

四鹽化炭素에 의한 肝傷害時 人蔘이 肝細胞의 微細構造에 미치는 影響

李 在 鉉·元 鳳 來·李 且 秀

慶北大學校 農科大學

緒 論

韓國의 고려人蔘은 漢方藥中 代表的인 強壯精劑로써 特別히 그 藥效에 對해서는 國內外에서 多方面으로 數 많은 研究가 行하여지고 있으나 이들 研究報告는 大部分이 藥理學的^{3,4,11,12,13} 生理學的^{5,8,10,14} 및 生化學的^{7,8,9,16} 研究에 對한 것이며, 形態學的 研究는 극소수이고¹¹, 특히 電子顯微鏡的 研究는 거의 찾아 볼 수 없다. 단지 大浦 日 合¹⁴의 人蔘分劃成分을 배합한 固形飼料를 Wistar系 rat에 長期間 급여한 肝臟에서 대조군에 비해 rough surfaced endoplasmic reticulum (γ -ER)의 현저한 발달을 보았다는 報告가 있을 뿐이다. 著者等은 고려人蔘이 四鹽化炭素(CCl_4)를 투여한 傷害肝細胞에 미치는 影響에 對한 形態學的 變化를 알아 보기 위하여 電子顯微鏡的으로 觀察하고 特別히 脂質代謝와 關係에 對하여 追究하였다.

材料 및 方法

공시동물은 25gm 전후의 성숙한 백색생쥐이며, 人蔘水浸液은 고려인삼(5年根) 분말 100g을 증류수 250ml와 혼합하여 水槽內에서 3~5시간 煮沸한후, 원심침전(4,000rpm/1hr)하고 상층액을 다시 여과하여 얻은 액을 사용하였다.

실험은 肝상해의 목적으로 olive oil에 50%로 용해한 CCl_4 (林純藥工業株式會社製, 日本) 0.1ml를 복강內에 1회 주사한후, 24시간후부터 매일 人蔘水浸液을 0.25ml씩 복강內에 주사하여 3일, 6일, 9일에 各各 도살한 실험군과, 上記와 같은 CCl_4 0.1ml만 1회 주사한 후 各各 3일, 6일, 9일에 도살한 대조군으로 나누어 실시하였다.

各群의 생쥐는 ether로 마취하여 죽기 직전에 복강을 切開한 후, 肝조직편을 절취하여 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde (0.1M cacodylate buffer, pH 7.4)

에서 2시간 전고정한후, 2% OsO_4 (S-Collidine buffer, pH 7.4)에서 2시간 후고정하여 ethanol, acetone系列에 탈수하고 Epon-812로 包埋하였다. 切片은 porter blum ultramicrotome MT_2 -B型으로 glass knife를 사용하였고 Reynold의 二重염색을 行한후, HU-11 E型 전자현미경으로 관찰하였다.

結 果

A. 대조군 : 3日제의 肝細胞에는 크기가 작은 glycogen과립과 과립의 消失이 인정되었으며, 大小의 공포 및 다소 확장된 mitochondria가 소수 出現하였다(Fig. 1).

또한 少數의 rough surfaced endoplasmic reticulum (γ -ER)과 多數의 脂肪滴의 出現도 볼 수 있었다. 6日제의 肝細胞에서는 中等度の 脂肪滴의 出現과 γ -ER의 多數出現 및 glycogen과립이 소실된 部位에서 다소의 集積이 일어나는것 같았가, 多數의 높은 전자밀도를 가진 mitochondria도 出現하였다(Fig. 2). 한편 9日제의 肝細胞에서는 γ -ER의 현저한 발달과 小型의 脂肪滴이 多數出現하였고, glycogen과립의 많은 集積, 圓形 내지 橢圓形의 mitochondria가 多數 出現하는等 細胞의 현저한 복구가 인정되었다(Fig. 3).

