

배양산삼 추출액의 Doxorubicin 독성 완화 효과

최경운¹, 이평재², 김호현^{1*}

1: 세명대학교 한의과대학 생리학교실 2: 세명대학교 자연약재과학과

Protective Effect of the Water Extract of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Against Doxorubicin Toxicity

Kyung-Un Choi¹, Pyeong-Jae Lee², Ho-Hyun Kim^{1*}

1: Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Semyung University

2: Department of Natural Medicinal Resources, Semyung University

ABSTRACT

Objectives : This study was aimed to define the protective effect of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* (CWG) against doxorubicin (Doxo) toxicity, and investigate the anti-tumor synergic effect of CWG in combination with Doxo in tumor-bearing C57BL/6 mice.

Methods : Tumor-bearing mice were established by single inoculation with B16/F10 melanoma cells (2×10^6 /ml) subcutaneously. Tumor-bearing mice (tumor volume between 50-100 mm³) were selected and divided them into control, Doxo, and Doxo+CWG group. Mice of Doxo group were received with Doxo (4 mg/kg of B.W.) intraperitoneally at 0, 4, 8 days after starting the experiment. Mice of Doxo+CWG group were received CWG water extract during 12 days in combination with Doxo treatment. The body weight, tumor volume, tumor weight, and organ weight (heart, liver, kidney, and testis) were measured. And serum SPK, GOT and creatinine values were analysed.

Results : The volume and weights of tumor masses in Doxo group were decreased significantly compared with the those of control group. And the those of Doxo+CWG group were not significantly different from the those of Doxo group. Whereas the weight of body, liver, kidney and testis in Doxo+CWG group were increased significantly compared with the those of Doxo group. The level of serum CPK and GOT in Doxo group were increased compared with the those of control group. But the value of Doxo+CWG group were decreased significantly compared with the values of Doxo group.

Conclusions : These results suggest that CWG has protective effect against doxorubicin toxicity. And these effect is guessed that is caused in augmentation of vital energy.

Key words : antitumor effect, Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng*, doxorubicin, vital energy

서론

山蔘은 五加皮科(두릅나무과 ; Araliaceae)의 多年生 草 本人蔘(*Panax ginseng* C. A. Meyer)이 야생에서 자연발생적으로 발아하여 성장한 것을 말한다¹⁾.

人蔘은 《神農本草經》²⁾에서 味甘微寒한 藥物로 補五臟, 安精神, 定魂魄, 止驚悸, 除邪氣, 明目開心益智, 久服輕身延年하는 효능이 있다고 기재되어 있을뿐만 아니라, 현재 까지 여러 가지 신체의 허약함을 補益하고, 正氣를 充만케 하여 體내의 邪氣를 제거하며, 邪氣의 침입을 방어

* 교신저자 : 김호현, 충북 제천시 세명로 117 세명대학교 한의과대학 생리학교실
· Tel : 043-649-1343 · E-mail : binbae@semyung.ac.kr
· 접수 : 2009년 8월 3일 · 수정 : 2009년 9월 13일 · 채택 : 2009년 9월 23일

하는 대표적인 補氣劑로 사용하고 있다.

山蔘은 예로부터 여러 질병의 치료와 병후의 회복에 뛰어난 靈藥으로 알려져 왔으나 그 희귀성과 高價의 약물인 점 등으로 山蔘을 의료나 연구목적으로 활용하는데 많은 애로점이 있었다.

최근 이러한 애로점을 극복하기 위해 산삼의 재배가 이루어지고 식물조직배양기술에 의한 山蔘 不定根의 대량 배양과 생산이 가능하게 되어 의료를 비롯한 다방면에서 산삼의 활용과 연구가 시도되고 있다.

HL-60 세포를 이용한 항암효과연구에서 山養山蔘인 人蔘에 비하여 효과가 우수³⁾하고, 산양산삼 약침액이 A549 human lung cancer cell에서 apoptosis 유도에 의해 세포사멸효과⁴⁾를 나타내며, 산양산삼 추출액이 B16/F10세포를 이식한 C57BL/6 생쥐에서 종양의 크기와 무게를 감소시키고 항암제 doxorubicin의 독성을 감소시키는 효능⁵⁾이 있다는 산양산삼의 항암효능에 관한 연구가 보고되어 있다.

