

The Effect of Systemic Nifedipine Pretreatment on Renal Function and Plasma Renin Activity in Experimental Ischemic Acute Renal Failure

Hyoung Kyu Kim

Division of Nephrology, College of Medicine, Korea University, Seoul Korea

In the process of ischemic cell injury, alterations in one such variable, that of cellular calcium homeostasis appear to be of major significance. Probably calcium entry blockers could protect against, attenuate the degree of, or enhance recovery from, renal ischemic injury by several mechanisms. And the renin-angiotensin system may play a central role in the pathogenesis of acute renal failure (ARF). The evidence that cytosolic Ca^{2+} is an inhibitory second messenger in renin secretion has been reviewed recently. Therefore the purpose of this study was to evaluate the effect of systemic calcium entry blockers pretreatment on renal function and plasma renin activity (PRA) in the experimental ischemic ARF model. Ten cats were anesthetized with pentobarbital sodium (40 mg/kg, I.M) and a tracheostomy, two IV line and a urinary catheter were placed in position. Temperature was maintained at 37.5 degrees C. By an adeominal approach, both renal arteries were isolated. Five cats were used as controls and received saline for 2 hours before bilateral renal artery clamp. Another five cats were treated with nifedipine (10 mg/kg) subcutaneously 2 hours before bilateral renal artery clamp. All ten cats underwent 1 hour of renal artery clamp followed 3 hours of reperfusion and hydration with saline. Before clamp and after reperfusion, blood and urine were sampled for creatinine, Na, β_2 -microglobulin, PRA and urine volume was measured. The results were as follows: In the control group, the Ccr value was 125.5 ± 151.6 ml/min/kg before clamp and decreased to 6.2 ± 5.3 ml/min/kg after reperfusion; In the experimental group, the Ccr value was 43.9 ± 48.1 ml/min/kg before clamp and decreased 5.6 ± 5.9 ml/min/kg after reperfusion ($p < 0.05$). And creatinine clearance decreased in experimental group (88.9 ± 7.9) compared with control group ($89.7 \pm 11.1\%$), these results were not significant statistically ($p < 0.05$). In the control group the PRA value was 14.9 ± 9.2 ng/ml/hr before clamp and decrease 14.0 ± 10.1 ng/ml/hr after reperfusion; In the experimental group the PRA value was 11.5 ± 6.9 ng/ml/hr before clamp and decreased 10.3 ± 3.7 ng/ml/hr after reperfusion ($p < 0.05$). From these data, it was suggested that systemic nifedipine pretreatment exerts the insignificant protective effect on ARF and influence on the decrement value of PRA insignificantly.

SS-Cream (인삼을 포함한 생약제제)의 조루증 치료효과에 대한 이중맹검 결과

신종성* · 성동환 · 조형기

연세대학교 의과대학 비뇨기과교실, *길림시 제2병원

성기능장애 환자중 조루증을 호소하는 환자는 60~70%를 차지하고 있다. 지금까지는 행동치료에 근본을 두고 있으나 어려움이 많고, 시중에서 각종 분무제가 사용되나 이의 남용으로 인한 부작용이 높아질 우려가

있다.

저자들은 중국 황실처방을 검토하여 인삼, 당귀 등 순수한 생약제에서 물리화학적 방법에 의하여 추출된 유효성분으로 SS-cream을 만들어 약효를 확인하기 위하여 이중맹검을 시행하였다.

최근 4개월간 연세의대 영동 세브란스 병원에 조루증으로 내원한 150명의 환자중 임상치료에 동의한 43명을 대상으로 하였다. 환자의 나이는 평균 4.4(28~64)세였고 대조군으로 사용된 1.25%(LL), 5%(ML) 및 10%(HL) lidocaine cream을 0.2g씩 모양이 같게 포장하였다. 환자는 무작위로 5군으로 나누어 A군 8명은 LL-LL-SS-SS, B군 5명은 SS-SS-SS-SS, C군 17명은 SS-SS-LL-LL, D군 5명은 ML-ML-SS-SS, E군 8명은 HL-HL-SS-SS 순서로, 매주 1회씩 LL, ML, HL 혹은 SS-cream을 4회 투약하였다. 성행위후 사정시간과 배우자의 만족도를 조사하여 결과를 평가하였다. A, C 및 D군에서 LL과 ML을 사용한 30명의 환자중 5명에서 10~30초의 사정시간 연장을 보였으나 환자와 배우자는 모두 만족하지 않았고 E군에서 HL을 사용한 8명중 2명(25%)이 호전을 보였으나 기타 환자중 1명은 성기 무감각, 1명은 발기장애를 호소하였으며 환자와 배우자는 만족하지 않았다. 모든 군에서 SS-cream을 사용한 43명 중 40명(93%)에서 사정시간이 평균 11.3분으로 연장되었고 환자 및 배우자가 모두 만족하였으며 각 군에서 사정시간에 큰 차이는 관찰되지 않았다. A, C, D 및 E군에서 LL, ML, HL cream과 SS-cream의 치료효과를 통계적으로 비교한 결과는 각 군에서 모두 SS-cream의 치료로 사정시간이 유의하게 더욱 연장되는 것으로 분석되었다. 단순 조루증을 호소하는 28명의 환자중 27명(96%)과 경한 발기부전을 동반한 15명의 조루증 환자중 13명(87%)이 만족한 성생활을 보였으며, 두 군 사이의 사정시간과 배우자의 만족도에서는 큰 차이가 없었다. 분무제를 사용한 경험이 있는 25명의 환자중 분무제 사용시에 3명에서 어느 정도 만족하였으나 SS-cream 사용시에는 23명(92%)에서 사정시간의 연장과 만족한 성생활을 보였다. SS-cream의 사용후 5명(8%)의 환자에서는 도포후 경한 국소 작열감을 보였으나 약 30분후 소실되었고 그외 다른 부작용은 보이지 않았다.

