

# 고지혈증 동물모델에서 홍삼과 천마 혼합투여에 의한 혈관 염증 개선연구

이윤정<sup>1,2,3</sup>, 김혜음<sup>1,2,3</sup>, 윤정주<sup>1,2,3</sup>, 이소민<sup>1,2,3</sup>, 고정현<sup>2,3</sup>, 이호섭<sup>1,2,3</sup>, 최경민<sup>4</sup>, 강대길<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 생리학교실, <sup>2</sup>원광대학교 한의학전문대학원

<sup>3</sup>원광대학교 한방체액조절연구센터, <sup>4</sup>진안홍삼연구소

## ABSTRACT

### Combination with Korean Red Ginseng and *Gastrodia rhizoma* Enhances Vascular Protective Effects in Hyperlipidemic Rats

Yun-Jung Lee<sup>1,2,3</sup>, Hye-Yoom Kim<sup>1,2,3</sup>, Jung-Joo Yoon<sup>1,2,3</sup>, So-Min Lee<sup>1,2,3</sup>, Joung-Hyun Kho<sup>2,3</sup>

Ho-Sub Lee<sup>1,2,3</sup>, Kyung-Min Choi<sup>4</sup>, Dae-Gill Kang<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>College of Oriental Medicine, <sup>2</sup>Professional Graduate School of Oriental Medicine,

<sup>3</sup>Hanbang Body-fluid Research Center, Won-Kwang University, <sup>4</sup>Institute of Jinan Red Ginseng

Objectives : This experimental study was designed to investigate the inhibitory effects of combination with *Korean red ginseng* and *Gastrodia rhizoma* on vascular dysfunction in high-fat/cholesterol diet-induced hyperlipidemia.

Methods : Sprague-Dawley rats were fed with 7.5% cocoa butter and 1.25% cholesterol for 10 weeks,

- 
- 교신저자 : 최경민
  - 전라북도 진안군 진안읍 반월리 520-9 진안홍삼연구소
  - Tel : 063-432-0913 Fax : 063-432-0910 E-mail : kyungmc@korea.ac.kr
  - 교신저자 : 강대길
  - 전북 익산시 신용동 344-2번지 원광대학교 한의과대학 생리학교실
  - Tel : 063-850-6841 Fax : 063-850-7260 E-mail : dgkang@wku.ac.kr
  - 접수 : 2012/ 04/ 12 수정 : 2012/ 06/ 15 채택 : 2012/ 06/ 18

with *Panax ginseng* (PG), and mixtures of *Panax ginseng* and *Gastrodia rhizoma* (PGM), respectively.

Results : Chronic treatment with PG and PGM significantly decreased body weight. The aortic expression of cell adhesion molecules such as intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), and E-selectin were markedly increased in hyperlipidemia rats. Interestingly, PGM significantly decreased cell adhesion molecules expression. However, there was no significant decrease in PG group. In addition, PG and PGM group inhibited high-fat/cholesterol diet-induced cytokine such as monocyte chemoattractant protein (MCP-1) mRNA expression. Furthermore, PG and PGM group significantly decreased c-reactive protein protein (CRP) level. Especially, PGM significantly accentuated the decrease of MCP-1 mRNA expression and CRP level.

Conclusions : the present study provides an evidence that combination with *Panax ginseng* and *Gastrodia rhizoma* enhances anti-vascular protective effects through suppression of vascular inflammation in hyperlipidemic rats.

*Key word* : *Panax ginseng* C.A. Meyer, *Gastrodia rhizoma*, vascular inflammation, high fat/cholesterol diet, CRP

## 1. 서 론

동맥경화증의 주요 위험인자인 고지혈증은 혈중 콜레스테롤과 중성지방 농도가 비정상적으로 높은 상태로서, 고혈압 및 흡연과 더불어 관상동맥질환의 3대 위험인자로 알려져 있다<sup>1)</sup>. 고지혈증은 돌연사가 젊은층에 빈발하면서 관심이 증폭되고 있는데 특히 고혈압, 고지혈증과 같은 심혈관 질환이 주된 원인으로 지목된다. 혈장 내 high-density lipoprotein 콜레스테롤(HDL)의 감소나 LDL의 증가는 심혈관 질환의 유발에서 아주 중요한 인자들이다. 죽상동맥경화증(atherosclerosis)은 이러한 만성 질환의 중요 합병증 중 하나로 최근 세계 각국에서 중요한 보건 문제로 대두되고 있는 각종 뇌혈관 및 심혈관 질환의 직접적인 원인으로 잘 알려져 있다<sup>2)</sup>. 고지방 식이는 심혈관질

환의 유발에 있어 중요한 위험인자로 알려져 있으며, 비만, 고지혈증, 죽상경화 등을 유발시킨다<sup>3)</sup>. 그러므로 고지방 식이를 투여한 마우스와 흰쥐는 내피세포 손상, 죽상경화증과 같은 혈관 phenotype의 연구를 위해 많이 이용되고 있다<sup>4,5)</sup>.

혈관 내피 세포 손상은 세포 유착 분자 및 사이토카인의 과발현을 통하여 나타나며, 특히 죽상경화에 의한 손상에 있어 내피세포는 intracellular adhesion molecule-1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), 그리고 E-selectin과 같은 세포유착 분자(cell adhesion molecules) 발현 증가를 유도한다<sup>6)</sup>. 이러한 상황에서 수많은 백혈구가 혈관 내벽에 붙게 되며, 혈관 내벽을 통과하여 내피 세포 기능 저하 및 조직 손상을 유발하게 된다.