培養山蔘은 위암세포주, 대장암세포주, 전립선암세포주에 대하여 모두 증식억제효과⁶⁾를 나타내었고, 항암물질 ID-6105와 배양산삼 추출물을 병용 투여하였을 때 암세포 증식의 억제에 대하여 상승작용⁷⁾을 나타내는 등 배양산삼 역시 항암효능이 있는 것으로 보고되고 있다.

이에 저자는 배양산삼이 인체의 正氣를 補益함으로써 저항력 또는 면역력을 증강시켜 邪氣에 대한 방어능력과 질병으로부터의 회복을 촉진할 것으로 예상하고, B16/F10 세포를 이식하여 종양이 유발된 C57BL/6 생쥐에서 doxorubicin과 배양산삼 추출물을 병용 투여하여 항종양효과와 상승작용과 doxorubicin 독성 완화 효과를 관찰하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 배양산삼 추출액 제조

培養山蔘(Tissue Cultured Root of Wild Ginseng, CWG)은 (주)태성바이오텍에서 건조된 상태로 구입하여 80 g을 round flask에 넣고, 증류수 1,000 ml를 가하여 2 시간 동안 가열 추출하였다. 추출액을 micro syringe filter (0.2 μ m)로 여과하여 최종 200 ml의 추출액을 만들었다.

2. 실험동물

5주령의 수컷 C57BL/6 생쥐(샘타코, 한국)를 구입하여 온도 23 \pm 1 $^{\circ}$ C, 습도 55 \pm 5%로 조정된 항온 항습실에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간 동안 사료와 깔짚은 감마 멸균처리 된 것을 사용하였으며, 음수는 자유 섭취케 하였다.

3. 종양세포의 배양 및 이식

이식에 사용된 종양세포는 murine melanoma에서 유래된 B16/F10 세포로 한국세포주은행에서 분양받아 10% FBS (Gibco BRL., Grand Island, NY, USA)가 첨가된 RPMI 1640 배양액(Gibco BRL., Grand Island, NY, USA)을 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건하에서 2~3일 간격으로 5회 계대배양하였다. 배양세포를 trypan blue로 염색하여 세포 수를 측정 후 FBS가 첨가되지 않은 RPMI 1640 배양액으로 세포 수가 2 \times 10⁶/ml가 되도록 조정하였다. 실험동물의 복부를 면도하고 소독한 후 배양액 0.1 ml를 피하주사하여 종양세포를 이식하였다.

4. 실험군의 분류

종양세포를 이식한 5일 후부터 육안적인 크기의 종양이 발생되기 시작하였으며 8일 후부터 집중적으로 종양이 발생되어 12일 후에는 총 50마리 중 48마리가 발생하여 96%의 종양발생률을 나타내었다. 종양이 발생한 48마리 중 그 크기가 현저히 작거나 또는 현저히 큰 개체는 실험군에서 제외하였으며 종양의 체적(장경 \times 단경²/2)이 50~100mm³인 개체를 선별하여 아래와 같이 군을 분류하였으며, 각 군당 6마리를 배정하였다.

정상군(normal group) : 종양세포를 이식하지 않은 음성대조군으로 생리식염수 0.2 ml를 1일 1회 12일간 복강내 투여하였다.

대조군(control group) : 종양이 발생한 양성대조군으로 생리식염수 0.2 ml를 1일 1회 12일간 복강내 투여하였다.

Doxo군(Doxo group) : 종양이 발생한 개체에 0일, 4일 및 8일에 각각 doxorubicin (4 mg/kg)을 복강내 투여하였고, 생리식염수 0.2 ml를 1일 1회 12일간 복강내 투여하였다.

Doxo+CWG군(Doxo+CWG group) : 종양이 발생한 개체에 실험 0일, 4일 및 8일에 doxorubicin (4 mg/kg)을 복강내 투여하였으며, 배양산삼 추출액 0.2 ml를 1일 1회 12일간 복강내 투여하였다.