순수한 생약제에서 추출하여 제조한 SS-cream은 부작용이 적고 비침습적이며 약효가 장시간 지속되어 시간적인 여유를 가지고 사용할 수 있고 사용하기가 간편함으로 발기부전을 동반한 조루증에도 유효하여 조루증의 치료에 적합한 약제로 생각된다. 그러나 SS-cream의 약리학적 기전은 명확하지 않지만 진통, 진정, 국소 마취작용 및 국소혈액순환 촉진으로 인하여 사정반사 신경의 주요 부위인 과민한 음경귀두 수용체의 감각기능을 둔화시켜 성행위중 성적 충동을 감소시키고 사정중추의 흥분상태를 진정시키고 일부 음경의 혈류를 증가시키는 것으로 생각되나 정확한 약리 기전은 향후 밝혀져야 하겠다.

RAPD기술을 이용한 인삼의 진화론적 연구

I. 적정 primer의 탐색 및 PCR조건 구명

신희순 · 신은명 · 김혜란 · 김 혁 · 박상용 · 권기원 · 조재성 · 임용표*

충남대학교 농과대학

지리적 환경적 상황에 따른 적정 품종의 이용이 가능한 여러 주요 작물에 비하여 인삼은 그 경제적 중요성에도 불구하고 다양한 품종의 육성이 이루어져 있지않다. 이러한 인삼 품종 육성의 어려움은 장기간의 생육과 재배의 어려움에 기인한다. 따라서 최근까지도 인삼 변종사이의 차이를 구분하며, 인삼 형질의 유전양식 및 우수품종 조기선발을 위한 maker의 개발이 이루어져 있지않은 것이 현실이다. 본 연구는 최근에 개발된 Randomly Amplified Polymorphic DNA(RAPD) 기술을 이용하여 인삼변종, 계통 및 재배종에 대한 DNA polymorphism을 분석하며 그 진화론적 과정을 추정하기 위한 유용 marker를 개발할 목적으로 실시하였다.

재료로는 한국인삼연초연구소에서 제공받은 9개 변종 및 계통과 한국담배인삼공사 및 인삼정작조합들로부터 제공받은 40종의 재배종 및 외국삼을 사용하였으며, PCR에 이용할 DNA를 얻기 위하여 뿌리에서 DNA를 urea extraction방법에 의해 분리하여 사용하였다. 본 실험의 PCR은 유전공학연구소에서 공여받은 Taq polymerase와 이에 첨부된 반응조건에 따라 실시되었으며, 이에 5 pM의 10 mer primer와 50 ng의

genomic DNA를 사용하여 기 발표된 PCR조건에 따라 반응시켰다. 반응이 끝난 product는 1.5% Agarose gel electrophoresis에 의해 분석되었다.

RAPD 기술을 이용하여 9종의 인삼간의 유연관계를 비교분석하기 위하여 4개의 primer(TGCCGAGCTG, AATCGGGCTG, GAAAGCGGTG, GTGACGTAGG)를 선발하여 이미 발표하였으며, 추가로 4개의 primer를 선발하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Primer #11(CAATCGCCGT)을 이용하였을 경우, 1.6 Kb band가 청경종, 황숙종, KG101에서 나타났고, 900 bp band는 진자경, 자경종 847913 그리고 600 bp band는 진자경, 미마끼, 자경종 847913에서 특이하게 나타났다. Primer #15(TTCCGAACCC)를 이용하였을 경우, 830 bp band가 자경종 847913에서 나타났고, 750 bp band는 미마끼에서 나타났다. Primer #16(AGCCAGCGAA)를 이용하였을 경우, 1.3 kb에서 700 bp band 사이에 5개의 band가 나타났는데 청경종, 황숙종, KG101에서만 공통적으로 나타났다. Primer #20(GTTGCGATCC)의 경우, 1.5 kb band가 미마끼에서 특이하게 나타났고, 780 bp band에서 자경종 81783 그리고 730 bp band에서 소련 진자경, 내병성 자경종 79742가 특이하게 나타났다. 이러한 결과는 RAPD 기술을 이용하여 쉬운 방법으로 품종간의 분류를 할 수 있음을 시사하며, 위의 data를 가지고 Similarity Index(SI)를 구하여 각 변종간 또는 변종내 유연관계를 밝힌 결과, 자경종은 일반적으로 계통간에 상당한 변이를 보이고 있었다.

또한 국내 재배되고 있는 인삼의 다형현상을 검토하기 위하여 국내의 재배종 인삼 17가지에 대해 primer #11을 사용하여 PCR을 실시한 결과 다형현상이 매우 크게 나타나 재배인삼도 지역별로 상당한 heterozygosity를 가지고 있는 것으로 관찰되었다.

해마의 Glutamate 성-/Acetylcholine성 신경기능과 Polyamine 대사에 연관하여 피동성 조건반응의 습득과 유지에 미치는 인삼 효과에 대한 연구의 배경

전보린* · 신경호 · 조소현 · 안상건 · 고재홍

고려대학교 의과대학 약리학교실

인삼-추출물들이 흰쥐의 학습능을 증강시키는 것으로 알려져 있으며, 학습과 기억기능에 있어서 해마의 중요성 또한 주지하는 바이다.