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 달면서

쓴맛이 있고, 따뜻한 기운을 가지고 있으며, 원기를 보하고 비장을 보호하며, 폐를 튼튼하게 하고, 진액을 생겨나게 하여 구갈을 멈추게 하고 심장을 편안하게 해주는 효능을 가지고 있다<sup>7,8)</sup>. 인삼은 수천년 동안 동양에서 민간요법에 의한 경험적 효능에 의해 신비의 명약으로 애용되고 있으며, 최근 인삼의 주요 성분에 대한 과학적 연구에 따라 면역효과, 중추신경계, 각종 스트레스, 항산화, 심혈관 장애 개선작용 등에 관한 약리작용이 밝혀지고 있다. 인삼의 주요 생리활성 물질은 진세노사이드(ginsenoside)라고도 불리는 사포닌과 정유성분, 폴리아세틸렌(polyacetylene), 페놀성분, 배당체 및 산성펩티드 등이 있으며, 그 밖에도 비타민, 당류, 무기질과 같은 다양한 성분들이 함유되어 있다<sup>9)</sup>. 인삼을 증기로 찌서 건조시킨 홍삼(*red ginseng*)은 전반적인 강장제(tonic)로서 이용되는데, 노화억제, 면역증강, 항스트레스 작용, 항암 작용 등의 약리효과가 알려져 있다<sup>10,11)</sup>. 천마(*Gastrodia rhizoma*)는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 천마의 덩이줄기를 건조한 것으로, 예로부터 한국과 중국 등의 동양권에서 항간질제, 진통제와 현기증에 대한 안정제, 고혈압, 일반적인 마비와 파상풍 등에 사용되어져 왔다<sup>12)</sup>. 최근 천마에 대한 항염증 및 혈관 보호효과가 밝혀지면서 많은 관심을 받고 있다<sup>13,14)</sup>.

오늘날, 고지혈증 치료제의 선택에 있어서 부작용이 중요하게 고려되고 있으며, 합성의약품보다는 이를 대체할 천연물과 한약재를 이용한 한방 치료 기술 개발에 대한 관심이 증가되고 있다. 이에 본 연구에서는 전통생약의 효능을 과학적으로 검증하고 나아가 천연물로부터 고지혈증 치료제의 개발 가능성을 탐색하기 위해 홍삼과 천마 혼합추출물에 대하여 혈관 염증 억제효과를 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료의 제조

홍삼과 천마는 모두 진안산으로 진안홍삼연구소에서 구입하였으며 각각 1 kg 씩 건조시킨 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하고, 삼각 플라스크에 홍삼과 천마를 각각 100 g 씩 증류수 3 L에 넣고 냉각기를 설치한 후 120분 간 가열하였다. 추출된 전탕액을 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리 후 여과지(Whatmann No. 3)를 이용하여 여과하였다. 여과된 홍삼과 천마(1:1) 전탕액을 냉동건조기를 이용하여 동결 건조시킨 후 사용 전까지 -20℃에 보관하였다. 수율은 약 22.2%였다(Voucher specimen: HBN172-01).

### 2. 실험동물 및 식이

실험은 동물실험 윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였으며, 동물관리 규정을 준수하였다. 8 주령 수컷 SD계통의 흰쥐를 샘타코(오산, 한국)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 흰쥐는 온도 22±2℃, 습도 50 - 60%의 항온항습 장치에서 12시간씩 암기와 명기를 조절하면서 2 주간 적응기 후 다음과 같이 8 마리씩 5개 그룹으로 무작위로 구분하였다. 1) Control(regular diet), 2) HFCD(high fat/cholesterol diet), 3) fluvastatin(HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), 4) 홍삼 추출물(PG, HFCD + 200 mg/kg/day of PG), 5) 홍삼+천마(1:1)(PGM, HFCD + 200 mg/kg/day of PGM). Control group은 10주 동안 regular diet를 시켰으며, HFCD group은 7.5% cocoa butter와 1.25% cholesterol(Research Diet, D12109)을 포함한 high fat/cholesterol diet를 시켰다. 그리고 fluvastatin, PG, PGM group은 4주 동안 HFCD를 먹이고, 이후 6주 동안은 HFCD와 함께 fluvastatin는 3 mg/kg/day, PG, PGM은 200 mg/kg/day를 각각 투여하였다.

### 3. 혈압의 측정

수축기 평균혈압은 automatic sphygmotonomograph (Muromachi Kikai, Tokyo, Japan)를 이용하여 흰

쥐의 꼬리 동맥에서 측정하였다. 각 개체마다 최소 8번 혈압을 측정하고 그 중 5 mmHg 내에 있는 5번의 측정값을 평균값으로 이용하였다.

#### 4. C-reactive protein 측정

10주째 실험이 종료되는 날 동물은 단두로 희생되었고 C-reactive protein(CRP)는 Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit(Biovendor CO., CZECH REPUBLIC)를 구입하여 ELISA reader (BIO-TEK Instruments, Inc., Winooski, Vermont, U.S.A.)에서 450 nm에서 측정하였다.