5. 체중, 종양체적 및 종양무게 측정

실험개시 전일(0일)부터 실험종료일(12일)까지 매일 체중 및 종양체적을 측정하였다. 종양체적은 digital caliper (Mitutoyo, CD-15CP, Japan)로 종양의 장경 및 단경을 측정하여 아래의 공식으로 산출하였다.

$$\text{종양체적 (mm}^3\text{)} = [\text{장경 (mm)} \times \text{단경 (mm)} \times \text{단경 (mm)}] / 2$$

종양무게는 실험종료일에 적출된 종양의 주변을 정리한 후 측정하였다.

6. 장기무게 측정

실험종료일에 모든 개체를 ether로 가볍게 마취시킨 상태에서 심장, 간장, 신장, 고환을 적출하여 주변을 정리한 후 무게를 측정하였다.

7. CPK, GOT 및 creatinine 측정

실험종료일에 모든 개체를 ether로 가볍게 마취시키고 심장에서 채혈한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심하여 혈청을 분리하였으며, 전자동생화학분석기(Hitachi 7150, Japan)를 이용하여 측정하였다.

8. 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPSS 11 for Windows, USA)를 이용하여 student's *t*-test를 실시하여 검증하였다.

결 과

1. 체중의 차이

정상군에 비하여 종양이 유발된 대조군에서는 체중이 증가되지 않았으며, doxorubicin을 투여한 Doxo군은 대조군에 비하여 실험 10일부터 유의성있게 체중이 감소되었다.

Doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서는 실험 10일부터 Doxo군에 비하여 체중의 감소가 유의성 있게 억제되었다(Table 1).

2. 종양의 체적 차이

종양이 유발된 대조군에 비하여 doxorubicin을 투여한 Doxo군의 종양체적은 실험 8일부터 유의성있게 감소되

었다.

Doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서도 종양의 체적은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으나, Doxo군과는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 2).

3. 종양의 무게 차이

종양이 유발된 대조군에 비하여 doxorubicin을 투여한 Doxo군의 종양 무게는 유의성 있게 감소되었다.

Doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서도 종양의 무게가 대조군에 비하여 감소되었으나, Doxo군과는 차이가 없었다(Table 3).

4. 장기의 무게 차이

정상군에 비하여 종양이 유발된 대조군에서 신장과 고환의 무게는 차이가 없었다. 그러나 심장의 무게는 유의성 있게 감소되었고, 간장의 무게는 유의성 있게 증가되었다.

Doxorubicin을 투여한 Doxo군에서는 대조군에 비하여 심장의 무게는 차이가 없었으나, 신장과 고환의 무게가 유의성 있게 감소되었고, 간장의 무게도 감소되는 경향을 보였다.

Doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서는 Doxo군에 비하여 간장, 신장 및 고환의 무게는 유의성 있게 증가되었고, 심장의 무게는 감소되는 경향을 보였다(Table 4).

5. 혈액학적 차이

정상군에 비하여 종양이 유발된 대조군에서 creatinine은 유의성 있게 감소되었고, CPK는 유의성 있게 증가되었으며, GOT는 증가되는 경향을 보였다.

Doxorubicin을 투여한 Doxo군에서는 대조군에 비하여

Table 1. Effects of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Water Extract on the Body Weight of B16/F10 Melanoma-bearing C57BL/6 Mice

Group	Body Weight (g)				
	0	4	8	10	12 (days)
Normal	20.6±0.5 ^{a)}	21.7±0.7	21.9±1.0	21.7±0.8	21.9±1.3
Control	21.4±1.0	21.2±1.2	20.5±1.5	20.3±1.5	20.4±1.6
Doxo	20.5±1.5	20.4±1.4	19.4±1.5	17.9±1.0*	17.7±1.0**
Doxo+CWG	21.5±1.0	20.5±0.7	21.4±1.4	19.9±1.6 [#]	20.3±1.4 ^{##}

a) : Mean±S.D. (n=6). Normal : i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Control : Melanoma-bearing, and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo : Melanoma-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo+CWG : Melanoma-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and Tissue Cultured Root of Wild Ginseng water extract (0.2 ml/day) for 12 days.

* : Significantly different from the value with control group (* : *p*<0.05, ** : *p*<0.01).