해마의 흥분성 정보-유입이 acetylcholine(ACh)성과 glutamate(Glu)성 신경에 주로 매개되며, 해마의 학습기능에 Glu와 NO가 관련된다고 한다.

따라서 연구자들이 지난 2년간의 연구에서 얻은 다음의 결과들을 토대로 <인삼의 학습/기억 증강작용과 해마의 Glu, ACh 및 polyamine(PA)대사의 관련성과 아울러 신경손상으로 나타나는 해마의 신경-재구성능에 대한 인삼의 각 효과를 연구할 목적에서, 우선 <흰쥐의 학습/기억-유지와 해마의 Glu, ACh, 및 PA 함량에 미치는 인삼-성분의 효과>를 검색하고자 한다.

— 다 음 —

1. 능동성 조건반응(ACR)의 유지에 대하여 CDP-choline, 250 mg/kg(CP)와 spermine, 100 mg/kg(SM)는 억제효과를 보였으나, aminoguanidine, 100 mg/kg(AG)는 별 영향을 미치지 않았으며; 경련성 전기충격(ECS)에 의한 ACR-유지의 저해에 있어서는 CP, SM, 및 AG 모두 개선효과를 나타내었다.
2. 피동성 조건반응의 습득과 유지가 ECS, scopolamine(SA) 및 ODC-억제제(DFMO)에 의하여 현저히 저해되었으며, CP와 AG는 ECS와 SA의 저해작용을 유의하게 억제하였다.
3. 좌측 entorhinal cortex lesion(EC-L) 후에 해마의 polyamine함량이 현저히 증가되었으며, 특히 putrescine(PT)의 경우 동측과 이측에서 각각 3배와 .5배씩 증가되었고, 해마의 SGP-2 mRNA량도 이와 유사한 반응을 보였는 바 이들 변동이 methylprednisolone(MP)에 의하여 증폭되었으며, 이같은 MP의

작용이 dehydroepiandrosterone에 의하여 감약되었다.

4. Mongolian gerbil의 양측-경동맥을 10분간 차단하여 나타나는 해마-외액내 Glu 증가는 30분내에 정상치로 회복되었으나, PT는 15분 이내에 급격히 증가하여 일정치를 유지하다 4시간 후에 다시 점증하였으며 96시간까지도 더욱 점증하는 양상을 보였고, 다른 PA들은 큰 변동을 보이지 않았다.

Antinociceptive Mechanisms of β -Endorphin and Morphine Administered icv, and the Regulation of the Proenkephalin Gene Expression

Hong Won Suh

Department of Pharmacology, College of Medicine, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

In analgesic studies, effects of opioid antagonists, methysergide, yohimbine, thiorphan, bestatin, desipramine, or fluoxetine injected intrathecally (i.t.) on antinociception induced by β -endorphin and morphine administered intracerebroventricularly (i.c.v.) in mice. Tail-flick response was used as analgesic assay. Opioid antagonists effectively inhibited antinociception induced by β -endorphin administered i.c.v. while i.c.v. administered morphine-induced antinociception was not altered. Yohimbine or methysergide effectively antagonized morphine-induced response without affecting β -endorphin-induced response. Bestatin or thiorphan potentiated β -endorphin-but not morphine-induced antinociception while desipramine or fluoxetine potentiated morphine- but not β -endorphin-induced antinociception. The results indicate that opioid receptors in the spinal cord are involved in supraspinally administered β -endorphin but not morphine-induced antinociception. Spinopetal monoaminergic systems are involved in supraspinally administered morphine- but not β -endorphin-induced antinociception. It is concluded that β -endorphin (epsilon) and morphine (mu) administered supraspinally produce their antinociception by activating different descending pain control systems.

The expression of prodynorphin mRNA in cultured spinal cord cells was increased by the subcutaneous injection of formalin into the plantar of the hind-paw of the rat. However, proenkephalin mRNA level was not changed. The transcriptional regulatory regions of the proENK gene displayed an extremely high degree of interspecies sequence conservation between humans, rats, and cows. When oligonucleotide containing AP-1 motif was used in protein-DNA gel mobility retardation experiments, the induction of AP-1 DNA binding activity correlated well with the level of prodynorphin mRNA induction. Thus, it should be determined what types of transcriptional proteins apparently are involved in the regulation of prodynorphin gene expression.

The interaction between red ginseng and opioid system is an interesting subject. Therefore, to determine the possible roles of the red ginseng in the regulation of analgesia and the pain transmission, the effects of red ginseng on antinociception induced by β -endorphin or morphine, and the regulation of opioid gene expression in the spinal cord, in relation to model systems described above, will be performed in the future studies.