B. 실험군 : 人蔘水浸液을 주사한 실험군 3日제의 肝細胞에서는 대조군 3日제의 肝細胞에 비하여 현저한 大型의 脂肪滴의 出現과 γ -ER의 中等度の 확장이 특징이며, 多少 높은 전자밀도를 가진 mitochondria의 出現도 볼 수 있었다(Fig. 4). 6日제의 肝細胞에서는 실험군 3日제에 비해 多數의 지방질의 출현을 볼 수 있었으며(Fig. 5), glycogen과립의 集積도 對照群 6日제의 肝細胞에 비해 더욱 현저한 所見을 보였다(Fig. 6). 또한 γ -ER의 발달도 다소 현저하였다. 9日제의 肝細胞에서는 脂肪滴이 매우 많이 出現하였으며, 脂肪滴 주위에는 심한 glycogen과립의 부착 및 集積 등의 所見을 볼 수 있었다(Fig. 7). 또한 大型의 mitochondria가 다

數 出現하였으며 γ -ER의 현저한 발달과 확장된 Cisternae內에는 雲架狀物質集積, 현저히 확장된 Cisternae를 가진 Golgi 장치 및 少數의 secondary lysosome의 出現등을 볼 수 있었다(Fig. 8).

考 察

韓國의 人蔘에 關한 研究는 1800年代로 부터 現在에 이르기까지 國內外의 數 많은 報告가 있으나¹⁻¹⁶⁾ 이들 大部分이 人蔘自體의 性分 또는 效能을 규명하기 위한 藥理學의^{3,4,11,12,13)}, 生化學의^{7,8,9,15)} 및 生理學의^{5,6,10,14)} 研究이었으며, 形態學의 研究, 특히 전자현미경적 研究는 거의 찾아 볼 수 없다. 단지 大浦 日合¹⁴⁾의 報告가 있을 뿐으로 이들은 人蔘 分획성분을 배합한 고형 사료를 Wistar系 백쥐에 1個月間 급여한 후 간장을 전자현미경적으로 관찰한 결과 투여군에서는 비투여군에 비해 ribosome이 풍부한 γ -ER의 현저한 발달을 인정할 수 있었으나 기타의 細胞小器官의 변화는 볼 수 없었다고 기술하였다. 또한 동 실험에서 生化學的 검토를 행하여 free ribosome의 量은 거의 不變이었으나 膜附着形 ribosome은 人蔘 투여군에서 약 40%의 증가를 보았다고 기재하고 이는 단백질 合成을 촉진하는 것으로 추정하고 있다.

著者等은 人蔘의 效果에 關한 形態學的 變化를 알아 보기 위하여, 우선 傷害肝에 있어서 人蔘의 影響을 전자현미경 적으로 관찰하였던바, 本 실험에서 人蔘水浸液을 주사한 群의 肝細胞는 CCl₄만 1회 주사한 群에 비하여 현저한 γ -ER의 발달과 glycogen과립의 集積 및 脂肪滴의 大型化와 多數出現등을 볼 수 있었고, 이와 같은 所見은 時日이 경과함에 따라 더욱 현저하였으며 동시에 脂肪滴 주위에 glycogen이 매우 많이 부착하는 所見도 볼 수 있었다.

Fawcett²⁾는 고양이의 心筋細胞에서 脂肪滴의 增量과 mitochondria가 脂肪滴에 附着하는 것은 mitochondria가 心筋수축의 에너지 보급을 위해 脂肪滴을 소화분해하는 과정으로 보고 동시에 지방적 주위에 효소의 부착을 報告하고있으며, 渡¹⁰⁾도 BHC를 長期투여한 생쥐 肝細胞 및 人工동민시킨 박쥐의 肝細胞에서 同一한 所見을 기술하고 있으며 또한 이때 脂肪滴주위에 acid phosphatase活性을 인정하고 이 지방적이 自家食泡由來임을 示唆한다고 하였다.

著者等の 本 실험에서 時間의 경과에 따른 脂肪滴의 大型化 및 脂肪滴주위에 多量의 glycogen과립이 부착하는 것은 脂肪滴이 산화분해되지 않고 glycogen만의 積적이 일어나므로 因한 현상으로 사료되며 glycogen

