

선삼 투여가 중선량 X-선을 조사한 마우스에서 조혈면역계 및 간장 독성에 미치는 방호효과

신 정 섭, 김 영 철*

계명대학교 공중보건학과

Radioprotective Effects of Sun Ginseng on Hematogenic and Immune Systems and Liver Toxicities in Mice Exposed to Medium Dose of Irradiation

Jung-Sub Sin and Young-Chul Kim*

Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT

Six week-old ICR mice were divided into four groups including NC, RC, RR and RS, then they were injected with sun ginseng (RS), red ginseng (RR) and saline (RC) intraperitoneally as an amount of 60 mg/kg body weight at 1 hour, 12 hours and 36 hours before the whole body irradiation with 6.5 Gy of X-ray. And the mice were sacrificed at nine days after the irradiation.

The RS group were significant increase in the weight of spleen ($p < 0.05$) and the numbers of endogenous spleen colony ($p < 0.001$) and WBC ($p < 0.05$) especially neutrophils, lymphocytes and monocytes in comparison with the RC group. The RR group were significant increase in the numbers of endogenous spleen colony ($p < 0.01$) and WBC ($p < 0.05$) especially neutrophils, lymphocytes and eosinophils in comparison with the RC group. The RS group exhibited a more increase in the weight of spleen and the number of endogenous spleen colony than the RR group. The values of ALT (alanine transaminase) and AST (aspartate transaminase) were significantly elevated ($p < 0.05$) by radiation and they were significantly decreased ($p < 0.05$) in the RS group to the values of the NC group. The value of TBARS(thiobarbituric acid reactive substance) was significantly elevated ($p < 0.01$) by radiation and it was significantly decreased ($p < 0.05$) in the RS group. And the values of SOD (superoxide dismutase) and CAT (catalase) were significantly increased ($p < 0.05$) in the RS group in comparison with the RC group.

Taken together the above results, sun ginseng demonstrated the protective effects on hepatocytes and immune and hematopoietic cells in mice exposed to medium dose of irradiation, and those radioprotective effects were a little higher or similar to the red ginseng.

Key words : sun ginseng, red ginseng, radioprotective effect, spleen colony

서 론

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-53-580-5931, Fax: +82-53-588-5233
E-mail: yckim@kmu.ac.kr

에 따라 각종 질병의 기전을 밝히고 질병의 치료를 위한 의학적 이용이 증가하고 있으며, 원자력 발전소 같은 핵시설의 증가 및 우주방사선을 비롯한 자연방사선의 노출증가 등으로 인하여 인체의 방사선에 대한 피폭이 증가하고 있으나 현실적으로 방사선의 피폭을 완전히 피할 수는 없다. 방사선이 정상조직에 조사될 경우 창상 치유가 늦어지고 조직 내 산소 결핍 및 국소적 부종, 염증반응, 혈관손상 등을 통한 조직 저산소증을 유발하기도 한다. 방사선에 의한 장애는 중추신경 장애(100~300 Gy), 위장관 장애(10~30 Gy), 골수장애(4~8 Gy) 및 저선량 장애(1~2 Gy 이하) 등이며 각각의 급성, 지연 또는 유전효과를 나타낸다(Hall, 1994). 이에 방사선에 의한 생체손상의 예방 및 경감을 위한 방호제의 개발이 중요한 문제로 대두되고 있다(IAEA, 1978; NCP, 1980). 중추신경 장애에 의한 사망의 경우 의료적 처치방법은 전혀 없으며 위장관 장애를 일으키는 방사선용량 이하에 대한 방사선장해 경감에 대한 연구가 주로 수행되고 있다.

방사선에 의한 생체손상은 DNA, 단백질, 지질 등의 고분자가 방사선의 고에너지에 의해 직접적으로 파괴되거나 생체내 물분자의 이온화로 생성된 자유라디칼, 특히 수산화라디칼($\cdot\text{OH}$)에 의하여 손상 받음으로써 나타난다(Halliwell and Gutteridge, 1999). 생체는 자유라디칼의 유해한 작용에 대하여 효율적으로 조절할 수 있는 방어체계를 갖추고 있으며 그 방어기전은 생체내에 항산화 물질이나 항산화효소가 존재함으로써 자유라디칼의 생성을 억제하거나 생성된 자유라디칼을 제거하기 때문으로 알려져 있다(Fridovich, 1986). 자유라디칼을 제거하는 효과를 나타내는 것은 효소, 지용성 화합물, 수용성 화합물, 고분자 항산화물질로 분류된다. 효소에는 SOD (superoxide dismutase), CAT (catalase), GPX (glutathione peroxide)가 있고, 지용성 화합물에는 비타민 E, 베타카로틴이 있다. 수용성 화합물에는 비타민 C가 있고 고분자 항산화물질은 알부민이 있다.

