

인삼 분획성분들이 고지방식이에 의한 비만 유도 Rat에서 간장내 지방축적에 미치는 영향

배만종

경산대학 식품과학과

Effect of Ginseng Fraction Components on Fat Accumulation of Liver in the Obese Rat Induced by High Fat Dietary

Man-Jong Bae

Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungsan, 713~715, Korea

Abstract

This study is conducted to evaluate the effect of ginseng fraction components(ginseng extract solution : GES, ginseng protein : GP, ginseng saponin : GSA, ginseng residue : GR) upon hyperlipidemia and fatty liver induced by high fat administration. In doing so, the serum, liver and epididymal adipose tissue have been examined for lipid component level, cortisol and insulin level. The change of liver tissue has been observed by light and electron microscope. In the cortisol level, all experimental groups were lower compared to control group. The liver of rats observed histochemically. Control group appeared to be fatty liver, but GP and GSA group looks normal electron-microscopically. GES and GP group showed a slight improvement compared with control group.

서 론

전보¹⁾에서는 고지방 식이에 의한 비만유도 흙쥐에 인삼 분획 성분인 인삼 용액, 인삼 사포닌, 인삼 단백질, 인삼박 등이 지방축적 억제 효과를 규명하기 위하여 혈장, 간, 지방조직 중 지방성 분들의 침착도를 분석하고 지방대사에 중요한 영향을 미치는 지단백질과 이들의 전기영동 패턴, 분별 중 담즙산과 중성스테로이드 배설량을 분석 보고한 바 있다.

본 연구에서는 전보¹⁾에 이어 간장 조직의 광학 및 전자 현미경에 의한 조직검사와 호르몬 분비를 관찰하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 인삼은 금산산 5년 수삼을 대구 약령시장에서 구입하였으며 일반성분 함량은 단백질 15.9%, 지질 2.3%, 조선유 2.6%, 탄수화물 60.0%, 회분 3.0%였다.

인삼 fraction성분 분리

인삼성분 분획의 조제는 Fig. 1에서와 같이 동결건조한 인삼분말과 물의 비율을 1:10(V/V)로 하여 2시간 끓인 다음 여과하여 여액은 ginseng extract solution(이하 GES)으로 하였다. 인삼단백질은 수용성 단백질을 먼저 추출하고, 불용성 단백질은 Nash 등²⁾의 방법에 의하여 추출한 것을

혼합해시 ginseng protein(이하 GP)을 얻었다. 잔사²⁾ Joo³⁾의 방법으로 ginseng saponin(이하 GSA)을 추출하였으며 최종에 남은 잔사를 ginseng residue(이하 GR) 분획물로 규정하여 실험 재료로 사용하였다.

GES의 제조, GP 및 GSA의 추출 방법은 전보¹⁾와 동일하게 행하였다.

실험동물 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley 종의 수컷(170~180g)을 체중에 따라 난비법(randomized complete block design)에 의해 7마리씩 5군으로 다음과 같이 나누었다. 즉 high fat 식이(이하 HF) : 대조군(control group), HF+GES군(이하 GES군), HF+GP군(이하 GP군), HF+GSA군(이하 GSA군), HF+GR군(이하 GR군)이며 실험기간 동안

실험식이와 물은 제한 없이 먹도록 하였다. 실험식이와 구성성분은 Table 1과 같다^{4,5,6)}.

혈장 및 간장 채취

0, 2, 4, 6주간의 실험식이 굽여 후에 16시간 절식시키고 ether로 마취시켜 개복하여 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취한 다음 간장을 추출하였다. 혈장을 얻기 위해서 채혈 즉시 1mg/100 ml의 EDTA가 함유된 원심관에 넣어 냉장조건 하에서 3,000rpm, 10분간 원심분리시켜 상동액의 혈장을 얻었다. 적출한 간장은 혈관속의 혈액을 제거하기 위해서 생리식염수로 세척하고 여과자로 수분을 제거한 후 조직검사와 간의 자질분석을 위한 공시재료로 하였다.