의 脂肪化에 대해서는 알 수 없는 바이다. 또한 이들 지방적에 대한 生化學的 규명을 行하지 않아서 이 지방적이 인지질인지 중성지방인지는 알 수 없으나 일반적으로 동맥경화증은 총혈청 cholesterol함량보다 혈청 β -lipoprotein자체가 크게 關여한다는 사실은 잘 알려져 있다. 權 및 吳⁴⁾는 人蔘의 알칼리성 분획성분을 백쥐에 체중 100g당 1日 2.5mg을 8주간 경구투여했을 때 혈청內 및 肝조직의 총 cholesterol함량은 점차 감소하고, 인지질 함량은 혈청內에서는 증가하나 간조직內에서는 감소하였으며, triglyceride함량은 혈청內 및 肝조직에서 同一하게 처음 4주간에서는 증가되고 후반 4주간에서는 감소한다고 하였다. 또한 답에서 人蔘투여의 肝內지질중 특히 중성지방함량은 正常치의 2.5배 증가율을 보였으나 인지질은 오히려 저하하는 것으로 보아 중성지방이 肝에서 이동되지 않고 축적되는 것으로 추측하고 있다⁸⁾. 이와 같은 사실로 미루어봐서 本 실험에서의 실험군에서 9일째가 6일째보다 지방적이 大型化하고 또 多數出現하는 것은 이 지방적自體가 중성지방일 가능성을 뒷받침 해주고 있으나 이에 대해서는 조직화적으로 더욱 상세히 규명되어야 할 것으로 사료된다.

한편 吳等⁸⁾은 人蔘추출액이 흰쥐에서 體內기초대사를 촉진시킨다고 하였으며, 尹 및 申⁷⁾은 人蔘추출액을 흰쥐 및 家兎에 1회 투여하는 별 영향을 미치지 못하나 1주간 계속 투여하는 사염화탄소의 LD₅₀양을 증가시키고 동시에 S-GOT와 S-GPT의 활성도를 감소시키며 肝조직중 cholinesterase 활성도의 사염화탄소에 의한 감소를 억제한다고 보고하고 人蔘추출액 장기투여하는 사염화탄소의 급성중독을 억제한다고 하였다.

本 실험에서의 形態學的 측면에서 본 γ -ER 및 Golgi 장치의 현저한 발달은 단백질 合成에 活性을 주는 것으로 생각되며, 또한 실험군에서 glycogen과립의 심한 集積이 야기되는 것과 지방적의 大型化 및 多數出現등의 所見으로 미루어 보아 人蔘은 傷害肝에서 肝細胞에 活性을 높이며 동시에 脂肪滴 및 glycogen의 축적에 影響을 주는 것으로 思料된다.

結 論

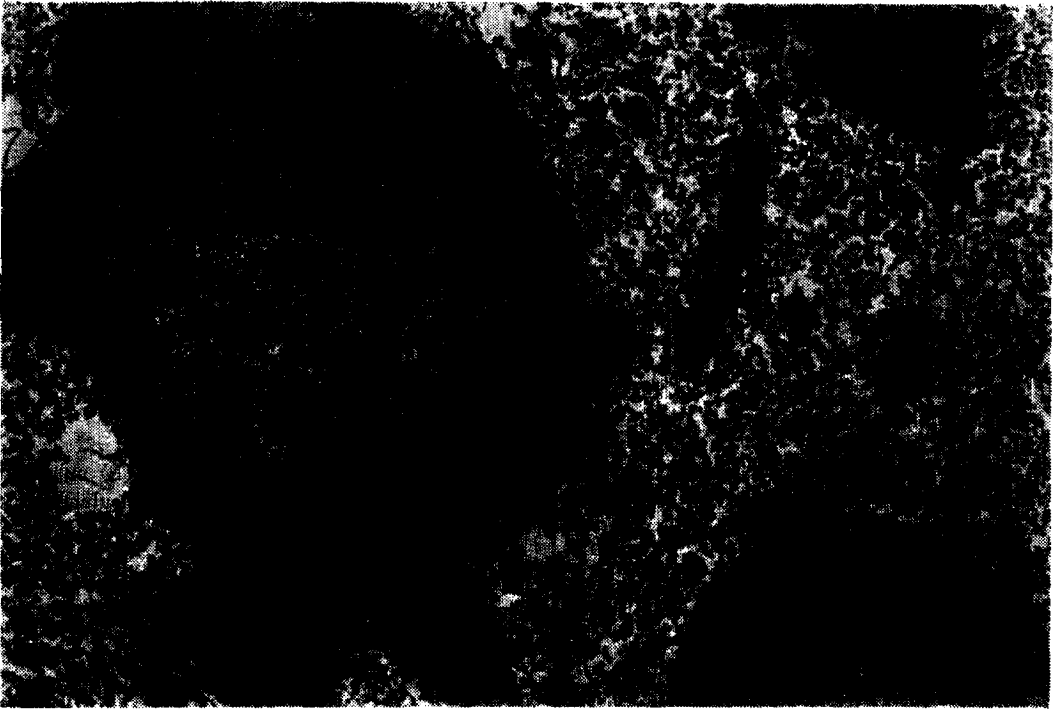
체중 25g 전후의 성숙한 백색 생쥐를 사용하여 CCl₄로 肝傷害를 일으킨후, 人蔘水浸液을 3일, 6일, 9일간 각각 주사하여 肝細胞를 경시적으로 전자현미경적 관찰을 행하였던바, 대조군에 있어서는 점진적인 細胞의 회복을 볼 수 있는 반면에 실험군의 肝細胞는 대조군에 비해 γ -ER 및 Golgi 장치의 현저한 발달과 數의증