방사선 피폭의 부작용을 줄이기 위한 노력의 일환으로 1949년 Patt 등에 의해 cysteine의 방어효과가 최초 보고된 이후 thiol기를 갖고 있는 합성물질 그리고 면역조절계의 방어로 interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor (TNF)와 같은 면역증강제, granulocyte colony stimulation factor (G-CSF)와 같

은 조혈증강제 및 glucan 등에 대한 연구가 진행되었다(Neta, 1986, 1988; MacVittie *et al.*, 1990). 그러나 합성물질은 독성이 강하고, 면역조절인자인 경우 부작용이 많고 고가여서 실제적으로 사용에 한계가 있다(박혜란 등, 2005). 이에 따라 일본, 미국을 중심으로 독성이 적은 천연물을 이용한 방사선 방호제 연구가 많이 이루어지고 있으며(Li, 1992; Zneg *et al.*, 1992; Wang and Zhu, 1996), 자연산 생물 중에는 항산화 기능이 있어 조직에 발생한 자유라디칼을 제거하여 DNA 및 지질, 단백질의 손상을 경감하는 효능이 있는 생물이 관심의 대상이 되고 있다. 인삼은 대표적인 항산화물질로 알려져 있고 항산화작용 및 그 활성성분에 대한 연구가 활발히 진행되어 지질과산화물을 효과적으로 억제했다는 보고들이 있으며, 이러한 항산화작용 기전은 saponin 등이 조직내의 내인성 항산화 물질의 함량을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 우리나라에서도 김동윤 등(1998), 김성호 등(2001)은 홍삼의 항산화 기능이 방사선조사 받은 쥐에서 방사선 장해 경감효과가 있는 것으로 보고하였다. 최근에는 인삼의 새로운 가공방법으로 고농축의 선삼이 개발되었다. 이러한 선삼 연구물은 선삼의 방사선 방호효과의 기대치를 높여주고 있어 선삼의 방사선장해 경감효과에 대한 연구가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 중선량 방사선에 대한 방사선 방호효과 확인의 대표적 실험방법으로 알려진 항산화효소와 조혈면역계 방호 및 회복효과를 통하여 선삼의 방사선 방호효과를 확인하기 위해 이미 선행 연구로 방사선 방호 효과가 검증된 홍삼과 비교하여 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

6주령(30~35 g)의 ICR 마우스 수컷 24마리를 대한바이오링크(주)에서 구입하여, 1주간 순응과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 사육실 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 50~60%, 명암순환은 12시간 단위로 조절되는 표준사육 방법으로 사육하였고, 고형사료와 물은 자유로이 공급하였다. 실험군은 정상군, 방사선 조사 대조군, 홍삼투여 방사선 조사군, 선삼투여 방사선 조사군으로 나누어 각 군마다 ICR 마우

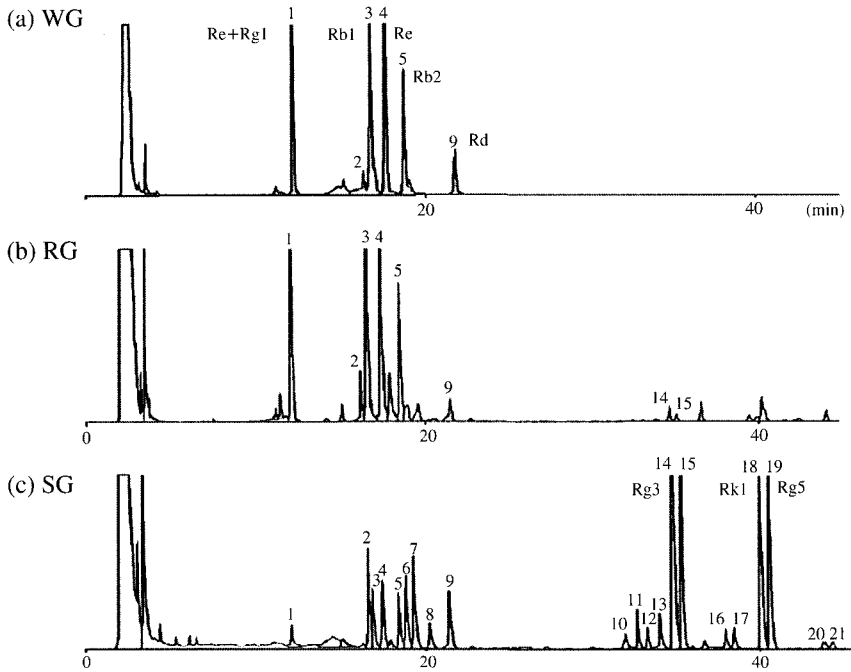


Fig. 1. HPLC chromatogram of ginseng. (a) WG-White ginseng (b) RG-Red ginseng (c) SG-Sun ginseng

스 6마리씩 사용하였다.

1) 실험 동물군 분류

방사선 비조사 정상군 (Unirradiation+Control-Saline, NC)

방사선 조사 대조군 (Irradiation+Control-Saline, RC)

방사선 조사 홍삼투여군 (Irradiation+Red ginseng, RR)

방사선 조사 선삼투여군 (Irradiation+Sun ginseng, RS)

2. 시료의 제조

홍삼은 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 100°C에서 수증기 처리 후 건조한 것으로 수분함량이 약 15% 존재하며, 수삼을 건조한 백삼보다 홍삼 특이 성분이 들어 있어 약효가 좋은 것으로 알려져 있다. 선삼은 인삼을 120~180°C에서 30분~수 시간 압력가열 처리하여 건조 시킨 것으로 특수처리 과정에서 홍삼 특이 성분이 홍삼 보다 다량(약 6 배) 생성되며, 약효가 증강된 가공인삼 제품으로 가

공 특허를 받았으며 발명지는 서울대학교 약학대학 박만기, 박정일 교수 외 3인이다. 홍삼과 백삼의 주사포닌 성분은 ginsenoside, RB1, RB2, Rc, Rd, Rg1의 6종이며 선삼은 (20S)rg3, (20R)Rg3, Rg5, Rk1 등 4가지 사포닌이 주성분이다(Fig. 1). 특히 Rk1, Rk2, Rs4, Rs5, Rs6, Rs7 등은 선삼으로부터 최초 분리된 성분이며(박정일, 2004), 선삼은 원료 인삼에 비하여 높은 항암효과와 훨씬 강력한 항산화 작용을 나타내는 것으로 확인되었다(Kim *et al.*, 2000). 본 실험에 사용된 홍삼 및 선삼 시료는 특허권자의 사용 허가를 받았으며 특허권자로부터 동결 건조상태의 분말로 제공받아 사용하였다.

