

고려홍삼 다당체 성분이 암독소 호르몬-L의 체지방 분해작용에 미치는 영향

이성동 · 신유정 · 황혜진 · 황윤경*

고려대학교 보건전문대학 식품영양과

* 고려대학교 부설 한국영양문제연구소

Effect of Korean Red Ginseng Polysaccharide on Lipolytic Action of Toxohormone-L from Cancerous Ascites Fluid

Sung-Dong Lee, Yu-Jung Shin, Hae-Jin Whang, Yoon-Kyung Hwang*

Dept. of Food and Nutrition, Junior College of Allied Health Sciences,

Korea University, Seoul 136-703, Korea.

* Korea Nutrition Research Institute, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract

This study was devised to observe the inhibitory effects of ethanol treatment precipitate(crude acidic polysaccharide) from Korean red ginseng on a lipolytic action of Toxohormone-L which has been known as lipolytic and anorexigenic factors. Toxohormone-L was obtained by partial purification of the ascites fluid from mice which had been inoculated with sarcoma-180. The yields of crude acidic polysaccharide from Korean red ginseng was 63.5%. *In vitro*, at the concentration of 500 μ g/ml, the inhibition rate of lipolysis by the crude acidic polysaccharide of Korean red ginseng was 38.8% and the total inhibitory activity per gram of ginseng material was 4,928 unit. *In vivo*, the red ginseng polysaccharide(40mg/ml in saline soln.) 16 μ l/g of body weight was injected to the sarcoma-180 bearing mice once in 3 days until death. The effects against the extension of life span was little but body weight gain of sarcoma-180 bearing mice decreased significantly by administration of Korean red ginseng polysaccharide compared to those of the control group.

Key words : acidic polysaccharide, Korean red ginseng, lipolysis.

서론

인삼은 우리나라에서 각종 약용 및 식용으로 40여종의 200여 제품이 국내에서 생산되고 약 70개국에 수출되어 농가산업 및 국가경제에 이바지 하는 바가 크다고 하겠다¹⁾. 그런데 昨今에 이르러 국제적으로는 고려인삼의 품질과 효능이 우수하다는 評判을 계속 유지하고는 있으나 한편으로는 중국을 위시한 외국산 인삼의 생산량이 국내보다 엄청나게 많을 뿐더러^{2,3)} 생산원가 면에서도 매우 저렴한 실정이다. 따라서 앞으로 각기 自國의 수익증대를 꾀하기 위해 품질향상을 위한 여러

가지의 노력이 경주될 것으로 예상되어, 머지 않아 국산인삼과 심한 비교·경쟁이 되리라 예견하는 바이다.

그리하여 국내산업계, 학계 및 연구계에서는 이에 대한 대처방안의 일환으로 한국산 고려인삼의 우수성을 여러가지 측면에서 과학적으로 더욱 규명⁴⁾함은 물론 생산 및 제품의 원가절하 방안 등을 다각적으로 연구·검토⁵⁾하여 앞으로도 지속적으로 고려인삼이 국제시장에서 품질 좋고 효능이 높은 상품으로 인정받을 수 있도록 되어야 하겠다.

저자들은 이에 관심을 가지고 고려홍삼에 대한 항암 및 면역 증강 효과에 관한 연구를 수행한 바 있고⁶⁾, 이에 다시금 본 연구에서는 홍삼 다당체가 암독소 호르몬-L이 유도하는 체지방 분해작용에 미치는 영향을

Corresponding author : Sung-Dong Lee

직접 동물을 대상으로 검토하고자 한다.

그런데 이 암독소 호르몬-L은 암 세포로부터 분비되는 일종의 독소성분으로서, Masuno 등⁷⁾은 이 작용 물질을 복수 육종 세포인 sarcoma-180을 접종한 흰생쥐의 복수, 간암 및 난소 종양 환자, 그리고 악성 임파종을 가진 환자의 늑막액으로부터 지방질의 분해를 유도하는 이른바 암독소 성분을 분리, 정제해 냈고 이 물질을 “독소 호르몬-L”이라고 명명하였다. 이 독소 호르몬-L은 N-terminal에 aspartic acid를 갖는 분자량이 약 7만 정도인 단백질로 알려졌다.