#### 5. 조직절편 제작과 hematoxylin-eosin 염색

적출된 흉부대동맥 조직을 10% 포르말린(pH 7.4)에 3일 고정시킨 후, 수세로써 조직 내에 남아 있는 포르말린을 제거하였다. 50% 알코올에서부터 100% 알코올까지 농도 상승 순으로 탈수하고 xylene으로 치환하였다. 파라핀 침투과정을 거친 후 포매하여 블록을 제작하였다. 이렇게 준비된 파라핀 블록을 회전형 박절기(microtome; Thermo Electron Corporation, Pittsburg, PA)를 사용하여 6-7  $\mu\text{m}$ 으로 자른 뒤 슬라이드 위에 부착 시켜 실온에서 3일 동안 건조 시킨다. 절편된 조직이 붙어 있는 슬라이드를 xylene 용액에 넣고 파라핀을 제거한다. 100%, 80%, 70% 알코올 순으로 탈수, 함유 과정을 거쳤으며 수돗물에 세척하였다. 핵 염색을 위해 Harris hematoxylin solution(Sigma, USA)에 8분 동안 슬라이드를 침적시킨 후 수돗물에 세척하였다. 감별탈색을 위해 1% HCl-Alcohol에 5초씩 2번 침적시켜 수돗물로 세척하였다. 0.5% Ammonium Water로 중화 현색 한 뒤 수돗물에 세척하고, 세포질 염색을 1% eosin Y solution (Muto, Japan)에 2분 동안 침적 시킨 후 60%, 80%, 90%, 100% 알코올 순으로 탈수과정을 진행하였다. xylene 용액에서 투명 과정을 거쳐 봉입제로 봉합 한 후 광학현미경으로 400배 시야에서 관찰한 후 사진을 촬영하였다(BX41, Olympus, Japan).

#### 6. 단백질 분리와 western blot 분석

흉부대동맥을 수집하여 Homogenase buffer [20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1 mM EDTA, 140 mM NaCl, 1% Triton X-100, 2.5 mM sodium pyrophosphate, 1 mM  $\beta$ -glycerolphosphate, 1 mM sodium vanadate, 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  leupeptin, 1 mM PMSF]로 용해시켜 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Bradford(Bio-Bad, USA)법으로 정량하여 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)로 전기 영동하여 분리하였다. 전기 영동 후 gel 내 단백질들을 nitrocellulose membrane에 전이시켰다. Membrane을 5%(w/v) non-fat dry milk가 포함된 Tris-buffered saline [TBS: 10 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl] with 0.1% Tween-20(TBS-T)용액에 1시간 동안 담귀 비특이적인 결합을 방지하기 위하여 blocking을 시행하였다. Blocking된 membrane에 1차 항체를 1 : 1,000 비율로 희석한 후 4°C에서 반응시켰다. 그 후 TBS-T에 1 : 2,000 비율로 희석한 horseradish peroxidase(HRP)-conjugated anti-mouse 혹은 goat IgG 항체와 상온에서 반응시키고, TBS-T로 충분히 세척한 다음, enhanced chemiluminescence system을 이용하여 발현 측정 후 정량하였다.

#### 7. RNA 추출 및 RT-PCR

RNA의 분리는 RNeasy<sup>®</sup> Plus mini kit(Qiagen, Germany)를 사용하여 제조사에서 제공된 방법에 따라 실시하였다. 추출된 total mRNA의 농도 및 순도를 UV 분광광도계(Spectrophotometer)를 이용하여 측정하였고, 0.05% diethyl pyrocarbonate (DEPC) 용액이 처리된 0.8% ethidium bromide로 염색한 agarose gel에서 28S와 18S rRNAs의 강도를 관찰함으로써 RNA의 상태를 확인하였다. Reverse transcriptase polymerase chain reaction(RT-PCR)을 이용한 유전자발현은 발표된 논문에 기술된 방식을 따랐다<sup>13)</sup>. 실험에 사용된 primer는 다음과 같다. MCP-1, sense: CAGCCAGATGCAATCAATGC,

anti-sense: GTGGTCCATGGAATCCTGAA; GAPDH, sense: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC, anti-sense: TGGTGGTGAAGACGCCAGT.

## 8. 통계처리

실험 결과의 유의성은 실험 결과를 Students t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 p가 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였다.

## III. 결 과

### 1. 홍삼 천마 병용 투여에 의한 혈관 병변 억제효과 분석

10주간 고지방식이를 실시하여 체중을 비교하였다. 고지방식이 투여군은 일반식이군에 비하여 현저히 체중이 증가하였으며, fluvastatin을 제외한 홍삼 단독투여군, 그리고 홍삼 및 천마 혼합투여군 모두에서 체중의 감소효과를 나타내었다(Table 1). 또한 쥐의 꼬리 동맥에서 수축기 평균혈압을 측정하였다. 고지방식이 투여한 흰쥐의 수축기 평균혈압은 일반식이 투여한 군에 비해 변화를 보이지 않았으며, 3 mg/kg fluvastatin, 혹은 홍삼 단독투여 200 mg/kg, 홍삼 및 천마 혼합투여 200 mg/ml 을 각각 투여한 군에서 역시 유의성있는 변화를 보이지 않았다. 신기능을 측정하는 검사에서 BUN (blood urea nitrogen) 및 혈청 creatinine 측정이

가장 대표적이다. 신기능 중 사구체여과율(GFR)은 혈청 creatinine으로 측정할 수 있으며, BUN/Creatinine ratio는 만성 신부전의 관리와 치료의 지표로 유용하다. 본 실험에서의 신기능을 측정하는 검사에서 BUN 및 혈청 creatinine 수치는 고지방식이 투여한 군과 일반식이 투여한 군 모두 정상범위에 속하였다. 그러나 양성대조군인 fluvastatin 투여군과 홍삼 단독투여군에서 혈청 creatinine 수치가 유의성있게 증가하였으며 홍삼 및 천마 혼합투여군에서는 정상범위에 속하는 것으로 나타났다.

