

인삼사포닌 분획이 에탄올을 투여한 쥐의 뇌에서 분리한 신경세포와 Astrocyte의 Aldehyde Dehydrogenase 활성에 미치는 영향

이영돈 · 황우섭 · 서해영
아주대학교 의과대학 해부학교실
(1997년 3월 25일 접수)

The Effect of Saponin Fraction of *Panax Ginseng* C.A. Meyer on Aldehyde Dehydrogenase Activity in Neurons and Astrocytes Isolated from Ethanol Administered Rat Brain

Young-Don Lee, Woo-Sup Hwang and Hae-Young Suh

Department of Anatomy, College of Medicine, Ajou University, Suwon 442-749, Korea

(Received March 25, 1997)

Abstract : The changes in aldehyde dehydrogenase(ALDH, E.C. 1.2.1.3.) activity in neurons and astrocytes isolated from rat brains were investigated after administration of ethanol and Korean red ginseng(*Panax ginseng* C.A. Meyer) saponin. The cerebral ALDH activity with acetaldehyde and propionaldehyde was higher in the white matter than in the gray matter. However, using indole-3-acetaldehyde and 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde as substrates, there was no significant difference in activity between two regions in cerebrum. In ethanol treated group, ALDH activity with all the substrates in the gray and white matter was lower than in normal group. In ethanol-saponin treated group, the enzyme activity in the white matter remarkably increased. The ALDH activity in neurons isolated from cerebral cortex in ethanol-treated group was lower than in normal group. In ethanol-saponin treated group, neuronal ALDH activity with propionaldehyde was significantly recovered but not with indole-3-acetaldehyde. In astrocytes, although the ALDH activity with propionaldehyde in the ethanol-treated group was not changed as compared with normal group, considerable increase in activity was found in ethanol-saponin treated group. These results suggest that Korean red ginseng saponin may protect the neuronal functions from the toxic effects of acetaldehyde derived from ethanol by stimulation of ALDH activity in astrocytes surrounding nerve cells.

Key words : Korean red ginseng, saponin, aldehyde dehydrogenase, neuron, astrocyte, ethanol, brain.

서 론

뇌조직에 분포하는 aldehyde dehydrogenase(ALDH, E.C. 1.2.1.3)의 주된 기능은 amine류의 신경전달물질에서 생성되는 생체 aldehyde의 산화작용이지만 alcohol 대사의 중간산물인 acetaldehyde와 같은 외부기질의 산화에도 관여한다. Ethanol 산화과정에서 생성되는 acetaldehyde는 주로 간조직의 미토콘드

리아 ALDH에 의해 제거되는데 과량의 acetaldehyde가 생성될 경우에는 일부가 혈액을 통하여 뇌조직으로 운반되는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 뇌조직에 있어서 acetaldehyde는 생체 aldehyde의 정상적인 산화과정을 경쟁적으로 억제함으로써 생체 aldehyde의 증가를 유발시킨다. 반응성이 높은 생체 aldehyde는 혈청단백질, hemoglobin, collagen등과 반응하여 그 기능을 변화시키고^{3,4)} 신경세포의 Na⁺,

K⁺-ATPase 활성을 억제하기도 한다.⁶⁾ 특히 중추신경계내에서 acetaldehyde 농도가 증가하게 되면 catecholamine이나 indoleamine 등과 반응하여 tetrahydroisoquinoline 이나 tetrahydro- β -carboline 등의 alkaloid계 축합물을 형성하게 되는데 이들 물질이 alcohol 중독의 원인이 된다는 보고^{7,8)}도 있다. 최근 연구에 따르면 ALDH는 생체막을 구성하는 지질의 과산화과정에서 생성되는 소수성(hydrophobic) aldehyde의 분해대사에 중요한 역할을 할 것으로 추측되고 있으며⁹⁾ 이러한 지질의 과산화과정은 ethanol을 지속적으로 투여하였을 경우에도 유발되는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 뇌조직의 외부로부터 혈액을 통하여 acetaldehyde가 신경세포로 들어오기까지는 신경세포를 둘러싸고 있는 아교세포(glial cell) 즉 astrocyte 및 oligodendrocyte를 통과하여야 한다. 따라서 ethanol 섭취에 따른 뇌 신경세포의 기능적 변화를 정확히 파악하기 위해서는 이러한 세포장벽에 분포하는 ALDH에 대한 연구가 큰 의미를 갖는다.