Table 1. The composition of experimental diets

Ingredients	Groups	CON	GES	GP	GSA	GR
Casein		20.00	20.00	10.00	20.00	20.00
Sucrose		10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Starch		36.15	36.15	35.47	36.15	26.15
Hydrogenated palm oil		25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
Cellulose		2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Mineral mixture ¹⁾		3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
Vitamine mixture ²⁾		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline chloride		0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
DL-methionine		0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Cholesterol		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Sodium taurocholate		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
GES			20ml/kg/day			
GP				11.36		
GSA					50mg/kg/day	
GR						10.00

CON : Control, GES : Ginseng extract solution, GP : Ginseng protein, GSA : Ginseng saponin, GR : Ginseng residue. Ginseng protein contained the following : Moisture 10.7%, Protein(N×6.25) 82%, CaHPO₄, 500g ; NaCl, 74g ; K₃C₆HK₅O₇H₂, 220g ; K₂SO₄, 52g ; MgO, 24g ; 43~48% Mn, 3.5g ; 16~17% Fe, 6.0g ; 70% ZnO, 1.6g ; 53~55% Cu, 0.3g ; KIO₃, 0.01g ; Na₂SeO₃5H₂O, 0.01g ; CrK(SO₄)₂12H₂O, 0.55g ; Sucrose, finely powdered, to make 1,000g. 2. AIN-76TM Vitamin Mixture, contained : Thiamin HCl, 600mg ; Riboflavin, 600mg ; Pyridoxine HCl, 700mg ; Nicotinic acid, 3g ; D-Calcium pantothenate, 1.6g ; Folic acid, 200mg ; D-Biotin, 20mg ; Vitamin B-12, 1mg ; Vitamin A, 400,000 IU ; Vitamin E, 5,000 IU ; Vitamin D3, 2.5mg ; Vitamin K, 5.0mg ; Sucrose, finely powdered, to make 1,000g.

