

한국 홍삼의 면역활성 및 항암효과에 관한 실험적 연구

장성강 · 김주현 · 정윤신 · 안동춘 · 강명재 · 이동근 · 김상호
전북대학교 의과대학 병리학교실
(1994년 9월 27일 접수)

An Experimental Study on the Effect of Immunopotential and the Anticancer Effect of Red Ginseng Extract

Sung-Kang Jang, Joo-Heon Kim, Yun-Shin Chung, Dong-Choon Ahn,
Myoung-Jae Kang, Dong-Geun Lee and Sang-Ho Kim
Department of Pathology, Chonbuk National University, College of Medicine
(Received September 27, 1994)

Abstract: To evaluate the anticarcinogenic effect and its mechanism of red ginseng, the mice were treated with red ginseng and received subcutaneous B16 melanoma cell line injection on the back. Tumor incidence was same (100%) both in water and red ginseng-treated groups, but tumor production was delayed in red ginseng-treated group. Survival time was somewhat longer in red ginseng-treated group. The histopathological findings were similar in both groups, but lymphocytic infiltration around the tumor and melanin production in the tumor cells were prominent in the red ginseng-treated group. Flow cytometric analysis on T lymphocytes and natural killer cells revealed increased T_H/T_S ratio and increased NK cells in red ginseng-treated group. These results suggest that the anticarcinogenic effect of red ginseng may be exerted by the increased cell-mediated immunity and natural killer cell activity.

Key words: Anticancer effect, red ginseng, B16 melanoma cell line.

서 론

Panax ginseng C.A. Meyer라는 학명을 가지고 있는 인삼은 五加科(Alaliaceae)에 속하며, 원래 한국 및 인접한 만주지방의 산에서 자생하였던 것인데 현재는 인공적으로 재배하게 되었다. 홍삼은 특수한 성장조건에서 6년간 재배한 인삼중 품질이 우수한 것을 골라 가공되고 있는 인삼제품이다.

인삼은 예로부터 한국을 비롯하여 중국, 일본 등 동양에서 강장제 및 보약으로 널리 사용되어 왔으며, 오늘날에는 이에 대한 연구가 활발히 진행된 결과 인삼의 유효성분 및 약리작용이 밝혀지고 있다.

인삼의 주요 성분으로서는 인삼배당체(ginsenoside or panax saponin), RB1(protoanaxdiol group) 및 Rg1(protoanaxtriol group) 등이 알려져 있다. 또 인삼의 주요 약리작용으로서 山本¹⁾는 뇌신경기능 항진, 성선자극, DNA 및 RNA 합성 촉진, 지질 및 단백질 합성 촉진, 조혈기능 항진 및 혈당강화 작용을, Karzel²⁾은 항염증 작용을, Kasaki³⁾는 위기능 회복작용을 각각 보고하였으며, 이외에도 말초혈행 촉진 및 노화 방지작용⁴⁾ 방사선에 대한 방어작용⁵⁾ 및 면역능 항진작용^{6,7)}에 관한 보고를 접할 수 있다.

특히 Brekhman 등⁸⁾은 인삼에 개체의 비특이적 저항성을 증대시키는 효과가 있다고 보고하였다. 인삼추출물의 유의한 면역능 항진작용에 대하여 Singh 등⁹⁾은 인삼투여로 세포의 항체 생성능이 증가하였고, 양의 적혈구에 대한 혈액내 순환항체의 역가가 증진

이 논문은 1993년도 학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

되었으며, Semliki forest virus(SFV) 항원에 대한 면역성이 높아지며, 자연살해세포의 활성화도 증가한다고 보고하였다.

면역계는 한 개체에서 발암 억제에 중요한 역할을 하며, 면역기능이 억제된 환자나 실험동물에서 종양 형성이 증가한다는 사실이 이를 뒷받침해주고 있다. 그러나, 면역감시체계에 대해서는 많은 반론이 제기되고 있으며, 그 대부분은 항종양 방어계에서 T림프구가 중심역할을 한다는 것에 대한 반박이다.^{10) 12)} 그래서 종양세포나 어떤 표적세포를 자발적으로 용해하는 자연살해세포에 관심이 집중되고 있으며, 자연살해세포의 활성화가 면역감시체계의 가장 중요한 기전이 된다는 가설이 제기되고 있다.^{13) 19)}

근래에 인삼의 항암효과에 대한 연구가 진행되고 있는데, 화학적 발암물질을 이용한 실험에서 김 등²⁰⁾은 홍삼추출액이 간에서 전암변형성 억제효과를 보인다고 하였으며, 윤 등²¹⁾은 폐장과 간장에서 종양 발생빈도와 종양증식이 억제되었다고 보고하였다.

본 연구는 인삼제품 중 saponin, Rg1, Rb1 등의 함량이 가장 높은 홍삼정을 이용하여 항암효과 및 면역능에 관여하는 기전을 밝힐 목적으로 홍삼을 투여한 마우스에 B16 흑색종 세포주를 주입하여 종양을 유발시킨 후 형태학적 관찰과 더불어 종양의 성장억제에 관여하는 것으로 알려진 T림프구와 자연살해세포의 활성을 검색하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 동일 조건하에서 사육한 생후 4주(체중 10~15 gm)된 C57BL/6 마우스 120마리를 암수 구별없이 사용하였다. 실험동물은 실험군(100마리)과 대조군(20마리)으로 구분하였으며, 실험군에는 B16 흑색종 세포주를 피하에 주입하여 종양을 유발시켰고, 대조군에는 아무런 처치도 하지 않았다. 실험군은 생후 5주째부터 물만을 부여한 실험 1군과 홍삼용액을 투여한 실험 2군으로, 대조군 역시 생후 5주째부터 물만을 투여한 대조 1군과 홍삼용액을 투여한 대조 2군으로 각각 세분하였다.

