

## An Experimental Study of Radioprotective Effect of Ginseng Alkaloid Fraction on Cellular Damage

Seong Yul Yoo, Chul Koo Cho, Mi Sook Kim, Hyung Jun Yoo, Seong Ho Kim and Tae Hwan Kim.  
*Korea Cancer Center Hospital*

### 방사선 세포 손상에 대한 인삼 Alkaloid 분획의 보호 효과에 관한 실험적 연구

류성렬 · 조철구 · 김미숙 · 유형준 · 김성호 · 김태환  
한국원자력연구소 부설 원자력병원

**Abstract**—This paper is to assess the effect of Adaptagen as a radioprotector in which main component is alkaloid fraction of ginseng.

Evaluation was made in vitro and in vivo study with NIGP(S) mouse by the measurement of regeneration of jejunal crypt cell and micronucleus assay to analyze radioprotective effect of ginseng alkaloid fraction in comparison with that of water fraction after whole body irradiation.

The results were as follows,

1. The degree of radiation damage of mouse jejunal crypt cell was diminished in both of alkaloid and water fraction groups compared to control group but more in alkaloid fraction group than water fraction group.
2. Regeneration of mouse jejunal crypt cell was higher both in alkaloid and water fraction groups than control group.
3. In vitro study, frequency of micronucleus was diminished in tendency for the treated groups than control group but statistically insignificant.
4. In vitro study, frequency of micronucleus was diminished in both alkaloid and water fraction groups compared to control group but more in alkaloid fraction group than water fraction group.

*Key words* : radioprotector, ginseng, ginseng alkaloid, mouse jejunal crypt cell, micronucleus assay

**요약**—본 연구에서는 인삼의 알카로이드 분획 (alkaloid fraction)을 주요성분으로 함유하는 Adaptagen의 방사선 방어제로서의 효과를 구명(究明)하기 위하여, 방사선조사에 의한 마우스 공장 소낭선 세포 손상 및 회복을 측정하고, 마우스 비장임파구 미세핵 측정법을 시험관 내 및 생체에서 실시함으로써 본 제제의 방사선 방어효과를 평가하였으며, 실험결과 얻어진 결론은 다음과 같다.

1. 마우스 공장소낭선세포의 방사선 손상은 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시

공히 감소하였으나, alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.

2. 마우스 공장소낭선세포 손상의 회복 및 증식은 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시 공히 현저히 증가하였다.
3. 시험관내 시험에서 방사선에 의한 임과구 미세핵 형성도는 쌍핵세포의 형성율이 낮아 통계학적 의의는 없으나 약제 투여군에서 빈도가 낮은 경향을 보였으며 alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.
4. 생체내 시험에서 방사선에 의한 임과구 미세핵 형성빈도는 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시 공히 감소하였으나 alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.

이상의 결과에서 인삼의 alkaloid 및 수용성 분획이 방사선에 의한 염색체 손상을 억제하고 손상된 세포의 회복 (repair) 및 증식 (regeneration)을 촉진하여 방사선 방어효과를 나타냄을 알 수 있었으며, 이는 독성이 비교적 없는 자연산생물 (natural products)로서 방사선방어제로 임상에 직접 사용 할 수 있다.

중심어 : 방사선 방어제, 인삼, 인삼 알칼로이드, 마우스 공장 소낭선 세포, 미세핵 측정법.

## 結 論

인체 組織細胞의 방사선에 의한 손상 효과를 약리학적으로 감소시키는 방사선 방어제는 沃素 등과 같이 특정장기에 飽和 蓄積 됨으로써 방사선 효과를 덜 받게 하는 것과 sulfhydryl compound (-SH) 처럼 조직세포의 방사선손상을 덜 일으키게 하는 것으로 나뉜다.

방사선방어제라 함은 피폭 전 또는 피폭 후 즉시 사용에 의해 방사선 피폭으로 인한 장애의 발현을 예방하는 목적의 약제를 말한다. 인체가 방사선에 피폭된 후 일어나는 생물학적 손상을 치료할 수 있는 수단이 부족하기 때문에, 피폭이 예상될 때 확실한 효과가 있는 방어제의 사용은 매우 중요하다. 그러나 현재까지 개발되어 있는 각종 방사선방어제는 약제의 독성에 따른 부작용을 극복하지 못하여 임상적으로 실용화 되어 있지 않다. 저자들은 비교적 독성이 없고 과거부터 많이 사용되어 잘 알려진 自然産生物(natural product)들을 검색하여 방사선방어제로의 사용 가능성 여부를 평가하였다.

