

# 고려인삼이 ACTH 를 받은 마우스의 악하선 조직 DNA 합성능에 미치는 영향(Ⅱ)

가톨릭대학 의학부 생리학교실

<지도 김           철 교수>

홍   용   하 · 김   기   연

=Abstract=

## Influence of Panax Ginseng on DNA Synthesis of Submandibular Gland in Mice Receiving ACTH (Ⅱ)

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, in mice that received ACTH, the influence of Panax Ginseng upon DNA synthesis of submandibular gland by observing incorporation of [<sup>3</sup>H] thymidine into the tissue cells. 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 μCi/g body weight of [<sup>3</sup>H] thymidine after one more hour. Five animals, at a time, of each group were sacrificed 1, 10, and 24 hr after [<sup>3</sup>H] thymidine administration, and the radioactivity of cells in their mandibular gland was measured autoradiographically in terms of the % number of radioactive cells in 1,000 cell counts (Radioactive Index, R.I.).

Results obtained were as follows:

1. The radioactive indices obtained from submandibular gland of the saline-ACTH group 1, 10 and 24 hr after [<sup>3</sup>H] thymidine administration were 15.2±0.32, 20.1±0.30, and 24.5±0.52 (mean±S.D.) in the mucous cells, 13.0±0.22, 10.2±0.05, and 7.5±0.42 in the serous cells, and 10.5±0.40, 13.6±0.32, and 15.9±0.42 in the duct cells, while the mean±S.D. of the values obtained from the 3 cell types 1, 10 and 24 hr after [<sup>3</sup>H] thymidine were 10.9±0.28, 12.4±0.31, and 10.0±0.39. Thus the radioactive indices obtained from the ginseng-ACTH group were generally lower than those obtained from the saline-ACTH group.

It is inferred from the above results that the ginseng tends to promote the suppressive action of ACTH upon DNA synthesis of cells in the mandibular gland.

### 머 리 말

본 교실의 김승훈(1971)은 인삼주정추출액 혹은 인

삼주정추출액과 ACTH를 투여하는 일이 원취의 악하선조직 핵산 함유량에 미치는 영향을 알기 위하여 화학적 방법으로 DNA 함유량을 측정하였던 바 인삼군 및 인삼-ACTH군의 DNA 함유량이 식염수군 및 식염수-

ACTH 군의 그것에 비하여 현저하게 적었다고 한다.

한편 본 교실의 권영진(1974)은 김승훈(1971)의 실험에서 얻은 사실을 더욱 확증하기 위한 실험의 일환으로서 고려인삼 주정추출액을 투여한 마우스에 [ $^3\text{H}$ ] thymidine 을 주사한 후 1시간만에 악하선 조직 DNA 합성능을 측정하였던 바 인삼군의 DNA 합성능이 식염수군의 그것에 비하여 어느 정도 낮음을 발견하였다. 그러므로 본 연구에서는 김승훈(1971) 및 권영진(1974)들의 실험에서 얻은 사실을 더욱 확증하기 위한 실험의 일환으로서 인삼주정추출액을 투여 받은 마우스에 ACTH를 주사하였을 때 악하선 조직 DNA 합성능이 어떻게 변동하는지를 규명 할 목적으로 [ $^3\text{H}$ ] thymidine 을 이용한 자기방사법을 사용하고 방사능 지수를 지표로 하여 DNA 합성능을 측정하였다.

### 재료 및 방법

실험동물은 몸 무게 18~20g 되는 마우스 수컷 30마리로서 실험 시작 1주일 전부터 실온  $20\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 일정한 사료로 사육한 후 실험에 사용하였다.

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

마우스 30마리를 각각 15마리씩 2무리씩 인삼군과 식염수군으로 나누고 식염수군에는 생리적 식염수를, 인삼군에는 인삼주정추출액을 각각 몸 무게 10g에 대하여 0.05ml의 비율로 5일 동안 날마다 한번씩 같은 시각에 마우스의 등부위 피하에 주사하였다.

인삼주정추출액 또는 식염수 투여가 시작된지 5일만에는 해당 약물을 투여한지 1시간 후에 1마리에 대하여 0.01 unit씩 ACTH (Parks Davis & Co제)를 복강 속에 주사하고, 다시 1시간 후에 [ $^3\text{H}$ ] thymidine 을 투여하였다. 인삼과 ACTH를 받은 무리를 각각 인삼-ACTH 군과 식염수-ACTH 군이라 부르기로 한다.

