

## Pepsinogen 분비조절물질과 인삼성분의 복합처리가 cAMP의 양에 미치는 영향

진승하 · 김세창 · 정노팔  
연세대학교 이과대학 생물학과  
(1986년 9월 22일 접수)

### Effect of Ginseng Components with Pepsinogen Secretion Regulatory Agents on cAMP Content in Isolated Rabbit Gastric Glands

Sung Ha Jin, Sei Chang Kim and Noh Pal Jung  
Department of Biology, College of Science, Yonsei University  
(Received Sep. 22, 1986)

#### Abstract

On the cAMP content in isolated gastric glands from rabbit stomach, the effect of ginseng components (total saponin, diol saponin, triol saponin) with pepsinogen secretion regulatory agents (cholecystokinin, isoproterenol, carbachol, propranolol, atropine, DBcAMP, DBcGMP) were studied *in vitro*. According to the results, ginseng components may have the effect of stimulation or inhibition on cAMP production, and both diol saponin and triol saponin may be reciprocal effect to pepsinogen secretion regulatory agents. It seemed that the ginseng components may have the normalization action to pepsinogen regulatory agents on cAMP content in isolated rabbit gastric glands.

#### 서 론

Sutherland 와 Rall<sup>1)</sup>에 의하여 발견된 3',5'-cyclic adenosine monophosphate(cAMP)는 간, 근육, 갑상선, 지방조직등 동물체내의 여러조직에서 다양한 생리적인 기능을 하며 화학적으로 대단히 안정된 물질이다. cAMP의 여러가지 생리적 기능중 가장 주목받고 있는 것은 호르몬의 작용기작에 있어서 호르몬의 정보를 세포안으로 매개하는 2차 전달자로서의 기능이다. 그리고 이 cAMP는 세포의 원형질막에 있는 adenylate cyclase에 의하여 생성된다. cAMP의 위장관 효과는 Kimberg<sup>2)</sup>에 의하여 발표되었다.

Pepsinogen의 분비에 있어서 콜린효능성경로가 매우 중요한 경로임이 토끼를 재료로

한 *in vivo* 와 *in vitro* 연구에서 보고되었다<sup>3,4)</sup>. 그러나 위의 주세포에서는 cholecystokinin<sup>4,5)</sup>이 pepsinogen의 분비를 자극하는데 이것은 펩티드효능성경로에 의해서도 조절됨이 보고되었다. pepsinogen의 분비에서 cAMP가 세포내에서 중개자로서 관여하는 것 같지만 세포내의 작용기작은 확실하게 밝혀져 있지 않다<sup>6)</sup>.

鄭등<sup>7)</sup>은 인삼성분들이 pepsinogen의 분비에 영향을 주고 있음을 보고하였으며, 金<sup>8)</sup>은 pepsinogen의 분비에 있어서 diol saponin과 triol saponin이 pepsinogen의 분비조절물질 중에서 분비촉진제에 대해서는 억제작용을, 분비억제제에 대해서는 촉진작용을 나타내어 결과적으로 대조군의 수준으로 복귀시키는 정상화작용이 있음을 보고하였다.

따라서 pepsinogen 분비조절물질들이 토끼의 위선에서 cAMP의 양에 미치는 영향에 대한 재검토와 조절물질 가운데 아직 연구되지 않은 약물의 영향을 밝히고, 인삼성분과의 복합처리에 cAMP의 양에 미치는 영향을 추구하였다. 이러한 실험을 위하여 pepsinogen의 분비에 관여하는 cholecystokinin, isoproterenol, carbachol, propranolol, atropine, DBcAMP, DBcGMP를 택하여 cAMP의 양에 미치는 영향을 연구하였으며, 이상의 조절물질들과 인삼성분과의 복합처리시 작용양상과 인삼성분들의 작용특성인 정상화 작용이 토끼 위의 주세포에서 cAMP의 생성 양에도 관련되는지 밝히고자 이 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

표준사료로 사육한 재래종 흰토끼(*Lepus cuniculus* L.Var. Domesticus Gmelin)로 체중이 1.5~2.5kg 되는 것을 사용하였다. 인삼(*Panax ginseng* C.A. Mayer)은 금산산 인삼(4년근, 60편급)을 사용하였다. Cholecystokinin, isoproterenol, carbachol, propranolol, atropine, DBcAMP, DBcGMP, collagenase, bovine serum albumin, pyruvate, PPO, POPOP 등은 Sigma 사 제품을, 사용된 용매는 일본의 Wako, Sanyo의 GR급 및 특급품을 그리고 cAMP의 양을 측정하기 위하여 Amersham사의 cAMP assay kit를 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 인삼성분의 추출