가, glycogen의 異常多量出現 및 현저한 集積, 脂肪滴의 大型化 및 多數出現, 그리고 脂肪滴주위에 glycogen 과립의 심한 부착등의 所見을 볼수 있었다. 以上の 所見으로 봐서 인삼은 傷害肝細胞에 活性을 높이고 또한

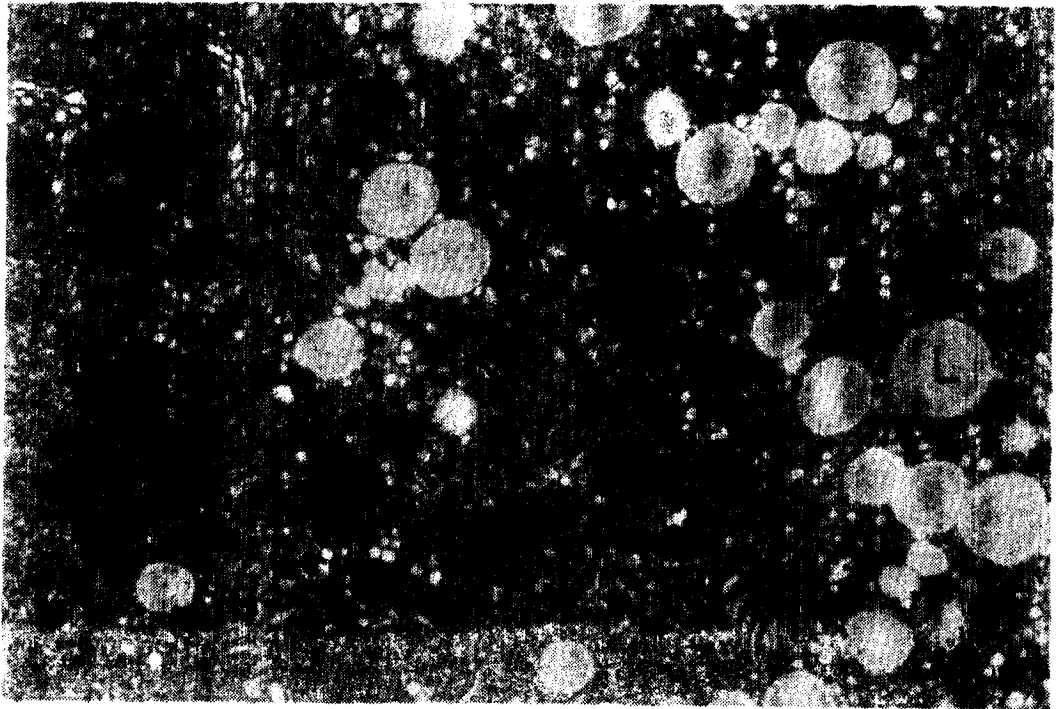
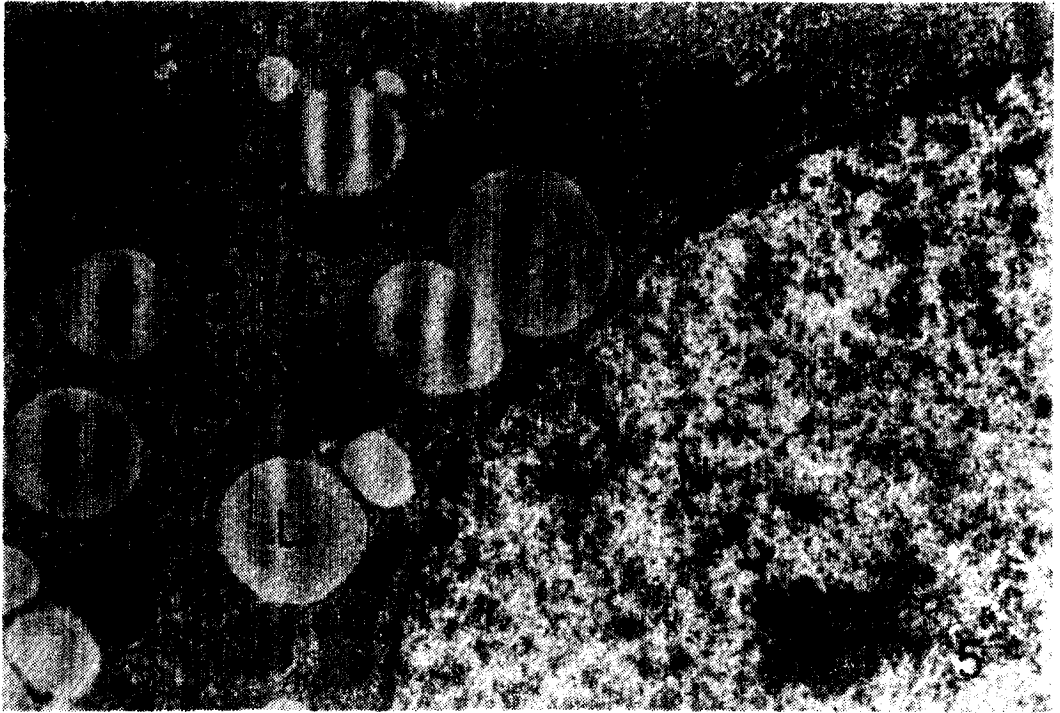
脂肪 및 glycogen의 축적에 關여하는 것으로 思料된다 (本論文의 요지는 제 9 차 한국전자현미경학회 학술 발표회에서 발표하였음)

