

고콜레스테롤 조건으로 배양한 Hep G2세포의 콜레스테롤 함량변동과 Acyl CoA : Cholesterol Acyltransferase의 활성에 미치는 인삼성분의 영향

박성출 · 노연희 · 구자현
건국대학교 의과대학 생화학교실
(1995년 11월 2일 접수)

Effect of Ginseng Components on Content of Cholesterol and Activity of Acyl CoA : Cholesterol Acyltransferase in Hep G2 Cells Cultured in Cholesterol Rich Medium

Song-Chul Park, Yun-Hee Noh and Ja-Hyun Koo

Department of Biochemistry, College of Medicine, Kon-Kuk University, Chungju 380-701, Korea
(Received November 2, 1995)

Abstract□A human hepatoma cell line, Hep G2, was used to investigate the mechanism of serum cholesterol reduction by ginseng total saponin, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, and nonsaponin fraction (ether extraction). Hep G2 cells were incubated in 10 μg/ml of cholesterol containing serum free-RPMI1640 medium with various concentration of ginseng components. The amounts of cholesterol in Hep G2 cells were decreased to maximum 51% in total saponin or two ginsenoside-treated groups while there was 137% increase in cholesterol level of control group as compared with that of normal group. Nonsaponin groups did not show the same effect. In order to elucidate the observed changes in the amount of cholesterol, the activity of acyl CoA : cholesterol acyltransferase (ACAT) in groups showing remarkable reduction in cholesterol amount, i.e., total saponin 10⁻⁶%, ginsenoside-Rb₁ 10⁻⁴%, ginsenoside-Rb₂ 10⁻³%, and nonsaponin fraction 10⁻⁴%, was assayed using [1-¹⁴C]oleic acid as enzyme substrate. The activity of ACAT was increased in all groups tested as compared with that of control group except for nonsaponin group cultured in water soluble cholesterol containing medium. The serum cholesterol lowering effects of ginseng components can partially be attributed to the increased hepatocellular ACAT activity.

Key words□HeP G2, Acyl CoA cholesterol acyltransferase (ACAT), cholesterol, ginseng saponin, ginsenoside, nonsaponin.

서 론

콜레스테롤은 동물세포막과 지단백질의 주요한 구성 성분인 동시에 스테로이드 호르몬, 비타민 D 그리고 담즙산의 전구체가 되는 물질로서 인체에 꼭 필요한 물질이다. 그러나 콜레스테롤이 혈액 내에 과다하게 존재하면 동맥경화증 발생률이 높아지고 이것이 심근경색, 뇌졸중, 동맥류 또는 괴저를 유발할

수 있기 때문에 혈중 콜레스테롤치를 정상적으로 유지하는 것은 건강 유지에 필수적인 요건으로 알려져 있다. 콜레스테롤은 혈액 내에서 70% 이상이 LDL 콜레스테롤 형태로 존재하는데 혈중 LDL은 간이나 간의조직의 LDL수용체와 결합한 뒤 endocytosis에 의해 세포내로 흡인된다. LDL의 apoprotein 부분은 lysosome에서 가수분해되고 콜레스테롤 성분은 세포질로 방출되어 세포막을 구성하거나 전구체로 작용할

뿐 아니라 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase(EC 1.1.1.34 ; HMG CoA reductase)의 합성을 억제하고 acyl CoA : cholesterol acyltransferase (EC 2.3.1.26 ; ACAT)의 활성을 증가시켜 콜레스테릴 에스테르에로의 전환을 촉진하는 한편 LDL수용체 합성을 억제하여 혈액으로부터의 LDL흡수를 감소시킴으로써 세포내 콜레스테롤 농도를 조절한다고 한다.¹⁾