: Significantly different from the value with Doxo group (# : *p*<0.05, ### : *p*<0.01).

Table 2. Effects of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Water Extract on the Tumor Volume of B16/F10 Melanoma-bearing C57BL/6 Mice

Group	Tumor Volume (mm ³)			
	0	4	8	12
Control	67.2±14.4 ^{a)}	283.5±67.1	1092.5±401.1	2810.3±1030.7
Doxo	70.1±16.4	275.4±108.4	616.1±163.6*	794.0±236.7***
Doxo+CWG	66.7±11.8	243.0±107.3	547.8±212.3	598.8±151.5

a) : Mean±S.D. (n=6).

Control : Melanona-bearing, and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo+CWG : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* water extract (0.2 ml/day) for 12 days.

* : Significantly different from the value with control group (* : $p < 0.05$, *** : $p < 0.001$).

Table 3. Effects of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Water Extract on the Tumor Weight of B16/F10 Melanoma-Bearing C57BL/6 Mice

Group	Control	Doxo	Doxo+CWG
Tumor Weight(g)	2.9±1.3 ^{a)}	0.9±0.2**	1.0±0.3

a) : Mean±S.D. (n=6).

Control : Melanona-bearing, and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo+CWG : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* water extract (0.2 ml/day) for 12 days.

* : Significantly different from the value with control group (** : $p < 0.01$).

Table 4. Effects of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Water Extract on the Organ Weight of B16/F10 Melanoma-bearing C57BL/6 Mice

Group	Organ Weight (mg)			
	Heart	Liver	Kidney	Testis
Normal	113.8±9.0 ^{a)}	878.7±76.4	270.2±20.0	158.0±3.3
Control	99.5±11.2 [†]	1025.0±101.6 [†]	257.7±18.4	151.2±20.8
Doxo	99.7±15.3	907.5±96.6	217.3±19.5**	117.8±9.2**
Doxo+CWG	91.2±7.8	1126.0±108.4 ^{##}	251.3±21.0 [#]	128.0±5.7 [#]

a) : Mean±S.D. (n=6).

Normal : i.p. injection of normal saline 0.2 ml/day for 12 days.

Control : Melanona-bearing, and i.p. injection of normal saline 0.2 ml/day for 12 days.

Doxo : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin 4 mg/kg at 0, 4, 8 day and i.p. injection of normal saline 0.2 ml/day for 12 days.

Doxo+CWG : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin 4 mg/kg at 0, 4, 8 day and Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* water extract 0.2 ml/day for 12 days. † : significantly different from the value with normal group († : $p < 0.05$).

* : significantly different from the value with control group (** : $p < 0.01$).

: significantly different from the value with Doxo group (# : $p < 0.05$, ## : $p < 0.01$).

Table 5. Effects of Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* Water Extract on the Level of CPK, GOT and Creatinine in Serum of B16/F10 Melanoma-bearing C57BL/6 Mice

Group	CPK (IU/L)	GOT	Creatinine (mg/dL)
Normal	307.8±83.5 ^{a)}	30.7±4.1	0.41±0.03
Control	479.8±120.2 [†]	39.8±13.0	0.34±0.04 ^{††}
Doxo	660.7±199.7	43.3±6.1	0.32±0.07
Doxo+CWG	365.8±197.9 [#]	23.7±8.0 ^{###}	0.38±0.03

a) : Mean±S.D. (n=6).

Normal : i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Control : Melanona-bearing, and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and i.p. injection of saline (0.2 ml/day) for 12 days.

Doxo+CWG : Melanona-bearing, and i.p. injection of doxorubicin (4 mg/kg) at 0, 4, 8 day and Tissue Cultured Root of *Wild Ginseng* water extract (0.2 ml/day) for 12 days.

† : significantly different from the value with normal group († : $p < 0.05$, †† : $p < 0.01$).

: significantly different from the value with Doxo group (# : $p < 0.05$, ### : $p < 0.001$).

CPK와 SGOT는 증가되는 경향을 보였고, creatinine은 감소되는 경향을 보였다.

Doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서는 Doxo군에 비하여 CPK와 GOT는 유의성 있게 감소되었고, creatinine은 증가되는 경향을 보였다 (Table 5).