세포에서 방사선 손상의 생물학적 표적으로 가장 중요한 것이 DNA이며 DNA 손상으로 인해 染色體異狀, 細胞分裂異狀 및 기타 각종 방사선생물학적 효과가 나타난다. 방사선 방어제를 檢索하기 위한 실험적연구는 그 방법이 다양하지만 마우스 空腸小囊腺 관찰법은 방사선 全身被曝에 의한 조직세포의 손상을 관찰하고 이의 修飾因子를 이용한 효과의 변

동을 측정하는 것으로 生體實驗(in vivo)에 가장 널리 이용되는 방법이다. 放射線 障害의 DNA 수준에서의 작용기전을 究明하는 실험으로 사용되는 淋球核 微細核測定法(micronuclei assay)은 최근 染色體異狀(chromosome aberration) 測定法과 함께 DNA damage의 指標로 사용되고 있으며 細胞質 分裂을 中止(cytokinesis blocked) 시키기 위하여 cytochalacin B로 처리한 雙核細胞(binucleated cell)에서의 微細核形成의 頻度가 방사선 손상의 정도와 일치하여 나타나며 試驗管内試驗(in vitro test) 및 生體試驗(in vivo) 공히 가능하다.

인삼의 알칼로이드 분획(alkaloid fraction)을 주요 성분으로 함유하는 Adap-tagen은 건취제약주식회사에서 개발한 複合生藥製劑로서, 본 저자들에 의한 (1991) 방사선 치료를 받은 암환자를 대상으로한 임상연구에서 방사선에 의한 骨髓損傷으로 인한 부작용의 예방효과가 관찰 된 바 있고, 孔泰勳(1991)등은 각종 방사선을 조사받은 마우스의 생존기간 연장, 손상된 생체세포의 회복 및 혈청내 항체성분의 정상화 효과등을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 Adaptagen의 주요 성분인 인삼 알칼로이드 분획의 방사선 장애예방 및 회복에 관한 효과를 究明하기 위하여 放射線 照射와 본 製劑 동시투여시의 마우스 空腸小囊腺細胞 손상 및 회복을 측정하고, 마우스 脾臟淋球核 微細核 測定法을 시험관내 및 생체에서 실시하여 본 제제의 방사선 방어효과를 평가하였으며, 그 효과를 비교검토하기 위하여

인삼의 水溶性 分劃(water fraction : 엑스)을 사용하여 같은 실험을 수행하였다.

### 研究 材料 및 方法

#### 1. 마우스 空腸小囊腺細胞의 放射線 損傷 및 回復

##### 가. 실험동물

총 40마리의 7週齡 N : GP(S)마우스를 사용하였고 사료는 NIH-7-open formula에 의해 제조된 고형사료를 자유로이 급식 시켰으며 각 군 5마리씩 poly-carbonate cage 에 넣어 사육하였다.

##### 나. 방사선 조사

각군의 마우스를 아크릴로 제작된 cage에 고정시켜 <sup>60</sup>Co 감마선을 分當 177 cGy의 線量率로 15 Gy 씩 照射하였다. 조사용량은 Capintec PR-06C Farmer type chamber 및 Capintec 192 electrometer (Capintec, U.S.A)로 측정 확인하였다.

##### 다. 약제의 투여

- 1) 인삼 alkaloid 분획 투여 건취제약으로부터 제공 받은 alkaloid 분획을 성인 1일 3 g의 Adaptagen 복용량을 근거로 하여 1일 5.4 mg의 양으로 1% CMC에 부유시켜 구강내로 삽관주입 (oral intubation) 하였다.
- 2) 인삼 수용성 분획 투여  
음수 1 ml 당 2 mg의 경구투여가 되도록 하여 자유로이 급수하였다.

##### 라. 실험군의 분류 (그림 1)

- 1) 정상 對照群
- 2) 방사선照射 對照群
- 3) 방사선 照射 前 1주간 약제 투여군
- 4) 방사선 照射 前 1주부터 照射後 3.5일까지 약제 투여군
- 5) 방사선 照射 後 3.5일까지 약제 투여군

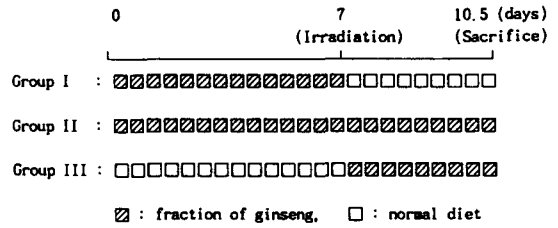


Fig. 1. Administration schedule of alkaloid or water fraction of ginseng.

##### 마. 空腸小囊腺 細胞 觀察

방사선조사 후 3.5일에 각군 마우스를 희생시켜 각 동물별 空腸 4개 다른부위에서 각 2개씩 총 마리당 8개 씩의 組織切片을 제작하였다. 이를 가지고 각 절편에서 한 jejunal circumference에서의 소낭선 수를 計數하여 이를 평균하고 각 군별 5마리씩의 동물에서 소낭선 수의 평균 및 標準偏差를 산출하여 통계처리 하였다.