인삼사포닌이 고콜레스테롤 혈증 발생시 혈청 콜레스테롤치를 저하시킴으로써 동맥경화증으로 인하여 야기될 수 있는 여러 질환의 예방과 치료에 효과가 있다는 많은 동물 실험 보고가 있으나 그 작용기전은 아직 분명하지 않다. 주 등²⁾은 고콜레스테롤 식이로 사육한 토끼간의 ¹²⁵I-LDL흡인 및 혈액으로부터의 제거 속도에 미치는 인삼사포닌의 영향을 검토한 결과 인삼사포닌은 간의 LDL흡인을 증가시키고 VLDL 및 LDL의 제거속도를 촉진하였으며, 인삼사포닌에 의한 혈청 콜레스테롤 농도 감소가 주로 VLDL과 LDL의 농도 감소에 기인된 것으로 밝혔다. 또한 고콜레스테롤 혈증이 유발된 토끼와 쥐의 간에서 인삼사포닌에 의해 콜레스테롤로부터 담즙산 합성이 촉진되어 간의 콜레스테롤 농도를 저하시켜 고콜레스테롤 식이 투여로 인한 LDL수용체의 합성 저해를 완화함으로써 VLDL과 LDL의 제거가 효과적으로 일어나기 때문에 고콜레스테롤 혈증이 개선되며 실험동물의 각 기관의 콜레스테롤 농도 또한 저하되고 스테로이드 호르몬의 합성도 촉진함을 입증하였다.^{3,4)}

이에 본 연구에서는 간세포에 흡수된 LDL콜레스테롤이 콜레스테릴 에스테르로 대사되는데에 미치는 인삼의 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, 및 비사포닌 분획의 영향을 *in vitro* 조건에서 보다 정확히 조사하기 위하여 10 µg/ml의 콜레스테롤을 첨가한 세포 배양 배지에 이들 인삼성분을 함께 혼합하여 사람의 간세포종양으로부터 유래된 세포주인 Hep G2 세포를 배양한 다음 세포의 콜레스테롤 함량을 측정함과 동시에 세포내 ACAT의 활성도를 측정하여 대조군과 비교함으로써 인삼성분의 고콜레스테롤 혈증 개선 기전을 밝혀보고자 하였다. 정상 간세포는 1차 배양할 경우 배양시간이 경과할수록 간세포에 특이한 기능들을 잃어가기 때문에⁵⁾ 본 연구에 적합하지 않으므로 Hep G2 세포주를 사용하였는데 이는 albumin, transferrin, 및 fibrinogen 같은 간세포에 특이한 단백질을 합성할 뿐 아니라⁶⁾ LDL수용체도 *in vivo* 수준으로

합성함이 밝혀졌기 때문에⁷⁾ 본 실험에 적합하다고 생각되어 사용하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험세포로는 human hepatoma cell line인 Hep G2 세포를 서울의대(박상철 교수)로부터 분주받았으며 배양배지는 RPMI 1640(Gibco사)을, 배지에 첨가한 콜레스테롤은 수용성 콜레스테롤(balance methyl-β-cyclodextrin, Sigma사)을 사용하였고 실험대상 인삼 성분은 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, Rb₂ 및 비사포닌 분획(ether 추출분획)으로서 한국인삼연초연구원으로부터 제공받아 사용하였다. ACAT 활성측정에 사용된 시약은 방사성동위원소로는 [1-¹⁴C] oleic acid와 [4-¹⁴C] 콜레스테롤(Amersham사)을 사용하였고 콜레스테롤, bovine serum albumin은 Sigma사로부터, methanol과 chloroform 등은 Merck사로부터 구입하였으며 그외 모든 시약은 분석용급으로 사용하였다. 원심분리기는 Sorvall RT6000B 냉각 원심분리기(DuPont사)와 TL100 초원심분리기(Beckman사)를 사용하였으며 β-counter는 Tri-CarbTM1600CA liquid scintillation analyzer(Packard사)를 사용하였다.

2. 세포배양

배지는 Table 1과 같이 제조하여 사용하였으며 세포는 5% CO₂, 37°C incubator에서 RPMI1640(10%) 배지로 72시간 배양한 후 다시 RPMI1640(2%) 배지로 48시간 배양하였다. 이를 PBS로 세척한 후 RPMI1640(0%) 배지에 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 또는 비사포닌분획을 각각 첨가하여 8시간 배양하였다. 그 후 ethanol이 1% 함유되어 있는 PBS로 세포를 1회 세척하고 다시 ethanol이 첨가되지 않은 PBS로 세포를 3회 세척한 후 1600×g에서 15분간 원심분리하여 세포를 수거하였다.