고지혈증 랫드모델에서 홍삼 및 천마 병용 투여에 의한 혈관병변 억제효과를 분석하기 위하여 흥부대동맥을 적출한 후, hematoxylin & eosin (H-E) staining을 실시하였다(Fig. 1). 정상식이의 랫드 군에서는 혈관병변이 나타나지 않았으나, 고지방식이 투여한 군의 흥부대동맥의 내피층 표면은 일반식이 투여한 군에 비해 거칠고, 중막 평활근은 비후해짐을 확인할 수 있었다. 한편 양성대조군인 fluvastatin 군과 홍삼 단독투여군, 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 모두 혈관 내막과 중막의 병변은 없는 것으로 나타났다. 내막과 중막의 비후도는 고지혈증 랫드모델에서 일반식이에 비하여 유의적으로 증가하였으며, fluvastatin, 홍삼 단독투여군, 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 모두 유의적으로 감소하였다. 여기에서 홍삼 및 천마 혼합투여군은 홍삼 단독투여군과 비교했을 때 유의적으로 비후도를 감소시켰다.

Table 1. Effect of PG or PGM on body weight, blood pressure, and renal function parameters

Parameters	Control	HFCD	HFCD		
			Fluvastatin	PG	PGM
BW(g)	478±15.61	582±18.48**	564±8.85	492±14.45 <sup>#</sup>	483±7.48 <sup>#</sup>
SBP(mmHg)	128±5.14	121±11.45	130±14.12	121±7.44	131±8.67
BUN(mg/dl)	20±1.48	20.5±0.92	20.6±1.24	19.2±2.75	18.5±1.12
Creatinine(mg/dl)	0.65±0.04	0.66±0.02	0.78±0.06**	0.92±0.05**	0.6±0.32

Control(regular diet), HFCD(high fat/choleserol diet), fluvastatin(HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), *Panax ginseng*(PG, HFCD + 200 mg/kg/day), and mixture of *Panax ginseng* and *Gastrodia rhizoma*(PGM, HFCD + 200 mg/kg/day). \*\*p < 0.01 vs. control(n=8, each group).

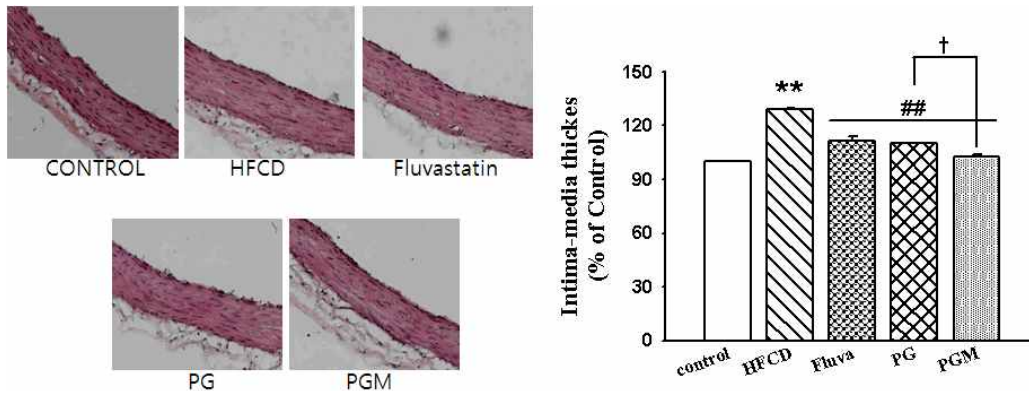


Fig. 1. Protective effect of PG or PGM on intima and media thickness of thoracic artery.

Representative microscopic photographs of aorta stained with hematoxylin and eosin. Aorta obtained from Control(regular diet), HFCD(high fat/cholesterol diet), fluvastatin(HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), *Panax ginseng*(PG, HFCD + 200 mg/kg/day), and mixture of *Panax ginseng* and *Gastrodia rhizoma* (PGM, HFCD + 200 mg/kg/day), respectively. Objective magnification  $\times 400$  (left). Right panel indicated the length of intima-media. \*\* $p < 0.01$  vs. control; ## $p < 0.01$ , vs. HFCD; † $p < 0.05$  vs. PG(n=8, each group).

## 2. 홍삼 천마 병용 투여에 의한 혈관 염증 억제효과 분석

고지방 식이로 인한 혈관 염증 발현 여부를 확인하기 위하여 흉부대동맥 내 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin 등의 adhesion molecule 단백질들의 발현을 확인하였다. Western blotting 결과, 정상식이 투여군에 비해 죽상경화 유발식이군에서 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin의 확연한 증가를 볼 수 있었으며, fluvastatin 투여군과 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 유의적으로 감소하였다. 그러나, 홍삼 단독 투여군에서는 adhesion molecule 단백질의 감소효과가 나타나지 않았다(Fig. 2).