Total saponin의 추출은 Shibata등<sup>9)</sup>과 Woo등<sup>10)</sup>의 방법에 따른 Jung과 Kim<sup>11)</sup>의 방법을 이용하였으며 diol saponin과 triol saponin의 추출은 한<sup>12)</sup>의 방법을 이용하였다.

#### 2) 동물처리

토끼를 ether로 마취시킨 뒤 복부를 절개하여 복대동맥에 5ml의 heparin(250  $\mu$ /ml)을 역방향으로 주사하고 장간막 혈관주위에 결찰을 설치하고 흉곽대동맥을 차단시켰다. 곧 이어서 문맥을 열고 37°C PBS(phosphate buffered saline)를 장간막 혈관에 흘려 보내어 gastric vessel로 주입시켰다. 그리고 교환수혈이 다 되었을 때 위를 떼어내어 소만부를 따라 위를 절개하고 내용물을 버린후 PBS로 깨끗이 씻어내었다.

## 3) 위선의 분리 및 배양

Berglindh와 Obrink<sup>13)</sup>의 방법을 수정하여 사용하였다. 배양액과 CES 및 PBS의 조성은 아래와 같다.

## (1) 배양액(incubation medium):pH7.6

132.4mM NaCl, 5.4mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.0mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2mM MgSO<sub>4</sub>, 1.0mM CaCl<sub>2</sub>, 1.0mM Pyruvate, 1.0mM dithiothreitol, 1.0mg/ℓ phenolsulfonphthalcin, 2mg/ml glucose, 2.0mg/ml bovine serum albumin.

## (2) CES(collagenase emzyme solution):pH7.4

130.0mM NaCl, 12.0mM NaHCO<sub>3</sub>, 3.0mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3.0mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.0mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.0mM MgSO<sub>4</sub>, 1.0mM CaCl<sub>2</sub>, 10.0mg/l phenol red, 1mg/ml Collagenase type I, 1.0mg/ml rabbit albumin, 2.0mg/ml glucose

## (3) PBS (phosphate buffered Saline):pH7.3

149.6mM NaCl, 3.0mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.64mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

## 4) 인삼성분과 조절물질의 처리

total saponin과 diol 및 triol saponin의 농도를 10<sup>-3</sup>%로 처리하였으며, 37°C 중탕기를 사용하여 시험관내에 100% 산소를 주입시키면서 하나 하나의 조절물질을 단독처리 또는 인삼성분과 복합처리하여 5분간 작용하도록 하였다.

## 5) cAMP의 양의 측정

cAMP assay kit를 사용하였으며, scintillation cocktail (Toluene, 667ml; Triton X-100, 333ml; PPO, 5.5g; POPOP, 0.1g) 20ml에 시료 200 μℓ를 넣어 liquid scintillation counter (PACKARD TRI-CARB 4530, U.S.A.)로 방사능을 4분간 측정하였다.

## 결과 및 고찰

## 1. 인삼성분 단독처리가 cAMP의 양에 미치는 영향

인삼성분만을 단독으로 투여한 실험군에서 total saponin을 투여한 경우 cAMP의 양은 대조군에 비하여 32.84% 증가하였으며, diol saponin의 경우 대조군에 비하여 14.43% 감소하였으며, triol saponin을 처리하였을 때에는 대조군에 비하여 12.94%의 증가로 total saponin의 경우에 비해서는 작은 폭으로 증가하였다(Table 1).

## 2. 인삼성분과 분비조절물질과의 복합처리가 cAMP의 양에 미치는 영향

Cholecystokinin과 total saponin과의 복합처리한 실험군에서는 대조군 수준인 97.51% 정도의 cAMP의 양이 나타났다. Diol saponin과의 복합처리한 실험군에서는 대조군에 비하여 cAMP의 양이 12.44% 감소하였으며 triol saponin과의 복합처리한 실험군에서는 대조군에 비해서 41.29% 증가하였다(Table 2).