3. 방사선 조사 및 시료 투여

방사선조사는 동국대학교 의과대학부속 경주병원 방사선 종양학과 선형가속기(21EX, Varian, Lasvegas, USA)로 6MeV의 X-선을 2Gy/min의 조사율, 300 mm × 300 mm의 조사야로 6.5 Gy를 마우스에 전신 조사하였다. 방사선 조사 전 36시간, 12시간, 1시간에 마우스 당 2 mg 즉, 60 mg/kg B.W의 용량을 0.5 mL의 멸균수에 녹여 복강 내 주사하였

고, 방사선 조사는 특수 제작한 290 mm × 290 mm × 30 mm의 아크릴 상자에 내부 칸막이를 하고 덮개를 덮어 마우스를 고정한 후 1회 실시하였다. 방사선 조사선량 및 시료의 투여량은 본 실험 전 15마리의 마우스로 예비실험을 거쳐 설정하였다.

4. 실험동물 처치

실험동물은 부검 5시간 전부터 절식시킨 후 방사선 조사 후 9일에 에테르로 흡입 마취시키고 개복하여 후대정맥에서 혈액을 채취하였고 간, 비장, 흉선을 채취하였다. 간조직은 생리식염수로 간문맥을 통하여 관류시켜 조직 내 혈액을 제거시킨 후 채취하였다.

5. 내재성 비장 집락 형성 시험

채취한 비장을 Bouin 용액에 고정하고, 표면에 형성된 조혈세포 집락을 실체현미경으로 관찰하였다.

6. 효소 및 지질과산화 시험

간장의 조직 중 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 균질액을 600 × g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상층액을 10,000 × g에서 20분간 원심분리한 후 효소활성 및 지질과산화 시험에 사용하였다.

1) Xanthine oxidase (XO)

Stripe, Della(1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

2) Superoxide dismutase (SOD)

Hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등(1987)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동

안 반응한 unit로 표시하였다.

3) Catalase (CAT)

Hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 그 흡광도를 읽고 분자흡광계수($E=0.04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 피부조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide 양을 nmole로 표시하였다.

4) Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 함량 측정

지질과산화 시험은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg 당 nmole로 표시하였다.

5) 단백질 함량 측정

간 조직 중 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 사용하여 측정하였다.

7. 혈구 및 혈청검사

채취한 혈액을 혈액응고 방지제인 $\text{K}_2 \text{EDTA}$ 가 포함된 채혈 tube에 담아 coulter mixer기 위에서 15분 이상 혼합한 뒤 혈액학적 분석기(Hemavet HV-950FS, USA)를 이용하여 혈구를 분석하였다. 혈청은 채취한 혈액을 4°C 냉암소에서 2시간 방치 후 3,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여 얻었으며 분리한 혈청은 자동생화학분석기(KONELAB 20XT, Finland)를 이용하여 분석하였다.

8. 장기의 무게 측정

비장, 흉선, 간을 적출하여 생리식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 후 전자저울(CP224S, Sartorius, Germany)을 이용하여 무게를 측정하였다.

9. 통계의 처리

SPSS 12.0 for windows (SPSS Inc., USA)를 이용

Table 1. Effects of sun ginseng and red ginseng on endogenous spleen colonies in irradiated mice at nine days after irradiation

Group ¹⁾	NC group	X-ray irradiation group (N=6)		
		RC group	RR group	RS group
Number of colonies	0	3.57 ± 1.62	9.80 ± 3.35**	11.40 ± 4.36***

Each value represents the mean ± SD of 6 mice

¹⁾NC: Unirradiation+Control-Saline, RC: Irradiation (6.5 Gy)+Control-Saline

RR: Irradiation (6.5 Gy)+Red ginseng, RS: Irradiation (6.5 Gy)+Sun ginseng

The value with an asterisk is significantly different from RC group by t-test (**: p < 0.01, ***: p < 0.001)

하여 정상군, 대조군, 홍삼투여군, 선삼투여군 간의 차이를 Student's *t*-test로 분석하였다. 통계적 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. 내재성 비장 집락 형성

홍삼투여 방사선 조사군(RR)은 방사선 조사 대조군(RC)에 비해 내재성 비장집락 형성이 2.74배 증가하였으며 (p < 0.01), 선삼투여 방사선 조사군(RS)은 방사선 조사 대조군에 비해 내재성 비장집락 형성이 3.19배 증가하였다(p < 0.001).

선삼투여군과 홍삼투여군 모두 방사선 조사 대조군에 비해 내재성 비장집락 형성이 통계적으로 유의하게 증가하였고 선삼투여군은 홍삼투여군에 비해 내재성 비장집락 형성이 16.3% 많았다.