Monocyte chemoattractant protein(MCP-1)의 mRNA 발현은 고지방 식이 랫드의 흉부대동맥에서 일반식이 랫드에 비해 증가하는 것으로 나타났다. Fluvastatin 투여군과 홍삼 단독투여군, 홍삼 및 천마 혼합투여군 모두에서 유의성있게 감소하였다. 홍삼 단독투여군에 비하여 홍삼 및 천마 혼

합투여군에서의 감소효과가 유의성을 보이는 것으로 나타났다(Fig. 3).

## 3. 홍삼 천마 병용 투여에 의한 C-reactive protein 억제효과 분석

홍삼 및 천마 혼합투여에 의한 혈관 염증 억제효과를 알아보기 위하여 혈관염증을 반영해주는 표식인자로 간에서 합성되는 C-reactive protein(CRP) 농도를 분석하였다. 고지방식이 투여군에서의 CRP는 정상식이군보다 40% 이상 증가하는 것으로 나타났으며 fluvastatin 투여군과 홍삼 단독투여군, 그리고 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 모두 유의적으로 감소하였다. 홍삼 단독투여군과 홍삼 및 천마 혼합투여군을 비교했을 때 CRP의 감소효과에 대한 유의성이 나타났다(Fig. 4). 그러므로 홍삼 및 천마 혼합투여군이 홍삼 단독투여군보다 CRP의 감소효과가 더 큰 것으로 나타났다.

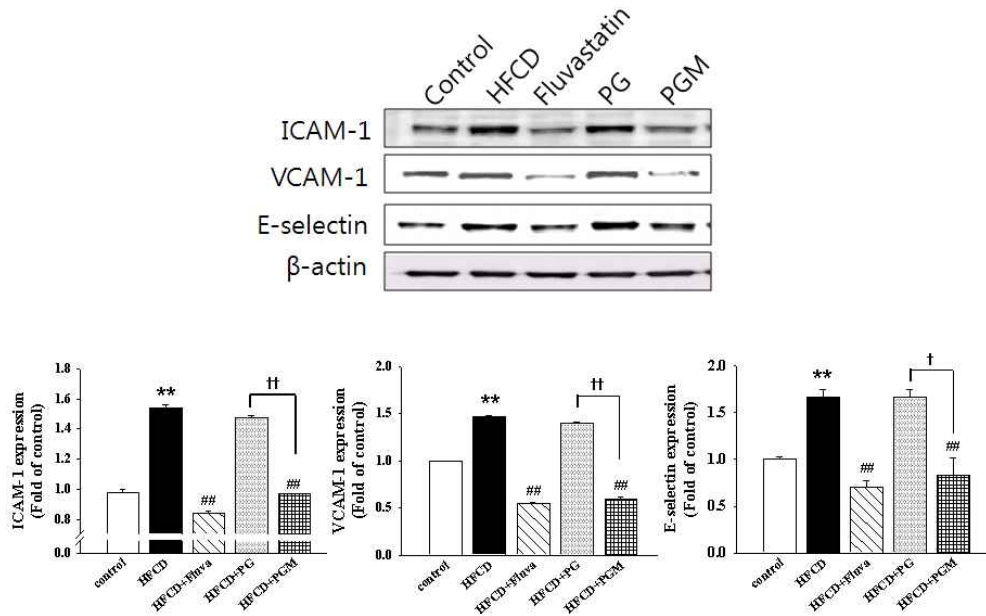


Fig. 2. Effects of PG or PGM on adhesion molecules expression in the aorta.

Representative Western blot of ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin expression in aortic tissues. Lower panel indicated densitometric quantifications normalizing by actin. Each photograph is representative of the results from 5 independent experiments. \* $p < 0.01$  vs. control; ## $p < 0.01$ , vs. HFCD; † $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$  vs. PG group.

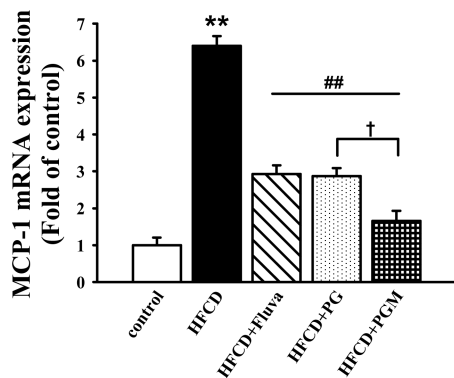


Fig. 3. Effects of PG or PGM on MCP-1 mRNA expression in the aorta.

Lower panel indicated densitometric quantifications normalizing by actin. Each photograph is representative of the results from 5 independent experiments. \* $p < 0.01$  vs. control; ## $p < 0.01$ , vs. HFCD; † $p < 0.05$  vs. PG group.

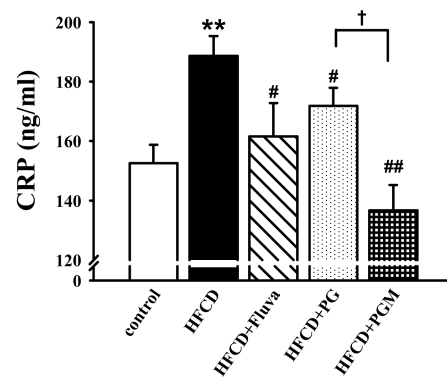


Fig. 4. Effects of PG or PGM on MCP-1 mRNA expression in the aorta.