Ethanol대사에 미치는 인삼성분의 영향에 관한 생화학적 연구결과에 의하면 적당량의 인삼 사포닌 성분은 간조직의 alcohol dehydrogenase(ADH) 뿐만 아니라 ALDH 및 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)를 모두 활성화시키는 것으로 알려져 있다.¹¹⁻¹³⁾ 뇌조직의 경우에 있어서도 인삼 사포닌과 일부 ginsenoside의 투여가 ethanol에 의하여 저하된 ALDH의 활성을 회복시킨다는 결과를 얻은 바 있다.^{13,14)} 따라서 인삼 사포닌성분이 신경세포를 싸고 있는 아교세포의 ALDH 활성 역시 증가시킬 가능성은 있으나 ALDH 활성변화가 뇌조직내 어떤 종류의 세포에서 주로 일어나는가에 관해서는 아직 확실한 연구결과가 없다. 따라서 이러한 점에 관한 연구는 인삼성분이 aldehyde 독성으로부터 신경세포를 보호할 수 있는 효과를 갖는지를 규명하는 차원에서 실험적으로 추구할 필요성이 있다.

일반적으로 조직에서 다양한 세포가 나타내는 효소 활성의 변화양상은 조직화학적 방법을 통하여 조사할 수 있으나^{15,16)} 뇌조직에서 아교세포의 종류를 형태학적으로 구별하고 각 종류의 세포들이 갖고 있는 효소 활성을 정확히 측정하기에는 많은 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서는 고려 홍삼에서 추출한 사포닌 성분이 1) 뇌조직에서 aldehyde 독성에 대한 보호효과가 있는지 그리고 2) 이러한 보호작용이 신경세포 주

위를 싸고 있는 astrocyte에 분포하는 ALDH 활성을 통해 일어나는지를 조사하고자 ethanol과 사포닌을 흰쥐에 투여한 후 뇌조직으로부터 신경세포와 astrocyte를 분리하고 이들의 ALDH 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 Sprague-Dawley계 흰쥐(수컷, 체중 150 g 내외)를 사용하였으며 인삼 사포닌은 고려 홍삼으로 부터 추출한 것을 사용하였다. 본 실험에 사용한 indole-3-acetaldehyde, propionaldehyde, dopamine, NAD⁺, trypsin(type V), glucose, fructose 및 sucrose 등은 Sigma사(St. Louis, U.S.A.), acetaldehyde는 Fluka사(Buchs, Swiss), ethanol은 Merck사(Darmstadt, Germany), 그리고 Ficoll 400은 Pharmacia-LKB사(Uppsala, Sweden) 제품이 었다.

2. 실험방법

(1) 에탄올 및 인삼 사포닌의 투여

실험동물을 각 군당 10 마리씩, 정상군, ethanol 투여군 및 ethanol-사포닌 투여군으로 나누고 정상군에는 정상적인 사료와 물을 공급하였고, ethanol 투여군에는 물 대신 15% ethanol을, ethanol-사포닌 투여군에는 물 대신 0.1% 인삼 사포닌을 함유한 15% 에탄올을 10 일간 공급하였다.

