinary Medicine, College of Agriculture

**College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju*

The effects of ginseng saponins on glutamate (Glu)-induced swelling of cultured astrocytes from rat brain were studied. Glu-induced swelling of astrocytes was examined by determining [³H]O-methyl-D-glucose ([³H]OMG) uptake and the morphological changes. Glu caused a significant increase in [³H]OMG space and apparent changes in morphology, such as swollen nuclei and disappearance of obvious processes. The Glu-induced increase in [³H]OMG space of astrocytes was inhibited by the treatment with 0.5 mg/ml ginseng total saponins (GTS). This effect of GTS was supported by the morphological observation. The level of cell numbers, when measured by MTT assay, was remained without decreasing after the incubation with GTS even up to 18 hr, indicating that ginseng saponins inhibited the Glu-induced astrocytic swelling without the damage of cellular membrane. GTS did not affect on the [³H]Glu uptake into astrocytes. Therefore it is suggested that ginseng saponins cause the inhibition of astrocytic swelling by a nonspecific blockade of Glu-induced Na⁺ influx followed by a reduction of water influx.

Effect of Ginseng Triol Saponin Fractions on Memory Function Studied with 12-Arm Radial Maze in 15 Month-Aged Rats

Jin-Kyu Park*, Ki-Yeul Nam, Hak-Chul Hyun, Sung-Ha Jin,
S. A. Chepurnov† and N. E. Chepurnova†

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

†Department of Human & Animal Physiology, Moscow State University

Nine male rats aged 15 months, which had been overtrained with 12 arm radial maze up to the criterion of 1.2 errors on average per trials, were divided into two groups 7 month after the overtrain

and were studied the effect of ginseng triol saponin fraction (PT) on spatial memory function.

The rats which could be restored the performance of 9.75 ± 1.26 (within 185 ± 8.2 sec) were classified into group I ($n=4$) and the rats, which showed R-maze performance of 7.0 ± 2.87 within 300 sec, group II ($n=5$).

PT was dissolved in distilled water and injected into group II intraperitoneally at 30 min before performance of R-maze for 3 consecutive days. The injected amount of PT on the 1st day was 10 mg/rat, and 1 mg/rat in both the 2nd and 3rd day. As results, the performances were restored to 9.4 ± 2.0 since 1 day after administration of PT although the lower performance values (1.4 ± 0.89 , 2.8 ± 0.83 , 3.8 ± 0.84 , respectively) were exerted during the three days of PT administration than before PT administration (7.0 ± 2.87). The restored performance values were maintained up to the level of group I continuously. However, any lower performance values were not observed when PT was administered via intraperitoneal route to group I as amount of 2 mg/rat except 10 mg/rat. These results showed that PT enhanced the their cognitive function after a long lapse of time not only in the memory deteriorated rats but also in the rats possessed sound memory function.

The number of errors were clearly reduced during the 9 days of consecutive administration of PT as compared with untreated control. The reason exerted lower performance values during PT administration in this presentation was discussed as compared with the results of T-maze behavior of another young rats.

홍삼성분이 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향

진승하* · 현탁철 · 남기열 · 경종수 · 박진규

한국인삼연초연구원

흰쥐의 학습능력에 미치는 홍삼사포닌 성분의 효과를 알아보기 위해서 수미로 장치를 이용한 실험을 실시하였다. 실험동물은 웅성흰쥐(SD rat, 200 g)를 군당 7~8마리로 조정하여 실험에 사용하였으며, 수미로 시험은 1일 3회, 연속 3일 동안 일정시간에 실시하였다. 학습능력 및 기억력에 대한 척도로 출발점에서부터 목표지점까지의 유영시간과 실패횟수를 측정하였다. 홍삼 총조사포닌(50, 100 mg/kg, bw)과 diol계 사포닌(15, 30 mg/kg, bw)을 처리한 군에서는 시간경과에 따른 시간단축과 실패횟수의 감소를 보였으나 대조군에 비해 큰 차이를 보이지 않았다. Triol계 사포닌(15, 30 mg/kg, bw)을 처리한 군에서는 시간경과에 따른 시간단축과 실패횟수의 감소와 대조군에 비해 유의한 시간단축을 보였다. 이러한 결과는 triol계 사포닌이 시간경과에 따른 학습 및 기억재생에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

홍삼 Saponin이 일차배양한 신생흰쥐 대뇌피질 신경세포에 미치는 영향

현탁철* · 진승하 · 남기열 · 박진규

한국인삼연초연구원

신생흰쥐 대뇌피질 신경세포를 일차배양하여 세포성장 콜린성 신경세포에 미치는 홍삼 saponin의 효과를 조사하였다. 생후 1일된 흰쥐의 대뇌피질 신경세포를 분리하여 10% 마혈청이 포함된 DMEM 배양액으로 3, 6, 9, 12일간 배양한 세포에서 세포성장에 미치는 홍삼 saponin의 효과를 glucose 소모량, LDH 활성, 세포의 형태학적 변화를 통하여 조사하였으며, 콜린성 신경세포에 미치는 효과는 choline uptake 능, choline acetyltransferase 활성을 측정하여 조사하였다. 조사결과, 홍삼 saponin은 대뇌피질 신경세포의 성장 및 choline uptake 능력을 촉진시켰다.