Isoproterenol을 투여한 실험군에서는 단독처리하였을 때에는 대조군에 비하여 cAMP의 양이 56.22% 증가하였고, total saponin과의 복합처리한 경우에는 대조군에 비하여 16.92% 감소하였으며, diol saponin과 복합처리한 경우에는 대조군에 비하여 5.47% 증

가하였으나 이는 유의성이 없었다. Triol saponin 과 복합처리한 실험군은 대조군에 비하여 26.37% 증가하였다(Table 3).

**Table 1.** Comparison of effects of ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to control	P value
None	2.01 ± 0.03	100.00	
G	2.67 ± 0.05	132.84	P<0.001
DS	1.72 ± 0.07	85.57	P<0.01
TS	2.27 ± 0.05	112.94	P<0.001

cAMP content was measured in gland suspensions after a 5-min incubation in medium containing ginseng components. Concentrations of ginseng components used were: total saponin(G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin(TS),  $10^{-3}\%$ . Units are pmol/ml suspension. Values are mean ± SE for 4 experiments.

**Table 2.** Effects of cholecystokinin with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
CCK	2.73 ± 0.31	135.82	100.00	P<0.05
CCK + G	1.96 ± 0.05	97.51	71.79	P<0.001
CCK + DS	1.76 ± 0.07	87.56	64.47	P<0.02
CCK + TS	2.84 ± 0.13	141.29	104.03	P<0.001

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: cholecystokinin (CCK),  $3 \times 10^{-6}$ M; total saponin(G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin(TS),  $10^{-3}\%$ . Units and values are the same as in Table 1.

**Table 3.** Effects of isoproterenol with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
Iso	3.14 ± 0.24	156.22	100.00	P<0.001
Iso + G	1.67 ± 0.06	83.08	53.18	P<0.001
Iso + DS	2.12 ± 0.12	105.47	67.52	P>0.2
Iso + TS	2.54 ± 0.08	126.37	80.89	P<0.001

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: isoproterenol (Iso),  $10^{-5}$  M; total saponin(G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin (TS),  $10^{-3}\%$ . Units and values are the same as in Table 1.

Carbachol을 처리한 실험군은 cAMP의 양이 대조군에 비하여 40.30% 증가하였다. Total saponin과 복합처리한 실험군은 cAMP의 양이 대조군에 비하여 7.46% 감소하였으며 diol saponin과 triol saponin과 복합처리한 각각의 실험군에서는 대조군에 비하여 cAMP의 양이 각각 1.49%, 3.48% 증가하였으나 이 두가지 경우에는 모두 유의성이 없었다(Table 4).

**Table 4.** Effects of carbachol with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value to control
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
Car	2.82 ± 0.07	140.30	100.00	P<0.001
Car+G	1.86 ± 0.03	92.54	65.96	P>0.2
Car+DS	2.04 ± 0.08	101.49	72.34	P>0.2
Car+TS	2.08 ± 0.17	103.48	73.76	P>0.2

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: carbachol(Car),  $10^{-6}$  M; total saponin(G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin(TS),  $10^{-3}\%$ . Units and values are the same as in Table 1.

Propranolol을 단독으로 처리한 실험에서의 cAMP의 양은 대조군에 비하여 9.95% 감소하였으며, total saponin과 복합처리한 실험군은 대조군에 비하여 cAMP의 양이 6.47% 감소하였으며, diol saponin과 복합처리한 실험군은 대조군에 비하여 18.41% 감소하였다. 또한 triol saponin과 복합처리한 실험군은 대조군에 비하여 8.46% 증가하였다 (Table 5).

**Table 5.** Effects of propranolol with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value to control
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
Pro	1.81 ± 0.06	90.05	100.00	P<0.02
Pro+G	1.88 ± 0.02	93.53	103.87	P<0.02
Pro+DS	1.64 ± 0.12	81.59	90.61	P<0.02
Pro+TS	2.18 ± 0.03	108.46	120.44	P<0.01

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: propranolol(Pro),  $10^{-6}$  M; total saponin(G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin(TS),  $10^{-3}\%$ . Units and values are the same as in Table 1.