2. 홍삼용액 투여 및 종양유발

홍삼은 한국담배인삼공사에서 제조한 홍삼정을 5 mg/ml의 수용액으로 만들어 대조 2군 및 실험 2군의

실험동물에 이유 후(생후 4주 경과 후) 계속적으로 제한없이 마시게 하였다. 종양을 유발시킨 실험군에는 생후 10주째에 B16 흑색종 세포주를 실험동물의 배부에 피하주입하였다. B16 흑색종 세포주는 CO₂ incubator에서 일주일간 계대 배양한 후 10% fetal calf serum을 포함한 RPMI 1640으로 희석한 세포 부유액을 1×10⁶ cell/ml로 조절하여 0.1 ml씩 주입하였다.

3. 종괴의 성장도와 생존기간의 측정

종괴의 성장도와 생존기간의 측정은 실험 1군과 실험 2군 모두 B16 흑색종 세포주를 주입한 후 일주일째부터 5일 간격으로 종양의 크기를 측정하고, 종양으로 인한 각 군의 생존기간을 측정하였다. 종양의 성장도는 종양의 무게로써 비교하였는데 다음의 공식에 의하여 산출하였다.

$$\text{종양의 무게(mg)} = \frac{\text{장축의 길이(mm)} \times \text{단축의 길이(mm)}^2}{2}$$

4. 병리조직학적 및 전자현미경적 검색

대조 1, 2군은 생후 12주째와 14주째에 각각 5마리씩 희생시키고, 실험 1, 2군은 B16 흑색종 세포주를 주입한 후 3주째와 5주째(생후 12주째와 14주째)에 각각 5마리씩 희생시켜 면역계에 관련된 비장, 흉선, 림프절을 절취하고 실험 1, 2군에서는 유발된 종양을 추가로 절취하였다. 이들 절취조직들에 대하여는 선택적으로 조직학적 및 전자현미경적 검색을 시행하였다.

조직학적 검색은 통상 방법으로 파라핀 절편을 만들어 H&E 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

전자현미경적 검색은 각 장기조직을 직출 직후 약 1 mm³ 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde(pH 7.4) 용액에 실온에서 2시간 전고정시킨 후, 0.5% sucrose가 포함된 0.05 M cacodylate 완충액으로 2시간 동안 세척하고, 2% OSO₄와 0.1 M cacodylate 완충액을 동량 혼합한 용액으로 고정시킨 후, 계열 에칠알콜로 탈수와징을 거친 뒤 Epon 812로 포매하였다. 포매조직은 초박절편기(LKB, Model 2188-050)로 1 μm 두께의 절편을 만들고, 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 적장부위를 확인한 후, 다시 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 한 후, 투과전자현미경(JEM 1200, E XII)으로 관찰하였다.

5. 세포성 면역반응 측정

세포성 면역반응 측정은 병리조직학적 검색에 이용된 실험동물과 실험군별로 동일한 개체가 이용되었다. 즉, 생후 12주째와 14주째되는 대조 1, 2군과 실험 1, 2군의 마우스를 각각 5마리씩 모두 40마리의 실험동물을 사용하였다.

T 림프구 반응 : 실험동물의 비장을 적출한 후 림프구를 분리하여 만든 $4 \times 10^6/\text{ml}$ 의 세포부유액 $100 \mu\text{l}$ 와 $10 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ 로 조절한 phytohaemagglutinin(PHA, Sigma Chemical Co.) $50 \mu\text{l}$, 그리고 RPMI-1640배지 $50 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 96 well flat bottomed culture plate에 주입하고 42시간 동안 5% CO_2 incubator에서 3배수로 배양한 후 1 well당 $25 \mu\text{l}$ 의 ^3H -thymidine을 가하여 18시간 더 배양하였다. 그리고 세포를 glass fiber filter에 회수하여 건조시킨 후 카테일 용액 3ml 을 첨가하고 β -counter를 이용하여 방사선 양을 측정하였다.

유세포기를 이용한 T세포의 측정 : T-림프구, 그리고 T_H -림프구와 T_S -림프구의 비율을 알아보기 위하여 flow cytometry를 이용하였다. 우선 비장을 적출한 후 비장세포의 수를 $2 \times 10^7/\text{ml}$ 로 적정한 세포현탁액을 형광물질이 부착된 단클론 항체, 즉 anti-Thy1.2., anti-L3T4, anti-Lyt-2를 이용하여 염색하고 FACS-can으로 검색하였다. T-림프구의 염색은 시험관내에서 pan T marker(Goat Anti-mouse Thy 1.2 conjugated FITC; Becton-Dickinson Inc., U.S.A.) $4 \mu\text{l}$ 를 RPMI-1640 $46 \mu\text{l}$ 에 희석하고 비장세포 부유액 $50 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 빛이 차단된 실내에서 40분간(4°C) 반응시켰다. 그리고 D-PBS로 5분 동안 2회 세척하고 FACScan으로 검색하였다. T_H -림프구와 T_S -림프구의 염색은 각각 Becton-Dickinson사의 CD4 monoclonal antibody(Goat Anti-mouse L3T4 conjugated PE)와 CD8 monoclonal antibody(Goat Anti-mouse Lyt-2 conjugated FITC)를 이용하여 T-림프구의 염색방법과 동일하게 시행하였다.