#### 2. 마우스 淋巴球 微細核 形成 頻度

##### 가. 시험관내 시험 (in vitro test)

###### 1) 독성검사 및 임파구 增殖효과 시험

###### 가) 임파구 분리

6 주령 C57BL/6 마우스의 脾臟을 채취하여 HBSS에 세척한 후 HBSS가 10ml 담긴 petri-dish에서 切片細分하여 세포를 浮遊시켰다. 부유세포는 Ficoll-Hypaque 용액 위에 중첩하여 400g, 30분간 원심 분리하였다.

###### 나) 임파구 培養에 대한 본 제제의 독성 및 임파구 증식 효과

분리된 임파구를 RPMI 1640 培地 ml 당 2×10<sup>5</sup> 개의 濃度로 96 well culture plate에 分柱하고 alkaloid 분획은 8, 2, 0.5, 0.125, 0.0313 또는 0.0078mg을 첨

Table 1. [ $^3\text{H}$ ] thymidine incorporation into the mouse spleen lymphocytes treated with water or alkaloid fraction of ginseng

Treatment	Incubation time(days)				
	1	2	3	4	
Untreated control	2130.3 $\pm$ 140.5*	6187.2 $\pm$ 273.8	3681.9 $\pm$ 113.7	3039.2 $\pm$ 177.0	
Alkaloid fraction (mg/ml of medium)	8	469.0 $\pm$ 85.7	1334.8 $\pm$ 571.3	1335.6 $\pm$ 912.2	1694.7 $\pm$ 763.4
	2	585.3 $\pm$ 99.8	6606.4 $\pm$ 446.5	3709.1 $\pm$ 708.3	2640.6 $\pm$ 222.9
	0.5	2706.5 $\pm$ 233.5	12398.5 $\pm$ 360.0	6755.2 $\pm$ 636.3	5065.3 $\pm$ 566.0
	0.125	3311.8 $\pm$ 282.8	12362.2 $\pm$ 1123.1	7720.1 $\pm$ 1126.8	6697.2 $\pm$ 656.3
	0.0313	3397.4 $\pm$ 290.2	11702.5 $\pm$ 101.8	7727.3 $\pm$ 923.3	5721.6 $\pm$ 627.3
	0.0078	3388.2 $\pm$ 258.6	10994.9 $\pm$ 447.4	6661.4 $\pm$ 1279.9	4917.3 $\pm$ 338.1
Water fraction (mg/ml of medium)	50	555.7 $\pm$ 176.4	1980.3 $\pm$ 458.0	2657.2 $\pm$ 878.3	1283.8 $\pm$ 622.3
	12.5	329.7 $\pm$ 95.5	2039.3 $\pm$ 1188.2	845.3 $\pm$ 286.5	891.6 $\pm$ 327.6
	3.13	533.8 $\pm$ 123.3	1469.5 $\pm$ 249.5	2903.5 $\pm$ 1225.1	1435.8 $\pm$ 439.4
	0.78	1781.2 $\pm$ 91.4	5542.0 $\pm$ 315.4	4385.1 $\pm$ 1343.2	4660.1 $\pm$ 2048.5
	0.195	2824.2 $\pm$ 229.5	8611.4 $\pm$ 434.5	6328.8 $\pm$ 759.8	4729.7 $\pm$ 453.5
	0.049	3231.3 $\pm$ 190.7	8888.4 $\pm$ 45.5	5763.1 $\pm$ 553.2	4775.0 $\pm$ 872.3

가하고, 수용성 분획은 ml 당 50, 12.5, 3.13, 0.78, 0.195 또는 0.0049 mg을 첨가하여 각각 1, 2, 3 및 4일간 배양하였다. 同位元素 標識를 위하여 [ $^3\text{H}$ ] thymidine [3.0TBg/mmol (81.9 Ci/mmol) NEN]을 培地 ml 당 10 uCi의 용량으로 세포 收穫 4시간 전에 첨가하였다. 培養이 끝난 細胞를 Titertek cell harvester(Flow Lab.)를 이용하여 收穫한 후 radioactivity를 liquid scintillation counter (Packard Co.)로 측정하였다.

다) 본 製劑 사용량의 결정 Table 1에서와 같이 alkaloid 분획은 0.5 mg/ml이하의 양에서 임파구 增殖 효과가 관찰되었으며 배양 2일째 가장 높은 효과가 있었고 8 및 2 mg/ml 의 사용량에서 독성을 나타내어 in vitro 실험에서는 0.2 mg/ml의 양을 투여 適正量으로 산정하였다.