Protective Effects of Chlorophyllin on Covalent DNA Binding, Mutagenicity, and Tumorigenicity of Ultimate Electrophilic Epoxides of Some Chemical Carcinogens

Kwang-Kyun Park¹ and Young-Joon Surh²

¹Department of Biochemistry, Yonsei University College of Medicine, Seoul Korea

²Department of Epidemiology and Public Health,
Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06510, USA

Chemoprevention refers to the use of chemical agents to prevent the neoplastic transformation. It is noticeable that many of chemopreventive agents are naturally occurring substances or their synthetic derivatives. Chlorophyllin (CHL), the sodium-copper salt of chlorophyll, has been found to be a strong antimutagen in several test systems. The mechanisms of antimutagenic action of CHL appear to involve the formation of inactive complexes. We found the protective properties of CHL against the activities of vinyl carbamate (VC), benzo[a]pyrene(B[A]P), and 4-nitrophenyl vinyl ether (NPVE), and their ultimate carcinogenic epoxides vinyl carbamate epoxide(VCO), benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide (BPDE), and 2'-(4-nitrophenoxy) oxirane (NPO). Thus, when BPDE (0.25 μ M) was incubated with calf thymus DNA and CHL (0.1 mM), DNA binding of this electrophilic epoxide was inhibited by 66%. CHL at this concentration also completely blocked the mutagenicity and cytotoxicity of BPDE (0.5 to 5 μ M) in *Salmonella typhimurium* TM677. Similarly, covalent DNA binding and bacterial mutagenicity of VC, and NPVE, and their ultimate electrophilic carcinogens VCO and NPO were significantly reduced by CHL. The carcinogenic activities of these reactive epoxides as well as those of their parent compounds in mouse skin were significantly inhibited (50%) by gastric gavage of CHL. These results suggest that CHL can directly interact with ultimate electrophilic mutagens and carcinogens, thereby inactivating them.

한국인삼과 중국삼의 향기성분 비교

김만옥 · 손현주 · 허정남*

한국인삼연구조합 연구원 인삼효능부

한국인삼과 산지별로 수집한 중국삼의 향기성분을 헤드스페이스법으로 추출하여 GC/MS로 동정한 후 주요 향기성분의 조성비로 비교하였다. 동정된 향기성분은 β -patchoulene, γ -muurolene, triisopropyl benzene, β -maaliene, guaiene, 4-isopropylidene-1-vinyl-o-menth-2-ene 및 4-isopropylidene-1-vinyl-o-menth-8-ene이었으며 주성분인 β -patchoulene과 γ -muurolene의 조성비는 홍삼의 경우 한국인삼이 1.23 ± 0.08 (n=6), 중국삼이 0.66 ± 0.13 (n=11), 백삼의 경우 한국인삼이 1.72 ± 0.31 (n=4), 중국삼이 0.96 ± 0.32 (n=10)으로 홍백삼 모두 한국인삼과 중국삼 간에 현저한 유의차(p<0.01)를 나타내었다. 한편 한국홍삼의 향은 중국홍삼과 차이가 있었으며 향의 유형별로는 한국홍삼이 중국홍삼에 비하여 인삼향, 구수한 냄새 및 단 냄새가 강하였다.

인삼사포닌 성분이 에탄올을 투여한 쥐의 뇌 Aldehyde Dehydrogenase활성에 미치는 영향

이영돈* · 주충노

연세대학교 이과대학 생화학과, 아주대학교 의과대학 해부학교실*

Ethanol 산화시 생성되는 유해한 acetaldehyde는 주로 간조직의 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해 acetate로 산화되지만 과량의 acetaldehyde가 생성될 경우에는 일부가 혈액을 통하여 뇌조직으로 들어온다.

뇌조직으로 들어온 acetaldehyde는 신경전달물질로부터 생성되는 생체 aldehyde의 산화과정을 경쟁적으로 억제함으로써 생체 aldehyde의 축적이 일어나게 되고 이로 인하여 여러 생리적 및 정신적 문제를 일으킨다. 따라서 조직으로부터 aldehyde를 신속하게 제거한다는 것은 매우 중요한 과정이며 이러한 점에서 뇌조직의 ALDH는 많은 주목을 받고 있다.

본 연구에서는 쥐에게 ethanol, 그리고 0.1% 인삼사포닌 또는 0.02%의 ginsenoside와 ethanol을 함께 10일간 투여한 후 뇌의 부위에 따른 ALDH 활성변화를 생화학적 및 효소조직화학적 방법을 이용하여 측정함으로써 ethanol로 인한 신경전달물질의 대사장애에 대한 인삼사포닌 성분의 약리적 효과를 조사하고자 하였다.

Ethanol만 투여한 대조군에서 indoleacetaldehyde에 대한 ALDH 활성은 정산군에 비해 해마체를 제외한 모든 부위에서 감소되었으며 이는 선조체에서 가장 심하였다. 인삼사포닌을 ethanol과 함께 투여한 실험군의 ALDH 활성은 모든 부위에서 대조군에 비해 전반적으로 증가되었으나 선조체에서의 활성 증가 정도는 다른 부위에 비해 낮았다. 특히 low-Km ALDH 활성의 증가는 다른 부위에 비해 소뇌에서 뚜렷하였다.

생체 aldehyde에 대한 ALDH 활성변화를 조사한 결과, ethanol 투여시 해마체를 제외한 모든 부위에서 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde에 대한 활성이 감소되었으며 특히 선조체에서는 5-hydroxyindoleacetaldehyde나 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde에 대한 활성도 저하되었다. 인삼사포닌 성분과 ethanol을 함께 투여한 실험군에서는 대뇌와 소뇌의 경우 정산군에 가까운 값을 유지하였으나 선조체에서는 정상군에는 못미치나 대조군보다는 높은 활성을 나타내었다.