유세포기를 이용한 NK 세포의 측정 : NK 세포의 비율을 알아보기 위하여 비장을 적출한 후 비장세포의 수를 $2 \times 10^7/\text{ml}$ 로 적정한 세포현탁액을 형광물질이 부착된 단클론항체, 즉, anti-NK1.1을 이용하여 염색하고 FACScan으로 검색하였다. NK 세포의 염색은 시험관내에서 NK 세포표지자(Goat Anti-mouse NK1.1 conjugated PE : PharMingen Co., U.S.A.) $2 \mu\text{l}$ 를

RPMI-1640 $48 \mu\text{l}$ 에 희석하고 비장세포 부유액 $50 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 빛이 차단된 실내에서 20분간(4°C) 반응시켰다.

통계처리 : 본 실험의 결과는 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하여 Student's t-test를 이용하여 비교 분석하였다.

결 과

1. 종괴의 발생율, 성장도 및 생존율의 측정

홍삼을 투여하지 않은 실험 1군 40마리와 홍삼을 투여한 실험 2군에 속하는 마우스 40마리에 대한 B16 흑색종 세포주 주입 1주째에 실험 1군에서는 50%의 실험동물에서, 실험 2군에서는 52.5%의 실험동물에서 종양이 발생하여 두 군 사이에서 종양발생율의 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나 12일째와 17일째에는 실험 1군에서 82.5%와 95%, 실험 2군에서는 65%와 82.5%의 발생율을 보였고, 22일째에는 실험 1군에서는 100%, 실험 2군에서는 90%의 발생율을 보였으며, 실험 2군은 B16 흑색종 세포주 주입 후 32일째에 100%의 발생율을 보였다(Fig. 1).

실험 1군과 2군에서 암세포 주입 7일째에 발생한 종양 중량이 평균 0.1g 으로 종괴의 중량차가 없었으며, 12일째부터 실험 2군이 실험 1군에 비하여 종괴의 크기가 증가하여 32주째에는 실험 1군이 $7.4 \pm 2.2 \text{g}$,

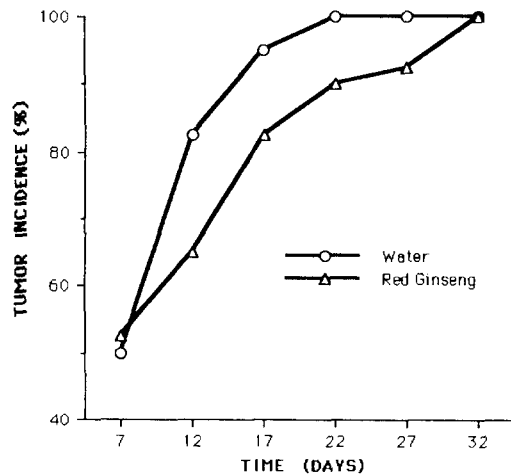


Fig. 1. Effect of red ginseng on the tumor incidence in mice treated with B16 cell line.

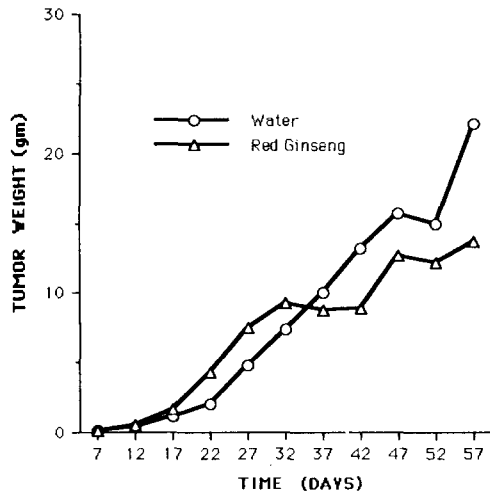


Fig. 2. Tumor growth rate of water or red ginseng-treated mice after B16 cell line injection.

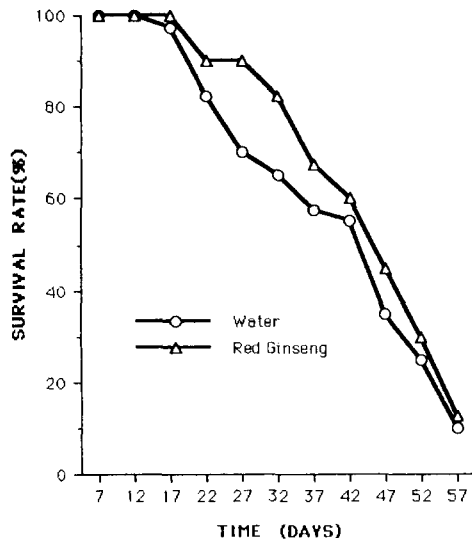


Fig. 3. Survival rates of water or red ginseng-treated mice after B16 cell line injection.

실험 2군이 9.2±3.3g에 달하였다. 그러나, 37일 이후부터는 실험 1군이 실험 2군에 비하여 종괴의 크기가 더욱 증가하여 57일째에는 실험 1군이 22.2±5.1g, 실험 2군이 13.7±4.8g에 달하였다(Fig. 2).