2. 효소 및 지질과산화 시험

간조직에 있어서 XO, SOD, CAT 활성치 및 TBARS 함량은 Table 2와 같다. 방사선 조사 대조군(RC)이 정상대조군(NC)에 비하여 XO와 TBARS가 각각 38.2% (p < 0.05) 및 77.5% (p < 0.01) 유의하게 증가하였고 SOD와 CAT(p < 0.05)는 각각 54.9% 및 60.0% 감소하였다. 홍삼투여 방사선 조사군(RR)은 방사선 조사 대조군에 비하여 XO와 TBARS가 각각 29.5% (p < 0.05) 및 39.9% (p < 0.01) 유의하게 감소하였고 SOD와 CAT는 각각 168.2% 및 173.9% 유의하게 증가하였다(p < 0.05). 선삼투여 방사선 조사군(RS)은 방사선 조사 대조군에 비하여 XO와 TBARS가 각각 15.1% 및 22.8% (p < 0.05) 감소하였고 SOD와 CAT는 각각 240.6%

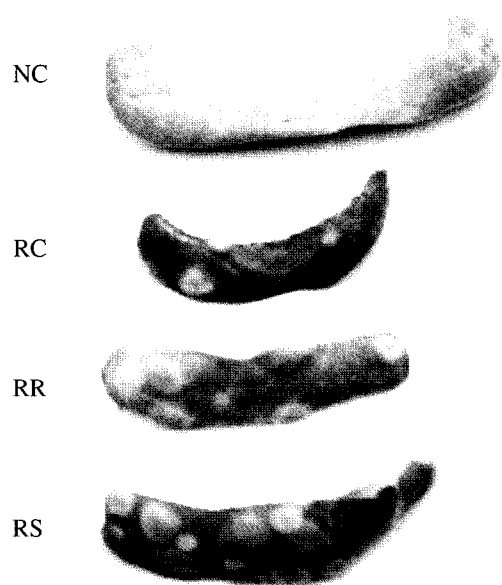


Fig. 2. The macroscopic finding of endogenous spleen colony formation. Mice were exposed to whole body irradiation with a single dose of 6.5 Gy. Spleen was removed and fixed in Bouin's solution at nine days after irradiation. NC-Unirradiation+Control-Saline; RC-Irradiation (6.5 Gy)+Control-Saline; RR-Irradiation (6.5 Gy)+Red ginseng; RS-Irradiation (6.5 Gy)+Sun ginseng

및 133.2% 유의하게 증가하였다(p < 0.05). 선삼투여군과 홍삼투여군 간에는 유의한 차이가 없었으며 비슷한 정도의 항산화 효능을 나타냈다.

3. 혈구검사

방사선 조사 대조군(RC)에서는 정상대조군(NC)

Table 2. Effects of sun ginseng and red ginseng on hepatic XO, SOD, and CAT activities and TBARS amount in irradiated mice at nine days after irradiation

Group ¹⁾	NC group	X-ray irradiation group (N=6)		
		RC group	RR group	RS group
XO ²⁾	1.862±0.427*	2.574±0.207	1.814±0.122*	2.186±0.206
SOD ³⁾	36.544±9.051	16.501±3.522	44.252±3.395*	56.206±10.166*
CAT ⁴⁾	10.560±1.859*	4.224±1.833	11.569±3.091*	9.851±3.551*
TBARS ⁵⁾	1.915±0.453**	3.401±0.379	2.145±0.377**	2.626±0.333*

The values are mean ± SD of 6 mice

¹⁾NC: Unirradiation+Control-Saline, RC: Irradiation (6.5Gy)+Control-Saline

RR: Irradiation (6.5Gy)+Red ginseng, RS: Irradiation (6.5Gy)+Sun ginseng

²⁾Unit: nmole uric acid formed/mg protein/min.

³⁾Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min.

⁴⁾Unit: nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min.

⁵⁾Unit: nmole/mg protein.

XO: Xanthine oxidase

SOD: Superoxide dismutase

CAT: Catalase

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substance

The value with an asterisk is significantly different from RC group by t-test (*: p<0.05, **: p<0.01)

Table 3. Effects of sun ginseng and red ginseng on hematological values in irradiated mice at nine days after irradiation

Group ¹⁾	NC group	X-ray irradiation group (N=6)		
		RC group	RR group	RS group
WBC ²⁾ (k/μL)	5.817±1.932***	0.688±0.148	1.812±0.835*	1.900±1.136*
Neutrophil (k/μL)	1.597±0.588***	0.242±0.084	0.630±0.265*	0.590±0.326*
Lymphocyte (k/μL)	2.689±1.446***	0.152±0.037	0.858±0.406*	0.962±0.571*
Monocyte (k/μL)	0.616±0.223***	0.068±0.178	0.138±0.074	0.140±0.066*
Eosinophils (k/μL)	0.123±0.089*	0.030±0.018	0.142±0.080*	0.162±0.131
Basophils (k/μL)	0.047±0.016	0.016±0.011	0.048±0.036	0.044±0.036
RBC ³⁾ (M/μL)	8.538±0.658***	4.826±0.852	5.890±1.497	6.362±0.593
Hemoglobin (g/dL)	13.475±0.887***	9.260±2.453	9.500±0.994	9.940±3.334
Hematocrit (%)	50.013±17.802	30.740±13.943	37.100±9.541	41.220±4.281
Platelet (k/μL)	677.125±250.062***	76.600±33.871	104.600±22.719	191.200±202.862

Each value represents the mean ± SD of 6 mice

¹⁾NC: Unirradiation+Control-Saline, RC: Irradiation (6.5Gy)+Control-Saline

RR: Irradiation (6.5Gy)+Red ginseng, RS: Irradiation (6.5Gy)+Sun ginseng

²⁾WBC: White blood cell count, ³⁾RBC: Red blood cell count

The value with an asterisk is significantly different from RC group by t-test (*: p<0.05, ***: p<0.001).