고찰

人蔘은 正氣를 충만케 하여 邪氣의 침입을 방어할 뿐만 아니라 여러 가지 신체의 허약으로 유발되는 질병의 치료에 多用하는 대표적인 補氣藥²⁸⁾으로 그동안 다양한 실험연구를 통해서도 신경계·내분비계·순환계 물질대사를 비롯한 생체 전반에 영향을 미치지 않는 곳이 없을 정도로 다양한 효능이 있다^{9,10)}는 것이 밝혀졌다.

그러나 山蔘은 회귀성과 高價의 약물인 점 등으로 山蔘 자체에 대한 연구는 찾아보기 힘든 실정이며, 최근 山養山蔘의 재배뿐만 아니라 山蔘의 不定根을 배양한 培養山蔘의 대량 생산을 통하여 산삼을 이용한 제품개발과 효능에 대한 연구가 시도되고 있으나 아직은 미미한 실정이다.

배양산삼의 항암작용에 관한 연구로 이⁶⁾는 배양산삼이 위암 세포주·대장암 세포주·전립선암 세포주에 대하여 모두 증식억제효과를 나타내며 이⁷⁾는 항암물질 ID-6105와 배양산삼 추출물을 병용 투여하였을 때 암세포 증식을 억제하는 작용에 상승효과를 나타내는 것으로 보고하였다.

이외에도 황 등¹¹⁾은 tcMC 추출물이 TCDD에 의한 체중감소를 회복시키고 생존율을 높이며, TCDD에 의해 상승된 총콜레스테롤, 중성지방, AST와 alkaline phosphatase 수치를 감소시키고, 간·비·신·고환 조직의 손상을 회복시키는 효과가 있음을 보고하였고, 유 등^{12,13)}은 배양산삼이 미백효과와 hydroxyl radical을 소거하는 항산화작용이 있음을 보고하였으며, 신¹⁴⁾은 배양산삼 추출물을 투여한 흰쥐에서 수중미로학습 행동검사를 통하여 학습효과 개선과 기억력이 향상되는 것으로 보고하였다.

이와 같이 배양산삼의 효능은 인삼이 신체의 허약함을 補益하고, 正氣를 충만케 하여 邪氣를 제거하고 질병을 치료하는 효능과 유사할 것으로 생각되어 저자는 B16/F10 세포를 이식하여 종양을 유발한 C57BL/6 생쥐에 항암제 doxorubicin과 배양산삼 추출액을 병용 투여하여 종양 증식 억제에 대한 상승작용 여부와 항암제 doxorubicin의 독성을 완화시킬 수 있는지를 연구하였다.

Doxorubicin^{15,16)}은 Streptomyces Peucetius로부터 추출된 항생제로 DNA 염기쌍 사이에 삽입되어 DNA 복제와 전사과정을 억제하여 여러 종류의 종양에 대하여 항암효과를 나타내지만 심장독성^{17,18)}, 골수억제¹⁵⁾, 간독성¹⁸⁾, 신독성¹⁹⁾, 고환독성²⁰⁾ 등을 유발하는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서 실험동물의 체중에 미치는 영향을 측정하면, doxorubicin을 투여한 Doxo군이 종양이 유발된 대조군에 비하여 유의한 체중 감소를 나타내었으며, 이것은

doxorubicin에 의한 독성이 유발되었음을 의미한다²¹⁻²³⁾.

그러나 doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여한 Doxo+CWG군에서는 Doxo군에 비하여 체중 감소가 유의성 있게 억제되었으며, 이것은 배양산삼이 doxorubicin에 의한 독성을 감소시킨 결과로 판단된다.

종양의 체적과 무게에 미치는 영향에서는 대조군에 비하여 Doxo군에서 종양의 체적과 무게가 모두 유의성 있게 감소되었으며, 이는 doxorubicin이 종양치료효능을 나타낸 것으로 보인다.

또한 Doxo+CWG군에서도 종양의 체적과 무게가 감소되었고, Doxo군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않아 doxorubicin과 배양산삼추출액의 병용 투여가 doxorubicin의 종양치료효능에 상승작용을 하지는 못하였으나 부정적인 영향을 미치지도 않았음을 알 수 있었다.