수용성 분획은 0.78 mg/ml 이하의 양에서 증식효과가 관찰되었으며 50, 12.5 및 3.13 mg/ml에서 독성을 나타내어 투여 적정량은 0.5mg/ml로 정하였다.

## 2) 임파구 미세핵 형성측정(in vitro)

가) 마우스 임파구 미세핵 형성에 대한 mitogen 및 cyt-B의 적정량 산출 임파구  $5 \times 10^5$ /ml의 농도로 24 well culture plate에 分柱하고 mitogen으로서 concanavalin A(Con-A)를 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 ug/ml 의 양으로 혼합배양하였으며 배양후 21시간에 Cyt-B 1, 2, 3 또는 4 ug/ml을 혼합배양하여 20시간 후 methanol 및 acetic acid 혼합 固定液으로 고정한 후 slide glass에 塗抹, 乾燥하였으며 10% Giemsa 염색액에 염색하여 binucleated cell의 빈도를 측정하였으며 가장 높은 비율의 cytokinesis blocked

(CB) cell이 형성되는 Con-A 및 Cyt-B의 농도를 선택하였다. 그 결과에 따라 Con-A는 2.5  $\mu\text{g/ml}$ , Cyt-B는 4  $\mu\text{g/ml}$ 을 각각 적정량으로 하였다. Con-A 3.0  $\mu\text{g/ml}$ 이상의 양에서는 세포내 4개 이상의 핵이 관찰되어 binucleated cell의 수는 상대적으로 감소함을 보여 주었다 (표 2).

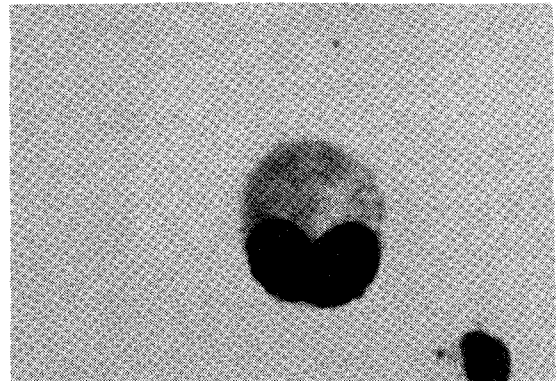
Table 2. Yield of binucleate cells in 100 unirradiated mouse lymphocytes as a function of the concanavalin A and Cyt-B concentration.

Concentration of Cyt-B ( $\mu\text{g/ml}$ )	Concentration of concanavalin A ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
1	7	8	8	9	6	6
2	8	5	10	11	7	10
3	11	12	22	26	12	14
4	7	8	22	23	13	15

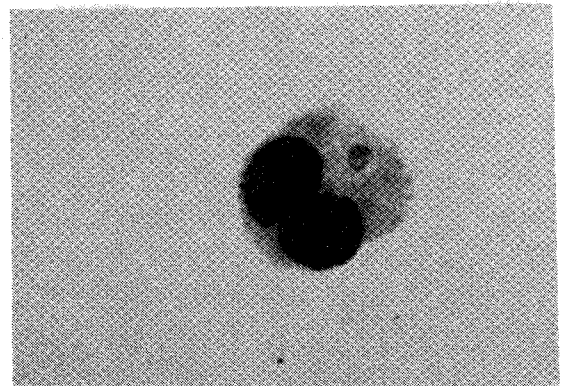
나) 임파구 미세핵 형성에 대한 방사선조사 용량의 결정

분리된 임파구에 코발트 감마선 0, 1, 2, 3, 4 또는 5 Gy를 각각 照射하여 방사선 단독에 의한 미세핵 형성의 빈도를 측정하였다. 방사선 조사용량에 따른 임파구의 미세핵 형성빈도의 분포는 표 3과 같으며 용량별 평균값은 표 4와 같다. 따라서 본 연구에 활용할 방사선 조사용량은 약 50%의 미세핵 형성빈도를 나타내는 3 Gy로 결정 하였다. 그림 2는 미세핵 형성의 光學顯微鏡 소견이다.

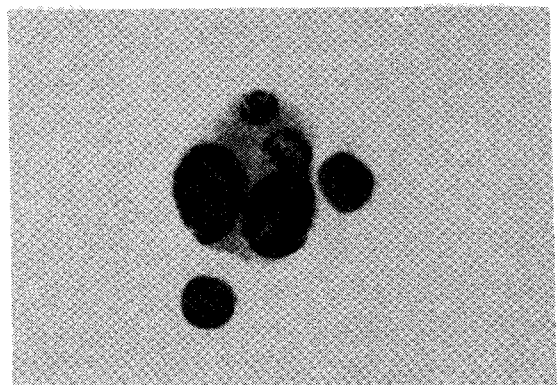
다) 방사선에 의한 임파구 미세핵 형성에 미치는 본 製劑의 효과 培地 ml당  $5 \times 10^5$  개의 임파구에 alkaloid 分劃은 0.2 mg/ml, 水溶性 分劃은 0.5 mg/ml의 농도로 첨가하여 각각 방사선 조사전 30분 및 60분간



(A)



(B)



(C)

Fig. 2. 임파구 미세핵 형성 현미경 소견.