독소호르몬-L은 암세포로부터 분비되면 주로 지방 세포에 작용하여 lipolysis를 촉진하는 동시에 뇌의 시상 하부 중 식욕 중추에 작용하여 식욕의 저하를 초래하게 하는데, 이는 독소호르몬-L이 지방조직에 작용하여 지방 분해율의 상승과 혈장 유리 지방산의 농도를 증가시키고 한편으로는 음식의 섭취량을 저하시킨다⁸⁾. 따라서 본 연구실험에서는 고려홍삼으로부터 조산성다당체를 분리해서 암독소호르몬-L의 lipolysis작용에 미치는 영향을 *in vitro* 및 *in vivo* 에서 관찰하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

실험동물은 본 연구실에서 사육 번식시킨 체중 150 ~ 200g의 웅성 Rat (Sprague - Dawley)와 체중 17 ~ 27g의 생쥐 (Swiss mouse)를 사용하였다.

이들 동물은 시판되는 신촌사료주식회사 제품의 쥐 사료와 물을 자유 급식시키면서 사육하였다.

2. 시료 인삼

시료 인삼은 한국인삼연초연구원으로부터 고려홍삼, 중국홍삼 및 미국백삼을 함께 받아 분말화 하여 실험에 사용하였다.

3. 인삼 시료의 분리 및 조제

고려홍삼의 분말을 petroleum ether로 3일간 추출 (percolation)해내고, 다음 petroleum ether로 추출해 낸 잔사를 methanol로 다시 추출해서 분리된 잔사를 陰乾하였다. 좀 더 정제할 목적으로 ethanol로 처

리하여 침전되는 성분을 다시 얻어서 측정용 시료 (Fr. A)로 하였다. 이 Fr. A 시료를 Hans running buffer soln. (HRBS)에 100 및 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 용해하여 활성 측정용 시료로 조제하였다.

4. 암세포

본 실험에 사용한 암세포는 미국 NIH에서 항암제 screening에 응용하고 있는 sarcoma-180을 Swiss mouse의 복강내에 접종하여 약 2주마다 계대 배양·유지하면서 실험에 사용하였다.

5. 지방 세포 정선

지방 세포의 정선은 체중 150 ~ 200g의 웅성 rat의 부고환 및 복막후강 주위 지방 조직을 절취해서 Rodbell⁹⁾의 방법에 따라 Hans running solution (HRS)으로 세척한 후 즉시 모세혈관과 다른 조직들을 제거하고, collagenase, trypsin inhibitor 등이 함유된 bovine serum albumin soln. (BSAS, pH 7.4) 중에서 가위로 slice를 한 후 37°C의 수평 이동식 shaking water bath 상에서 2시간 동안 incubation 시켰다. 이 배양된 지방 조직액을 망사천에 여과하고 그 여액을 HRS과 함께 원심관에 넣어 300 × g에서 약 1분간씩 3회 반복 원심 세척하였고, 여기서 얻어진 지방세포 용액을 정량용 지방 세포로 사용하였다.

6. 독소호르몬 (Toxohormone) -L의 분리

독소호르몬-L을 분리하기 위하여 Swiss mouse에 sarcoma-180 현탁액 0.1 ~ 0.5ml ($4 \sim 5 \times 10^9$ cell)를 복강내에 주사하고, 약 2주 경과 후 복수 증액을 채취하여 저온(4°C)에서 10분간 원침(1,000 × g)하고 그 상층액을 조 독소호르몬-L로 사용하였다.

7. 각 인삼시료의 lipolysis 억제율 측정

독소호르몬-L의 lipolysis에 미치는 각 인삼시료의 억제활성은 다음과 같이 측정하였다. 각 시료의 농도별로 함유된 HRS에 4% BSAS, 지방 세포 및 독소호르몬-L을 첨가 혼합하여 반응시키는 균을 대조균으로, 이 대조균과 별도로 시료의 종류 및 농도별로 함유된 HRS을 대조균의 HRS 대신 첨가 혼합하여 반응시키는 균을 실험균으로 하여 각 균을 37°C shaking wat-

ter bath에서 2시간 incubation 시켰다. 그런데 각 시료의 종류 및 농도별에 따른 영향을 제거하기 위해 또 별도로 37°C에서 incubation 시키는 조작만을 제외한 Non-incubation blank군을 병행하였다. 그 후 Zapf¹⁰⁾등의 방법에 의해 lipolysis 로 생긴 유리 지방산의 농도를 측정하여 지방산 표준 곡선에서 palmitic acid 로 환산해서 $\mu\text{Eq/g cell}/2 \text{ hrs}$ 단위로 표시하고 대조군과 실험군의 차를 산출하여 각 인삼 시료의 lipolysis억제율로 정하였다.