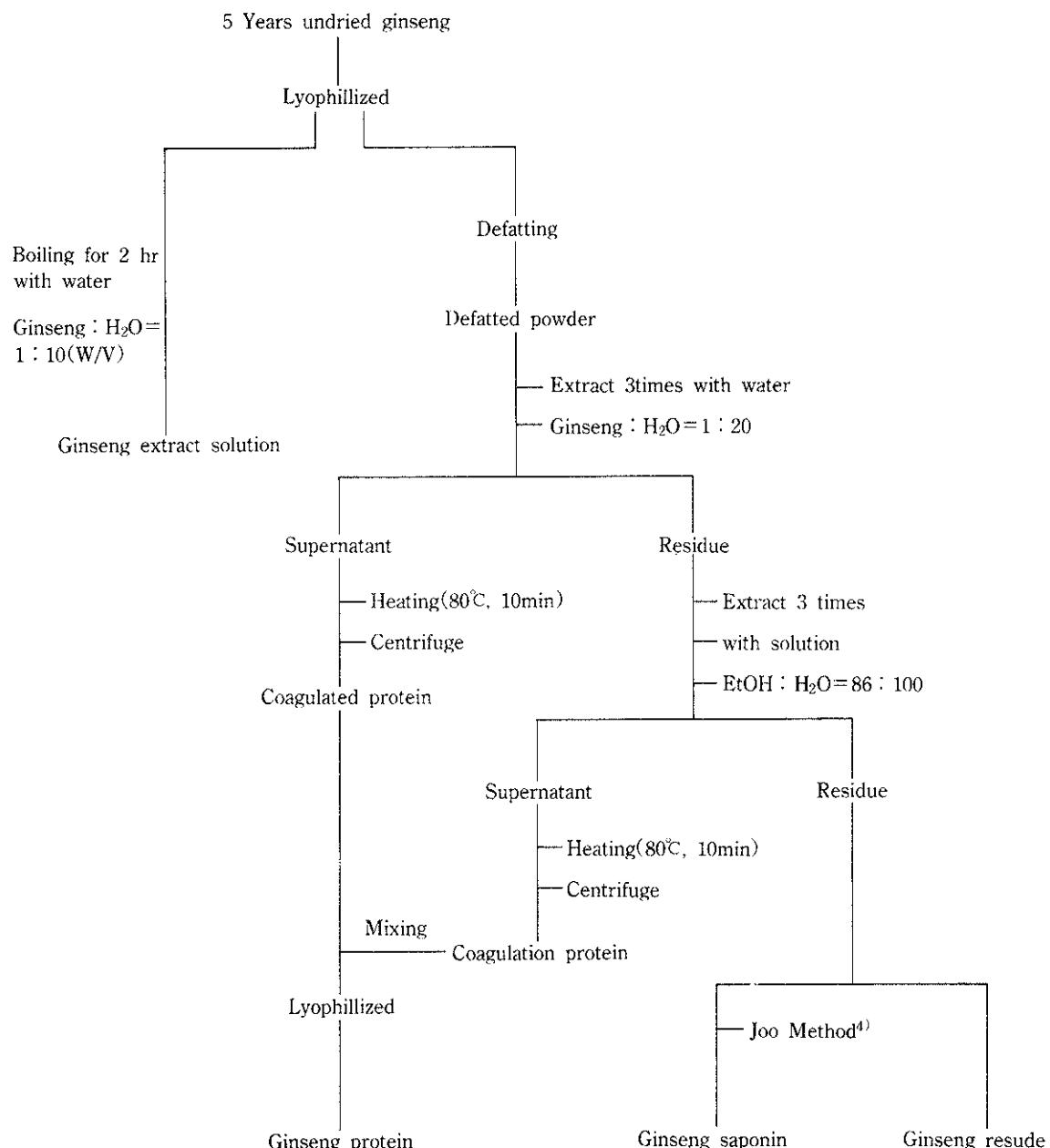


Fig. 1. Scheme of Ginseng fraction.

간장 중 지질정량

16시간 절식시킨 쥐에게 적출한 간장은 glass homogenizer를 사용하여 10배량의 생리식염수로 마쇄하였다. 마쇄액은 Folch법⁷⁾에 의해 지질을 추출하고, 조직중의 각종 지질은 혈장의 방법에 준해서 정량하였다.

호르몬 분석

혈장 중 코티졸⁸⁾과 인슐린 함량⁹⁾은 radioimmunoassay법에 따라서 γ -counter로 측정하였다.

간장의 형태학적 분석

1) 광학현미경적 관찰

간장의 일반적인 조직학적 관찰을 위하여 개복 즉시 간장의 중엽에서 일부 간장 조직을 절취하고 10% neutral formalin 용액에 고정한 다음 수세, 털수 과정을 거친 후 paraffin 포매하였다. Paraffin block은 4~5μm 두께로 박절하여 H-E 염색하고 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 전자현미경적 관찰

간장 세포내 미세구조의 변화를 관찰하기 위하여 간장 조직의 일부를 1mm의 크기로 세절하여 신선한 2.5% glutaraldehyde에 전 고정하였으며, 1% OsO₄에 후 고정한 다음 탈수과정을 거친 후 Epon 812에 포매하였다. Block은 glass knife로 50~60mm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 전자현미경으로

관찰하였다.

결과 및 고찰

간장 중 총지질 함량

실험 직전과 실험 2, 4, 및 6주에 간장 중의 총지질 함량을 표시한 성적은 Table 2와 같다.

간장 중 대조군의 총지질은 실험기일이 경과함에 따라 실험 6주에서 실험 직전에 비해 약 2배 축적되었다. GP군과 GSA군은 대조군에 비해 축적억제가 현저하여 실험 6주에서 대조군이 77.80±5.90mg/dl에 비해 GP군은 52.40±5.70mg/dl로 32.7%(P<0.01), GSA군은 58.70±4.70mg/dl로 24.6%(P<0.01) 감소하였다.