(A) 정상 분열정지세포, (B) 미세핵 1개 생성, (C) 미세핵 2개 생성

Table 3. Micronuclei(MN) per 500 cytokinesis blocked(CB) mouse lymphocytes after-ray exposure.

Dose (cGy)	Number of cells without MN	Frequency distribution of the number					Total number of MN
		1	2	3	4	5	
0	495	5					5
	496	4					4
	496	4					4
100	456	38	4	2			52
	448	46	6				58
	458	39	3				45
200	376	99	22	3			152
	371	112	17				146
	383	98	19				136
300	297	151	41	8	2	1	270
	200	134	50	16			282
	258	162	69	11			333
400	200	213	72	11	4		406
	231	167	79	19	4		398
	224	181	71	24			395
500	165	199	103	28	5		509
	177	183	120	15	5		488
	161	203	108	24	4		507

배양한 후 水洗하고 정상배지에 浮遊시켜 3 Gy의 코발트 감마선을 조사한 후 Con-A 를 2.5 ug/ml 첨가하여 21시간 배양하였으며 Cyt-B 4 ug/ml를 첨가배양하여 20 시간 후 固定, 標本製作하여 檢鏡하였다.

#### 나. 생체시험 (in vivo test)

##### 가) 실험동물

6주령 C57BL/6 마우스를 사용하였다.

##### 나) 방사선 조사

코발트 감마선 3 Gy를 空腸小囊腺細胞 손상 실험과 동일한 방법으로 아크릴 cage내에 고정된 마우스에 1회 전신 조사하였다.

##### 다) 인삼분획의 투여

alkaloid 분획은 1일 5.4 mg의 양으로 口腔内 插管 注入하였으며, 수용성 분획은 飲水 ml당 2 mg의 양으로 자유로이 급식시켰다.

##### 라) 실험군의 분류

1) 방사선 조사대조군

2) 방사선조사전 1주간 alkaloid 분획 투여군

3) 방사선조사전 1주간 수용성 분획 투여군

##### 마) 임파구 미세핵 형성 측정

방사선조사 및 본 제제를 투여한 마우스의 비장을 방사선조사후 즉시 채취하여 임파구를 분리하고 in vitro 시험과 동일한 방법으로 미세핵 형성빈도를 측정하였다.

#### 다. 통계처리

본 연구에서의 모든 통계처리는 student T test를 이용하였다.

Table 4. Frequency of micronuclei in binucleated mouse lymphocytes after  $\gamma$ -ray exposure.

Dose(cGyh)	Micronuclei per cell (M $\pm$ S.E.)
0	0.0087 $\pm$ 0.0008
100	0.1033 $\pm$ 0.0092
200	0.2893 $\pm$ 0.0114
300	0.59 $\pm$ 0.0473
400	0.7993 $\pm$ 0.0080
500	1.0027 $\pm$ 0.0164

## 結果 및 考察

### 1. 마우스 空腸小囊腺細胞 손상 및 회복

單位 jejunal circumference 당 소낭선의 수의 평균치(표 5)는 정상대조군(그림 3)에서 약 168개였으며 방사선조사 대조군(그림 4)은 약 16개로 計數되어 심한 방사선 손상을 받았음을 나타내었다. Alkaloid 분획 투여군의 경우 방사선 조사전 1주간 투여군(그림 5)은 약 36개, 방사선 조사 前 後 지속투여군은 약 30개, 조사후 3.5일간 투여군(그림 6)은 약 33개로 측정 되어 본 약제가 마우스 공장소낭선세포를 방사선 손상으로 부터 보호하는 효과가 현저하게 있음을 알 수 있었고 이는 통계적으로 유의하였다. 공장소낭선 총 평균 수로 비교해볼 때 Alkaloid 분획을 방사선 조사전 1주일간 투여 하였을 때는 방사선조사 대조군에 비해 방사선 손상이 약 2.3배 ( $p < 0.01$ ) 덜 일어난 것이다. 이러한 현상은 같은 방법으로 실험한 수용성 분획 투여군의 경우에서도 약 1.8배 ( $p < 0.025$ )로 나타났다.