담압상태의 실험동물은 암세포 주입 12일째까지는 실험 1, 2군에서 한마리도 사망하지 않았고, 17일째에 실험 1군에서 한마리가 사망하였다. 실험동물의 50%는 실험 1군 및 2군에서 공히 암세포 주입 후 42일

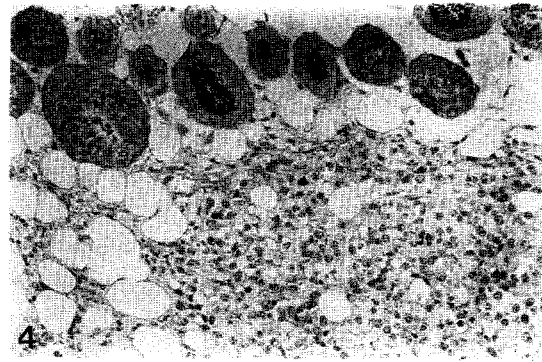


Fig. 4. Two weeks following B16 cell injection in water-treated mouse. Tumor cells with solid growth pattern infiltrate subcutaneous fat tissue. No tumor necrosis or lymphocytic infiltrates is recognized. (H&E, ×100)

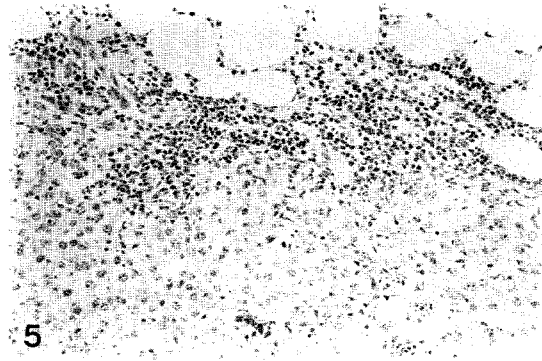


Fig. 5. Two weeks following B16 cell injection in red ginseng-treated mouse. Lymphocytic infiltrates around the tumor cell nest and melanin pigment deposits are recognized. (H&E, ×100)

이상 생존하였으나 그후 실험동물의 사망이 급격히 증가하여 실험 1군에서는 60일째에, 실험 2군에서는 64일째에 모든 실험동물이 사망하였다(Fig. 3).

2. 병리조직학적 검색

육안적 소견 : 종양은 육안적으로 마우스 배부에 흑색의 결절로서 발생하였고 주위조직과의 경계는 비교적 좋았으며 점차 크기가 증가하면서 궤양 및 괴사를 동반하는 경향을 보였다.

조직학적 검색 : 홍삼을 부여하지 않고 B16 흑색종 세포주를 주입한 실험 1군에서 세포주 주입 후 2주째 (생후 12주째)에 발생한 종양은 인접한 배부의 근육을 침범하고 있으나 주위조직과의 경계가 비교적 좋고 국소적인 종양세포괴사 소견이 관찰되었다(Fig. 4).

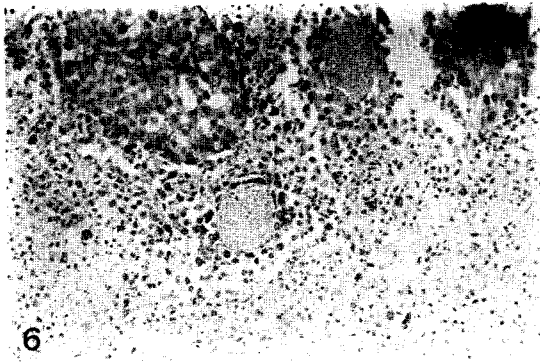


Fig. 6. Four weeks following B16 cell injection in water-treated mouse. Tumor cell necrosis without lymphocytic infiltrates. Nuclear debris and scanty viable tumor cells around the blood vessels are recognized. (H&E, $\times 100$)

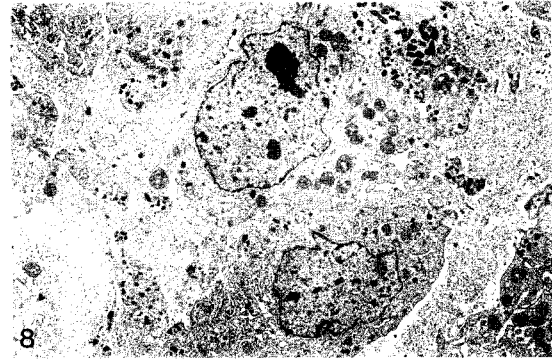


Fig. 8. Two weeks following B16 cell injection in water-treated mouse. The tumor cells contain relatively scanty melanosomes and moderate number of mitochondria. An irregular nucleus with a prominent nucleolus is present. (Uranyl acetate and lead citrate, $\times 2,500$)

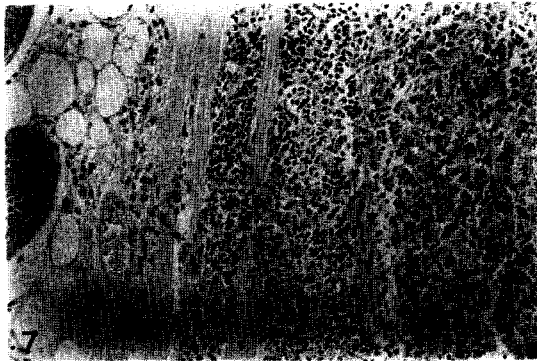


Fig. 7. Four weeks following B16 cell injection in red ginseng-treated mouse. Tumor cell necrosis with abundant peripheral lymphocytic infiltration. (H&E, $\times 100$)