3. 고콜레스테롤 배지의 농도 결정

RPMI1640(10%) 배지로 72시간, RPMI1640(2%) 배지로 48시간 키운 Hep G2 세포를 콜레스테롤 농도 0, 5, 10 그리고 20 µg/ml의 무혈청 RPMI1640배지에 1 µCi의 [4-¹⁴C] 콜레스테롤을 첨가하여 4시간 또는 8시간, 그리고 0.14 µCi의 [4-¹⁴C] 콜레스테롤을 첨가하여 16시간 동안 배양한 다음 각각의 조건에서 자란 세포로부터 세포내 총콜레스테롤의 양과 [4-¹⁴C] 콜

Table 1. Composition of culture medium

Ingredient	RPMI1640 (10%)	RPMI1640 (2%)	RPMI1640 (0%)
RPMI1640 powder	10.4 g	10.4 g	10.4 g
NaHCO ₃	2.0 g	2.0 g	2.0 g
HEPES	1.19 g	1.19 g	1.19 g
Penicillin & Streptomycin*	10 ml	10 ml	10 ml
FBS	100 ml	20 ml	—
BSA	—	—	2 g
Total volume	1000 ml	1000 ml	1000 ml

pH was adjusted to 7.4 with IN HCl

*10,000 u/ml and 10,000 µg/ml, respectively.

레스테롤 흡입량을 측정하여 본 실험을 하기 위한 배지의 최적의 콜레스테롤 농도와 배양시간을 결정하였다. 그리고 배지에 첨가된 인삼의 총사포닌, ginsenoside-Rb₁ 및 Rb₂ 분획은 주 등³⁾의 보고를 참고로 하여 먼저 10% ethanol에 시료를 녹인 후 세포배양 배지에 각각 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ 및 10⁻⁶ 농도가 되도록 첨가 하였으며 이때 alcohol의 최종농도는 0.1%가 되도록 조절하였다. 또한 비사포닌분획은 ether에 시료를 녹인 후 0.1% DMSO용액에 녹여 희석시킨 다음 배양배지에 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ 및 10⁻⁶의 농도가 되도록 첨가하였고 이 때 ether의 최종농도는 0.1%, DMSO의 최종농도는 0.001% 이하가 되게 하였다.

4. 세포내 총콜레스테롤의 정량

세포내 총콜레스테롤 함량은 Kenny법⁸⁾으로 정량하였고 단백질은 Lowry법⁹⁾으로 정량하여 세포단백질 1 mg당 콜레스테롤의 양을 계산하였다.

5. LDL-콜레스테롤의 분리

대한적십자 혈액원으로부터 구입한 340 cc의 AB형 혈액을 3,000×g 4°C에서 20분간 원심분리 하여(Sorvall RT6000B) 혈장을 얻은 다음 여기에 Goldstein 등¹⁰⁾의 방법에 따라 첨가될 KBr의 양을 계산하여 넣어준 것을 100,000×g, 4°C에서 24시간 동안 초원심분리 하였다(Beckman사, TL-100 ultracentrifuge). 이 과정에서 얻은 상청액의 양에 따라 다시 KBr의 양을 계산하여 첨가한 다음 같은 조건으로 초원심분리 하여 상층부를 얻은 후 이를 0.9% NaCl 용액에 대하여 4°C에서 24시간 동안 투석하여 LDL-콜레스테롤을 얻었다.