현미경 소견을 보면 본 약제를 방사선조사 전 투여한 경우 방사선조사 대조군(그림 4)에 비하여 小囊腺(crypt)과 함께 絨毛(villi)도 다수 殘存하는 소견(그림 5)이 관찰되어 조사 전 약제 투여에 의한 방사선

보호 효과를 알 수 있었고 방사선조사 후 투여군(그림 6)의 경우는 絨毛가 방사선에 의해 이미 파괴된 후이므로 방사선조사 대조군과 비슷한 수준으로 消失되었으나 소낭선은 그 수가 증가 되어 있어 방사선 조사 후 본 약제에 의해 손상의 회복과 증식이 촉진되었음을 알 수 있었다. 또한 공장소낭선 수를 같은 방법으로 환산할 때 방사선 조사후 Alkaloid 분획 투여군은 대조군에 비해 약 2.1배 ( $p < 0.005$ ), 수용성 분획 투여군은 약 2.8배 ( $p < 0.001$ ) 소낭선의 증식이 나타나 본 약제들을 방사선 조사 후 투여시에도 공장소낭선세포의 방사선 손상으로부터의 회복 및 증식효과가 현저함을 알 수 있었다.

Table 5. Jejunal crypt regeneration in alkaloid or water fraction treated mice.

Groups	Crypts per circumference (mean $\pm$ S.D.)	Relativeness
Untreated control	167.92 $\pm$ 5.56	
Irradiation control(15Gy)	15.97 $\pm$ 6.90	1.0
Alkaloid fraction (5.4mg/day, P.O.) + irradiation		
I	36.30 $\pm$ 10.23	2.3(P<0.01)
II	29.57 $\pm$ 8.73	1.9(P<0.05)
III	33.25 $\pm$ 9.05	2.1(P<0.005)
Water fraction (2mg/ml of drinking water) + irradiation		
I	29.55 $\pm$ 8.50	1.8(P<0.025)
II	48.00 $\pm$ 8.41	3.0(P<0.001)
III	44.85 $\pm$ 9.42	2.8(P<0.001)

\* Administration schedule of alkaloid or water fraction of ginseng.

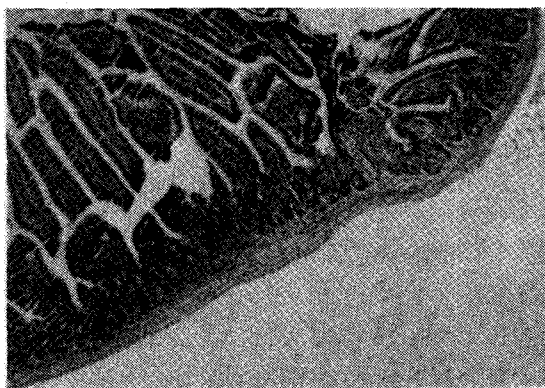


Fig. 3. 마우스 정상 공장벽 소낭선 소견(H&E X50). 잘 발달된 용모와 기저부의 소낭선이 잘 보임.



Fig. 4. 방사선 15 Gy 조사 3.5일 후의 마우스 공장 소낭선. 용모가 완전소실 되고 소낭선이 거의 없다.(H&E X20)

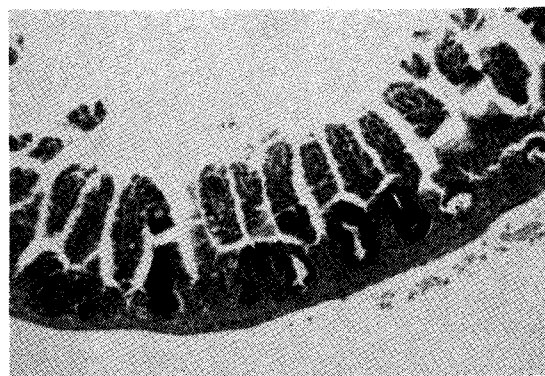


Fig. 5. Alkaloid 분획 1주간 투여 후 방사선조사 3.5일 후의 소견. 용모가 부분적으로 보존되어 있고 소낭선의 재생이 보임.

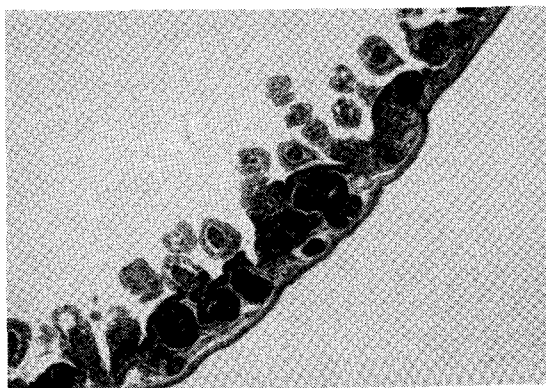


Fig. 6. 방사선 조사 후 3.5일간 Alkaloid 분획을 투여한 소견. 용모는 거의 소실되었으나 소낭선의 왕성한 재생이 보임.