혈장 중 인슐린과 코티졸의 함량

Table 3과 4은 대조군과 각 실험군의 6주간 사육한 후 혈장 중 인슐린과 코티졸의 함량을 분석한 결과이다. 인슐린 분비량은 GES군, GP군, GSA군은 비슷한 수준으로 대조군 보다 조금 높게 나타났으나 GR군은 P<0.01의 유의성이 인정되는 감소를 보였다. 코티졸은 대조군 0.73±0.05μg/dl에 비해서 모든 실험군에서 유의성(P<0.1~P<0.01)이 인정되는 감소를 나타냈다. 이 호르몬은 지질이동에 영향을 주어 지방분해를 자극해서 지방조직으로부터 지방산의 유출에 영향을 준다. 즉 지방분해와 ester화 과정은 동시에

Table 2. Effect of ginseng fraction on liver total lipid level of rats fed high fat-diet for 0, 2, 4 and 6 weeks

mg/dl

Group	Liver total lipid			
	0	2	4	6 Weeks
CON	35.40±4.70	48.60±5.70	68.30±4.50	77.80±5.90
GES	--	52.70±4.90	62.40±5.20	70.70±6.30
GP	--	40.50±4.50	50.70±4.20* *	52.40±5.70* *
GSA	--	41.30±5.70	52.70±5.60	58.70±4.70* *
GR	--	46.60±4.80	63.40±5.70	64.30±5.90

All values are means± standard error of seven rats.

* : Statistically significance compare with control group (** : P<0.01).

CON : Control, GP : Ginseng protein, GES : Ginseng extract solution, GR : Ginseng residue, GSA : Ginseng saponin

Table 3. Effect of ginseng fractions on insulin level in rats fed high fat-diet for 6 weeks

Group	CON	GES	GP	GSA	GR	AU/ml
Insulin	0.45± 0.63	12.23± 0.56**	10.13± 1.36	11.23± 1.44	5.85± 0.25**	

Table 4. Effect of ginseng fractions on cortisol in rats fed high fat-diet for 6 weeks

Group	CON	GES	GP	GSA	GR	ug/dl
Cortisol	0.73± 0.11	0.47± 0.01*	0.25± 0.01**	0.53± 0.05	0.52± 0.06	

All values are means± standard error of six rats.

* : Statistically significance compare with control group (* : P<0.05, ** : P<0.01).

CON : Control, GP : Ginseng protein, GES : Ginseng extract solution, GR : Ginseng residue, GSA : Ginseng saponin

진행되고 가역반응 기작에 의해 이를 호르몬이 제어된다.

William¹⁰⁾은 gerbils를 대상으로 한 동물실험에서 혈장 중 인슐린 농도가 카제인을 석이했을 때 보다 대두 단백질이 높게 나타냈음을 보고했다. 한편 Vahouny 등¹¹⁾은 카제인을 석이한 흰쥐에서는 오히려 그 반대 결과를 얻었다. Floyd 등¹²⁾은 인슐린 분비는 arginine, leucine과 lysine 같은 아미노산의 자극에 의해서 뿐만 아니라 탄수화물들이 인슐린 분비를 자극하는 아미노산들의 작용에 영향을 줄 수 있기 때문이라고 했다.

간장조직과 혈중 유리지방산의 증가는 지방조직으로부터 유래된 것이며 대조군이 다른 실험군에 비해서 증가됨을 볼 수 있고 이것은 지방조직으로부터 유리지방산의 분비를 자극하는 코티졸 수치의 결과와 일치한다.