(2) 조직 및 세포의 분리

흰쥐의 머리를 절단하여 뇌를 꺼낸 후 얼음으로 냉각된 유리판 위에서 뇌막, 소뇌 및 뇌줄기 부분을 제거하고 약 1 mm 두께로 관상절단하여 15-20 개의 조직편을 만들었다. 대뇌 조직편의 일부는 해부현미경 하에서 회색질과 백색질을 분리하고 이를 0.32 M sucrose와 0.5 mM EDTA를 함유한 10 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)에 넣고 10%(w/v) 균질액으로 만든 후 효소활성 측정에 사용하였다.

뇌조직편으로부터 신경세포와 astrocyte의 분리는 Farooq와 Norton의 방법^{17,18)}을 변형하여 시행하였다. 조직편을 0.1% trypsin을 함유한 분리용액(8% glucose, 5% fructose, 2% Ficoll(w/v), 10 mM phosphate buffer, pH 6.0)에 넣고 30°C의 진탕배양기에서 90 분간 반응시켰다. 반응 후 사용한 분리용액과 동량의 0.1% soybean trypsin inhibitor를 넣어

4°C에서 30 분간 방치하여 trypsin의 작용을 완전히 정지시키고 용액을 버린 후 조직편을 분리용액으로 3회 세척하였다. 이 조직편들을 15 ml의 분리용액이 들어있는 플라스크와 연결된 유리관(구멍의 직경: 2.2 mm)을 약 50 mmHg의 진공을 이용하여 통과시키면서 조직을 분산시키고 이 조직분산액을 40 mesh의 나일론막에 통과시켜 1차 여과액을 얻었다. 여과되지 않은 조직은 위와 동일하게 trypsin처리와 세척과정을 거친 후 구멍직경이 2.0 mm인 유리관과 나일론막을 통과시켜 2차 여과액을 얻고 여기에서 여과되지 않은 조직은 다시 위와 동일한 방법을 거쳐 구멍직경이 1.5 mm인 유리관과 나일론막을 통과시켜 3차 여과액을 얻었다. 세포가 분산되어 있는 1차, 2차 및 3차 여과액을 모은 후 여기에 70% sucrose 분리용액을 가하여 세포분산액의 sucrose의 최종농도가 25%가 되도록 만들고 이를 70% sucrose 분리용액 위에 얹어 6,000×g에서 20 분간 농도구배 원심분리를 시행하였다. 25% sucrose용액 위에 형성된 분획(myelinated axon분획)을 제거하고 25~70% 경계부에 형성된 분획을 pasteur pipette으로 취한 후 이 분획을 다시 32%, 45% 및 52%의 sucrose 분리용액에 얹어 2,100×g에서 20 분간 농도구배 원심분리를 시행하였다. 32% sucrose용액 위에 형성된 분획을 astrocyte분획으로, 45~52% 경계부에 형성된 분획을 신경세포 분획으로 수집하였으며 각 분획에 분리용액을 가하여 1×10^6 개/ml의 세포농도가 되도록 희석하여 효소활성 측정에 사용하였다. 위의 분리과정은 뇌조직편의 trypsin처리를 제외하고 모두 4°C에서 시행하였으며 한번의 분리과정에 2마리의 뇌를 합하여 사용하였다. 세포생존율은 0.3% nigrosin염색 후 hemocytometer를 이용하여 산출하였다.¹⁹⁾

(3) 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde의 합성

본 연구에서 기질로 사용할 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde는 Nilsson과 Tottmar의 방법²⁰⁾에 따라 합성하였다. 합성반응액의 조성은 10 mM phosphate buffer(pH 7.5), 4 mM sodium bisulfite, 1 mM dopamine 및 monoamine oxidase 효소원으로 서 쥐 간 미토콘드리아에서 분리한 막분획(2 mg 단백질/ml)이었다. 30°C의 진탕배양기에서 9 시간 반응시킨 후 140,000×g에서 30분간 초원심분리하여 미토콘드리아 막분획을 제거한 후 얻은 상층액을 기질로 사용하였다. 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde이