## 2. 마우스 임파구 미세핵 형성

### 가. 시험관내 시험(in vitro test)

임파구 미세핵 형성 빈도는(표 6, 7) 방사선조사 대조군의 경우 세포당 최대 3개까지 발견 되었으나 약제 투여군에서는 대부분 세포당 1개-2개의 미세핵이 발견 되었고 그 빈도도 약 20% 정도 감소 하였으며 Alkaloid 분획 투여군에서 그 경향이 더욱 두들어 졌지만 통계적 유의성은 없었다.

### 나. 생체내 시험(in vivo test)

생체 방사선 조사 후 채취한 마우스 비장 임파구의 미세핵 형성빈도는(표 8, 9) 본 제제 투여군에서 방사선조사 대조군에 비하여 주로 1-2개의 미세핵이 관찰 되었고 세포당 평균 발생빈도를 보면 Alkaloid 분획 투여군은 대조군 0.436개에 비해 약 0.298개로 31% ( $p < 0.025$ ), 수용성 분획 투여군은 약 0.335개로 23% ( $p < 0.025$ )로 빈도가 감소하였고 이는 통계적으로도 유의하였다. 이러한 결과는 본 제제가 세포핵 내 染色體의 방사선 손상을 감소시킴으로써 방사선 방어 작용을 함을 나타낸 것으로 染色體의 손상방식 및 손상의 회복(repair)에 각각 어떻게 작용하는가에 대하여는 향후 지속적인 연구에 의해 料明이 될 것으로 사료 된다.



Table 6. Distribution of micronuclei(MN) in binucleated mouse lymphocytes following in vitro treatment with-rays and alkaloid or water fraction of ginseng.

Treatment	Total number of counted	Number of cells	Frequency distribution of the number		
			1	2	3
Irradiation	393	264	102	21	6
control(3 Gy)	387	228	114	39	6
	429	261	132	30	6
Alkaloid fr.	293	200	85	8	
(0.2mg/ml of	360	243	101	16	
medium, 60 min)	296	192	88	16	
+ irradiation					
Alkaloid fr.	446	360	78	8	
(0.2mg/ml of	434	248	169	15	2
medium, 30 min)	361	232	108	21	
+ irradiation					
Water fr.	203	144	43	16	
(0.5mg/ml of	376	235	125	16	
medium, 60 min)	464	304	152	8	
+ irradiation					
Water fr.	292	168	104	20	
(0.5mg/ml of	393	240	141	12	
medium, 60 min)	297	184	101	10	2
+ irradiation					

Table 7. Frequency of micronuclei in binucleated mouse lymphocytes following in vitro treatment with  $\gamma$ -rays and alkaloid or water fraction.

Treatment	Micronuclei per cell (MN $\pm$ S.D.)	% reduction
Irradiation control(3 Gy)	0.4814 $\pm$ 0.0656	0
Alkaloid fr.(0.2mg/ml of medium, 60 min) + irradiation	0.3732 $\pm$ 0.0305	22.5(p>0.05)
Alkaloid fr.(0.2mg/ml of medium, 30 min) + irradiation	0.3662 $\pm$ 0.1376	23.9 $\simeq$
Water fr.(0.5mg/ml of medium, 60 min) + irradiation	0.3837 $\pm$ 0.0313	20.3 $\simeq$
Water fr.(0.5mg/ml of medium, 30 min) + irradiation	0.4469 $\pm$ 0.0403	7.2 $\simeq$

Table 8. Distribution of micronuclei(MN) in cytokinesis blocked mouse lymphocytes following in vivo treatment with  $\gamma$ -rays and alkaloid or water fraction.

Treatment	Total number of counted cells	Number of cells without MN	Frequency distribution of the number		
			1	2	3
Irradiation	682	442	199	39	2
control(3 Gy)	545	355	156	29	5
	483	303	138	36	6
Alkaloid fr.	977	688	240	45	4
(5.4mg/day, P.O.,	556	423	116	15	2
for 7 days)	486	360	120	6	
+ irradiation					
Water fr.	567	402	138	27	
(2mg/ml of drinking	482	356	105	21	
water, for 7 days)	601	426	136	36	3
+ irradiation					

Table 9. Frequency of micronuclei in binucleated mouse lymphocytes following in vivo treatment with  $\gamma$ -rays and alkaloid or water fraction.

Treatment	Micronuclei	
	per cell (MN $\pm$ S.D.)	% reduction
Irradiation control(3 Gy)	0.4357 $\pm$ 0.0315	0
Alkaloid fr.(5.4mg/day, P.O., for 7 days)+irradiation	0.2984 $\pm$ 0.0448	31(p>0.025)
Water fr.(2mg/ml of drinking water, for 7 days)+irradiation	0.3349 $\pm$ 0.0282	23(p>0.025)

## 結 論

Adaptagen의 주요 성분인 人蔘 alkaloid 分劃의 放射線 防禦劑로서의 효과를 究明하기 위하여 마우스 空腸小囊腺細胞 損傷 및 回復을 측정하고, 마우스 脾臟淋巴球 微細核 측정법을 시험관 내 및 생체에서 실시함으로써 방사선 방어효과를 평가하였으며, 실험 결과 얻어진 결론은 다음과 같다.