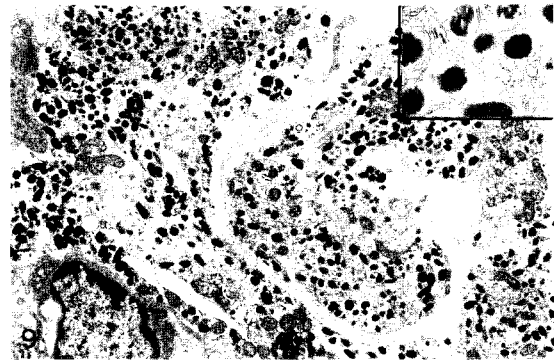


Fig. 9. Two weeks following B16 cell injection in red ginseng-treated mouse. A number of melanosomes with varying size and shape are recognized. Inset: Deposition of melanin in the membranous structure. (Uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$ Inset, $\times 15,000$).

홍삼을 부여한 실험 2군에서도 세포주 주입 후 2주째의 종양의 조직학적 소견은 실험 1군과 유사하였으나 관찰배열을 하고 있는 종양세포 사이 및 주위에 풍부한 림프구를 비롯한 만성 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 종양세포는 실험 1군에 비하여 세포의 다형성이나 핵분열 빈도 등에서 차이점을 발견할 수 없었으나 보다 많은 양의 조직내 멜라닌 생성을 보였다(Fig. 5). 또 B16 세포주 주입 후 4주가 경과한 실험동물(생후 14주째)에 발생한 종괴에서는 실험 1, 2군 모두에서 종양세포의 괴사소견이 관찰되는 등 유사한 조직학적 소견을 보였으나, 실험 2군에서는 림프구의 침윤이 관찰되었고 괴사범위도 1군에 비하여 비교적 작은 경향을 보였다(Fig. 6, 7).

한편, 림프선, 비장 및 흉선에서는 각 실험군과 실험기간에 따른 병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다.

전자현미경적 검색 : 종괴에 대한 전자현미경적 검색에서 핵은 다형태성이었고, 핵소체는 대부분의 종양세포에서 지명하였으며, 핵막은 불규칙하였고, 염색질은 국소적으로 응집된 소견을 보였다. 세포질은 비교적 낮은 전자밀도를 보였으며, 골지체와 다양한 모양의 사립체가 비교적 잘 발달하였다. 세포질내에 존재하는 멜라닌소체는 실험 1군에 비하여 2군에서

Table 1. Lymphocyte response to polyclonal T cell activator in the C57BL/6 mice at 2 weeks after B16 injection

Experimental group	Response for PHA (cpm)	Control
Water-treated mice without B16 injection	7,380	610
Red ginseng-treated mice without B16 injection	16,862*	1,459
Water-treated mice with B16 injection	11,034	3,624
Red ginseng-treated mice with B16 injection	16,163**	4,439

Note : PHA, phytohaemagglutinin; cpm, mean counts per minute.

*Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse without B16 injection.

**Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse with B16 injection.

Table 2. Lymphocyte response to polyclonal T cell activator in the C57BL/6 mice at 4 weeks after B16 injection

Experimental group	Response for PHA (cpm)	Control
Water-treated mice without B16 injection	6,539	884
Red ginseng-treated mice without B16 injection	17,806*	1,081
Water-treated mice with B16 injection	6,238	1,604
Red ginseng-treated mice with B16 injection	11,318**	983

Note : PHA, phytohaemagglutinin; cpm, mean counts per minute.

*Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse without B16 injection.

**Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse with B16 injection.

Table 3 Flow cytometric evaluation of T lymphocytes and NK cells at 2 weeks after B16 injection

Experimental group	Pan T cell (%)	T _H -cell (%)	T _S -cell (%)	T _H /T _S (ratio)	NK cell (%)
Water-treated mice without B16 injection	36.4	23.2	13.2	1.75	5.9
Red ginseng-treated mice without B16 injection	38.2	25.5	12.7	2.01*	7.0*
Water-treated mice with B16 injection	31.2	19.4	11.8	1.64	5.6
Red ginseng-treated mice with B16 injection	37.1	24.4	12.7	1.92	7.1**

*Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse without B16 injection.

**Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse with B16 injection.

풍부하게 관찰되었으며, 이들은 막구조물에 의하여 싸여 있었다. 또 B16 세포주입 4주후의 실험동물에서는 2주 후의 실험동물에 비하여 대체적으로 적은 양의 멜라닌소체를 함유하고 있었다(Fig. 8, 9).

3. 세포성 면역반응

T림프구 반응 : 생후 12주째에 B16 흑색종 세포주를 주입하지 않은 대조군에서는 홍삼을 투여한 대조 2군이 물을 투여한 대조 1군에 비하여 128.5%에 달하는 T세포 증식율의 증가를 보였으며, B16 흑색종 세포주를 주입한 실험군에서는 홍삼을 투여한 실험 2군이 물을 투여한 실험 1군에 비하여 46.5%의 증가를 보였다(Table 1). 생후 14주째에는 대조 2군이 대조 1군에 비하여 172.3%, 실험 2군은 실험 1군에

비하여 81.6%에 달하는 T세포 증식율의 증가를 각각 보였다(Table 2).