Ginsenoside Rb₁의 간 glycogen synthesis의 조절

이만휘^{1*} · 박경미¹ · 노영희² · 박화진¹ · 박기현¹

¹한국인삼연구소연구원 인삼효능부, ²충북대학교 농과대학 식품공학과

정상 흰 쥐의 간 homogenate를 37°C에서 배양했을 때 배양시간에 따른 glycogen의 증가와 감소가 일어났다. 우리는 앞서의 보고("Ginsenosides의 protein kinase C활성저해에 의한 항종양작용"의 보고)에서 ginsenoside-Rb₁에 의해 간조직내의 glycogen의 합성이 조절되고 있음을 밝혔다. 본 보고에서는 배양시간을 길게했을 때 간 조직내의 glycogen의 분해가 ginsenoside-Rb₁에 의해 조절되고 있음을 밝힌다. 사염화탄소 (CCl₄)는 glucogen의 분해에 관여하는 cyclic AMP의 생성을 억제시키므로써 간 조직 내에 glycogen을 축적시켜 에너지 대사의 이상을 초래한다. Ginsenoside Rb₁은 사염화탄소에 의해 저해된 cyclic AMP의 생성을 촉진시키고 또한 축적된 glycogen의 분해를 촉진시켰다. 이상과 같은 결과로부터 우리는 ginsenoside Rb₁이 사염화탄소에 의한 간의 기능저하를 막아줄 수 있다고 추론할 수 있었다.

인슐린비의존형 당뇨병환자에서 미세알부민뇨 및 알부민뇨 유무에 따른 만성 합병증과 La(a) 등의 동맥경화증 위험인자와의 관계

최 동 섭

고려대학교 의과대학 내과학교실

미세알부민뇨는 당뇨병성 신증의 조기 지표일 뿐만 아니라 심혈관질환의 발생과 이로 인한 사망의 위험지표로서의 이용 가능성이 시사되고 있다. 미세알부민뇨의 발생은 신장의 사구체 기저막내의 HS-PG(heparan sulfate-proteoglycan)의 밀도와 황화작용의 감소를 포함한 세포외 기질의 양적 변화 등의 기전에 의한 것으로 생각되고 있다. 이러한 HS-PG의 감소는 대혈관에서도 발생하여 동맥경화증 등의 대혈관 질환을

일으키게 된다. 한편, 최근에 동맥경화증의 독립된 위험인자로 알려진 Lp(a)는 apolipoprotein(a)가 apolipoprotein B-100을 함유하고 있는 LDL 유사 입자에 이중황화결합된 구조를 이루고 있는 물질로서 plasminogen의 작용을 방해하여 조기에 동맥경화증을 일으킨다고 추측된다.

이에 저자 등은 1993년 7월부터 1994년 2월까지 고려대학교 병원에 입원한 146명의 인슐린비의존성 당뇨병환자를 대상으로 미세알부민뇨군(노알부민 배설량 20~200 $\mu\text{g}/\text{min}$) 및 알부민뇨군, 정상알부민뇨군으로 분류하여 당뇨병의 만성 합병증 및 동맥경화증 위험인자들을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대상환자 146명을 세군으로 분류하였을 때, 미세단백뇨군은 17.8%(26명), 단백뇨군 22.6%(33명), 대조군을 59.6%(87명)이었다.
2. 각 군에서 공복, 식후 2시간 혈당 및 당화혈색소로 본 혈당조절 정도의 차이는 없었다.
3. 당뇨병의 유병기간은 알부민뇨군이 146.9개월로 미세알부민뇨군 및 정상알부민뇨군의 65.0 및 63.6개월에 비해 의미있게 길었다($p < 0.05$).
4. 각 군간의 치료방법에 있어서는 알부민뇨군에서 인슐린 치료환자가 유의하게 많았다($p < 0.05$).
5. 고혈압의 유병율은 알부민뇨군이 42.4%로 미세알부민뇨군(26.9%) 및 정상알부민뇨군(18.4%)에 비하여 의미있게 높았다.
6. 대혈관 합병증의 빈도는 미세알부민뇨군에서는 19.2%(5명), 알부민뇨군에서는 36.4%(12명), 정상알부민뇨군에서는 11.5%(10명)의 빈도를 보여 세 군간에 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).
7. 미세혈관 합병증의 하나인 당뇨병성 망막증은 미세단백뇨군에서는 43.5%(10명), 단백뇨군에서는 96.2%(25명), 대조군에서는 18.3%(13명)의 빈도를 보여 세 군간에 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).
8. Lp(a)는 단백뇨군에서 46.9 mg/dl로 미세단백뇨군의 27.9 mg/dl, 대조군의 29 mg/dl에 비해 증가된 경향을 보였으나($p = 0.055$) 통계적으로 유의하지는 않았다.

이상의 결과로 미세알부민뇨는 인슐린비의존성 당뇨병 환자에서 당뇨병성 신증뿐 아니라 심혈관질환의 조기 위험지표로서의 이용 가능성을 시사해 준다고 하겠다.