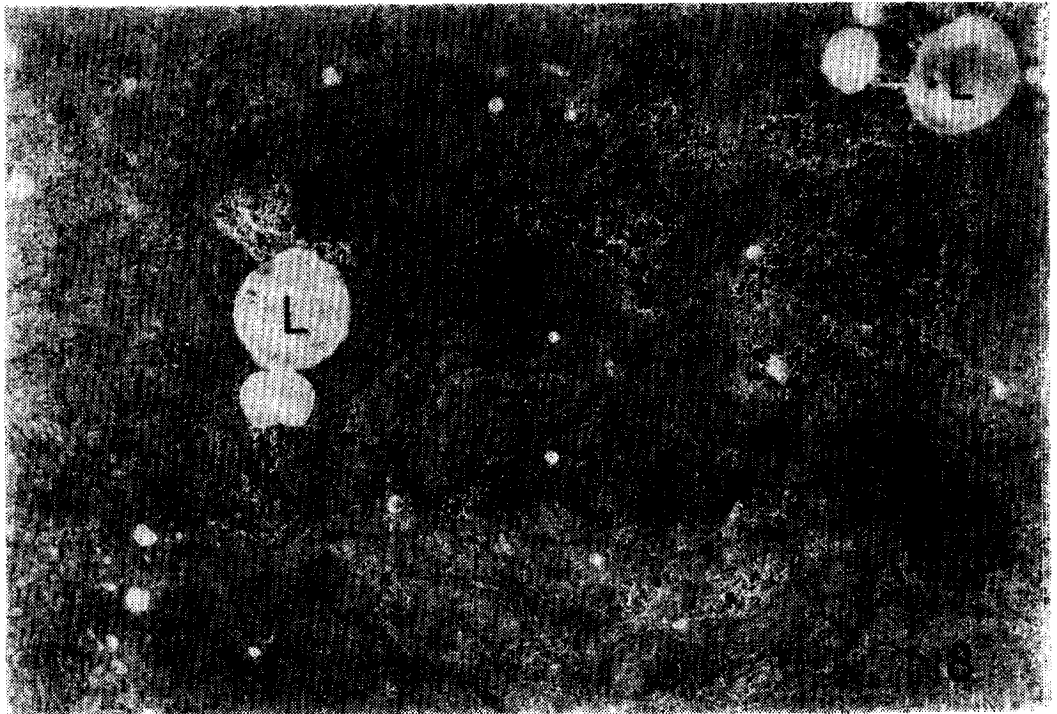
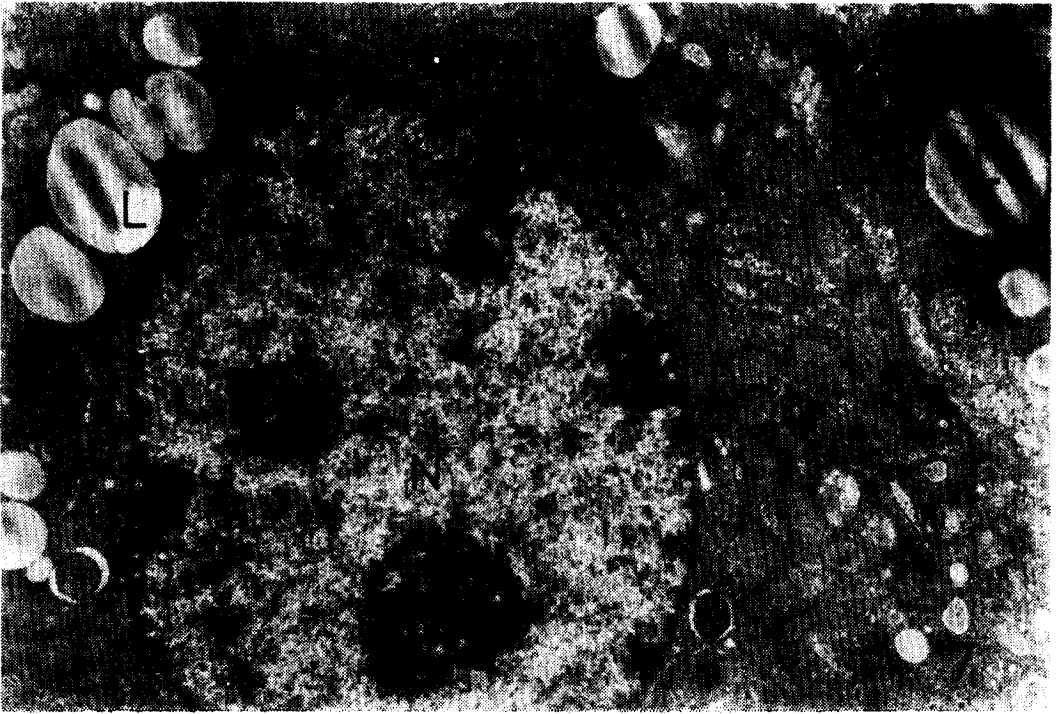
Legends for Figures