유세포기를 이용한 T세포 및 NK세포의 측정 : 생후 12주째에 B16 흑색종 세포주를 주입하지 않은 대조군에서는 홍삼을 투여한 대조 2군에서 T_S-cell에 대한 T_H-cell의 비(T_H/T_S)가 물을 투여한 대조 1군에 비하여 14.9% 증가하였고, B16 흑색종 세포주를 주입한 실험군에서는 홍삼을 투여한 실험 2군이 물을 투여한 실험 1군에 비하여 17% 증가하는 소견을 보였다. 또 NK세포는 대조 2군이 대조 1군에 비하여 18.6%, 실험 2군이 실험 1군에 비하여 26.8%의 증가율을 각각 보였다(Table 3).

생후 14주째에는 T_H/T_S비가 대조 2군은 대조 1군에

Table 4 Flow cytometric evaluation of T lymphocytes and NK cells at 4 weeks after B16 injection

Experimental group	Pan T cell (%)	T _H -cell (%)	T _S -cell (%)	T _H /T _S (ratio)	NK cell (%)
Water-treated mice without B16 injection	33.5	21.8	11.7	1.86	6.4
Red ginseng-treated mice without B16 injection	41.0	28.0	13.0	2.15*	7.5*
Water-treated mice with B16 injection	37.2	24.7	12.5	1.98	6.7
Red ginseng-treated mice with B16 injection	45.8	30.7	15.1	2.03	8.4**

*Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse without B16 injection.

**Significantly different ($p < 0.05$) from water-treated mouse with B16 injection.

비하여, 그리고 실험 2군은 실험 1군에 비하여 각각 15.6% 및 2.5% 증가하였다. 또 NK cell은 대조 2군은 대조 1군에 비하여, 실험 2군은 실험 1군에 비하여 각각 17.2% 및 25.4% 증가하는 소견을 보였다(Table 4).

고 찰

인삼은 예로부터 한국과 중국 등 동양에서 피로회복, 강장, 강정 및 예방약으로 널리 사용되는 등 신비의 영약으로 알려져 있다. 인삼의 다양한 약효는 주로 사포닌, Rb1 및 Rg1에 의한 것으로 알려져 있으나, 이들은 약리학적 특성을 나타내는 성분 중 극히 일부에 불과하다.²²⁾ 최근에는 상기 효과외에도 인삼의 항암효과가 매우 다양한 것으로 보고되고 있다.^{3,23)}

이러한 인삼의 항암효과 및 그 기전을 규명하기 위하여 본 연구에서는 악성 흑색종인 B16 세포주를 C57BL/6 마우스의 배부에 주입하여 종양을 유발하였는데 세포주 주입결과 홍삼을 투여하지 않은 실험 1군과 홍삼을 투여한 실험 2군의 모든 실험동물에서 종양이 발생하여 두 군 사이에서 종양 발생율의 차이는 관찰할 수 없었다. 그러나, 실험 1군은 22일째에, 실험 2군은 32일째에 모든 실험동물에서 종기가 발생하여 홍삼을 투여한 실험 2군에서 종양유발에 더 많은 시간이 소요되는 경향을 보였다.

종양의 성장도는 세포주 주입 후 32일째까지는 실험 2군이 실험 1군보다 종피의 크기가 더 컸으나 37일째부터는 실험 1군이 2군보다 종피가 더 큰 결과를 보였는데, 이는 32일에서 37일 사이에 실험 1군에서는 7.5%의 실험동물이 사망하였으나 실험 2군에서는 15%의 실험동물이 일시에 사망함으로써 초래되었을 것으로 사료된다. 또 실험동물 생존율은 종양이 발생하기 시작하여 모든 실험동물이 사망할 때까지의

전 실험기간 동안 실험 2군이 1군에 비하여 다소 높은 생존율을 보였다.

홍삼의 항암작용을 밝히기 위한 많은 연구가 이루어지고 있는데, 윤 등²⁴⁾은 urethan을 마우스에 주입하고 폐선종의 발생빈도를 관찰한 결과 urethan주입 4주 후부터 홍삼을 투여한 군과 투여하지 않은 군의 실험동물에서 동시에 폐선종이 발생하기 시작하여 48주째에는 모든 실험동물에서 폐선종이 발생하였다고 보고하였다. 그러나 urethan주입 후 24주째까지는 종양발생빈도가 홍삼을 투여한 실험동물에서 현저히 낮았으나 이후에는 홍삼을 투여하지 않은 군과 비슷한 빈도를 보이고 48주째에는 두 군에서 발생빈도가 100%에 달하여 홍삼 투여군에서 urethan주입 후 종양이 발생하는 시기가 더 연장되는 경향을 볼 수 있는데 이는 본 연구결과와도 일치하는 소견이다. 또 윤과 한 등²¹⁾은 마우스에 DMBA를 경구투여하여 폐선종을 유발하였는데 DMBA투여 48주 후에 홍삼투여군은 96%의 생존율을 보여 홍삼을 투여하지 않은 군의 88%에 비하여 높은 생존율을 보였다. 폐선종의 크기는 각 개체가 가지는 가장 큰 종양을 대상으로 측정된 결과 홍삼투여군은 직경 2.7 mm로 홍삼을 투여하지 않은 군의 3.5 mm에 비하여 작다고 보고하였다.