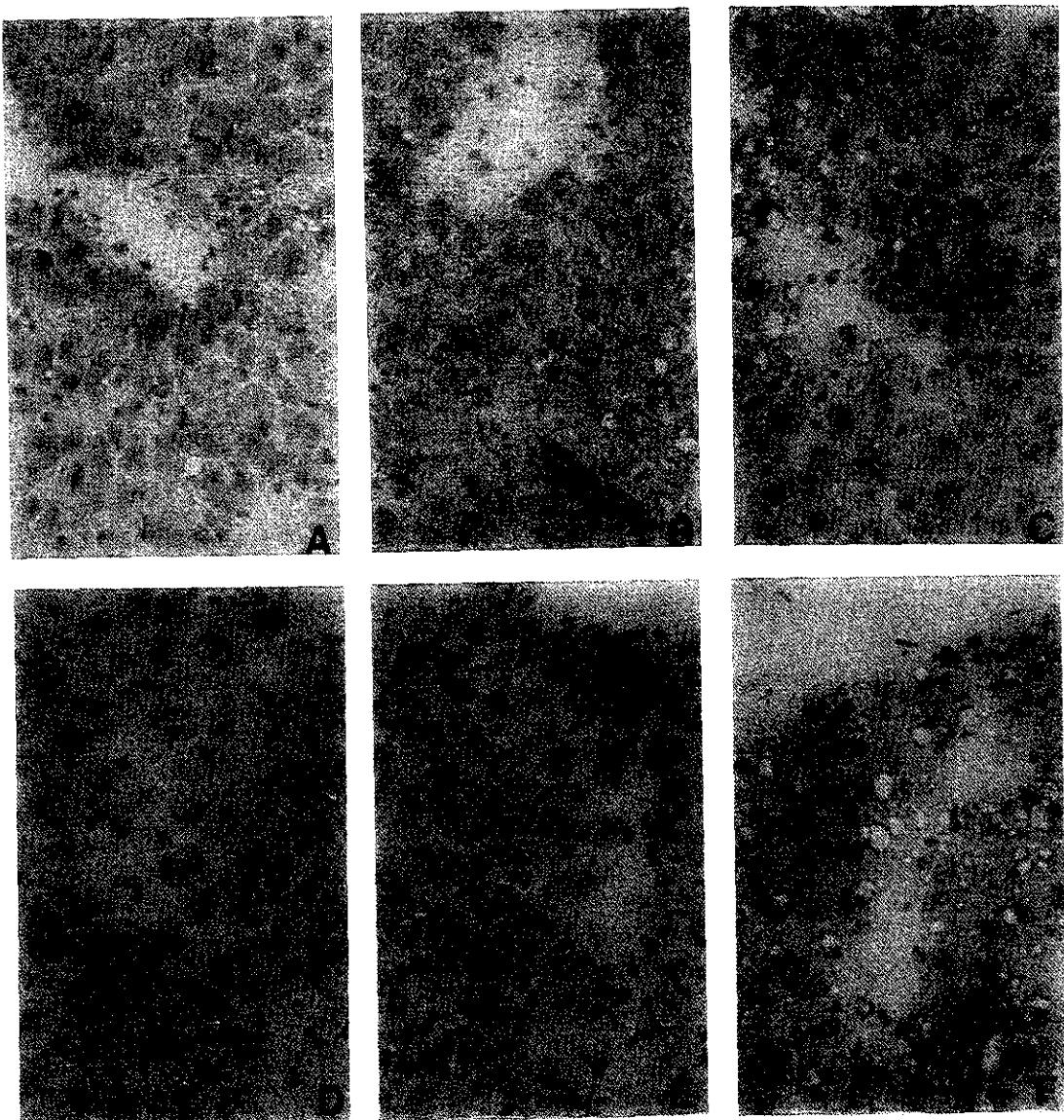
간장의 조직학적 형태

간장 조직을 oil red-O로 염색 처리한 후 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2-A는 정상 간장 조직의 것이며, Fig. 2-B는 대조군으로써 아주 심한 정도의 지방침착을 관찰할 수 있었고, GP(Fig. 2-D)와 GSA(Fig. 2-E)의 것으로써 정상군에 가까울 정도였으며 아주 경한 지방변성을 보였다. GES군과 GR군은 Fig. 2-C와 Fig. 2-F에서 보여주는 바와 같이 고지방 식이군에 가까울 정도로 심한 지방침착을 보였다.