- Fig. 1.** Liver cell on third days after carbon tetrachloride injection. moderate swelling mitochondriae (M) and extended glycogen area (GA) are seen. $\times 10,000$.
- Fig. 2.** Liver cell on sixth days after carbon tetrachloride injection. A few lipid droplets (L) number of electron dense mitochondriae are seen. A number of rough surfaced endoplasmic reticulum (r-ER) are also seen. Loss of glycogen particles in the glycogen area is seen. $\times 10,000$.
- Fig. 3&4.** Liver cell on ninth days after carbon tetrachloride injection. Well-developed r-ER and a number of small lipid droplets are seen. Loss of glycogen particles or moderate aggregation of glycogen particles is also seen. $\times 10,000$.
- Fig. 5.** Liver cell treated with Ginseng extract during 3 days after carbon tetrachloride injection. A number of lipid droplets (L) are seen. Electron dense mitochondriae are also seen. $\times 10,000$.
- Fig. 6.** Liver cell treated with Ginseng extract during 3 days after carbon tetrachloride injection. Numerous lipid droplets (L) and extended r-ER are seen. Marked aggregation of glycogen particles is also seen. $\times 10,000$.
- Fig. 7.** Liver cell treated with Ginseng extract during 6 days after carbon tetrachloride injection. Numerous large lipid droplets (L) are seen. $\times 10,000$.
- Fig. 8.** The Same case as Fig. 7. Aggregation of glycogen particles is seen. $\times 10,000$.
- Fig. 9.** Liver cell treated with Ginseng extract during 9 days after carbon tetrachloride injection. Large lipid droplets (L) and aggregated glycogen particles attached to the lipid droplets are seen. $\times 30,000$.
- Fig. 10.** The same case as Fig. 9. Well-developed r-ER and enlarged cisternae of Golgi complex (G) are seen. Secondary lysosome is also seen (arrow). $\times 20,000$.