Doxorubicin은 심근세포에서 free radical을 생성시키고 SOD 활성의 감소와 lipid peroxidation의 증가 등 항산화반응을 억제하며¹⁸⁾, 심장의 무게를 감소시키고^{22,23)}, 혈청 CPK를 증가시키는²⁴⁻²⁶⁾ 등의 심장독성이 있음이 보고되어 있다.

본 연구에서는 Doxo군의 심장 무게가 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않아 doxorubicin에 의한 독성 여부를 판단하기가 곤란하였으며, Doxo+CWG군에서도 Doxo군과 유의한 차이를 보이지 않아 배양산삼의 영향을 판단하기도 곤란하였다.

혈액화학적 변화에서 CPK 수치의 편차가 커 유의성은 인정되지 않았으나 Doxo군이 대조군에 비하여 증가되는 경향을 나타내어 어느 정도 독성이 유발된 것으로 보이며, Doxo+CWG군은 Doxo군에 비하여 유의성 있게 감소되어 doxorubicin에 의한 심장 독성을 완화시킨 것으로 판단된다.

Doxorubicin은 간 조직의 괴사를 유발하고²⁷⁾, 간세포에서 free radical을 생성시키며 SOD의 활성을 억제하고 lipid peroxidation을 증가시키는 등의 항산화반응을 억제하며¹⁸⁾, 간장의 무게를 감소시키고²⁸⁾, GOT와 GPT를 상승시키는^{18,25,29)} 등의 간독성을 유발하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서는 유의성이 인정되지 않았으나 Doxo군이 대조군에 비하여 간장의 무게가 감소되고 혈청 GPT가 증가되는 경향을 보여 어느 정도 간 독성이 유발된 것으로 판단되며, Doxo+CWG군은 Doxo군에 비하여 유의성 있게 간장의 무게를 증가되고 혈청 GPT는 감소되어 배양산삼이 doxorubicin에 의한 간 독성을 완화시킨 것으로 판단된다.

Doxorubicin의 신장 독성은 신장의 무게를 감소시키고^{28,30)}, 사구체 울혈과 세뇨관의 괴사를 일으키며³¹⁾, 혈중 creatinine 값을 상승시키는^{29,31,32)} 등의 신장 독성을 나타내었다.

실험 결과 Doxo군의 신장 무게가 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으며, Doxo+CWG군은 Doxo군에 비하여 신장의 무게는 유의성 있게 증가되어 배양산삼이 doxorubicin에 의한 신 독성을 완화시킨 것으로 판단된다.

다. 혈중 creatinine은 Doxo군이 대조군에 비하여 감소되는 경향을 보였으며, Doxo+CWG군은 Doxo군에 비하여 증가되는 경향을 보였으나 모두 정상군의 creatinine 값보다 작아 의의를 둘 수 없었다.

Doxorubicin이 고환에 미치는 영향으로는 정세관 상피세포의 치밀도가 감소되고 정세관 상피세포 사이의 연결성이 떨어지며, 정세포 및 정자세포의 감소와 정세관 상피세포를 괴사를 유발하며^{21,33)}, 고환의 무게를 감소시키는^{28,34)} 등의 고환독성을 나타내는 것으로 보고되었다.

본 연구에서도 Doxo군의 고환 무게가 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되어 고환 독성이 유발되었음을 알 수 있었고, Doxo+CWG군은 Doxo군에 비하여 유의성 있게 고환 무게가 증가되어 배양산삼이 doxorubicin에 의한 고환 독성을 억제한 것으로 판단된다.

전반적인 실험 결과에서 Doxo+CWG군이 Doxo군에 비하여 악화시킨 결과를 나타내지는 않아 배양산삼이 doxorubicin의 항암효과를 저해하지 않은 것으로 보인다.

이상의 실험 결과 배양산삼은 B16/F10 세포를 이식하여 종양을 유발한 생쥐에서 항암제 doxorubicin에 의한 체중의 감소와 장기독성을 방어하는 효과가 있는 것으로 밝혀졌으며, 항종양작용에 있어 doxorubicin과 배양산삼의 상승효과는 관찰할 수 없었다.