인삼에서 추출한 글리코시드가 포유동물세포의 신호전달체계에 개입할 가능성에 대한 연구

조 철 오

한국과학기술원 생명과학과

세포의 증식에 관련된 DNA 합성 및 세포암화에 대한 인삼추출물의 효과를 V79 및 NIH3T3 같은 포유동물세포를 대상으로 조사하였다. 인삼 추출물(0~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 V79 섬유아세포에 처리한 경우 처리농도의 증가에 따라 DNA 중합합성도가 감소하였다. 반면에 MNNG(1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine)나 UV의 자극에 따른 DNA 회복합성도는 동일한 농도의 인삼추출물 처리에 의해 증가하였다. 또한 0.1, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 인삼추출물을 V79 세포에 처리하였을 경우 MMS에 의한 돌연변이율도 감소하였으며, 화학적발암원(MC(3-methylchloanthrene), MMS(methyl methanosulfonate), MNNG)에 의해 유도되는 NIH3T3 섬유아세포의 암화빈도도 인삼추출물(0~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 처리에 의해 감소되었다. 이러한 효과를 갖는 인삼추출물은 여러 종류의 글리코시드(Rh₁, Rh₂, Rg₁, Rg₂, Rg₃)를 포함하는데, NIH3T3세포에서 DNA 합성도에 미치는 이들 글리코시드의 효과를 관찰한 결과 20 μM 의 Rh₁ 및 Rh₂ 글리코시드가 현저한 DNA 합성 억제 효과를 갖는 것으로 나타났다.

위의 DNA 중합합성 억제효과와 관련하여, DNA 합성 및 세포증식 개시에 중요한 역할을 하는 이차 신호전달물질로 알려진 inositol-1,4,5-triphosphate(IP₃)의 세포내 함량의변화를 관찰한 결과, 20 μM 의 Rh₁이나 Rh₂ 글리코시드 처리시 세포내 IP₃ 함량이 크게 감소함을 볼 수 있었다. 이는 IP₃를 매개체로 하는 신호전달체계에 이 두 인삼 글리코시드가 영향을 미칠 가능성을 제시한다. 따라서, 본 연구에서는 이러한 신호전달체계에 있어서 Rh₁ 및 Rh₂를 비롯한 여러 인삼글리코시드의 개입여부를 확인하기 위해, 이 신

호전달체계에 관여하는 주요 효소인 phospholipase C 및 protein kinase C를 비롯한 신호전달체계 구성 요소에 미치는 여러 인삼글리코시드의 효과를 조사하려 한다.

Ginsenosides의 Protein Kinase C 활성화저해에 의한 항종양작용

박경미¹ · 이만휘¹ · 박화진¹ · 노영희² · 박기현¹

¹한국인삼연구소연구원, ²충북대학교 농과대학 식품공학과

진세노사이드 Rh₂는 tumor cell의 성장을 억제한다고 알려져 있지만 그 정확한 기전은 알려져 있지 않다. 우리는 tumor promoter에 의한 Ca²⁺/phospholipid-dependent protein kinase C의 활성화를 진세노사이드가 억제하고 있음을 발견했다. 즉 진세노사이드-Rb₁, -Rg₁ 및 -Rh₂는 암(종양) 유발 물질인 phorbol-12-myristate-13-acetate(PMA)와 간 손상촉진 물질인 사염화탄소(CCl₄)에 의해 활성화된 protein kinase C와 Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase에 의해 일어나는 substrate단백질의 인산화반응과 간조직 내의 118 KD 및 34 KD의 인산화반응을 유의적으로 억제하였다. 이와 같은 인산화반응은, 간조직 내의 free calcium의 양과 또한 간기능과 밀접하게 관련되어 있는 glycogen의 대사이상과 더불어 최종적으로 tumor라는 biological response를 일으키므로, 진세노사이드의 약리작용을 단백질 인산화와의 상관관계에서 해석함으로써 진세노사이드가 간기능강화작용 및 항종양작용을 할 가능성을 새로운 각도로 타진하였다.

Carcinogen(3-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene)처리후 간세포막에서의 Transferrin Receptor 변동에 관한 연구

이재훈 · 노의선 · 허강민 · 이충식* · 석정호

충남대학교 의과대학 약리학교실, *병리학교실

화학물질에 의한 간암 유발과정에서 transferrin receptor(TfR)의 변동을 밝히기 위해 간을 부분절제한 정상백서의 재생간과 발암물질로 3-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene(3-Me-DAB)을 8주간 투여한 백서 또는 3-Me-DAB 투여 후 부분 간절제 백서의 간조직으로부터 parenchymal cell(PC)과 nonparenchymal cell(NPC)를 분리하고 각각의 세포막을 제조하여 ¹²⁵I-transferrin 결합실험을 실시한 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

- 3-Me-DAB 투여에 의하여 간조직에서 oval cell 증식, 결절 형성, 담관의 증식 및 담관세포암 등의 현저한 조직학적 변화가 동반되었다. 그러나 간세포증식을 더욱 촉진시키기 위하여 부분간절제 수술을 하였을 때 수술 후 경과에 따른 형태학적 변동은 큰 차이가 없었다.
- 재생간의 PC 및 NPC homogenate에서 transferrin 결합량은 부분간 절제 수술 후 1일 및 3일에 증가되었으며 수술 후 7일에 정상으로 회복되었다. 3-Me-DAB 투여에 의해 두세포군에서 모두 정상세포보다 높게 나타났으며 재생기간에 따라 계속 증가되었다.
- 정상간의 NPC 세포막에서 transferrin 최대 결합량(Bmax)은 PC 세포막에서 보다 많이 분포되어 있었으며, Kd는 양세포막에서 5.05 또는 6.3 nM로 비슷하였다.
- 재생간의 NPC 및 PC 세포막에서 transferrin 결합량은 부분 간절제 수술 후 1일 및 3일에 40~50% 증가되었고 수술 후 7일에 정상치로 회복되었다.
- 3-Me-DAB 처치에 의하여 NPC 및 PC 세포막의 transferrin 결합량은 정상 간세포막에서 보다 약 3배 증가되었고, 3-Me-DAB 투여 후 재생간의 NPC 세포막에서는 부분 간절제 수술 후 3일까지 증가된 후 감소되는 양상인데 반해 PC 세포막에서는 수술 후 7일까지 계속 증가되었다.
- 3-Me-DAB 투여 후 NPC 및 PC 세포막 transferrin binding site에서 Kd치가 3.1~4.7 nM과 25.4~54.1

nM인 두 종류가 존재하는 것으로 나타났다.