6. 세포내 ACAT 활성도 측정

Hep G2 세포를 RPMI1640(10%) 배지로 3일 배양한 후 RPMI1640(2%) 배지로 바꾸어 2일 배양하였고 이것을 PBS로 2회 세척한 후 LDL-콜레스테롤 또는 콜레스테롤이 10 µg/ml 포함된 RPMI1640(0%) 배지에 총사포닌은 10⁻⁶%, ginsenoside-Rb₁은 10⁻⁴%, ginsenoside-Rb₂는 10⁻³%, 그리고 비사포닌분획은 10⁻⁴% 되도록 각각 첨가한 배지로 6시간 배양한 다음 40 µl의 [1-¹⁴C] oleic acid/BSA emulsion을 가하여 2시간을 더 배양하였다. 각 군의 세포를 PBS용액으로 2회 세척한 다음 원심분리하여 수거한 후(800×g, 3분, 4°C) 0.4 ml의 멸균수를 가하여 세포가 잘 풀어지도록 하였다. 이것에 2.2×10⁴ dpm의 [4-¹⁴C] 콜레스테롤과 40 µg의 콜레스테롤, 그리고 40 µg의 cholesteryl oleate가 첨가된 chloroform/methanol(1:2, v/v) 용액을 3 ml씩 섞은 후 실온에 30분 두었다가 원심분리하여 상층부를 회수하였고 여기에 0.1 M의 NaOH 1 ml, chloroform 1 ml, 그리고 멸균수 1 ml를 가하여 섞은 후 900×g, 24°C 조건으로 10분간 원심분리하여 하층부를 취하였다. 회수된 하층부의 chloroform을 기화시켜 제거한 뒤 100 µl의 hexane을 첨가한 다음 TLC(TLC판; Merck사: 20 cm×20 cm, 전개액; heptane : diethyl ether : acetic acid=85 : 15 : 2, v/v/v)로 지질성분을 분리한 다음 요오드 증기로 발색시켜 band를 확인하고 이 band를 절단하여 counting solvent에 넣어 β-counter로 방사능을 측정하였다.

결과 및 고찰

동맥경화증은 미국 등 구미선진국의 사망원인 중 가장 높은 비율을 차지하고 있는 질환의 하나로

Table 2. Determination of cholesterol uptake into Hep G2 cells cultured under various conditions

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
[4- ¹⁴ C] cholesterol	1 μCi								0.14 μCi			
Incubation time	4 hr				8 hr				16 hr			
Cholesterol conc. in culture medium (μg/ml)	0	5	10	20	0	5	10	20	0	5	10	20
Amount of cholesterol/mg protin (μg/mg protein)	16.1	20	31.5	15.5	23.6	14.6	34	25.1	13.9	11.3	9.7	11.5
Cpm/mg protein	2596	31495	20854	18146	4856	6126	57678	23132	27	29	40	140

*10,000 μ/ml and 10,000 μg/ml, respectively.

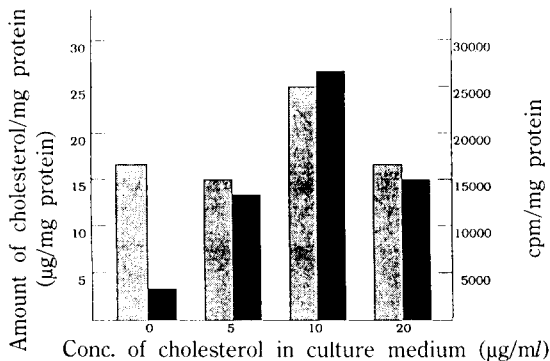


Fig. 1. Average value of cholesterol uptake into Hep G2 cells.

Amount of cholesterol/mg protein (μg/mg protein) cpm/mg protein Conc. of cholesterol in culture medium (μg/ml)

□ Amount of cholesterol/mg protein
 ■ cpm/mg protein

All Hep G2 cells were cultured under specified conditions as Table 2.

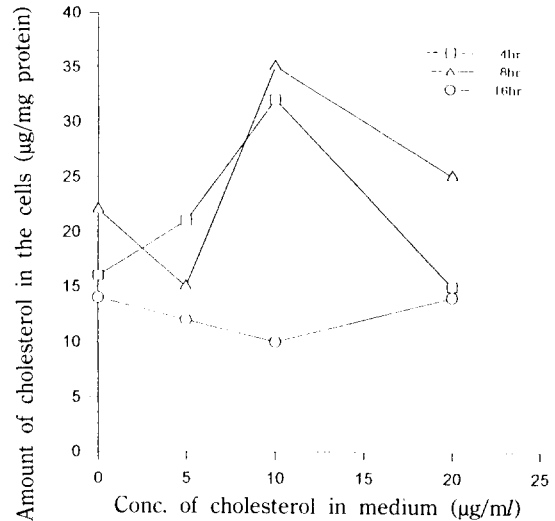


Fig. 2. Uptake of cholesterol into Hep G2 cells cultured in 0, 5, 10 and 20 μg/ml of cholesterol containing medium.