따라서 배양산삼은 正氣를 補益하는 효능에 의하여 항암제에 의한 손상을 완화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

결론

배양산삼이 항암제의 독성과 항종양작용에 미치는 영향을 검증하고자 C57BL/6 생쥐에 B16/F10 세포를 이식하여 종양을 유발한 다음 doxorubicin 투여군, doxorubicin과 배양산삼의 병용 투여한 군으로 구분하여 실험하였다.

실험결과 배양산삼추출액의 병용투여로 doxorubicin에 의한 체중 감소가 유의성 있게 억제되었다.

종양의 체적과 무게는 doxorubicin을 단독 투여하였을 때와 doxorubicin과 배양산삼추출액을 병용 투여하였을 때 모두 감소되었고, 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지는 않았다.

배양산삼 추출액의 병용 투여로 doxorubicin에 의해 감소된 신장과 고환의 무게가 유의성 있게 증가되었다.

배양산삼 추출액의 병용 투여로 doxorubicin에 의해 증가된 CPK와 GOT의 값이 유의성 있게 감소되었다.

이상의 결과 배양산삼은 항암제 doxorubicin의 항종양 효능에는 영향을 미치지 않으면서 doxorubicin 독성을 완화시키는 효과가 있는 것으로 판단된다.

참고문헌

1. 신순식, 김경철, 최영현, 이용태, 엄현섭, 김창식. 산

삼 감정 기준의 객관성. 동의한의연. 2001 ; 5 : 107-14.

2. 徐樹楠, 朱兵占. 中醫經典通釋 神農本草經. 河北 : 河北科學技術出版社. 1996 ; 10-1.
3. 김성진, 신순식, 서부일, 지선영. 산삼, 장뇌삼, 인삼의 항암효과에 대한 비교연구. 대한본초학회지. 2004 ; 19(2) : 41-50.
4. 곡경승, 이선구, 권기록. pH 및 전해질 조절 산양산삼 증류약침의 Apoptosis에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2004 ; 21(6) : 1-17.
5. 민병일, 김호현, 권기록, 서일복. 산양산삼 추출액의 항암효과 및 Doxorubicin에 의한 고환독성 방어효과. 대한약침학회지. 2007 ; 10(1) : 85-100.
6. 이태웅. 수종의 암세포주에 대한 조직배양 산삼 부정근의 항암효과. 충북대학교 대학원. 2006.
7. 이근경. 항암물질인 ID-6105와 조직 배양 산삼 추출물과의 병용 투여에 의한 암세포 증식 억제 상승효과. 충북대학교 대학원. 2006.
8. 李時珍. 本草綱目. 서울 : 高文社. 1987 ; 405-12.
9. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 대구 : 大成出版社. 1984 ; 29-36.
10. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京 : 人民衛生出版社. 1983 ; 15-28.
11. 황석연, 박선우, 박정숙, 한건. 랫트에서 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) 유발 생체 독성에 대한 조직배양 산삼부정근 사포닌의 치료효과. 약학회지. 2006 ; 50(4) : 220-7.
12. 유영근, 정민석, 이윤희, 최종완, 김중희, 백기엽. 산삼부정근 추출물의 효능·효과에 관한 연구. 대한화장품학회지. 2004 ; 30(3) : 377-83.
13. 신미희. 산삼의 배양 및 그 응용에 관한 연구. 대한화장품학회지. 2001 ; 27(2) : 45-56.
14. 신창환. 배양산삼이 뇌 공간지각 학습능력에 미치는 영향에 대한 연구. 원광대학교 대학원. 2004.
15. 홍사석. 이우주의 약리학강의. 서울 : 의학문화사. 1993 : 655-6.
16. Labonté P, Kadhim S, Bowlin T, Mounir S. Inhibition of tumor growth with doxorubicin in a new orthotopically implanted human hepatocellular carcinoma model. Hepatology Research. 2000 ; 18 : 72-85.
17. 정희상, 박찬국, 이승일, 문철웅, 김만우, 장경식, 정춘해, 홍순표. Doxorubicin의 백서 심장독성에 관한 연구. 대한내과학회잡지. 1992 ; 42(2) : 209-17.
18. Abd El-Aziz MA, Othman AI, Amer M and El-Missiry MA. Potential Protective Role of Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors Captopril and Enalapril 9against Adriamycin- induced Acute Cardiac and Hepatic Toxicity in Rats. J Appl Toxicol. 2001 ; 21 : 469-73.