에 비해 측정된 모든 수치가 감소하였다. 백혈구 (88.2%), 적혈구 (43.5%), 혈소판 (88.7%) 모두 유의하게 감소하였다 (p<0.001). 특히 백혈구 중 염증 관련 세포인 호중구, 림프구, 단핵구가 급격한 감소를 보였다. 홍삼투여군 (RR)은 방사선 조사 대조군에 비해 측정된 모든 수치가 증가하였다. 특히 백

혈구 (163.4%)의 유의한 증가가 있었고 (p<0.05), 백혈구 중 호중구, 림프구, 호산구가 유의하게 증가하였다. 선삼투여군 (RS)은 방사선 조사 대조군에 비해 측정된 모든 수치가 증가하였다. 특히 백혈구 (176.2%)의 유의한 증가가 있었고 (p<0.05), 백혈구 중 호중구, 림프구, 단핵구가 유의하게 증가하였

Table 4. Effects of sun ginseng and red ginseng on liver function enzyme levels in irradiated mice at nine days after irradiation

Group ¹⁾	NC group	X-ray irradiation group (N=6)		
		RC group	RR group	RS group
ALT ²⁾	20.702±2.732*	56.044±21.700	29.393±4.046*	23.568±6.806*
AST ³⁾	43.272±6.589*	149.173±62.730	86.507±54.463	47.025±18.179*

Each value represents the mean±SD of 6 mice, Unit: IU/L

¹⁾NC: Unirradiation+Control-Saline, RC: Irradiation (6.5Gy)+Control-Saline

RR: Irradiation (6.5Gy)+Red ginseng, RS: Irradiation (6.5Gy)+Sun ginseng

²⁾ALT: Alanine transaminase), ³⁾AST: Aspartate transaminase

The value with an asterisk is significantly different from RC group by t-test (*: p<0.05).

Table 5. Effects of sun ginseng and red ginseng on organ weights in irradiated mice at nine days after irradiation

Group ¹⁾	NC group	X-ray irradiation group (N=6)		
		RC group	RR group	RS group
Spleen	0.1249±0.0051***	0.0214±0.0014	0.0251±0.0033	0.0274±0.0027*
Thymus	0.0690±0.0124***	0.0056±0.0016	0.0071±0.0014	0.0074±0.0007
Liver	2.0772±0.2136***	1.4540±0.1125	1.4334±0.0541	1.4417±0.1419

Each value represents the mean±SD of 6 mice, Unit: g

¹⁾NC: Unirradiation+Control-Saline, RC: Irradiation (6.5Gy)+Control-Saline

RR: Irradiation (6.5Gy)+Red ginseng, RS: Irradiation (6.5Gy)+Sun ginseng

The value with an asterisk is significantly different from RC group by t-test (*: p<0.05, ***: p<0.001).

다. 선삼투여군과 홍삼투여군 간에는 유의한 차이가 없었으며 비슷한 수치를 나타냈다.

4. 혈액 생화학검사

방사선 조사 대조군(RC)에서는 정상대조군(NC)에 비해 ALT(170.7%)와 AST(244.7%)가 유의하게 증가하였다(p<0.05). 홍삼투여군(RR)은 방사선 조사 대조군에 비해 ALT(47.6%)와 AST(42.0%)가 감소하였으며 이 중 ALT는 유의성이 있었다(p<0.05). 선삼투여군(RS)은 방사선 조사 대조군에 비해 ALT(58.0%)와 AST(68.5%)가 정상대조군 수준으로 유의하게 감소하였다(p<0.05). 선삼투여군이 홍삼투여군에 비해 간손상이 적게 나타남을 확인할 수 있었다.

5. 장기의 무게

방사선 조사 대조군(RC)은 정상대조군(NC)에 비해 비장(82.9%), 흉선(91.9%), 간장(30.0%) 모두 유의하게 감소하였다(p<0.001). 홍삼투여군(RR)

은 방사선 조사 대조군에 비해 비장(17.3%)과 흉선(26.8%)이 증가하였으나 유의성은 없었다. 선삼투여군(RS)은 방사선 조사 대조군에 비해 비장(28.0%)이 유의하게 증가하였고(p<0.05), 흉선은 32.1% 증가하였으나 유의성은 없었다. 선삼투여군이 홍삼투여군에 비해 이 들 장기에 대해 다소 높은 방호효과를 나타냈음을 확인할 수 있었다.