사용한 방사선 동위원소는 C.E.A. Gif-Sur-Yvette, France에서 만든 methyl-T, [ $^3\text{H}$ ] thymidine (specific activity: 65 Ci/mM)으로서 그 수용액을 1  $\mu\text{Ci/g}$  몸 무게의 비율로 복강속에 단 한번에 주사하고, 주사후 1, 10 및 24시간만에 도살하였다. [ $^3\text{H}$ ] thymidine 을 주사하는 시간은 Bullough(1948), Leblond & Walker

(1956), Messier & Leblond(1960), Pilgrim 들(1963) 및 Thrasher(1966)가 주장하는 세포갱신 활동의 일대 주기성 변동을 고려하여 오전 10시를 택하였다. 실험동물을 도살한 직후 악하선 조직을 베어내어 Bouin 액속에서 고정된 후 일반표본 제작 방법에 따라 파라핀에 포매한 다음 4  $\mu$  두께의 부분적 연속 절편을 만들었다. 자기방사법은 Kodak 제 NTE<sub>2</sub> nuclear track emulsion 을 사용하는 Messier 와 Leblond(1957)의 담그기 방법 (dipping method)을 이용하였으며 암 등으로부터 약 2m 이상 떨어진 거리에서 가급적 빨리 조작하여 건조시킨 슬라이드를 흡수제가 들어 있는 암상자 속에 넣어 밀봉하고, 4 $^\circ\text{C}$ 에서 25일 동안 노출시켰다. 그 다음 현상(D-19 kodak 제), 정착(acid fixer)과정을 거쳐 탈수하고, Harris-hematoxyline 으로 염색을 한 후 balsam 으로 봉하여 표본을 만들었다. 관찰방법은 970배 현미경하에서 중첩된 교막(膠膜) 면에 나타나는 은입자를 확인하고, 이를 지닌 세포를 표지된 세포로 간주하였다.

### 성 적

악하선 조직 표본에서 세포들을 점액세포, 장액세포 및 도관세포로 구분하고 자기 해당 세포 1,000개를 세는 동안에 나타나는 표지된 세포의 수효를 백분율로 고쳐 방사능 지수(radioactive index)로 삼았고(Messier & Leblond, 1960), [ $^3\text{H}$ ] thymidine 주사후 1, 10 및 24시간만에 관찰한 식염수-ACTH 군 및 인삼-ACTH 군의 악하선 조직 방사능 지수를 제 1 표에 제시하였다.

제 1 표에 제시된 바와 같이 [ $^3\text{H}$ ] thymidine 주사후 1시간만에 관찰된 식염수-ACTH 군 악하선 조직의 방사능 지수는 점액세포에서  $15.2\pm 0.32$ , 장액세포에서  $13.0\pm 0.22$ , 도관세포에서  $10.5\pm 0.42$ 로서 그 평균치는  $12.7\pm 0.31$ 이고 이들 값의 총화 즉 총 방사능 지수는 38.7이었다. [ $^3\text{H}$ ] thymidine 주사후 10시간 및 24시간만에 얻은 식염수-ACTH 군의 방사능 지수는 각각 점액세포에서  $20.11\pm 0.31$  및  $24.5\pm 0.52$ , 장액세포에서  $10.2\pm 0.35$  및  $7.5\pm 0.42$ , 도관세포에서  $13.6\pm 0.32$  및  $15.9\pm 0.42$ 였으며, 평균치는  $14.6\pm 0.33$ (10시간) 및  $15.9\pm 0.45$ (24시간)이고, 총 방사능 지수는 43.9 및 43.9 이었다.

한편 [ $^3\text{H}$ ] thymidine 투여후 1, 10 및 24시간만에 관찰된 인삼-ACTH 군의 방사능 지수는 점액세포에서 각각  $13.2\pm 0.21$ ,  $18.2\pm 0.32$  및  $21.2\pm 0.42$ , 장액세포

**Table 1. Average radioactive indices±S.D. of the submandibular gland of the saline-ACTH and the ginseng-ACTH groups at different hours after intraperitoneal injection of [<sup>3</sup>H] thymidine**

hours after injection	group	Mucous cell	Serous cell	Duct cell	Mean
1	Saline	15.2±0.32	13.0±0.22	10.5±0.40	12.7±0.31
	Ginseng	13.2±0.21	11.3±0.33	8.3±0.32	10.9±0.28
10	Saline	20.1±0.31	10.2±0.35	13.6±0.32	14.6±0.33
	Ginseng	18.2±0.32	8.2±0.36	10.9±0.26	12.4±0.31
24	Saline	24.5±0.52	7.5±0.42	15.9±0.42	15.9±0.45
	Ginseng	21.2±0.42	6.0±0.41	13.0±0.36	10.0±0.39

포에서 각각 11.3±0.33, 8.2±0.36 및 6.0±0.41, 도관세포에서 각각 8.3±0.32, 10.9±0.26 및 13.0±0.36 이고, 그 평균치들은 10.9±0.28, 12.4±0.31 및 10.0±0.39이었으며, 이들 값을 합친 총 방사능지수는 각각 32.8, 37.3 및 40.2이었다. 따라서 인삼-ACTH 군의 악하선 조직 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 해당 값에 비하여 일반적으로 낮은 값을 나타내었다.