GNP의 성장과 함께 식생활이 서구화 되어가는 우리나라에서도 급격히 증가하고 있다. 따라서 이 질병의 심각성 때문에 전세계적으로 이의 예방과 치료법의 개발을 위해 다각적인 연구가 진행되고 있는데 우리나라에서는 고콜레스테롤 혈증을 유발시킨 동물에 인삼사포닌 분획을 투여하는 실험을 통해 인삼이 고콜레스테롤 혈증을 개선시키고 동맥경화증을 억제 및 치유하는데 효과가 있음이 보고되었다.¹¹⁾ 그 작용기전으로는 인삼 성분이 간에서 담즙산 형성을 촉진하며 간, 신장, 부신피질 및 정소의 콜레스테롤 함량을 저하시킴으로써 LDL수용체 수의 감소가 억제된다는 것이 제시 되었다.^{2, 4, 12, 13)} 본 연구에서는 이와 같은 결과를 토대로 하여 인삼 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 및 비사포닌 분획이 콜레스테롤 대사에 있어서

가장 중심적 역할을 담당하고 있는 간세포에서 콜레스테롤 함량과 콜레스테롤을 콜레스테릴 에스테르로 전환시켜주는 ACAT 활성에 어떠한 영향을 미치는지 관찰함으로써 이들 인삼성분의 고콜레스테롤 혈증 개선 기전을 밝히고자 하였다.

Hep G2 세포내로 콜레스테롤이 가장 잘 흡수되는 조건을 알아보기 위하여 [4-¹⁴C] 콜레스테롤과 농도를 달리한 콜레스테롤 첨가 배지로 배양한 후 단백질 1 mg당 [4-¹⁴C] 콜레스테롤 흡입량과 세포의 콜레스테롤 함유량을 측정하였다. 그 결과(Table 2 및 Figs. 1~3) 배지내 콜레스테롤 농도를 10 μg/ml로 맞추고 8시간 배양했을 때 세포내 콜레스테롤 함량과 세포내로의 콜레스테롤 유입량이 가장 높은 것으로 관찰되었기에 이 결과에 근거를 두어 세포 배양조건을

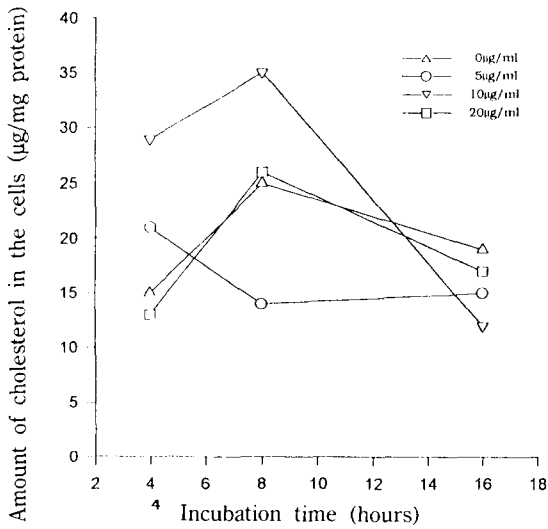


Fig. 3. Time course of cholesterol uptake into Hep G2 cells cultured in 0, 5, 10 and 20 µg/ml of cholesterol containing medium.

결정하였다. 즉 실험군은 콜레스테롤 첨가배지(10 µg/ml)에 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rb₂,

비사포닌 성분을 각각 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ 및 10⁻⁶ % 투여한 균으로서 인삼시료를 첨가한 후 8시간동안 배양하였으며 대조군은 콜레스테롤 첨가배지(10 µg/ml)로만 배양한 균이었고 정상군은 콜레스테롤이 첨가되지 않은 정상 배지로 배양한 균으로 모두 8시간 동안 배양한 뒤 결과를 분석하였다.