Atropine을 단독으로 처리한 실험군에서의 cAMP의 양은 대조군에 비하여 21.89% 감소하였으며 total saponin과 복합처리한 실험군에서는 4.48% 감소하였으나 이는 유의성이 없었다. Diol saponin과 복합처리한 실험군은 대조군에 비하여 cAMP의 양이 4.98% 감소하였다. Triol saponin과 복합처리한 실험군에서는 대조군에 비하여 0.50% 증가하였으나 유의성이 없었다(Table 6).

**Table 6.** Effects of atropine with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value to control
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
Atr	1.57 ± 0.17	78.11	100.00	P<0.05
Atr + G	1.92 ± 0.14	95.52	122.29	P>0.2
Atr + DS	1.91 ± 0.02	95.02	121.66	P<0.05
Atr + TS	2.02 ± 0.02	100.50	128.66	P>0.2

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: atropine(Atr),  $10^{-5}$ M; total saponin(G),  $10^{-3}$ %; diol saponin(DS),  $10^{-3}$ %; triol saponin(TS),  $10^{-3}$ %. Units and values are the same as in Table 1.

DBcGMP를 단독처리한 실험군은 cAMP의 양이 대조군에 비하여 13.93% 감소하였다. Total saponin과 복합처리한 실험군에서는 대조군에 비하여 65.17% 증가하였으며 diol saponin과 triol saponin과의 복합처리한 실험군 각각은 대조군에 비하여 각각 66.17%, 46.27% 증가하였다. 또한 DBcGMP를 단독으로 처리한 실험군에 비해서는 total saponin, diol saponin, triol saponin과 복합처리한 각각의 실험군이 각각 91.91%, 93.06%, 69.94% 증가하였다(Table 7).

**Table 7.** Effects of DBcGMP with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value to control
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
DBcGMP	1.73 ± 0.08	86.07	100.00	P<0.02
DBcGMP + G	3.32 ± 0.15	165.17	191.91	P<0.001
DBcGMP + DS	3.34 ± 0.31	166.17	193.06	P<0.01
DBcGMP + TS	2.94 ± 0.10	146.27	169.94	P<0.001

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: DBc GMP,  $10^{-3}$ M; total saponin(G),  $10^{-3}$ %; diol saponin(DS),  $10^{-3}$ %; triol saponin(TS),  $10^{-3}$ %. Units and values are the same as in Table 1.

DBcAMP를 단독처리한 실험군은 대조군에 비하여 cAMP의 양이 241.79% 증가하였으며, total saponin, diol saponin과 복합처리한 실험군 각각은 69.15%, 113.93%, 66.17% 증가하였다. 그러나 DBcAMP를 단독처리한 실험군에 비해서 이들 인삼성분 각각의 복합처리한 실험군은 각기 50.51%, 37.41%, 51.24% 감소하였다(Table 8).

**Table 8.** Effects of DBcAMP with ginseng components on cAMP content

	cAMP content	% to		P value to control
		control	alone	
None	2.01 ± 0.03	100.00		
DBcAMP	6.87 ± 0.68	341.79	100.00	P<0.001
DBcAMP + G	3.40 ± 0.22	169.15	49.49	P<0.001
DBcAMP + DS	4.30 ± 0.21	213.93	62.59	P<0.001
DBcAMP + TS	3.35 ± 0.10	166.17	48.76	P<0.001

cAMP content was measured as same as in Table 1. Concentrations of agents used were: DBcAMP,  $10^{-3}$  M; total saponin (G),  $10^{-3}\%$ ; diol saponin(DS),  $10^{-3}\%$ ; triol saponin(TS),  $10^{-3}\%$ . Units and values are the same as in Table 1.

서등<sup>14)</sup>은 대부분의 인삼분획(Rf=0.16~0.56)들은 adenylylase의 활성을 촉진시키고, Seo 등<sup>15)</sup>은 diol saponin에 포함되는 ginsenoside Rb2가 베타아드레날린효능성 수용체에 특이적으로 결합하리라는 결과와 관련시켜 볼 때 본 실험의 결과들은 인삼성분들이 수용체결합에서 경쟁적으로 작용할 가능성을 고려할 수 있으며, 칼슘과 cAMP에 의하여 중재되는 약물들에 있어서 여러가지 종류의 수용체에 대하여 각 인삼성분들이 각기 다르게 반응한 것으로 보인다. 그리고 cAMP의 양에 미치는 분비조절물질들에 대한 total saponin의 결과들은 대조군의 수준보다 최저 4%에서 최고 17%까지 적게 나타난 것은 인삼 saponin 중의 diol saponin과 triol saponin 및 그 이외의 성분들과의 상반적인 작용으로 상쇄되어 나타난 결과로 해석되며, cAMP의 양에도 극단적인 변화를 나타내지 않는 인삼의 정상화 작용이 나타나는 것으로 사료된다.