8. 각 인삼시료의 총 억제활성(unit)

원료 인삼시료 g당 총 억제활성은 각 시료의 단위중량당 억제율과 정제 수율을 함께 고려한 값으로 환산하고 이 값의 10%를 총 억제활성 단위(unit)로써 정하였다.

9. 독소 호르몬-L에 의한 동물의 수명 및 체중 변화에 대한 인삼 조 산성다당체의 영향

인삼시료인 고려홍삼의 Fr. A(조산성다당체)을 saline soln.으로 실온에서 5시간 교반·용해하고 이를 원심분리(1,000 × g)하여 얻은 상정액을 주사용 홍삼 조 산성다당체 시료 용액으로 만들었다.

실험동물은 Swiss mouse(19±1g) 55두를 대상으로 대조군과 실험군으로 구분하여 2개군으로 나누고, 각 군당 11두씩 동물을 배정하였고, 독소호르몬-L은 시료용 용액을 주사한 다음 접종시켰다.

대조군은 체중 25g당 sarcoma-180 현탁액 0.2ml (5×10^9 cells)와 saline soln. 0.4ml를 주사하였고 실험군은 체중 25g당 sarcoma-180 현탁액 0.2ml 와 함께 주사용 홍삼 조 산성다당체 시료용액(40 mg/ml of saline soln.) 0.4ml(0.64 g/kg of B.W.)를 복강내에 주사하였다. 대조군과 각 실험군의 복강내 주사는 동물이 사망할 때까지 3일마다 1회씩 시행하였다.

10. 통계처리

실험치는 평균값 또는 평균값 (mean) ± 표준오차 (standard error)로 나타내었으며, 대조군(control group)과 실험군 간 차이의 유의성을 검증하기 위하여 t-test 를 거쳤고, t-probability 의 분포표를 참조하여 표시하였다.

결과 및 고찰

고려홍삼의 다당체 성분이 암독소호르몬-L에 의한 체지방 분해작용에 미치는 영향을 관찰하고자 Table 1과 같이 실온에서 petroleum ether(PE) 지용성 용매로 인삼분말로부터 추출해 내고 여기서 얻어진 탈지 잔사를 다시 methanol로 추출하여 saponin 성분을 제거해 낸 잔사를 얻었다. 이 잔사를 최소량의 순수에 용해한 후 이 용액의 약 4배량에 해당하는 ethanol을 가하여 교반시켜 ethanol에 의한 침전 형성을 助長시킨 후 원심분리하여 침전물을 얻어 이를 건조 분말화하여 활성 측정용 시료로 하였다. 상기 각 추출 및 정제과정에 따른 수율은 methanol로 추출 처리한 다음의 잔여성분과 다시 ethanol로 처리한 다음의 잔여성분 (Fr. A)의 각 수율은 77.5 및 63.5% 였다.

다음 ethanol로 처리후 얻은 성분(Fr. A)인 조 산성다당체에 대한 *in vitro*에서 독소호르몬-L의 지방분해에 대한 저해율을 보면(Table 2), 각 반응액 ml당 농도가 100 및 500 μg 일 때 각 25.5 및 38.8 % 였다.

한편 조 산성다당체가 독소호르몬-L에 의한 lipolysis의 총 억제활성에 미치는 인삼시료 g당 unit로 환산하여 비교한 결과를 보면(Table 3) 반응액 ml당 각 시료의 농도가 100 및 500 μg 일때 각 16,193 및 4,928 unit로 나타났다. 그런데 저자 등¹¹⁾이 이미 보고한 바 있는 홍삼과 백삼의 각 동체와 뿌리부분 4가지로 나누어 각 조산성다당체의 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 반응농도에서

Table 1. Purified yields of ethanol treatment precipitate in Korean red ginseng powder(KRG)

| (Yield : %) | |
|---------------------------|------|
| Material purify step | KRG |
| Ginseng powder | 100 |
| ↓ Petroleum ether extract | 0.64 |
| Residue | 99.1 |
| ↓ Methanol extract | |
| Residue | 77.5 |
| ↓ Ethanol treatment | |
| Precipitate* | 63.5 |

* Fr. A

Table 2. Inhibitory effect of the crude acidic polysaccharide fraction (Fr. A) on lipolysis* induced Toxohormone-L

| (% inhibition) | |
|-----------------------------------|-------------------|
| Conc. ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | KRG ¹⁾ |
| 100 | 25.5 |
| 500 | 38.8 |

1) Korean red ginseng.