**II 찰**

위의 실험결과를 종합하여 보건대 인삼-ACTH 군의 악하선 조직 방사능 지수는 식염수-ACTH 군의 그것에 비하여 약 15% 정도 낮다. 이 결과는 본 교실의 김승훈(1971)이 인삼-ACTH 군의 악하선 조직 DNA 함유량을 화학적 방법으로 분석하여 얻은 값이 식염수-ACTH 군의 그것보다 현저하게 적음을 관찰한 사실과 일치하는 소견이다. 또한 김철들(1970)에 의하면 인삼-ACTH 군의 췌장 DNA 함유량과 DNA 합성능은 식염수-ACTH 군의 그것에 비하여 적다고 하였는데 이러한 결과와도 잘 부합된다. 또한 본 교실의 권영진들(1974)에 의하면 [<sup>3</sup>H] thymidine 주사후 1, 10 및 24 시간만에 인삼군의 악하선 조직 방사능 지수가 식염수군의 그것에 비하여 유의한 차이는 아니나 적다고 하는데 이러한 사실과 잘 부합된다. 그러므로 인삼은 마우스의 악하선 조직 점액세포, 장액세포 및 도관세포의 DNA 합성능을 어느 정도 억압한다고 추측된다. 그러나 김철과 최천규(1971), 김철과 김원배(1972), 김철과 정하영(1972), 김철과 김병호(1973) 및 김철과 최수년(1973)이 인삼-ACTH 군의 부신피질, 십이지장, 흉선, 결장 및 비장조직 DNA 합성능이 식염수-ACTH 군의 그것에 비하여 현저하게 덜 억압된다고 밝힌 사실과는 서로 부합되지 않는다. 그러므로 인삼주정추출액은 마우스의 조직에 따라서 DNA 합성능을 촉진 또

는 억압시키는 것이 아닌가 추측된다. 그러나 인삼이 마우스의 조직에 따라 DNA 합성능에 다른 영향을 미치는 기전에 관하여는 알 수 없다. 앞으로 더욱 많은 연구를 수행함으로써 밝혀질 것이라고 생각된다.

**요 약**

인삼주정추출액이 ACTH 를 받은 마우스의 악하선 조직 DNA 합성능에 미치는 영향을 알기 위하여 30마리의 마우스(18~20g) 수컷을 인삼-ACTH 군과 식염수-ACTH 군으로 나누어 다음과 같은 실험을하였다.

인삼주정추출액 혹은 식염수 투여가 시작된지 5일째 되는 날에 해당 약물을 투여한 후 1시간만에 ACTH 를 주사한 다음, 다시 1시간만에 [<sup>3</sup>H] thymidine 을 단 1회에 복강속에 주사하고 이어서 이들 마우스를 1, 10 및 24시간만에 도살하여 악하선 조직을 적출하고 자기방사법을 이용하여 방사능 지수를 계수한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. [<sup>3</sup>H] thymidine 주사후 1, 10 및 24시간만에 관찰된 식염수-ACTH 군의 악하선 조직 방사능 지수는 점액세포에서 각각 15.2±0.32, 20.1±0.31 및 24.5±0.52, 장액세포에서 13.0±0.22, 10.2±0.05 및 7.5±0.42, 도관세포에서 10.5±0.40, 13.6±0.32 및 15.9±0.42이었고 이들 세가지 세포에서 얻은 값의 평균치는 1, 10 및 24시간만에 각각 12.7±0.31, 14.6±0.33 및 15.9±0.49이었다.

2. 인삼-ACTH 군의 악하선 조직 방사능 지수는 점액세포에서 각각 13.2±0.21, 18.2±0.32 및 21.2±0.42, 장액세포에서 11.3±0.33, 8.2±0.36 및 6.0±0.41, 도관세포에서 8.3±0.32, 10.9±0.26 및 13.0±0.36이었고, 이들의 세가지 세포에서 얻은 값의 평균치는 1, 10, 24시간만에 각각 10.9±0.28, 12.4±0.31 및 10.0±0.39이었다. 그러므로 인삼-ACTH 군

의 악하선 조직 방사능 지수는 해당 식염수-ACTH 군의 값 보다 현저하게 낮다.

이상의 결과로 미루어 보아 인삼은 ACTH 주사로 야기되는 마우스의 악하선 조직 DNA 합성능의 저하를 어느 정도 더욱 심하게 한다고 믿어진다.

### 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.*
- Leblond, C.P. & Walker, B.E.: *Renewal of cell populations. Physiol. Rev. 36, 255-276, 1956.*
- 권영진, 채유병, 장원상: 고령인삼이 마우스의 간조직 DNA 합성능에 미치는 영향(I). 대한생리학회지, 8, 5-8, 1974.
- 김승훈: 고령 인삼이 흰쥐의 악하선 조직 핵산함유량에 미치는 영향. 최신의학, 14, 559-563, 1971.
- 김 철, 최천규: 인삼이 마우스의 부신피질 DNA 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 21, 211-224, 1971.
- 김 철, 김원배: 고령 인삼이 마우스의 12지장 상피세포 DNA 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 22, 169-179, 1972.
- 김 철, 정하영: 고령 인삼이 마우스의 흉선조직 DNA 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 22, 13-23, 1972.
- 김 철, 김병호: 인삼이 마우스의 결장 상피세포의 DNA 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 25, 105-113, 1973.
- 김 천, 최수년: 고령 인삼이 마우스의 비장 DNA 합성주기에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 25, 143-151, 1973.
- 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. & Maurer, 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.*