Diol saponin과 triol saponin은 carbachol과 atropine을 제외한 다른 약물들과의 복합처리에서 diol saponin은 약간의 억제, triol saponin은 상승작용을 나타내었는데, 이는 중추신경계에서 diol saponin은 진정효과가 나타나고 triol saponin은 흥분효과를 나타낸다는 보고와 같은 양상의 상반효과가 나타났다. diol saponin과 triol saponin은 cAMP의 양에 대하여 수용체결합의 경쟁양식 또는 작용양식의 차이가 고려되며, pepsinogen 분비에서도 두 양식에 수반되는 반응을 나타내는 것으로 사료된다.

Table 8과 9에서 나타난 것을 보면 인삼성분들이 정상적인 수준까지는 안되지만 DBcGMP의 억제작용을 증가시키고 DBcAMP의 극단적인 양상을 상당히 완화시켜주는 인삼의 정상화 경향이 나타나는 것으로 사료된다. 그러나 金<sup>8)</sup>이 시행한 DBcGMP 및 DBcAMP와 인삼성분과의 복합처리에 의한 pepsinogen 분비에서 볼 수 있는 정상화 작

용보다는 변화의 폭이 훨씬 크다.

이상의 결과들에서 살펴본 바와 같이 인삼성분들은 cAMP의 양에 영향을 주고 이러한 결과가 鄭등<sup>7)</sup>, 金<sup>8)</sup>이 발표한 인삼성분들이 pepsinogen의 분비촉진에 관련되고 있는 것으로 해석된다.

## 요 약

토끼 위의 주세포에서 cAMP의 양에 대한 인삼성분(total saponin, diol saponin, triol saponin)과 pepsinogen 분비조절물질(cholecystokinin, isoproterenol, carbachol, propranolol, atropine, DBcAMP, DBCGMP)의 효과를 *in vitro*에서 연구하였다. 인삼성분들은 그 종류에 따라 pepsinogen의 분비에 관여하는 전달자인 cAMP의 생성에 촉진 또는 억제적으로 영향을 미치며, diol saponin과 triol saponin이 분비조절물질에 대하여 상반작용을 나타내고, 인삼성분들은 정도의 차이는 있지만 정상화 작용의 경향을 볼 수 있었다.

## 인용 문헌

1. Sutherland, E. W. and T. W. Rall : *J. Biol. Chem.* **232**, 1077 (1958).
2. Kimberg, D. V. : *Gastroenterology* **67**, 1023 (1974).
3. Koelz, H. R., S. J. Hersey, G. Sachs, and C. S. Chew : *Am. J. Physiol.* **243**, G218 (1982).
4. Hersey, S. J., D. May, and D. Schyberg : *Am. J. Physiol.* **224**, G192 (1983).
5. Raufman, J. P., D. K. Kasbekar, R. T. Jensen, and J. D. Gardner : *Am. J. Physiol.* **245**, G525 (1983).
6. Hersey, S. J., A. Owirodu, and M. Miller : *Biochim. Biophys. Acta* **755**, 293 (1983).
7. 鄭魯八, 金世昌, 趙應行 : *延世論叢* **21**, 151 (1985).
8. 金世昌 : 박사학위논문, 연세대학교 대학원 (1985).
9. Shibata, S., O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima, and I. Oshawa : *Chem. Pharm. Bull.* **14(6)**, 595 (1966).
10. Woo, L. K. B. H. Han, D. S. Park, and W. L. Lah : *Kor. Pharmacol.* **4(4)**, 181 (1973).
11. Jung, N. P. and S.C. Kim : *Kor. J. Zool.* **21(3)**, 79 (1978).
13. Berglinde, T., and K. J. Obrink : *Acta Physiol.* **96**, 150 (1976).
15. Seo, K. L., J. G. Moon, M. K. Cha, K. S. Lee, S. Y. Lee, Y. Y. Lee, and I. Park : *Kor. J. Ginseng Sci.* **7(2)**, 148 (1983).