* The rate of Toxohormone - L induced lipolysis was 1.23 free fatty acid $\mu\text{Eq}/\text{g cells}/2\text{hrs}$ in the absence of ginseng.

Table 3. Inhibitory effect of the crude acidic polysaccharide fraction(Fr. A) from Korean red ginseng(KRG) on Toxohormone-L induced lipolysis

| (Unit*/g) | |
|-----------------------------------|-------------------|
| Conc. ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | KRG ¹⁾ |
| 100 | 16,193 |
| 500 | 4,928 |

* 1 unit = 10% inhibition /g of ginseng.

시료 g당 unit는 홍삼의 동체와 뿌리가 각 1,818, 1,472 unit 였고, 백삼의 동체와 뿌리가 각 783 및 372 unit 였는데, 이를 본 실험결과와 직접 비교할 수는 없으나 참고해 보면 본 실험결과가 매우 우세하게 나타났다.

홍삼 조 산성다당체의 lipolysis 저해작용을 *in vivo* 에서 관찰하기 위하여 sarcoma-180과 saline soln.을 투여한 control 군과 sarcoma-180 과 홍삼 조 산성다

당체 성분을 함께 투여한 실험군 2군의 각 생쥐 순체중 증가량을 3일 간격으로 측정하여 15일간 비교하였다. 즉 Table 4에서 보는 바와 같이 대조군에 비하여 홍삼 조 산성다당체 투여군이 9일, 12일 및 15일에서 유의한 체중 감소 ($P < 0.05 \sim 0.02$)를 나타내었다.

일반적으로 성숙한 mouse 에 sarcoma-180 암세포를 접종시키면 성장에 의한 체중 증가는 거의 없고 암세포 증식에 따라 복수증 현상으로 체중이 증가하게 된다. 그런데 sarcoma-180 에서 유래되는 독소 호르몬-L은 체지방 조직을 분해(lipolysis)시켜서 체중을 감소시킨다고 한다⁸⁾. 그래서 sarcoma-180이 접종된 mouse의 실제 체중 증가는 복수로 인한 체중 증가량에서 lipolysis로 인한 체지방 감소량의 차이가 되므로 본 실험에서는 해당 대조군의 체중 증가량과 같은 것이다. 그리고 다당체 성분을 주사한 군의 체중 증가량은((복수에 의한 체중 증가량) - (lipolysis 에 의한 체지방 감소량) + (다당체 성분의 lipolysis 억제에 의한 체중의 증·감량))에 해당된다고 하겠다. 이러한 관점에서 볼 때 본 실험 결과는 대조군에 비해 체중이 유의성 있게 감소를 나타낸 것은 고려홍삼 조 산성다당체가 sarcoma-180 세포 증식을 억제시켜 복수량을 감소시켰음을 의미한 결과로 사료된다. 따라서 앞으로 고려홍삼 조산성다당체에 대한 항암성을 여러 관점에서 더욱 세밀하게 관찰할 필요가 있다고 생각된다.

그러나 sarcoma-180을 투여한 대조군과 sarcoma-180 및 홍삼 조 산성다당체를 함께 투여한 실험군의 수명기간을 상호 비교한 결과 Table 5와 Table 6을 보면, 별 유의적인 차이를 나타내지는 않았는데 이에 대한 동물실험은 차후 여러 측면에서 추구가 더욱 되어져야 하겠다.

Table 4. Body weight gain of Swiss mice after inoculation of the sarcoma-180 cells with or without crude acidic polysaccharide of Korean red ginseng (KRG)

| Treatment | Body weight gain (g/mice) | | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| | 0day | 3days | 6days | 9days | 12days | 15days |
| Control | 0 | 0.69±0.32 | 4.71±0.57 | 10.29±1.00 | 12.46±0.71 | 13.61±0.83 |
| KRG | 0 | 1.23±0.27 | 4.26±0.57 | 7.43±0.75 | 9.49±0.99 | 8.90±1.36 |

Values represent Mean \pm S.E., *P < 0.05, **P < 0.02

Table 5. Survival times of Swiss mice inoculated with sarcoma -180 cells with or without crude acidic polysaccharide of Korean red ginseng (KRG)

| Treatment | Survival time (Hrs.) |
|-----------|----------------------|
| Control | 481 ± 54 |
| KRG | 417 ± 42 |

Values represent Mean ± S.E.