Lower panel indicated densitometric quantifications normalizing by actin. Each value shows mean  $\pm$  SEM of four experiments. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. vehicle group. \* $p < 0.01$  vs. control; ## $p < 0.01$ , vs. HFCD; † $p < 0.05$  vs. PG group.

#### IV. 고 찰

본 연구는 고지방 식이에 의해 유도된 혈관염증에 홍삼 및 천마의 혼합투여가 홍삼 단독투여와 비교했을 때 혈관 염증 억제효과가 증폭되는지를 검증하기 위해 진행되었다. 염증반응의 지속으로 인해 거품세포의 숫자가 증가하면서 일부가 괴사하게 되고 죽은 세포들이 머금고 있던 지질이 배출되면서 죽상의 lipid core를 형성하게 된다. 이러한 lipid core는 평활근세포의 증식으로 생겨나는 fibrous cap과 함께 죽상경화반(atherosclerotic plaque)을 형성하게 된다. 이때 염증반응이 지속된다면 대식세포들이 발현하는 금속함유 기질단백 분해효소 등을 포함한 각종 세포외기질 분해효소에 의해 죽상경화반이 파열되면서 혈관 내에 혈전(thrombus)이 형성되어 심할 경우 혈관이 막히게 된다. 이러한 현상이 심혈관에서 일어난다면 급성심근경색증의 발병으로 이어진다<sup>16,17</sup>. 최근 연구에 따르면 고지방 식이는 흰쥐에서 인슐린 저항성과 체중 증가를 유도하고 이로 인해 혈관 내피세포가 손상된다고 보고했다<sup>18</sup>. 실험결과에서 10주간의 고지방 식이 투여는 현저한 체중증가를 유도하였으며 fluvastatin, 홍삼 단독투여, 그리고 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 모두 감소하였다. 또한 홍삼 단독투여군과 홍삼 및 천마 혼합투여군 모두 고지방 식이 투여에 의한 흉부대동맥 내피층 표면의 거칠고, 중막 평활근의 비후함을 개선시켰다. 흥미롭게도 홍삼 및 천마 혼합투여군은 홍삼 단독투여군에 비하여 혈관 내막의 안정화를 유의적으로 증폭시켰다. 이는 홍삼 및 천마 혼합투여가 고지방식으로 인한 혈관 비후도를 감소시키는데 더욱 효과적이라는 것을 의미한다. 고지방 식이에 의한 비만과 연관된 모든 동물실험에서 혈압증가가 관찰되는 것은 아니며 본 실험결과에서도 10주간의 고지방 식이의 투여는 혈압을 증가시키지 않았다. 이는 혈압의 증가는 식이의 종류와 기간, 어떤 동물인지,

또, 같은 종의 동물일지라도 계통에 따라서 다양한 결과를 유도할 수 있으며, 특히 14주간과 10주간의 차이에 의하여 고혈압이 유도될 것이라고 사료된다<sup>19-21</sup>.

고지방 식이에 의한 고 콜레스테롤 혈증은 죽상경화와 같은 혈관염증성 질환을 유발시킨다<sup>22</sup>. 죽상경화로 진행하는데 중요한 매개가 되는 세포 유착분자(adhesion molecule)는 유전자와 단백질의 유사성에 따라 분류되는데, 염증반응 시 백혈구가 혈관내피세포에 결합하는 초기단계에 중요한 selectin family, 백혈구 표면에 발현되어 혈관내피세포 혹은 다른 세포와 상호작용하는 integrin family, 혈관내피세포에 발현되어 백혈구의 integrin과 결합하는 ICAM, VCAM 등이 있다. 죽상경화의 초기 단계에서 내피세포에서의 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin과 같은 세포 유착분자의 발현은 증가한다. 그 결과로 단핵구 및 백혈구의 염증부위로 침투가 증가하고 이들에 의한 염증 사이토카인의 분비는 혈관염증을 더욱 진행시킨다<sup>6</sup>. 염증의 증폭 및 유지에는 각종 염증성 cytokine도 중요하지만 이를 분비하는 백혈구의 동원이 필수적인데 이에 필요한 것이 chemokine이다<sup>23,24</sup>. Chemokine은 백혈구의 화학주성과 활성화, 그리고 백혈구의 이동에 중요한 세포유착분자의 발현을 증가시켜 면역 및 염증 반응에 참여한다. 이런 chemokine들은 두 가지 종류로 분리되는데 하나는 선택적으로 다형핵 백혈구들을 집합시키는 Interukine-8(IL-8) 등의  $\alpha$ -chemokine들, 그리고 단핵구와 T-림프구의 응집에 중요한 기능을 담당하는 monocyte chemoattractant protein(MCP-1)과 macrophage inflammatory protein(MIP)-1a 등의  $\beta$ -chemokine들로 나누어진다<sup>24</sup>. 따라서 MCP-1의 발현 억제 역시 죽상경화를 예방 및 치료할 수 있는 좋은 치료의 목표물이 될 수 있다<sup>25</sup>. 몇몇 연구에서 세포유착분자들의 선택적인 억제로 죽상경화를 억제시켰다. 유전적으로 고 콜레스테롤 혈증을 갖는 마우스에서 VCAM-1에 대한 선택적인 항체의 투여는 손상된