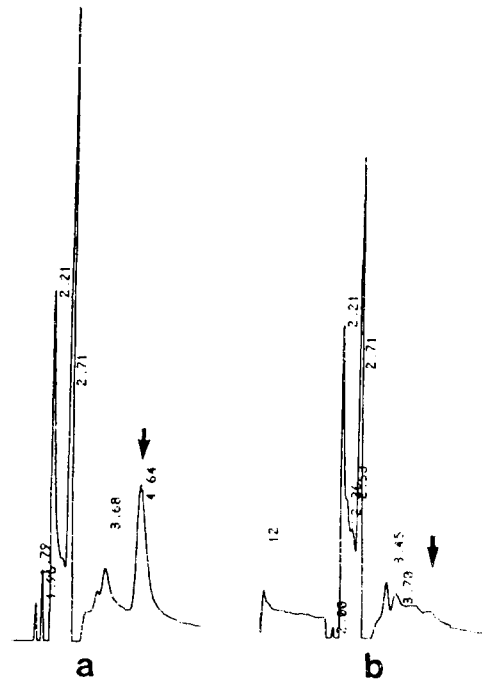


Fig. 1. Chromatogram of dopamine in the incubation medium for 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde (DOPAL) synthesis at 0 time (a) and 6 hours after incubation (b). Arrows indicate dopamine peak. Column: C18 reverse phase (4×25 cm, 10 μm in particle size), Elution buffer: 10% acetonitrile in 0.15 M monochloroacetic acid buffer (pH 3.3). Flow rate: 1 ml/min. Detector: electrochemical detector.

완전히 합성되었는지를 확인하기 위하여 반응이 끝난 후 TLC(Silica gel F₂₅₄)를 시행하였다. 전개용매로는 sec-butanol:formic acid:물(15:3:2 v/v/v)을, 그리고 aldehyde를 확인하기 위한 발색시약으로는 2 N HCl에 녹인 0.5% 2,4-dinitrophenylhydrazine용액을 사용하였다. 또한 HPLC(Spectraphysics, C₁₈ reverse phase column, 10 μm particle size)를 이용하여 dopamine이 모두 aldehyde로 전환되었음을 확인하였다(Fig. 1).

(4) Aldehyde dehydrogenase 활성의 측정²¹⁾

ALDH의 활성측정을 위한 반응용액의 조성은 70 mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8.8), 1 mM NAD⁺, 0.5 mM pyrazole, 0.5% sodium deoxycholate 및 효소원이었다. 효소반응은 최종적으로 기질인 aldehyde를 가함으로써 시작시켰으며 효소활성은 NADH 생성에 따른 340 nm에서 흡광도의 변화

를 25°C에서 spectrophotometer(Miton Roy Spectronic 601, U.S.A.)로 측정하여 산출하였다.

결과 및 고찰

뇌조직내에서 acetaldehyde의 농도가 높아지게 되면 aldehyde dehydrogenase(ALDH)의 생리적 기질인 생체 aldehyde의 정상적인 산화과정을 경쟁적으로 억제시킴으로써 생체 aldehyde의 축적이 일어나게 된다고 알려져 있다. Ethanol 산화과정에서 생성되는 acetaldehyde는 주로 간의 미토콘드리아 ALDH에 의해 산화되며 과량의 acetaldehyde가 생성될 경우에는 일부가 혈액을 통하여 다른 여러 조직으로 운반된다고 알려져 있으나 ethanol 투여에 의해 생성된 acetaldehyde가 뇌조직으로 들어오는지에 대해서는 아직 분명한 결론을 얻지 못하고 있다. 혈액내 acetaldehyde는 혈액-뇌장벽(blood-brain barrier)을 이루는 모세혈관의 내피세포에서 모두 대사되어 실제 뇌의 실질조직내에서는 acetaldehyde가 발견되지 않