각 배지 조건으로 3회씩 배양한 Hep G2 세포의 콜레스테롤 함량을 측정하고 단백질 대비 환산 평균 값을 구한 결과(Table 3) 비사포닌 분획 10⁻⁵과 10⁻⁶ %균을 제외하고 대조군에 비해 모두 낮은 콜레스테롤치를 보였으며 특히 총사포닌 10⁻⁶%, ginsenoside-Rb₁ 10⁻⁴%, ginsenoside-Rb₂ 10⁻³% 및 비사포닌 10⁻⁴%에서 가장 많은 감소를 보였다. 주 등³⁾이 10 µg/ml의 콜레스테롤이 함유된 배지로 CHO 세포를 배양하여 실험한 보고에 의하면 총사포닌은 10⁻⁵%, ginsenoside-Rb₁은 10⁻⁶%, ginsenoside-Rb₂는 10⁻⁴%에서 콜레스테롤의 최대 감소 효과를 관찰하였다 한다. 윤 등¹⁴⁾은 ginsenoside의 농도가 높을 때에는(10⁻¹% 이상) ginsenoside의 detergent 성질 때문에 세포가 다

Table 3. Amount of cholesterol in Hep G2 cells (µg/mg protein) cultured under various conditions

Group	Concentration of ginseng components (%)					
	0	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²
Normal (A)	38.7 ± 15.8 (100)					
Control (A)	48.7 ± 14.5 (137)					
Ginseng total saponin		29.6 ± 14.7 (73)	32.8 ± 13.0 (80)	36.4 ± 15.7 (88)	37.1 ± 12.2 (99)	41.8 ± 12.5 (104)
Ginsenoside-Rb ₁		39.9 ± 19.7 (92)	39.7 ± 18.8 (93)	25.0 ± 10.6 (59)	27.9 ± 6.0 (74)	42.0 ± 0.8 (116)
Ginsenoside-Rb ₂		27.1 ± 9.1 (66)	25.8 ± 8.0 (63)	24.1 ± 7.7 (64)	21.2 ± 8.8 (55)	28.5 ± 9.2 (66)
Normal (B)	52.9 ± 3.3 (100)					
Control (B)	43.9 ± 2.8 (83)					
Ginseng nonsaponin fraction		51.9 ± 25.5 (99)	44.8 ± 21.6 (85)	27.0 ± 4.3 (51)	27.9 ± 7.1 (53)	32.3 ± 8.5 (62)

Normal (A) group was cultured in standard medium containing 0.1% alcohol.
 Control (A) group was cultured in standard medium containing 0.1% alcohol and 10 µg/ml cholesterol.
 Normal (B) group was cultured in standard medium containing 0.1% ether and 0.1% DMSO.
 Control (B) group was cultured in standard medium containing 0.1% ether, and 0.1% DMSO, and 10 µg/ml of cholesterol.
 Test groups were cultured under the same conditions of each control group except for ginseng component. Values are means ± SD. The figures in brackets are relative percentage assuming that of normal group being 100.

Table 4. Effects of various ginseng components on ACAT activity in Hep G2 cells

	Normal	Control	Total saponin	Ginsenoside-Rb ₁	Ginsenoside-Rb ₂	Nonsaponin fraction
Water soluble cholesterol (10 µg/ml)	0.86±0.05	1.4 ±0.18	2.29±0.6	2.98±0.16	2.07±0.85	1.43±0.55
LDL-cholesterol (10 µg/ml)	0.86±0.05	1.34±0.2	1.91±0.43	2.56±0.71	2.94±0.51	2.03±0.47

Hep G2 cells of normal, control (high cholesterol fed cells) and test (high cholesterol fed cells treated with ginseng components) groups were incubated for 6 hrs (37°C/5% CO₂), and [1-¹⁴C]oleate (175,000 cpm/1.4 nmol) were added 2 hrs before cell harvest. Values are means±SD (pmol of incorporated [1-¹⁴C]oleate/mg protein/hrs.).