1. 마우스 空腸小囊腺細胞의 방사선 손상은 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시 공히 감소하였으나, alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.
2. 마우스 空腸小囊腺細胞 손상의 회복 및 증식은 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시 공히 현저히 증가하였다.
3. 시험관내 시험에서 방사선에 의한 임파구 미세핵 형성빈도는 쌍핵세포의 형성율이 낮아 통계학적인 의의는 없으나 약제 투여군에서 빈도가 낮은 경향을 보였으며 alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.
4. 생체내 시험에서 방사선에 의한 임파구 미세핵 형성빈도는 대조군에 비해 alkaloid 분획 투여시와 수용성 분획 투여시 공히 감소하였으나 alkaloid 분획 투여시 더욱 현저하였다.

이상의 결과에서 인삼 alkaloid 및 수용성 분획이 방사선에 의한 染色體 손상을 억제하고 손상된 세포의 회복(repair) 및 증식(regeneration)을 촉진하여 방사선 방어효과를 나타냄을 알 수 있었으며, 이는 독성이 비교적 없는 자연산생물(natural products)로서 방사선방어제로 임상에 직접 사용 할 수 있다.

## 参 考 文 献

1. Patt H, Tyree M and Straube RL : Cysteine protects against x-irradiation. *Science* 110 : 213, 1949
2. Sweeney TR : A survey of compounds from the antirradiation drug development program of the U.S. army medical research & development command. Walter Reed Army Institute of Research. Washington DC, 1979
3. Kligerman MM, Shaw MT, Slavid M and Yuhas JM : Phase I clinical studies with WR2721. *Cancer Clin trials* 3 : 217, 1980
4. Phillips TL, Wasserman TH, Stetz J and Brady LW : Clinical trials of hypoxic cell sensitizers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 8 : 327-334, 1982.
5. Turrisi AT, Kligerman MM, Glover DJ, Glick JH, Norfleet L and Gramkowski M : Experience with Phase I trials of WR-2721, Proceeding radiation therapy. In : Radioprotectors and anticarcinogens (Nygaard OF and Simic M, eds) New York, Academic Press Inc, 1983, pp 681-694.
6. Strauss BS : Molecular biology of the response of cells to radiation and to radiomimetic chemicals. *Cancer* 40 : 471-480, 1979.
7. Choi KJ, Kim MW, Sung HS, Hong SK : Effect of extraction on chemical composition of red ginseng extract. *Korean J Ginseng Sci* 4 : 298-305, 1980.
8. Han BH, Park MH, Han YN : Studies on the antioxidant components of korean ginseng (V) : The mechanism of antioxidant activity of maltol and phenolic acid. *Korean Biochem J* 18 : 337-340, 1985.
9. Shoji J : Recent advances in chemical studies on ginseng. In : Advances in chinese medicinal materials research (Chang HM, Yeung HW, Tso W-W and Koo A, eds). Singapore, Philadelphia, World Scientific Publishing Corp, 1985, pp 455-470.
10. Kim ND : Pharmacological properties of ginseng. In : Korean ginseng (Bae HW, eds). Seoul, Korea Ginseng Research Institute, 1978, pp 115-158.
11. Yonezawa M : Restoration of radiation injury by intraperitoneal injection of ginseng extract in mice. *J Radiat Res* 17 : 111-113, 1976.
12. Takeda A, Yonezawa M and Katoh N : Restoration of radiation injury by ginseng I. Response of x-irradiated mice to ginseng extract. *J Radiat Res* 22 : 323-335, 1981.
13. Yonezawa M, Katoh N and Takeda A : Restoration of radiation injury by ginseng II. Some properties of the radioprotective substances. *J Radiat Res* 22 : 336-343, 1981.
14. Takeda A, Katoh N and Yonezawa M : Restoration of radiation injury by ginseng III. Radioprotective effect of thermostable fraction of ginseng extract on mice, rats and guinea pigs. *J Radiat Res* 23 : 150-167, 1982.
15. Withers HR and Elkind MM : Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Radiat Biol* 17 : 261-267 1970.
16. Fenech MF and Morley AA : Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Res* 147 : 29-36, 1985.
17. Fenech MF, Dunaiski V, Osborne Y and Morley AA : The cytokinesis-blocked micronucleus assay as a biological dosimeter in spleen and peripheral blood lymphocytes of the mouse following acute whole-body irradiation. *Mutation Res* 263 : 119-126, 1991.