는다고 보고가 있으나²²⁾ 일단 뇌조직내로 들어온 acetaldehyde가 빠른 속도로 산화되어도 acetaldehyde의 축적은 일어나지 않을 가능성도 높다.^{23, 24)} 이 경우에 있어서 acetaldehyde가 신경세포에 영향을 주기 위해서는 신경세포를 둘러싸고 있는 아교세포(glia cell) 즉 astrocyte나 oligodendrocyte를 통과하여야 한다. 따라서 이미 효소계를 촉진하는 것으로 알려진 인삼 사포닌성분이 혈액-뇌장벽을 구성하는 주세포인 astrocyte의 aldehyde 제거능력에 미치는 영향을 조사하는 것은 인삼 성분의 신경세포 보호효과를 조사한다는 점에서 의미를 갖는다.

본 연구에서는 일차적으로 대뇌 부위에서, 아교세포와 함께 신경세포체가 주로 분포하는 피질층(회색질)과 신경세포체가 존재하지 않고 주로 신경섬유와 아교세포들로 구성된 백색질의 ALDH 활성을 조사하였다(Table 1). 정상군의 경우 acetaldehyde와 propionaldehyde에 대한 ALDH 활성은 회색질보다는 백색질에서 높게 나타나 뇌조직에 분포하는 ALDH 총활성의 상당한 부분이 아교세포에 존재하

Table 1. The effect of ginseng saponin on ALDH activities with various substrates in the cerebral gray, and white matters of ethanol administered rat

Substrates	ALDH activity ^{a)} in			
	Gray matter		White matter	
Acetaldehyde ^{b)}				
Normal	1.54±0.57	(100)	4.99±0.26	(100)
Ethanol	1.05±0.22	(68)	3.14±0.45	(63)
Ethanol + saponin	1.90±1.09	(123)*	4.89±0.16	(98)
Propionaldehyde ^{b)}				
Normal	4.09±0.23	(100)	6.34±1.10	(100)
Ethanol	2.16±0.33	(53)	4.33±0.58	(68)
Ethanol+saponin	2.95±0.98	(72)	6.78±0.64	(107)*
Indole-3-acetaldehyde ^{c)}				
Normal	9.11±0.86	(100)	9.14±0.96	(100)
Ethanol	6.73±0.98	(74)	8.74±0.63	(63)
Ethanol+saponin	8.63±1.20	(95)	11.32±1.32	(140)*
3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde ^{d)}				
Normal	0.47±0.16	(100)	0.53±0.16	(100)
Ethanol	0.22±0.10	(47)	0.35±0.19	(66)
Ethanol+saponin	0.35±0.12	(74)	0.72±0.12	(136)*

^{a)} Enzyme activity was expressed as unit/mg protein. One unit was defined as an increase in optical density of 0.01 per minute.

^{b)} Concentration of 10 mM was used for the measurement of total activity (low Km and high Km activity).

^{c)} Concentration of 2 mM was used.

^{d)} Concentration of 100 μM was used.

*p<0.05 comparing with ethanol treated group. n=4

() means the percentage of activity compared to activity of normal group as 100.