參 考 文 獻

1. Chul Kim, Chung Chin Kim, Myung Suk Kim, Chang Yong Hu and Jong Soo Rhee: Influence of Ginseng on the stress mechanism. *Lloydia* (1970) 33:40.
2. Fawcett, D.W.: Mitochondria. in an atlas of fine structure. The cell, it's orgenells and inclusion. Saunders Co., Philadelphia and London (1969) p. 63.
3. Forbes, J.C. and Talloferro, I.: Increased resistance of carrot fed rats to carbon tetrachloride. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1945) 57:27.
4. 權寧詔, 吳鎮燮: 人蔘 alkaloidal fraction의 脂質代謝에 미치는 影響. *大韓藥理誌* (1969) 5:1.
5. 吳鎮燮, 洪思岳, 林定圭, 金洛斗, 成樂應, 韓大燮: 人蔘이 家鷄에 關한 實驗的 研究. 第1報. 人蔘이 家鷄發育에 미치는 影響. *Seoul Univ. J. (C)*. (1964) 15:20.
6. 吳鎮燮, 趙馨遠: 人蔘 saponin의 家兔 血清 cholesterol에 미치는 影響. *藥學會誌* (1962) 6:19.
7. 尹恒斌, 申萬鍊: Carbon tetrachloride 毒性에 미치는 人蔘의 效果. *友石醫大誌* (1968) 5:209.
8. 李基寧, 吳鎮燮, 成樂應, 洪思岳, 金楨鎮: 人蔘이 家鷄에 關한 實驗的 研究. 第2報. 人蔘을 長期徑口 投與한 닭에 對한 放射能의 影響(특히 脂質代謝에 關하여). *Seoul Univ. J. (C)* (1964) 15:26.
9. 林定圭: 人蔘 各 fraction의 histamine, serotonin 遊離에 미치는 影響. *서울 醫大雜誌* (1963) 4:9.
10. 鄭鈞容: 四鹽化炭素에 依한 肝損傷에 미치는 生殖腺의 影響. *慶北醫大雜誌* (1967) 8:347.
11. 野津辰郎: 朝鮮人蔘의 成熟雌性 mouse の 性週期 及び 性器에 及ぼす 影響に 就て. *日藥理誌*(1941) 39:469.
12. 高橋富雄: 藥用人蔘エキスに 關する 基礎的 研究. *日藥理誌* (1961) 57:6.
13. 尾崎正若, 中島敏夫, 高取吉太郎: Panax Ginseng の 降壓成分について. *日藥理誌* (1963) 59:27.
14. 大浦彦吉, 日合獎: ニンジンの 生理化學. (1) 肝, 腎에 對する 生理化學作用 とくに 物質代謝을 中心 として. *代謝* (1973) 10:564.
15. 杉原德行: 漢藥朝鮮人蔘에 就て. *日新醫學* (1928) 17:9.
16. 渡仰三: BHC長期投與による 肝臟의 變化의 電子顯微鏡的 研究. *日本 臨床 電顯學會誌* (1973) 5: 1449.

Ultrastructural Changes in the Mouse Liver Cell Treated with Ginseng Extract for Damaged Liver by Carbon Tetrachloride

Jae-Hyun Lee, D.V.M., M.S., Ph.D., Bong-Rae Woun, D.V.M., Ph.D.
and Cha Soo Lee, D.V.M., M.S., Ph.D.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture,
Gyeongbug National University*

Abstract

Electron microscopic investigation were conducted on the mature mouse (B.W. about 25g) liver which was treated with Ginseng water extract during three, six and nine days respectively after carbon tetrachloride injection into abdominal cavity. The results obtained were as follows:

The liver cells of control group treated with carbon tetrachloride alone were restored slowly. The liver cells of experimental group treated with Ginseng water extract after carbon tetrachloride injection, however, were shown the appearance of well-developed γ -ER and Golgi complex, marked aggregation of glycogen particles, and a number of large lipid droplets which are attached markedly with glycogen particles as compared to the control group.

As these findings, it could be suggested that Ginseng gives an activation to restore the damaged liver cells.