간세포의 전자현미경적 관찰에서는 대조군은 Fig. 3-A와 Fig. 3-B로써 세포질에 크고 작은 지방소적이 가득차 있고 mitochondria는 다소 팽창된 모습을 보였다. 담도세관(Bc)이 확장되어 있으며 mitochondria는 완전히 소실되어 있다. 일부 다른부위에서는 (Fig. 3-B.) 동양세관(Sin)이 심하게 확장된 모습을 보였고 혈관의 내피도 소실되었다. 또한 Disse's 강내 fat storing cell(FS)은 지방소적들을 함유하고 있었다.

Fig. 3-C는 GES군으로써 간세포내 지방소적은 다소 감소되었으나 다른 소기관들은 심한 변성을 하였다. 즉 mitochondria가 팽창되고 망상조직은 분절되었다. Fig. 3-D는 GP군으로 대조군에 비해 지방소적은 심하게 감소되었으며 일부 지방소적은 lysosome에 나타났으며, 망상조직(RER)은 비교적 잘 보존된 모습이었다. Fig. 3-E는 GSA군으로 역시 지방소적이 현저히 감소되었고 담도세관도 어느 정도 회복되었다. Golgi체의 증식과 lysosome의 출현이 특징이었으며 mitochondria들은 RER에 둘러싸여 있었다.

Fig. 3-F군은 지방소적이 많고 세포 소기관은 심하게 파괴되어 있었다. Stuart 등¹³⁾은 고콜레스테롤 급여 흰쥐에게 간세포질에 지방광포 출현을 관찰하였고, Drevon 등¹⁴⁾도 지질부여 guinea pig에서 간의 현저한 콜레스테롤 축적, 간세포내 지방구 출현과 아울러 인지질의 증가를 보였다고 기술하였다.

Fig. 2-A. Liver of rat fed normal diet for 6 weeks($\times 200$)Fig. 2-B. Liver of rat fed high fat diet for 6 weeks($\times 200$)Fig. 2-C. Liver of rat fed high fat diet and administered to ginseng extract solution for 6 weeks($\times 200$)Fig. 2-D. Liver of rat fed high fat diet and administered to ginseng protein for 6 weeks($\times 200$)Fig. 2-E. Liver of rat fed high fat diet and administered to ginseng saponin for 6 weeks($\times 200$)Fig. 2-F. Liver of rat fed high fat diet and administered to ginseng residue for 6 weeks($\times 200$)

본 실험에서 실험 식이 중 인삼사포닌 투여군과
인삼단백질 투여군에서 간세포내 지방침착이 대
조군에 비하여 경감을 보여, 정상소견으로 지방
간은 나타나지 않았다.