19. Mansour MA, El-Kashef HA and Al-Shabanah OA. Effect of captopril on doxorubicin-induced nephrotoxicity in normal rats. *Pharmacological Research*. 1999 ; 39(3) : 233-7.
20. Shinoda K, Mitsumori K, Yasuhara K, Uneyama C, Onodera H, Hirose M, Uehara M. Doxorubicin induces male germ cell apoptosis in rats. *Arch Toxicology*. 1999 ; 73 : 274-81.
21. Yachi K, Yamauchi H., Kikuchi H., Screening and biological evaluation of liposomal formulations containing Adriamycin, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997 ; 24 : 123-31.
22. Roh YW, Ji HJ, Chai HY, Hwang SY, Nam SY, Hong JT, Sung JH, Kim HK, Kang HG, Kim YB and Kang JK. Antitumor and cardioprotective effects of a ginseng intestinal metabolite in combination with doxorubicin in sarcoma-180 tumor-bearing mice. *The Korean Journal of Laboratory Animal Science*. 2004 ; 20(4) : 348-56.
23. Zhou S, Palmeira CM, Wallace KB. Doxorubicin-induced persistent oxidative stress to cardiac myocytes. *Toxicology letters*. 2001 ; 121(3) : 151-7.
24. Al-Majed AA, Gado AM, Al-Shabanah OA, Mansour MA. Alpha-lipoic acid ameliorates myocardial toxicity induced by doxorubicin. *Pharmacological research*. 2002 ; 46(6) : 499-503.
25. Deepa PR, Varalakshmi P. Protective effect of low molecular weight heparin on oxidative injury and cellular abnormalities in adriamycin-induced cardiac and hepatic toxicity. *Chemico-biological interactions*. 2003 ; 146(2) : 201-10.
26. Nagi MN, Mansour MA. Protective effects of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Pharmacological research*. 2000 ; 41(3) : 283-9.
27. Eun-sung Park, Sun-don Kim, Min-hye Lee, Heung-shik Lee, Je-kyung Sung, Yeo-sung Yoon, Protective effects of N-acetylcysteine and selenium against doxorubicin toxicity in rats. *Journal of Veterinary Science*. 2003 ; 4(2) : 129-36.
28. E Pereverzeva, I Treschalin, D Bodyagin, O Maksimenko, K Langer, S Dreis, B Asmussen, J Kreuter, S Gelperina. Influence of the formation on the tolerance profile of nanoparticle-bound doxorubicin in healthy rats : Focus on cardio- and testicular toxicity *International Journal of Pharmaceutics*. 2007 ; 337 : 346-56.
29. Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC. The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. *Pharmacological research*. 2001 ; 43(3) : 211-8.
30. Shri N Giri, Mohammed Ali Al-Bayati, Xiaogu Du, Edward Schelegle, F Charles Mohr, Solomon B Margolin. Amelioration of doxorubicin-induced cardiac and renal toxicity by pirfenidone in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2004 ; 53 : 141-50.
31. Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology*. 2006 ; 218(2/3) : 164-71.
32. Mansour MA, El-Kashef HA and Al-Shabanah OA. Effect of captopril on doxorubicin-induced nephrotoxicity in normal rats. *Pharmacological Research*. 1999 ; 39(3) : 233-7.
33. Sjöblom T, West A and Lähdetie J. Apoptotic response of spermatogenic cells to the germ cell mutagens etoposide, adriamycin and diepoxybutane. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1998 ; 31 : 133-48.
34. Kang JK, Lee YJ, No KO, Jung EY, Sung JH, Kim YB, Nam SY. Ginseng intestinal metabolite- I (GIM- I) reduces doxorubicin toxicity in the mouse testis. *Reproductive Toxicology*. 2002 ; 16 : 291-8.