고 있음을 보여주고 있다. 그러나 회색질에 있어서 indole-3-acetaldehyde와 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde(DOPAL)에 대한 활성은 백색질과 큰 차이를 나타내지 않았는데 이는 신경전달물질 분해 대사의 한 과정으로서 탄소고리를 갖고 있는 생체 aldehyde의 대사가 아교세포보다는 신경세포에서 더 중요한 의미를 갖기 때문으로 생각된다. Ethanol 투여군의 경우 회색질과 백색질의 ALDH 활성은 기질 및 부위에 따라 정상군에 비해 26-53%의 활성이 감소되었다. 특히 본 실험의 결과에 따르면 회색질에서 DOPAL에 대한 활성억제가 가장 뚜렷하여 ethanol 투여가 dopamine대사에 큰 영향을 미칠 것으로 예상되며 이러한 결과는 ALDH 활성이 dopamine성 신경 말단의 밀도와 상관관계가 있다는 다른 연구자의 보고¹⁶⁾에 의해서도 뒷받침된다. Ethanol 투여에 의해 간과 뇌조직의 ALDH 활성이 억제된다는 결과는 많은 연구자에 의해 보고되어 있는데^{13, 25, 26)} 이는 세포내 alcohol dehydrogenase활성 증가에 따른 NADH의 과잉생산과 미토콘드리아에서 NAD⁺의 재생산이 저하되어 NADH/NAD비가 증가하기 때문인 것으로 해석되고 있다. 또 다른 측면으로 ethanol 또는 생성된 acetaldehyde에 의해 효소단백질의 변성이 일어나거나 또는 합성이 억제되어 결과적으로 활성이 저하된다는 연구보고는 아직 없지만 acetaldehyde가 collagen이나 hemoglobin 등 단백질의 변성을 일으킨다는 보고로 미루어 볼 때 그러한 가능성도 배제할 수는 없다.²⁷⁾ Ethanol과 함께 사포닌을 투여하였을 경우 모든 기질에 대한 ALDH 활성은 회색질보다 백색질에서 유의할 만한 회복을 나타내어 사포닌 성분이 일차적으로 아교세포에 작용할 가능성이 높음을 보여준다.

본 연구에서는 이러한 가능성을 세포수준에서 확인하고자 대뇌 피질부에서 신경세포와 astrocyte의 분리를 시도하였다(Fig. 2). 각 세포분획의 세포생존율을 조사한 결과 신경세포분획은 72~76%, astrocyte분획은 82~90%로 신경세포의 생존율이 astrocyte보다 다소 낮은 경향을 보였으나 정상군과 실험군간의 유의할 만한 차이는 보이지 않았다. 또한 광학현미경하에서 이들 세포의 형태학적인 특징을 기준으로 감별계수하여 각 세포분획의 순수도를 산출한 결과 두 세포분획 모두 70% 이상의 순수도를 나타내었다(Table 2).

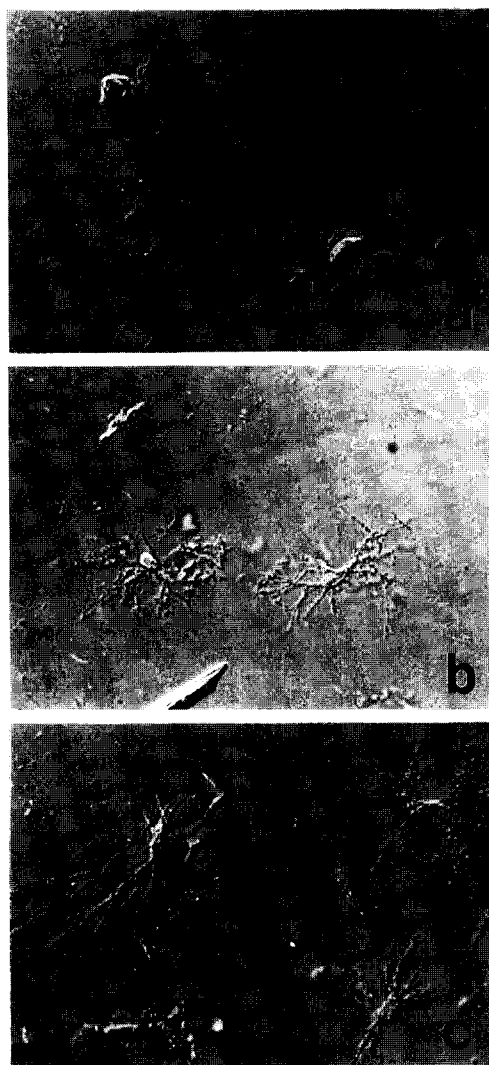


Fig. 2. Photomicrographs of isolated neurons and astrocytes. Phase contrast, $\times 500$. (a) Two neuronal cell bodies isolated from normal rat brain. (b) Two protoplasmic astrocytes isolated from ethanol-saponin treated rat brain. (c) Protoplasmic and fibrous astrocyte isolated from ethanol-saponin treated rat brain. Arrow indicates a fibrous astrocyte characterized by its thin and much longer cell processes.