고찰 및 결론

방사선에 의한 부작용을 경감하기 위해 과거 수십 년 간 화학적 방사선증감제 (radio-sensitizer) 및 방사선방호제 (radio-protector)가 주요 관심대상으로 연구된 결과 몇몇 약제들이 임상시험에서 효능은 있는 것으로 밝혀졌지만 약제 자체의 심각한 독성으로 인한 안전성 문제 때문에 사용에 한계를 보였다. 이러한 부작용에 대한 대안으로 생약제 및 대체의학으로 관심이 고조되면서 대표적인 전통 생약인 인삼을 비롯하여 천궁, 당귀, 영지 등의 단

일 생약제와 인삼영양탕, 귀비탕, 십전대보탕, 사군자탕 등의 복합처방제의 효과가 단편적으로 보고되고 있다. 이 중에서도 인삼은 많은 연구자에 의하여 과학적으로 성분 및 효능이 밝혀지고 있으며, 최근에는 인삼의 주사포닌 성분에 대한 연구가 진행되어 Lee 등(2006)은 인삼과 ginsenosides 활성의 방사선 방호효과 비교에서 소장육의 재생효과, 면역조혈계 회복효과, 세포자멸사 감소효과를 통해 사포닌 성분별 방사선 방호효과 차이를 보고하였다.

면역조혈계 세포는 방사선에 매우 민감하여 방사선 조사(3~8Gy) 후 급격히 소실되게 되고, 그 결과 혈액 내에 부족한 면역세포 수를 보충하기 위하여 비정상적으로 비장(spleen)에서 조혈작용이 일어나므로 일정 시일(9~10일) 경과 후 비장 표면에 형성된 조혈세포 집락을 관찰할 수 있다. 이때, 비장 표면의 조혈세포 집락 수는 골수 내에 살아남은 조혈모세포 수와 비례하며 이를 이용하여 방사선 조사 전에 시료를 투여함으로써 골수 조혈모세포 손상의 경감 정도를 관찰할 수 있다(Miyano-mae and Frindel, 1988). 본 실험에서는 방사선 조사(6.5 Gy) 마우스 모델에서 조혈모세포 방어 효과를 관찰하기 위하여 정상대조군, 생리적 식염수를 투여한 방사선 조사 대조군, 생리적 식염수에 홍삼시료를 녹여 투여한 홍삼투여 방사선 조사군, 생리적 식염수에 선삼시료를 녹여 투여한 선삼투여 방사선 조사군으로 나누어 실험을 수행하였다. 선삼투여군과 홍삼투여군 모두에서 방사선 조사 대조군에 비해 비장 내 조혈세포 집락이 유의하게 증가하였고, 선삼투여군은 홍삼투여군에 비해 비장내 조혈세포 집락이 다소 많게 나타났다. 이러한 결과는 홍삼 및 선삼의 투여가 방사선에 의한 조혈조직의 손상을 경감시키는 효과가 있음을 의미하며 선삼은 홍삼과 비교하여 비슷하거나 약간 높은 조혈모세포 방어효과를 나타내는 것으로 판단된다.

전신에 방사선 조사 후 동일한 개체 내에서도 조직에 따라 방사선 장애의 차이를 보이는 것은 조직을 구성하고 있는 세포의 감수성이 다른데 따른 생물학적인 효과의 차이 때문이다. 면역조혈계의 림프절의 기질(stroma of lymph node)은 방사선에 대하여 저항성이 있으나 림프절 내의 림프구(lymphocyte)는 방사선에 민감하다. 흉선 및 비장조직은 조직학적으로는 방사선에 대하여 상당한 저항성이

있으나 흉선 및 비장내의 림프구는 림프절의 경우와 마찬가지로 방사선에 민감하다. 증선량 이상의 방사선 조사 후 생체 내에서는 방사선에 민감한 조혈 면역계 기관은 방사선 장애를 받게 되고, 림프구의 분열이 억제되며 많은 림프구의 과사가 일어나 흉선 및 비장은 부피 및 중량이 감소된다(Gough *et al.*, 1977). 본 실험에서도 방사선 조사 대조군은 비장, 흉선의 중량이 유의하게 감소하였다. 이러한 방사선 장애의 경감효과를 평가하기 위해 홍삼 및 선삼을 방사선 조사 전에 복강투여한 결과 방사선 조사 대조군에 비해 홍삼투여군은 비장, 흉선의 중량이 증가하였으나 유의성은 없었다. 선삼투여군의 경우는 비장의 경우 유의하게 증가하였고 흉선도 홍삼투여군에 비해 높은 증가를 보여 면역조혈기관에 대해 홍삼투여군보다 높은 방호효과를 나타냄을 확인하였다.

방사선 조사 후 생체 내에서는 방사선에 민감한 조혈세포수가 크게 감소된다. 방사선 조사 후 회복에 있어서 이들 세포수의 회복 및 성장이 중요한 요인이 되며(Schwartz *et al.*, 1988; Travis *et al.*, 1988), 면역세포의 재생성에 의한 면역세포의 회복은 방사선조사 후 회복에 중요한 역할을 한다(Patchen *et al.*, 1991). 따라서 본 실험에서는 증선량의 방사선 조사 후 9일에 말초혈액내의 혈구변화를 관찰하였다. 방사선 조사 대조군에서는 정상대조군에 비해 백혈구 수의 현저한 감소를 보였으며, 특히 호중구, 림프구, 단핵구, 호산구가 유의하게 감소하였다. 아울러 적혈구, 헤모글로빈, 혈소판 수치도 유의한 감소를 보였다. 홍삼 투여군은 방사선 조사 대조군에 비해 백혈구, 특히 호중구, 림프구, 호산구의 유의한 증가가 있었다. 선삼 투여군은 백혈구의 유의한 증가가 있었고, 백혈구 중 호중구, 림프구, 단핵구가 유의하게 증가하였다. 홍삼투여군과 선삼투여군 간에는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