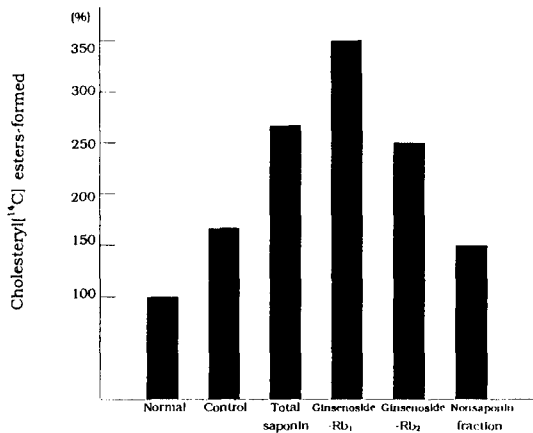


Fig. 4. Rate of incorporation of [1-¹⁴C]oleate into cholesteryl [14C]esters in Hep G2 cells cultured in the medium containing high concentration of water soluble cholesterol with or without various components of ginseng (normal : RPMI 1640 (0%) medium; control : RPMI1640 (0%) medium containing 10 µg/ml of cholesterol; total saponin : control condition with 10⁻⁶% of total saponin; ginsenoside-Rb₁ : control condition with 10⁻⁴% of ginsenoside-Rb₁; ginsenoside-Rb₂ : control condition with 10⁻³% of ginsenoside-Rb₂; nonsaponin fraction : control condition with 10⁻⁴% of nonsaponin fraction).

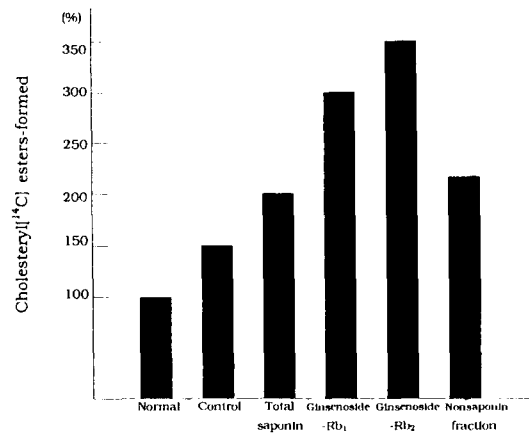


Fig. 5. Rate of incorporation of [1-¹⁴C]oleate into cholesteryl [14C]esters in Hep G2 cells cultured in the medium containing high concentration of LDL-cholesterol with or without various components of ginseng (normal : RPMI1640 (0%) medium; control : RPMI1640 (0%) medium containing 10 µg/ml of cholesterol; total saponin : control condition with 10⁻⁶% of total saponin; ginsenoside-Rb₁ : control condition with 10⁻⁴% of ginsenoside-Rb₁; ginsenoside-Rb₂ : control condition with 10⁻³% of ginsenoside-Rb₂; nonsaponin fraction : control condition with 10⁻⁴% of nonsaponin fraction).

량 파괴되어 그 효과를 비교할 수가 없었으며 ginsenoside의 농도가 10⁻⁴에서 10⁻⁶% 사이일 때 콜레스테롤 감소 효과를 잘 관찰할 수 있었다고 하여 이들 보고와 본 실험 결과가 일치함을 알 수 있었다.

이러한 세포내 콜레스테롤의 감소와 간세포의 ACAT 활성도와의 상관관계를 밝히기 위하여 HepG2 세포 콜레스테롤 정량시험에서 가장 높은 콜레스테롤 감소 효과를 나타낸 농도 조건으로 Hep G2 세포를 각각 3회씩 배양하면서 [1-¹⁴C]oleic acid를 기질로 첨가 한 후 ACAT 작용에 의한 최종산물인 콜레스

테릴 에스테르의 방사능을 측정하였다. 그 결과(Table 4) 수용성 콜레스테롤 또는 LDL-콜레스테롤을 넣어 배양한 대조군에서의 활성은 정상군에 비하여 60% 이상 증가하였으며 인삼성분을 동시에 첨가하여 배양한 실험군에서는 대조군보다 140내지 230%의 활성 증가를 보였다. ACAT의 활성 증가 효과는 수용성 콜레스테롤이 첨가된 실험군에서는 ginsenoside-Rb₁>총사포닌>ginsenoside-Rb₂ 순으로 나타났으며 비사포닌분획의 경우 대조군과 별다른 차이를 나타내지 못하였다(Fig. 4). 반면 LDL-콜레스테롤이 첨가된

실험군에서는 ginsenoside-Rb₂>ginsenoside-Rb₁>비사포닌>총사포닌의 순으로 ACAT의 활성이 증가되어서(Fig. 5) 첨가하여 준 콜레스테롤의 종류에 따라 인삼성분의 ACAT 활성증가 정도에 차이를 보였으나 본 실험에서 사용된 인삼 각 성분이 전반적으로 ACAT 활성을 증가시키는 데에는 효과는 있는 것으로 보여졌다.