Table 6. Survival days of Swiss mice inoculated with sarcoma -180 cells with or without crude acidic polysaccharide of Korean red ginseng (KRG)

| Survival day | Treatment | |
|--------------|-----------|-------|
| | Control | KRG |
| 0 ~ 11 | 11 | 11 |
| 12 | 11 | 10(1) |
| 13 | 10(1) | 10 |
| 14 | 10 | 6(5) |
| 15 | 7(4) | 4(7) |
| 16 | 6(5) | 4 |
| 17 | 4(7) | 4 |
| 18 | 4 | 4 |
| 19 | 4 | 4 |
| 20 | 4 | 4 |
| 21 | 4 | 4 |

Numbers in parenthesis represent number of mice dead.

요 약

본 연구는 고려홍삼의 산성다당체 성분이 암독소 호르몬-L의 체지방 분해작용에 미치는 영향을 검토하였다. 인삼분말을 petroleum ether로 지질성분을 추출한 후 얻은 잔사를 다시 methanol로 추출하고 여기서 얻은 잔사를 다시 ethanol로 처리하여 침전되는 성분인 소위 조산성다당체를 수집한 바, 조 산성다당체의 수율은 63.5% 였다.

*In vitro*에서 고려홍삼 조 산성다당체 성분의 체지방

분해 억제율은 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 반응농도에서 38.8%였고, 총 억제활성은 원료인삼 g당 4,928 unit로 나타났다. *In vivo*에서는 암 mouse에 고려홍삼 조 산성다당체 추출성분(40 mg/ml of saline soln.) 을 체중 g당 16 μl (0.64g/kg of body weight)로 복강내에 3일마다 1회씩 주사시 수명연장 효과를 나타내지는 않았으나 대조군에 비하여 체중이 감소($P < 0.05 \sim 0.02$)된 효과를 나타내었다.

참고문헌

1. 권대원 : 인삼제품의 품질관리 현황, 고려인삼학회지, 15(3), 221 (1991)
2. Don Ference and Associates Ltd. : Overview of world ginseng production, *Korean J. Ginseng Sci.*, 15(2), 152 (1991)
3. Jixang Yang, Shuxia Miao, Yuzhen Liu and Erxun Du : The present situation and prospect of Jilin ginseng production, *Korean J. Ginseng Sci.*, 16(1), 75 (1992)
4. 한병훈 : 인삼연구의 진흥 방안, 고려인삼학회지, 15(3), 216 (1991)
5. 서종혁 : 인삼산업의 구조와 중장기 발전방향, 고려인삼학회지, 16(2), 157 (1992)
6. 황우익, 한용남, 이연태, 이성동 : 고려홍삼에 의한 항암 및 면역증강 효과 연구, 미발표.
7. Hiroshi Masuno, Hiroyuki Yoshimura, Nobuya Ogawa and Hiromichi Okuda : Isolation of a lipolytic factor (Toxohormone-L) from ascites fluid patients with hepatoma and its effect on feeding behavior, *Eur. J. Cancer & Clinical Oncology*, 20(9), 1177 (1984)
8. Okuda, H., Masuno, H. and Lee, S. J. : Effect of red ginseng powder on lipolytic and anorexigenic factor (Toxohormone-L) from cancerous ascites fluid, *Proc. 4th Internat. Ginseng Sympo., Daejeon*, 145 (1984)
9. Rodbell, M. : Metabolism of isolated fat cells, *J. Biol. Chem.*, 239, 375 (1964)
10. Zapf, J., Schoedle, E., Waldvogel, M., Sand,

M. and Froesch, E. R. : Effect of trypsin treatment of rat adipocytes on biological effects and binding of insulin and insulin - like growth factors, *Eur. J. Biochem.*, 113 605 (1981)

11. 李成東, 李光承, 奥田 拓道, 黃祐翊 : 人蔘의 粗酸性多唐體 成分이 癌毒素 호르몬 - L의 脂肪分解 抑制作用, *고려인삼학회지*, 14(1), 10 (1990)

(1995년 6월 8일 수리)