

P5-6

**황기 지상부 추출물의 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험**

강원대학교 : 심훈섭, 배희애, 박해일, 백현, 임정대\*, 유창연; 정선군농업기술센터 :  
최대성, 최유순; 건국대학교 : 정일민; 대구가톨릭대학교 GLP센터 : 박영철

**Micronucleus Test Of Aboveground Parts *Astragalus membranaceus* Extract  
Using The Bone Marrow Cells In Mice**

Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University : Hun Seob Shim, Hui Ae Bae, Hae Il Park, Hyeon Baek, Jung Dae Lim\*; Division of Applied Plant Science, Kangwon National University : Chnag Yeon Yu; JEONGSEON Agricultural technology & Extension Center : Dae-Sung Cheoi, Yu-Soon Cheoi  
Konkuk University : Ill-Min Chung; Catholic University Of Daegu GLP Center :  
Young Cheol Park

**실험목적**

- 황기는 콩과에 속하는 다년생 초본식물로 전통적으로 여러 가지 질환의 치료제로 널리 사용되고 있으며 약재로서의 황기는 이용부위인 뿌리를 중심으로 많은 연구가 진행되고 있음
- 황기에서 잎을 포함한 지상부는 양적 차이를 나타내지만 지하부에 존재하는 거의 모든 유용성분을 포함하고 있으며 특정 유용성분의 경우는 지하부보다 높은 수준을 나타내고 있음
- 황기의 지상부는 지하부 못지않게 높은 질환개선적 효능을 가지고 있는 것으로 사료됨에도 불구하고 식품의약품안전청에 식품이나 건강기능성 식품원료로 등록되어 있지 않아 그 활용성을 증대시킬 수 없는 실정임
- 황기 지상부를 이용하여 식품 원료 및 건강기능성 식품 원료로 등록하기 위해서 식품의약품안전청고시 제 2010-70호 (2010.10.15)에 의거한 “식품 등의 한시적 기준 및 규격 인정기준”에 부합되는 자료를 구축하기 위해 황기 지상부 추출물의 독성시험 및 안정성 시험이 필요함
- 황기 지상부 추출물에 대해 발암성 유발 유·무 판단의 기초자료를 얻기 위하여 유전독성시험 중 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시

**재료 및 방법**

- 실험재료 : 황기 지상부 100g을 증류수 2L로 열수추출 후 감압여과 농축 후 800,000pp으로 제조
  - 실험방법 : ICR마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 통한 안전성 검정
- 1) 종 및 계통
- ICR 계통의 특정병원균 부재 (SPF) 수컷 마우스

---

주저자 연락처 (Corresponding author) : 임정대 E-mail : ijdae@kangwon.ac.kr Tel : 033-570-6493

## 2) 시험군의 구성과 투여량

- 투여개시 전 체중을 측정하고 순위화한 체중을 이용하여 군분리 실시, 시험군을 음성(용매)대조군 1군, 투여군 3군 (500mg/kg, 1000mg/kg, 2000mg/kg 투여군), 양성대조군 (Mitomycin C (MMC) 2mg/kg)으로 구성하여 총 5군을 구성, 투여량은 한계용량인 2000mg/kg을 2마리에 투여하는 한계시험을 통해 본시험에 적용한 결과 투여용량 2000mg/kg에서 2마리 모두 생존 하였기에 본시험에서는 2000mg/kg 최고용량으로 하여 1000mg/kg, 500mg/kg 투여량을 설정하였고 시험물질 투여시간은 시험물질의 분해 및 흡수가 48시간 이내에 이루어지므로 24시간, 48시간으로 하였으며 투여횟수는 1회로 설정

## 3) 골수세포 회부 및 검체 제작

### 1) 골수세포의 회수 및 검체 제작

- 시험동물에 황기지사상부 추출물 투여 24시간 및 48시간 후에 희생시킨 후 Fetal bovine serum (FBS)을 사용하여 대퇴골에서 골수세포를 회수하고 골수세포의 도말표본을 제작하여 고정한 후 광학현미경을 사용하여 도말상태, 세포밀도를 확인하였으며 전체 적혈구와 다염성 적혈구 중의 소핵출현적혈구를 계수하였음. 계수 후 다염성 적혈구 중의 소핵출현빈도 및 전체 적혈구중의 다염성 적혈구의 비율을 산출하였음

### 2) 표본의 염색

- 메탄올로 고정시킨 표본에 acridine orange (40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )로 점적하여 커버글라스를 덮어 염색한 후 골수세포증식과 다염성 적혈구에 생성된 소핵을 관찰

## 실험결과

- 전체 적혈구 중 다염성 적혈구의 평균 비율은 음성대조군에서  $41.0 \pm 2.09\%$ , 황기 지상부 추출물 500 mg/kg 투여군에서  $40.7 \pm 2.02\%$ , 1000 mg/kg 투여군에서  $43.0 \pm 1.37\%$ , 2000mg/kg 투여군에서는  $40.4 \pm 1.92\%$ 로 관찰됨 → 모든 투여군의 평균비율이 음성대조군과의 차이가 없었으며 투여군간 차이도 없었음 ( $p > 0.05$ ).
- 동물개체별로 약 2,000 여개의 다염성 적혈구에서 관찰한 소핵출현 적혈구의 평균빈도는 음성대조군에서  $0.15 \pm 0.062\%$ , 황기 지상부 추출물 500 mg/kg 투여군에서  $0.17 \pm 0.044\%$ , 1000 mg/kg 투여군에서  $0.08 \pm 0.027\%$ , 2000 mg/kg 투여군에서는  $0.08 \pm 0.090\%$ 로 관찰되었으며 용량의존성 반응도 없었음
- 마우스 골수세포에 황기지사상부 추출물을 처리하고 소핵 시험을 실시한 결과 적혈구 중 다염성 적혈구의 평균 비율의 비교에서 투여 시간별 및 황기지사상부 추출물 투여농도별 투여군과 음성대조군과의 군간 차이가 없었으므로 황기지사상부추출물은 적혈구증식억제를 유발하지 않는 것으로 확인되었음
- 다염성 적혈구 중 소핵을 갖는 적혈구 출현빈도의 비교에서 황기지사상부 추출물 투여 시간별 및 투여농도 별 모든 투여군과 음성대조군과의 군간 차이 및 용량의존성 반응이 없는 것으로 확인되었으므로 황기지사상부 추출물은 소핵시험조건에서 마우스 골수세포에 대해 소핵의 유발성이 없는 것으로 판단됨.