이상의 실험성적으로 1) 간조직의 TfR는 PC 및 NPC 세포에 모두 분포되어 있으며, 2) 재생간 및 3-Me-DAB의 처리 후 간세포에서의 세포막 TfR의 증가는 세포내 합성량의 증가에 의하여 일어나며, 3) 재생간의 세포막 TfR는 한 종류의 high affinity site (Kd, <3.1~7.5 nM)에 의하여 증가되나, 3-Me-DAB 처리 후 간세포막에서는 정상에서와 같은 high affinity형 이외에 affinity가 낮은 다른 형태의 TfR (Kd, 25.4~54.1 nM)가 세포막으로 출현됨으로써 크게 증가되는 것으로 사료된다.

Differentiation Mechanism of Ginsenosides in Murine F9 Teratocarcinoma Stem Cells

Ho-Young Lee¹, Shin-Il Kim² and Kyu-Won Kim^{1*}

¹Department of Molecular Biology, Pusan National University, Pusan, 607-735, Korea

²Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon, Korea

The effects of ginsenosides, extracts of *Panax ginseng* C.A. Meyer, on the differentiation of F9 teratocarcinoma stem cells were studied. F9 stem cells cultured in the presence of crude ginsenosides together with dibutyryl cyclic AMP (dbcAMP) became parietal endoderm-like cells. Moreover, the expressions of differentiation marker genes such as laminin B1, type IV collagen, and retinoic acid receptor- β (RAR β) were increased after treatment with crude ginsenosides. Among various purified ginsenosides, Rh₁ and Rh₂ caused the differentiation of F9 cells most effectively. Since ginsenosides and glucocorticoid hormone show resemblance in chemical structure, we studied the possibility of the involvement of a glucocorticoid receptor (GR) in the differentiation process induced by ginsenosides. According to southwestern blot analysis, a 94 kDa protein regarding as a GR was detected in F9 cells cultured in the medium containing ginsenosides. In addition, F9 stem cells treated with ginsenosides together with RU486, a glucocorticoid antagonist with a high affinity for the GR, did not differentiate into endoderm cells morphologically and the expression of laminin B1 was not induced in these cells. In gel mobility shift assay, protein factors capable of binding to the GRE specifically were detected in nuclear extracts of ginsenosides-treated F9 cells. Based on these data, we suggest that ginsenosides extracted from *P. ginseng* C.A. Meyer, especially ginsenosides Rh₁ and Rh₂, cause the differentiation of F9 cells and the effects of ginsenosides might be exerted *via* binding with a GR or its analogous nuclear receptor.

Vasorelaxing Effect by Protopanaxatriol and Protopanaxadiol of Panax Ginseng in the Pig Coronary Artery

Seok-Jong Chang, Byeong-Hwa Jeon*, Se-Hoon Kim and Hae-Kun Park

Department of Physiology, College of Medicine, Chungnam National University

Saponin of *Panax ginseng* (C.A. Meyer) is composed of protopanaxatriol (PT) and protopanaxadiol (PD). We investigated the effects of PT and PD on the contractility and ⁴⁵Ca uptake in the pig coronary artery. Isometric tension in the helical strips and ⁴⁵Ca uptake in the ring strips were measured in the presence or absence of PT and PD.

PT and PD did not affect the high K⁺ (40 mM)-induced contraction but relaxed the acetylcholine

(ACh)-induced contraction in a dose-dependent manner (1~10 mg/dl). The vasorelaxing effect of PT on the ACh-induced contraction was more potent than that of PD. Those relaxations were partially suppressed by endothelial removal. ACh-induced contraction in the Ca-free Tyrode's solution was suppressed by the pretreatment of PT or PD. Following the depletion of ACh-sensitive intracellular Ca pool, ACh-induced contraction was suppressed by the pretreatment of PT or PD. With the pretreatment of PT or PD, ^{45}Ca uptake by high K^+ (40 mM) was not changed but that by ACh was suppressed in the pig coronary artery.

From the above results, it is suggested that the vasorelaxation by PT or PD may be resulted from the inhibition of intracellular Ca release and Ca uptake through receptor-operated Ca channels in the smooth muscle cells as well as from the release of endothelium-dependent relaxing factor from the endothelial cells in the pig coronary artery.

Mice에서 Opioid수용체 결합에 미치는 인삼의 영향

김수경 · 이성룡 · 박창교
계명대학교 의과대학 약리학교실

Morphine이 내성과 약물의존성을 일으키는 기전은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다. 현재까지는 morphine내성에 관한 연구는 primary cell culture에서 장기간 opioid 수용체 자극후에 이루어진 ligand-receptor interaction의 변화로 미루어 μ -opioid 수용체 자극후에 이루어진 ligand-receptor interaction의 변화로 미루어 μ -opioid 수용체에 의한 것으로 추측할 뿐이며, 실제로 동물에 morphine을 장기간 투여하면 opioid receptor level의 결과는 배양세포에서의 결과와 일치하지 않는다고 한다.