종양에 대한 병리조직학적 검색에서 실험 2군에서는 종양세포소 주위 및 종양세포 사이에 다수의 림프구를 비롯한 만성 염증세포의 침윤이 관찰되었는데 실험 1군에서는 전혀 관찰되지 않거나 극소수의 림프구만이 침윤되는 소견을 보였다. 암조직의 면역반응을 시사하는 소견으로 심한 림프구, 형질세포 및 대식세포의 침윤을 동반하는 경우가 있으며 이러한 조직반응을 보이는 암은 비교적 예후가 좋고 림프질 전이도 낮다는 보고²⁵⁾에 비추어 볼때, 홍삼을 투여한 실험 2군이 1군보다 면역성이 강하다는 것을 알 수

있다.

종양세포의 역변형(reverse transformation)은 주로 증식의 억제와 분화의 회복이 특징이며, 멜라닌색소 합성은 멜라닌세포의 특수한 기능으로서 멜라닌색소 합성의 증가는 정상 멜라닌세포나 흑색종세포의 분화를 의미한다.²⁶⁾ 본 연구의 전자현미경적 검색에서 두 군 사이의 유의한 차이점은 멜라닌색소의 생성 정도인데 실험 1군의 종양세포에서는 소수의 멜라닌소체(melanosome)만이 관찰되었으나 실험 2군에서는 대부분의 종양세포에서 풍부한 멜라닌소체가 관찰되어 실험 2군의 종양세포 분화가 좋은 것을 알 수 있다. Takahide 등²⁷⁾은 B16 흑색종 세포를 배양하여 멜라닌색소량을 비색정량법(colorimetric method)으로 측정 한 결과 처음 3일간은 유의한 차가 없었으나 4일째부터는 대조군에 비하여 인삼배당체로 처리한 종양세포에서 멜라닌색소량이 극적으로 증가한다고 보고하였으며, 이는 본 연구의 형태학적 결과를 뒷받침해주는 소견으로 사료된다.

본 연구에서는 종양의 성장도, 실험동물의 생존율, 광학 및 전자현미경적 검색과 면역학적 검사를 시행하였는데, 종양의 성장도와 실험동물의 생존율을 가지고 홍삼의 항암효과를 논의하기는 어려웠으나 기타의 성적으로 미루어 볼때 홍삼을 투여한 실험 2군이 1군에 비하여 양호한 성적을 보여 홍삼의 항암효과를 확인할 수 있었다.

면역계는 한 개체에서 발암억제에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 면역억제된 환자나 실험동물에서 종양발생이 증가한다는 사실이 이를 뒷받침해주고 있다. 홍삼의 항암효과도 개체의 면역기능과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다. 항암작용에 관여하는 면역기능의 평가는 면역에 관여하는 여러 가지 세포들에 대한 많은 연구방법들이 있으나 항종양방어계에서 중심역할을 하는 것으로 알려져 있는 T세포와 자연살해세포가 주요 연구대상이 되고 있다.^{10) 19)}

본 실험에서 실시한 PHA에 대한 T림프구의 증식반응결과 종양을 유발하지 않은 상태와 B16 흑색종 세포주를 주입한 2주후에 종양이 발생한 상태 모두에서 홍삼을 투여한 실험동물이 홍삼을 투여하지 않은 실험동물에 비하여 훨씬 높은 증식반응을 보였다. 그리고 B16 흑색종 세포주를 주입한 4주후의 T림프구 증식반응 역시 세포주 주입 2주후의 결과와 유사하

였다. 한편, 유세포분석기를 이용하여 비세포를 분석한 결과 B16 흑색종 세포주 주입 2주 및 4주 후에 홍삼투여군에서 T림프구가 더 증가한 소견을 보였으며, T_S-cell에 대한 T_H-cell의 비(T_H/T_S)도 홍삼투여군에서 더 증가하였다. 이와 같이 종양유발 유무에 관계없이 홍삼을 투여한 군에서 T세포 증식반응의 증가, 비세포에서 T림프구 비율의 증가 및 T_H/T_S ratio의 증가를 보이는 것은 증진된 세포매개성 면역반응이 홍삼의 항암작용을 나타내는 중요한 기전임을 시사하는 소견이다. 그러나 T림프구가 항종양방어계에서 중심역할을 한다는 것에 대한 많은 반론도 제기되고 있으므로^{10) 12)} 홍삼의 항암작용이 전적으로 T림프구의 세포매개성 면역반응에 의한다고 단정지을 수는 없을 것으로 사료된다.

본 실험에서 유세포분석기를 이용하여 비세포를 분석한 결과 홍삼을 투여한 군은 홍삼을 투여하지 않은 군에 비하여 자연살해세포가 차지하는 비율이 17.2~26.8% 증가하는 소견을 보임으로써 홍삼이 자연살해세포의 활성화에 기여함을 알 수 있다. 윤 등²⁸⁾은 홍삼의 항암작용 기전을 밝히기 위하여 urethan 또는 benzopyrene을 주입 후 48주에 걸쳐 자연살해세포 활성도와 폐선종 발생빈도를 관찰하였으며 urethan주입 후 4~24주까지 자연살해세포 활성도는 현저히 감소하였으나 홍삼투여 후 대조군 수준으로 회복되었고, 폐선종의 발생빈도는 감소하였다고 한다. 그러나 benzopyrene에 의한 폐선종은 48주째에 발생하기 시작했는데 이때는 자연살해세포 활성도가 아주 낮은 수준으로 감소하여 홍삼을 투여하여도 자연살해세포 활성도가 회복되지 않았고 폐선종 발생빈도도 감소하지 않았다고 보고하였다. 이러한 보고는 홍삼의 항암효과가 자연살해세포 활성도 증가와 관계있다는 것을 의미하며 본 연구결과에 부합되는 소견이다.