경동맥의 염증부분을 감소시켰다<sup>26)</sup>. 또한 세포 유착분자인 ICAM-1, VCAM-1, P-selectin의 선택적인 결실은 죽상경화의 유발을 현저히 감소시켰다<sup>27)</sup>. 본 실험결과에서 고지방식이군은 홍부 대동맥 내 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin의 발현을 현저히 증가시켰다. 흥미롭게도 홍삼 단독투여군은 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin의 발현을 억제시키지 못하였다. 그러나 홍삼 및 천마 혼합투여군은 고지방 식이에 의해 증가한 세포유착 분자인 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin의 발현을 현저하게 감소시켰다. 염증의 증폭과 유지에 홍삼 단독투여 또는 홍삼 및 천마 혼합투여의 효과를 알아보기 위하여 RT-PCR를 수행한 결과, 고지방 식이군에서 현저히 증가된 MCP-1 mRNA의 발현은 fluvastatin, 홍삼 단독투여, 그리고 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 모두 감소하였다. 여기에서 홍삼 및 천마 혼합투여군은 세포유착분자의 발현 결과와 마찬가지로 홍삼 단독투여군에 비하여 그 감소효과가 현저히 증가하였다. 그러므로 이러한 결과는 홍삼 및 천마 혼합투여가 고지방식으로 인한 죽상경화의 초기 단계에 작용하여 세포유착 분자 및 chemokine의 발현을 억제하여 혈관보호효과를 나타낸다는 것을 알 수 있다. 더 나아가 고지방식으로 인한 혈관염증 과정에서 홍삼 단독투여보다는 홍삼과 천마를 혼합투여 시 혈관염증 억제가 더욱 증폭되어 효과적이라는 것을 의미한다.

체내 염증지표는 대사증후군과 제2형 당뇨병 질환의 발병 및 심혈관질환의 진행 예측 인자로서 보고되고 있다<sup>28)</sup>. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP)는 심혈관계 질환의 강력한 예측인자로 알려져 있으며, Interukine-6(IL-6)과 같은 cytokine은 간의 중성지방 분비를 촉진하며, CRP의 상승을 초래하는 인자로 심혈관계 질환자에서 높게 나타나고 있다<sup>29)</sup>. 최근에는 CRP와 동맥경화 인자인 대동맥의 stiffness간에 연관이 있으며, CRP와 복대동맥 및 신동맥까지의 동맥경화 간의 연관관계를 보고하였다<sup>30,31)</sup>. 본 연구에서는 고지방식이 투

여군에서 혈청 CRP 수준이 현저하게 증가하였고, fluvastatin 및 홍삼 단독투여군, 그리고 홍삼 및 천마 혼합투여군에서 혈청 CRP 수준은 유의적으로 감소하였다. 여기에서 홍삼 단독투여군보다 홍삼 및 천마 혼합투여군의 감소폭이 유의성있게 감소효과가 증폭되는 것으로 나타났다. 또한 신기능 지표에서 fluvastatin과 홍삼 단독투여군의 혈청 creatinine 증가 양상은 합성의약품과 홍삼의 장기적인 투여가 신기능 장애를 유발할 것이라는 견해를 보인다. 홍삼 및 천마 혼합투여군의 신기능 안정은 천마에 의한 홍삼의 신기능 장애를 보완하고 혈관 염증 억제를 증폭시키는 것으로 보인다. 이러한 결과는 홍삼과 천마의 혼합투여가 혈중의 염증 인자들을 감소시켜 동맥경화나 고혈압과 같은 심혈관계 질환에 좋은 효과가 있음을 제시한다. 본 연구에서 홍삼 및 천마 혼합투여군에 의한 혈관염증 개선효과가 홍삼 단독투여군보다 유의성있는 개선효과를 보여주었으므로 이러한 유의적 효과가 홍삼과 천마 혼합투여에 의한 것인지 천마 자체에 의한 혈관염증 개선효과에 기인한 것인지는 추후의 연구가 필요하다고 판단된다.