방사선에 의한 간독성 평가는 마취제에 의한 간독성을 배제하는 것이 필요하다. 따라서 실험동물을 마취를 시키지 않은 상태에서 특수 제작한 아크릴 상자에 내부 칸막이를 하고 뒷개를 덮어 고정 후 증선량의 방사선을 1회 전신 조사하였다. 본 실험에서 간의 무게는 방사선 조사 대조군이 정상대조군에 비해 유의하게 감소하였고 홍삼 및 선삼의 투여군에서는 미미하지만(0.8~1.4%) 방사선 조사 대조군에 비해 무게의 감소를 보였다.

Bannasch 등(1980)은 고선량의 방사선 조사는 간 세포 조직의 국소적 변형을 일으켜 탄수화물 변화가 일어나 과량의 글리코겐과 지질의 축적으로 인해 간의 무게가 증가한다고 하였다. 안기정 등(2004)도 랫드에 15Gy 방사선을 1회 조사하였을 때 간의 무게가 8.9% 증가하였고 비타민C의 투여는 방사선에 의한 간증식과 비대를 억제시키는 효과가 있어 간 무게가 6.4% 감소하였다고 보고하였다. 이와 같은 결과의 차이는 본 실험에서 면역조혈계의 방사선 방호효과에 초점을 맞추어 조사된 선량이 중선량(6.5Gy)이기 때문인 것으로 판단되며 추 후 조사선량을 높여 추가적인 검증이 필요할 것으로 생각한다. 방사선의 급성 생리효과로 LDH(lactate dehydrogenase) 및 ALP(Alkaline phosphatase), ALT(alanine transaminase), AST(Aspartate transaminase)의 증가가 있으며 LDH 수치는 세포막 손상여부를 나타내는 지표로 ALP, ALT, AST의 증가는 간세포의 파괴 정도를 반영하는 지표로 알려져 있다(Hsu *et al.*, 1990; Ohta *et al.*, 1990; Quan and Li, 1994). 본 실험에서 방사선조사 대조군의 경우 ALT 및 AST의 유의한 증가가 있어 간 손상이 있음을 확인하였다. 선삼투여군은 방사선 조사 대조군에 비해 AST, ALT가 유의하게 감소하였으며 정상군 수준의 수치를 나타냈다. 이는 선삼이 방사선에 의한 산화성 간세포 손상에 대해 우수한 방호효과가 있는 것으로 해석된다.

생체내서 산소독성의 작용기전은 전리방사선에 의한 생물학적 장애의 발생기전과 유사하다(Gerschman *et al.*, 1954). 생체내서 XO는 자유라디칼을 생성함으로써 세포에 상해를 주고 자유라디칼은 특히 세포막의 다가불포화 지방산을 파괴하여 세포손상을 일으키며 지질과산화물을 생성한다. 자유라디칼은 SOD에 의해 hydrogen peroxide(H₂O₂)로 전환되며 hydrogen peroxide는 다시 CAT 및 GPX에 의해서 물로 전환되어 해독화 된다. 동물체에서 전리방사선은 반응성이 강한 자유라디칼의 생성원인이 되며 항산화효소는 자유라디칼을 없애주기 때문에 생체조직 내의 항산화효소의 활성은 생체의 방사선 방어체계에 중요한 영향을 미친다. 이번 실험에서 홍삼 및 선삼투여군은 방사선 조사 대조군에 비하여 SOD, CAT의 활성이 유의하게 증가하였다. 또한 방사선 조사 대조군은 유해산소를 생성하는 XO 활성이 정상 대조군보다 유의하게 높게

나타난 반면 홍삼투여군은 방사선 조사 대조군에 비하여 유의하게 낮았고 선삼투여군도 유의성은 없었으나 15.1% 낮았다. 자유라디칼이 생체내서 제거되지 않으면 산화적 스트레스가 유도되어 지질과산화가 일어나 조직손상을 초래한다. 지질과산화 정도를 나타내는 지표인 TBARS의 경우 방사선 조사 대조군은 정상대조군에 비해 유의하게 높았고 홍삼 및 선삼투여군은 방사선 조사 대조군에 비해 유의하게 낮았다. 이와 같은 결과는 홍삼이 방사선에 대한 저항성을 증가 시켰다는 기존의 연구보고들과 일치하는 것으로 홍삼과 선삼의 항산화 성분이 방사선에 의한 장애를 경감시키고 생체내 방어력을 증강시킨 것으로 판단된다(Petkau, 1978; 김동운 등, 1998).