이상의 소견들을 종합하여 볼때 홍삼의 항암효과가 발휘되는 기전은 T림프구와 자연살해세포의 활성도 증가에 기인하는 것으로 사료된다.

요 약

홍삼의 항암효과 및 그 기전을 규명하기 위하여 홍삼을 투여한 마우스에 B16 세포주를 주입하여 종양을 유발시킨 후 실시한 형태학적 및 면역학적 연

구결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 종양발생율은 홍삼을 투여한 군(실험 2군)과 투여하지 않은 군(실험 1군) 모두에서 100%로 차이가 없었으나 홍삼투여군에서 종양유발에 더 많은 시간이 소요되었으며, 생존기간은 홍삼투여군에서 다소 길었다.
2. 유발된 종양의 조직학적 소견은 실험군 사이에서 큰 차이가 없었으나 종양조직 주위의 림프구침윤과 종양세포내 멜라닌 생성은 홍삼투여군에서 현저히 증가하였다.
3. 마우스 비세포를 유세포분석기를 이용하여 T림프구를 분석한 결과 T_H/T_S 비가 실험 2군에서 1군에 비하여 B16 세포주입 2주 후에는 17%, 4주 후에는 25%가 각각 증가하였다.
4. 마우스 비세포를 유세포분석기를 이용하여 자연살해세포를 분석한 결과 실험 2군에서 1군에 비하여 B16 세포주입 2주 후에는 26.8%, 4주 후에는 25.4%가 각각 증가하였다.

이상의 성적에 의하여 홍삼의 항암효과를 나타내주는 지표는 T림프구에 의한 세포매개성 면역반응과 자연살해세포의 활성도 증가에 의한 것으로 사료된다.

인 용 문 헌

1. 山本眞澄 : 인삼연구 **1**(2), 33 (1979).
2. Karzel, K. : 월간 한국인삼 87년 1월호, 74 (1987).
3. Kasaki, K. : 월간 한국인삼 87년 4월호, 86 (1987).
4. 최강수 : 인삼연구 **2**(2), 34 (1989).
5. 김만옥, 최강수, 조영현, 홍순근 : 인삼연구논문집 **1**, 251 (1980).
6. 고병희 : 월간 한국인삼 84년 4월호, 62 (1984).
7. 村田 勇 : 인삼연구 **2**(2), 55 (1980).
8. Brekhman, I. I. and Dardymov, I. V. : *Ann. Rev. Pharmacol.*, **9**, 419 (1969).
9. Singh, V. K., Agarwal, S. S. and Gupta, B. M. : *Planta Medica*, **50**(6), 462 (1984).
10. Prehn, R. T. : *Progr. Exp. Tumor Res.*, **14**, 1 (1971).
11. Stutman, O. : *Adv. Cancer Res.*, **22**, 261 (1975).
12. Burnet, F. M. : *Progr. Exp. Tumor Res.*, **13**, 1 (1970).
13. Herberman, R. B. : *Progr. Clin. Biol. Res.*, **58**, 33 (1981).
14. Hanna, N. and Burton, R. C. : *J. Immunol.*, **127**, 1754 (1981).
15. Pollack, S. B. and Hallenbeck, L. A. : *Int. J. Cancer* **29**, 203 (1982).
16. Riesenfeld, I., Orn, A., Gidlund, M., Axberg, I., Alm, G. V. and Wiggzell, H. : *Int. J. Cancer* **25**, 399 (1980).
17. Talmadge, J. E., Meyers, K. M., Prieur, D. J. and Starkey, J. R. : *Journal of National Cancer Institute* **65**, 929 (1980).
18. Talmadge, J. E., Meyers, K. M., Prieur, D. J. and Starkey, J. R. : *Nature (London)* **284**, 622 (1980).
19. Herberman, R. B. and Ortaldo, J. R. : *Science* **214**, 24 (1981).
20. Kim, Y. B. and Lee, Y. S. : *Korean J. Toxicol.*, **4**(2), 159 (1988).
21. Yun, T. K., Yun, Y. S. and Han, I. W. : *Cancer Detect Prevent.* **6**, 515 (1983).
22. 황우익, 오수경 : *고려인삼학회지* **8**(2), 153 (1984).
23. 윤태규, 윤연숙, 한인원, 윤미순, 채현순, 이재영, 문혜령 : *인삼연구*, **2**(3), 109 (1980).
24. Yun, Y. S., Jo, S. K., Moon, H. S., Kim, Y. J., Oh, Y. R. and Yun T. K. : *Cancer Detect Prevent.* **1**, 301 (1987).
25. Robbins, S. L., Cotran, R. S. and Kumar, V. K. : *Pathologic Basis of Disease*. 3rd ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, p.259 (1984).
26. Wong, G. and Pawelek, J. : *Nat. New Biol.*, **241**, 213 (1973).
27. Ota, T., Fujikawa-Yamamoto, K., Kohno, H. and Odashima, S. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**(2), 238 (1990).