이상의 결과로 볼 때 인삼의 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 및 비사포닌분획이 인체 콜레스테롤 대사의 가장 중추적 역할을 담당하는 간세포의 콜레스테롤 함량을 저하시켰는데 그 기전으로는 이들 인삼 성분에 의해 간세포의 ACAT 활성이 증가되었기 때문임을 제시할 수 있었으며 인삼성분에 의한 고콜레스테롤 혈증의 개선 기전도 ACAT 활성화에 의한 결과임을 유추할 수 있었다.

요 약

인삼 성분의 혈청 콜레스테롤 감소효과에 대한 기전을 밝히기 위하여 콜레스테롤이 10 µg/ml 첨가된 무혈청 RPMI1640배지에 총사포닌, ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 및 비사포닌분획(에테르추출분획)을 각각 10⁻²~10⁻⁶%되게 가한 실험군, 인삼성분이 첨가되지 않은 대조군, 그리고 콜레스테롤과 인삼성분이 첨가되지 않은 정상군의 배지조건으로 Hep G2세포를 배양하였다. 각 군의 세포내 총콜레스테롤을 정량한 결과 총사포닌과 두 ginsenoside 처리군에서는 최대 51%까지 콜레스테롤이 감소한 반면 대조군에서는 137%로 증가하였으며 비사포닌분획 처리군은 10⁻²~10⁻⁴%군에서만 대조군에 비하여 콜레스테롤이 감소함을 관찰하였다. 이러한 세포내 콜레스테롤의 감소와 간세포의 acyl CoA : cholesterol acyl transferase (ACAT) 활성도와의 상관관계를 밝히기 위하여 [1-¹⁴C]oleic acid를 기질로 하여 각 군에서 가장 높은 콜레스테롤 감소 효과를 나타낸 농도 조건으로 Hep G2 세포를 배양한 후 ACAT의 활성도를 측정된 결과 대조군에서의 활성은 정상군에 비하여 60% 정도 증가하였으나 실험군에서는 대조군보다 140내지 230%

의 활성 증가를 보였다. 이러한 결과로 볼 때 인삼 성분에 의한 혈청 콜레스테롤의 감소효과는 간세포에서의 ACAT활성의 증가로 인한 콜레스테롤 대사의 증진에 기인된 것으로 판단되었다.

감사의 말씀

본 연구는 한국인삼연초연구원의 '94년도 용역 연구비 지원 사업에 의해 수행된 연구의 일부이며 이에 감사사를 드립니다.

인 용 문 헌

1. Brown, M. S. and Goldstein, J. L. : *Science* **232**, 34 (1986).
2. 강방희, 주충노 : *Korean Biochem. J.*, **19**(2), 173 (1986).
3. 주충노, 강인철, 이희봉 : *고려인삼학회지* **12**(2), 104 (1988).
4. 이용우, 구자현, 주충노 : *Korean Biochem. J.*, **20**(4), 362 (1987).
5. Clayton, D. F. and Darnell, J. E. Jr. : *Mol. Cell. Biol.*, **3**, 1552 (1983).
6. Knowles, B. B., Howe, C. C. and Aden, D. P. : *Science* **209**, 497 (1980).
7. Dashiti, N., Wolfbauer, G., Koren, E., Knowles, B. and Alanpovic, P. : *Biochem. Biophys. Acta* **794**, 373 (1984).
8. Kenny, A. P. : *Biochem. J.*, **52**, 611 (1952).
9. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
10. Goldstein, J. L., Dana, S. E. and Brown, M. S. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**, 4288 (1974).
11. 구자현 : 연세대학교 박사학위 논문 (1981).
12. 주충노, 최주영, 이용우 : *Korean Biochem. J.*, **20**(4), 368 (1987).
13. 강방희, 주충노 : *Korean Biochem. J.*, **19**(2), 168 (1986).
14. 윤수희, 주충노 : *고려인삼학회지* **17**(1), 1 (1993).