요약

Sprague-Dawley 흰쥐에 고지방식이로 0, 2, 4,
6주간 투여하면서 인삼용액(ginseng extract solu-

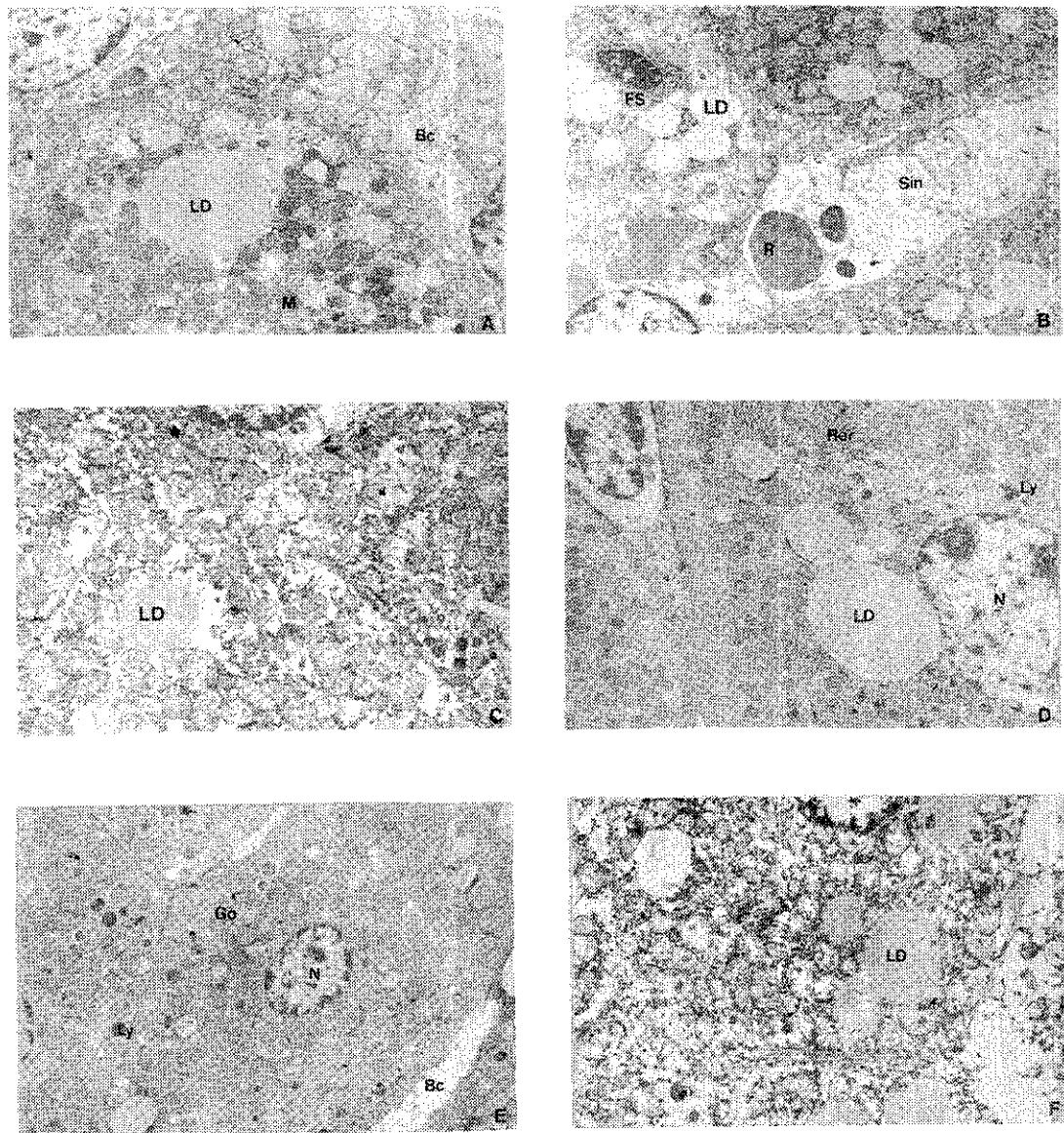


Fig. 3-A.B. Hepatic cell cytoplasma of rat fed high fat diet for 6 weeks($\times 1300$).

Fig. 3-C. Hepatic cell cytoplasma of rat fed high fat diet and administered to ginseng extract solution for 6 weeks($\times 1300$).

Fig. 3-D. Hepatic cell cytoplasma of rat fed high fat diet and administered to ginseng protein for 6 weeks($\times 1300$).

Fig. 3-E. Hepatic cell cytoplasma of rat fed high fat diet and administered to ginseng saponine for 6 weeks ($\times 1300$).