## V. 결 론

고지방 식이를 투여한 흰쥐에서 6주간 홍삼 단독투여 또는 홍삼 및 천마를 혼합투여했을 때 체중감소효과를 나타내었으며, 혈관내막의 비후도를 안정시키는 항-죽상경화 효과를 확인하였다. 특히 홍삼 및 천마 혼합투여는 세포유착분자나 CRP와 같은 염증분자들을 감소시킴으로써 홍삼 단독투여와 달리 혈관 내막의 안정화를 증폭시키고 혈관염증을 개선시키는 것으로 사료된다. 이는 동맥경화나 고혈압과 같은 심혈관계 질환에 있어 천연물을 이용한 새로운 치료 방향을 제시하는데 유용할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 진안홍삼연구소 지원에 의하여 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Connor WE, Stone DB, Hodges RE. The interrelated effects of dietary cholesterol and fat upon human serum lipid levels. *J Clin Invest.* 1994;43:1691-6.
- Kreuzer J, Viedt C, Brandes RP, Seeger F, Rosenkranz AS, Sauer H, Babich A, Nürnberg B, Kather H, Krieger-Brauer HI. Platelet-derived growth factor activates production of reactive oxygen species by NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells through Gi1,2. *FASEB J.* 2003;17:38-40.
- Onody AM, Csonka C, Giricz Z, Ferdinandy P. Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxidative formation in rat hearts. *Cardiovasc Res.* 2003;58:663-70.
- Grossman M, Rader DJ, Muller DW, Kolansky DM, Kozarsky K, Clark BJ 3rd, Stein EA, Lupien PJ, Brewer HB Jr, Raper SE, et al. A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolaemia. *Nat Med.* 1995;1:1148-54.
- Choi DH, Lee YJ, Kim JS, Kang DG, Lee HS. *Cynanchum wilfordii* ameliorates hypertension and endothelial dysfunction in rats fed with high fat/cholesterol diets. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2012;34:4-11.
- Quagliari L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Zuodar G, Schreyer SA, Vick C, Lystig TC, Mystkowski P, LeBoeuf RC. LDL receptor but not apolipoprotein E deficiency increases diet-induced obesity and diabetes in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282:207-14.
- Hong MH, Lim HK, Park JE, Jun NJ, Lee YJ, Cho MJ, Kim SM. The Antihypertensive and Vasodilating Effects of Adventitious Root Extracts of Wild Ginseng. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2008;51:102-7.
- Mizuno M, Yamada J, Terai H, Kozukue N, Lee YS, Tsuchide H. Differences in immunomodulating effects between wild and cultured *Panax ginseng*. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;200:1672-8.
- Kwon KR, Park WP, Kang WM, Jeon EY, Jang JH. Identification and analysis of differentially expressed genes in mountain cultivated ginseng and mountain wild ginseng. *J Acupunct Meridian Stud.* 2011;4:123-8.
- Liu CX, Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. *J Ethnopharmacol.* 1992;36:27-38.
- Kitts D, Hu C. Efficacy and safety of ginseng. *Public Health Nutr.* 2000;3:473-85.
- Liu J, Mori A. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla*(Miq.) Jacks. *Neuropharmacology.* 1992;31:1287-98.
- Lee YJ, Hwang SM, Kang DG, Kim JS, Lee HS. Effect of *Gastrodia elata* on tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced matrix metalloproteinase activity in endothelial cells. *J Nat Med.* 2009; 63:463-7.
- Hwang SM, Lee YJ, Kang DG, Lee HS. Anti-inflammatory effect of *Gastrodia elata* rhizome in human umbilical vein endothelial cells. *Am J Chin Med.* 2009;37:395-406.
- Cho HR, Suh JH, Lee EA, Kim JE, Lee SC,

- Kwon B. Improved surgical technique for heterotopic aortic transplantation in mice. *J Korean Med Sci.* 2007;22:12-5.
16. Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res.* 2004;95:858-66.
17. Li G, Sanders JM, Phan ET, Ley K, Sarembock IJ. Arterial macrophages and regenerating endothelial cells express P-selectin in atherosclerosis-prone apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol.* 2005;167:1511-8.
18. Knight SF, Quigley JE, Yuan J, Roy SS, Elmarakby A, Imig JD. Endothelial dysfunction and the development of renal injury in spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet. *Hypertension.* 2008;51:352-9.
19. Jiang ZY, Lin YW, Clemont A, Feener EP, Hein KD, Igarashi M, Yamauchi T, White MF, King GL. Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker(fa/fa) rats. *J Clin Invest.* 1999;104:447-57.
20. Saad MJ, Velloso LA, Carvalho CR. Angiotensin II induces tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and its association with phosphatidylinositol 3-kinase in rat heart. *Biochem J.* 1995;310:741-4.
21. Lee YJ, Choi DH, Kim EJ, Kim HY, Kwon TO, Kang DG, Lee HS. Hypotensive, hypolipidemic, and vascular protective effects of *Morus alba* L. in rats fed an atherogenic diet. *Am J Chin Med.* 2011;39:39-52.
22. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003;170:191-203.
23. Wang X, Yue TL, Barone FC, Feuerstein GZ. Monocyte chemoattractant protein-1 messenger RNA expression in rat ischemic cortex. *Stroke.* 1995;26:665-6.
24. Adams DH, Lloyd AR. Chemokines:leukocyte recruitment and activation cytokines. *Lancet* 1997;349:490-5.
25. Rimbach G, Valacchi G, Canali R, Virgili F. Macrophages stimulated with IFN-gamma activate NF-kappa B and induce MCP-1 gene expression in primary human endothelial cells. *Mol Cell Biol Res Commun.* 2000;3:238-42.
26. Oguchi S, Dimayuga P, Zhu J. Monoclonal antibody against vascular cell adhesion molecule-1 inhibits neointimal formation after periadventitial carotid artery injury in genetically hypercholesterolemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1729-36.
27. Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Acta Physiol Scand.* 2001;173:35-43.
28. Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes.* 1992;41:97-101.
29. Stenvinkel P, Heimbürger O, Jøgestrand T. Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid artery atherosclerosis in dialysis patients: Association with Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Am J Kidney Dis.* 2002;39:274-82.
30. Duprez DA, Somasundaram PE, Sigurdsson G, Hoke L, Florea N, Cohn JN. Relationship between C-reactive protein and arterial stiffness in an asymptomatic population. *J Hum Hypertens.* 2005;19:515-9.
31. Hommels MJ, van der Ven AJAM, Kroon AA, Kessels AGH, Van Dieijen-Visser MP, Van Engelshoven JAM, Bruggeman CA, De Leeuw PW. C-reactive protein, atherosclerosis and kidney function in hypertensive patients. *J Hum Hypertens.* 2005;19:521-6.