한편, 확실한 기전은 모르지만 인삼이 morphine의 내성 및 의존성을 억제시킨다는 보고가 있으며, 또한 인삼 saponin이 naltrexone으로 길항되지 않는 진통작용이 있으며, 이것은 고농도에서는 나타나지만 저농도에서는 오히려 진통작용을 길항시킨다는 보고도 있다.

Morphine의 행동장애 및 약물의존성이 뇌내 mesolimbic dopaminergic 뉴론과 관계됨은 주지의 사실로써, 저자는 dopamine depletion시 뇌의 striatum에서 opioid agonist들에 의한 cAMP함양을 측정해 보아 opioid-nergic과 dopaminergic 신경 전달계간에 μ , δ -opioid 수용체의 유사성 및 κ -opioid 수용체의 특성에 대하여 보고한 바 있다.

본 연구에서는 morphine의존성 mouse의 뇌에서 인삼의 장기투여에 의하여 μ , δ , κ -opioid receptor agonist에 대한 opioid receptor level의 변화와 opioid가 GTP-binding proteins (G_i or G_o)와 couple된 결과인 adenylate cyclase activity 또는 cAMP함량 및 dopamine과 그의 대사물을 측정함으로써 인삼이 morphine의 수용체 결합 자체와 dopamine 함량 변화에 미치는 영향을 알아보려고 한다.

인삼의 소염활성에 관한 연구

류재하 · 이소영 · 박재현 · 김태희
숙명여자대학교 약학대학

탄소 20개를 가지는 eicosanoid류들 중 arachidonic acid의 각종 대사산물들은 염증, 천식, 혈전생성, 암, 동맥경화 등과 같은 매우 다양한 생리활성을 가지고 있다. 따라서 이들의 대사경로를 조절함으로써 병리현상을 치료하고자 하는 노력이 행해지고 있으며, 그 대표적인 예가 비스테로이드성소염제(NSAID)의 개발이다. Arachidonic acid로부터 각종 PG류와 thromboxane의 생성에 관여하는 첫번째 효소인 PGH synthase/cyclooxygenase(COX)는 자체불활성화 과정을 거쳐 PG류의 합성을 자동적으로 조절하는 기능을 가진다.

그런데 최근 몇몇 세포계에서 각종 mitogen 처리에 의해 COX의 발현이 증가하고 병행하여 PG합성이 증가한다는 보고와 더불어 COX의 새로운 isozyme(COX-II)의 존재가 알려졌다. 기존에 알려진 COX-I은 거의 모든 조직에 분포하여 정상적인 세포기능 유지를 위한 기본적인 역할을 할 것으로 추정되는 반면, COX-II는 serum, growth factors, phorbol ester, lipopolysacchride(LPS) 등을 위시한 각종 inflammatory mediator에 의해 그 발현이 증가되고 스테로이드성 항염증제인 dexamethasone에 의해 선택적으로 감소되는 현상으로 보아, 염증과 관련하여 그 시사하는 바가 크다고 할 수 있다.

종래의 소염제의 연구는 COX-I만을 인식한 연구였으나, COX-II에 대한 선택적인 길항제를 이용하여 부작용이 적은 소염제를 개발하려는 노력이 매우 다각적으로 이루어지고 있다. 본 연구는 인삼을 재료로 COX-II에 대한 선택적인 활성조질물질을 추적하고 그 활용방안을 모색코자 하였다.

인삼사포닌(Ginsenosides)이 소의 간 미토콘드리아 Aldehyde dehydrogenase 활성에 미치는 영향

김선진 · 이희봉* · 주충노

연세대학교 이과대학 생화학과, *강원대학교 자연대학 생화학과

소의 간 미토콘드리아에 존재하는 membrane ALDH와 matrix ALDH의 활성에 미치는 인삼 saponin 성분, 즉 saponin 혼합물, ginsenoside Rb₁, Rb₂ 및 Rg₁의 영향을 관찰한 결과 membrane ALDH는 saponin의 농도가 10⁻⁶~20⁻⁴%에서, matrix ALDH는 10⁻⁷~10⁻⁵%에서 유의적으로 활성이 증가하였으며 membrane ALDH의 경우 ginsenoside Rb₂ 10⁻⁵%, matrix ALDH의 경우 ginsenoside Rg₁ 10⁻⁶%를 넣고 반응속도를 측정하였을 때 saponin 성분 모두 ALDH의 기질에 대한 K_m을 낮추고 V_{max}를 높이는 작용을 하였다. 인삼 saponin 성분의 이러한 비특이적 효소 활성화는 계면 활성의 물리적 특성에 기인하는 것으로 파악되며 효소와 결합하여 효소의 형태를 변화시킴으로써 효소 반응을 촉진하는 것으로 이해된다. 또한 인삼 saponin의 경구투여 후 1시간 뒤에 saponin의 체내 분포를 보면 간세포의 시토플 분획에 10⁻⁵%, 미토콘드리아 분획내에 10⁻⁶% 수준 정도가 존재하는 것으로 미루어 인삼 성분은 실제 체내에서도 미토콘드리아 ALDH의 활성화에 크게 기여할 것으로 기대된다. 특히 acetaldehyde에 반응성이 대단히 높은 소의 간 미토콘드리아 matrix ALDH의 활성 증가에 보다 효과적으로 작용하는 것으로부터 인삼 saponin에 의한 비특이적 효소 활성화 작용은 음주의 해독이라는 측면에서 큰 의미를 가질 것으로 생각된다.