Fig. 3-F. Hepatic cell cytoplasma of rat fed high fat diet and administered to ginseng residue for 6 weeks($\times 1300$).

tion : GES), 인삼단백질(ginsengprotein : GP), 인삼사포닌(ginseng saponin : GSA), 인삼박(ginseng residue : GR)의 분획성분들을 급여하였다. 이들 각 성분군의 간장조직에서 지방성분의 수준은 측정하고, 지방의 분해와 합성에 관여하는 코티솔과 인슐린의 함량을 측정하였다. 또한 지방침작의 세포과와 가능을 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다. 지방조직으로부터 유리지방산의 유출을 자극하는 호르몬인 코티솔은 대조군에서 가장 높았고 인삼단백질 주여군에서 가장 낮게 나타났다. 간장의 병리조직학적 조건에서 대조군에서는 지방간이 나타났으며 인삼단백질과 인삼사포닌군에서는 거의 지방간이 나타나지 않았다. 인삼용액과 인삼박 급여군에서는 거의 대조군과 비슷한 지방간을 형성하고 있다.

문 헌

1. 배만종, 성태수, 최정 : 인삼분획성분들이 고지방식이에 의해서 유도된 비만 rat에서 혈장, 지방조직 및 변 steroid에 미치는 영향. *Korean J. Ginseng Sci.*, 14(3), 404(1990)
2. Nash, A. M., Eldridge, A. C. and Wolf, W. J. : Fractionation and characterization of alcohol extractables associated with soybean proteins, non-proteins components. *J. Agr. Food Chem.*, 15, 102(1967)
3. Joo, C. N. and Han, J. H. : The effect of ginseng saponins on pig cardiac isocitrate dehydrogenase. *Korean Biochem. J.*, 9, 237(1976)
4. Neves, L. B., Clifford, C. K., Kohler, G. O., De Fremery, D., Knuckles, B. E., Cheowtirakul, C., Miller, M. W., Weir, W. C. and Clifford, A. J. : Effects of dietary proteins from a variety of sources on plasma lipids and lipoproteins of rats. *J. Nutr.*, 110, 732(1980)
5. Saroj Tawde, M. Sc., Ph. D., and DAS, B. R., Sc. M., Ph. D. : Studies in experimental hypercholesterolemia in rats, IV. Effect of dietary

- cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintained on high fat diets. *J. Lab. & Clin. Med.*, 60(2), 284(1962)
6. Report of the American Institute of nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *Federation Proc.*, 33, 1748(1974)
7. Folch, J. and Lees, M. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497(1957)
8. Reid, R. L. : β -endorphin stimulates the secretion of insulin and glucagon in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52, 592(1981)
9. Cuillemin, R. : Radioimmunoassay for α -endorphin and β -endorphin. *Bioche. & Biophysic Research Communications*, 77, 361(1977).
10. William A. Forsythe, III : Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentration in the gerbil *Meriones unguiculatus*. *J. Nutr.*, 116, 1165(1986).
11. Vahouny, G. V., Adamson, I., Chalcarz, W., Satchithanandam, S., Muesing, R., Klurfeld, D. M., Temper, S. A., Danghvi, A. and Kritchevsky, D. : Effect of casein and soy protein on hepatic and serum lipids and lipoprotein lipid distribution in the rat. *Atherosclerosis*, 56, 127(1985)
12. Floyd, J. C., Fajans, S. S., Pek, S., Thiffault, C. A., Knoph, R. F. and Conn, J. W. : Synergistic effect of essential amino acids and glucose upon insulin secretion in man. *Diabetes*, 19, 109(1970)
13. Stuart, A. E. and Smith, I. L. : Histological effects of lipids on the liver and spleen of mice. *J. Pathol.*, 115, 63(1975)
14. Drevon, C. A. and Hovig, J. : The effects of cholesterol fat feeding on lipid levels and morphological structure in liver, kidney and spleen in quinea pigs. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. A*, 85, 1(1977)

(1990년 12월 20일 접수)