이상의 실험 결과를 종합해 볼 때, 선삼은 중선량의 방사선(6.5 Gy)을 조사받은 마우스에서 조혈면역계 방호효과와 함께 산화성 간세포 손상보호에 우수한 효과가 있음을 이번 실험을 통해 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 계명대학교 대학원학생 학술연구 장학금 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- 김동운, 장재철. 홍삼 분획물이 감마선을 조사한 생쥐 간에서 항산화물질과 지질과산화에 미치는 방사선 보호 효과, 고려인삼학회지 1998; 22(1): 1-10.
- 김성호, 이해준, 김세라, 이종환, 조성기, 나승렬, 손창호, 신동호. 방사선 피폭 마우스에서 홍삼, 백삼 및 diethyl-dithiocarbamate의 효과, 고려인삼학회지 2001; 25(2): 68-73.
- 박정일. 약효가 강화된 새로운 가공인삼-선삼, 식품산업과 영양 2004; 9(1): 23-27.
- 박혜란, 김성호, 이성태, 변명우, 조성기. 면역조혈계 및 재조직의 방사선 손상에 대한생약 복합물(HIM-1)의 방호 효과, 한국식품영양과학회지 2005; 34(5): 605-612.
- 안기정, 박성광, 조홍래, 강기문, 정덕화, 강진순, 채규영. 비타민 C의 방사선에 의한 독성 완화 효과, 대한방사선

- 종양학회지 2004; 22(4): 280-287.
- Aebi H. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. 2. Academic Press. New York, 1974.
- Bannasch P, Mayer D and Hacker HJ. Hepatocellular glycosynthesis and hepatocarcinogenesis, *Biochim Biophys Acta* 1980; 605(2): 217-245.
- Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical, *Arch Biochem Biophys* 1986; 247(1): 1-11.
- Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P and Fenn WO. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common, *Science* 1954; 119(3097): 623-626.
- Gough GR, Boggs SS and Schwartz GN. Changes in thymus size observed radiographically during the course of spontaneous lymphoma in the AKR/J mouse, *Lab Anim Sci* 1977; 27(5 Pt 1): 627-634.
- Hall EJ. *Radiobiology for the Radiologist*, Lippincott Company. Philadelphia, 4th ed, 1994; 30.
- Halliwell B and Gutteridge JM. *Free radical in biology and medicine*, Oxford University Press. New York, 3rd ed, 1999; 604-607.
- Hsu HY, Lian SL and Lin CC. Radioprotective effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex. Fr.) Karst after X-ray irradiation in mice, *Am J Chin Med* 1990; 18(1-2): 61-69.
- IAEA. *Manual on Early Medical Treatment of possible radiation Injury*, Safety series IAEA Vienna 1978; Report No. 47, 1978; 74.
- Kim WY, Kim JM, Han SM, Lee SK, Kim ND, Park MK and Park JH. Steaming of jinseng at high temperature enhances biological activity, *J Nat Prod* 2000; 63(1): 702-704.
- Lee HJ, Kim SR, Kim JC, Kang CM, Lee YS, Jo SK, Kim TH, Jang JS, Nah SY and Kim SH. In Vivo radioprotective effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer and identification of active ginsenosides, *Phytother Res* 2006; 20(5): 392-395.
- Li NQ. Clinical and experimental study on shen-qi injection with chemotherapy in the treatment of malignant tumor of digestive tract, *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 1992; 12(10): 588-592.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Far AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent, *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- MacVittie TJ, Monroy RL, Patchen ML and Souza LM. Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole-body irradiation, *Int J Radiat Biol* 1990; 57(4): 723-736.
- Martin JP, Dailey M and Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation, *Arch Biochem Biophys* 1987; 255: 329-336.
- Miyanomae T and Frindel E. Radioprotection of hemopoiesis conferred by *Acanthopanax senticosus* Harms (Shigoka) administered before or after irradiation, *Exp Hematol* 1988; 16(9): 801-806.
- NCP. *Management of Persons Accidentally Contaminated with Radionuclides*, IAEA Vienna 1980; Report No. 65, 1980; 77.
- Neta R, Douches S and Oppenheim JJ. Interleukin 1 is a radioprotector, *J Immunol* 1986; 136(7): 2483-2485.
- Neta R. Role of cytokines in radioprotection, *Pharmacol Ther* 1988; 39(1-3): 261-266.
- Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
- Ohta S, Sakurai N, Sato Y, Inoue T and Shinoda M. Studies on chemical protectors against radiation XXX Radioprotective substances of *cnidii rhizoma*, *Yakugaku Zasshi* 1990; 110(10): 746-754.
- Patchen ML, MacVittie TJ, Williams JL, Schwartz GN and Souza LM. Administration of interleukin-6 stimulates multilineage hematopoiesis and accelerates recovery from radiation-induced hematopoietic depression, *Blood* 1991; 77(3): 472-480.
- Petkau A. Radiation protection by superoxide dismutase, *Photochem Photobiol* 1978; 28(4-5): 765-774.
- Quan HX and Li HS. Effects of radix *Astragali* on hemopoiesis in irradiated mice, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 1994; 19(12): 741-743.
- Schwartz GN, Neta R, Vigneulle RM, Patchen ML and MacVittie TJ. Recovery of hematopoietic colony-forming cells in irradiated mice pretreated with interleukin 1 (IL-1), *Exp Hematol* 1988; 16(9): 752-757.
- Stirpe F and Della CE. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 1969; 244: 3855-3863.
- Travis EL, Fang MZ and Basic I. Protection of mouse bone marrow by WR-2721 after fractionated irradiation, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988; 15(2): 377-382.
- Wang Y and Zhu B. The effect of *angelica polysaccharide* on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell, *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1996; 76(5): 363-366.
- Zneg XL, Li XA and Zhang BY. Immunological and hematopoietic effect of *Codonopsis pilosula* on cancer patients during radiotherapy, *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 1992; 12(10): 607-608.