신경세포의 ALDH활성은 Table 3에서 나타낸 바와 같이 정상군에 있어서는 탄소고리 구조를 갖고 있는 indole-3-acetaldehyde에 대한 활성이 propionaldehyde 보다 높았다. Ethanol 투여군에서는 indole-3-acetaldehyde에 대한 활성이 propional-

Table 2. Cell viability and purity of neuronal and astrocytes fractions isolated from normal and ethanol administered rat brains

	Neuronal fraction		Astrocyte fraction	
	viability(%)	purity(%)	viability(%)	purity(%)
Normal	72±3	71±5	87±4	74±6
Ethanol	74±5	70±4	82±5	80±8
Ethanol+saponin	76±6	75±7	90±3	70±5

n=3

Table 3. The effect of ginseng saponin on ALDH activities in the neuronal fraction isolated from ethanol administered rat brains

	ALDH activity ^{a)} with			
	Propionaldehyde ^{b)}		Indole-3-acetaldehyde ^{c)}	
Normal	1.41±0.17	(100)	4.04±0.48	(100)
Ethanol	1.18±0.18	(84)	2.08±0.52	(51)
Ethanol+saponin	1.51±0.34	(107)*	2.31±0.12	(57)

^{a)} Enzyme activity was expressed as unit/mg protein. One unit was defined as an increase in optical density of 0.01 per minute.

^{b)} Concentration of 10 mM was used for the measurement of total activity (low Km and high Km activity).

^{c)} Concentration of 2 mM was used.

*p<0.05 comparing with ethanol treated group. n=4 () means the percentage of activity compared to activity of normal group as 100.

dehyde보다 3배 정도 더 억제되어 외부로부터 aldehyde가 들어올 경우 신경전달물질로 작용하는 생체 amine의 분해대사가 크게 저해받는 것으로 나타났다. 사포닌을 ethanol과 함께 투여하였을 경우 propionaldehyde에 대한 활성은 유의할 만한 회복을 보였으나 indole-3-acetaldehyde에 대한 활성은 ethanol 투여군과 차이를 보이지 않았다. 일반적으로 신경전달물질대사에 관여하는 isozyme은 미토콘드리아에 존재하는 low Km ALDH로 알려져 있고²¹⁾ acetaldehyde나 propionaldehyde는 모든 isozyme에 대하여 광범위하게 작용하는 기질이라는 점에서 사포닌 성분이 ALDH 활성에 미치는 영향은 각 isozyme에 따라 다소 차이가 있을 것으로 해석된다. 포유동물의 대부분 장기에 분포하는 ALDH는 Km값이 mM 단위인 high Km형과 μ M 단위인 low Km형, 두 종류로 분류된다.²⁸⁾ 일반적으로 세포질과 미토콘드리아에는 이 두 가지 형이 모두 존재하는 반면 미크로

Table 4. The effect of ginseng saponin on ALDH activities in the astrocytes fraction isolated from ethanol administered rat brains

	ALDH activity ^{a)} with			
	Propionaldehyde ^{b)}		Indole-3-acetaldehyde ^{c)}	
Normal	1.12±0.03	(100)	1.60±0.25	(100)
Ethanol	1.23±0.20	(110)	1.43±0.43	(89)
Ethanol+saponin	1.44±0.25	(129)*	1.31±0.48	(82)

^{a)} Enzyme activity was expressed as unit/mg protein. One unit was defined as an increase in optical density of 0.01 per minute.

^{b)} Concentration of 10 mM was used for the measurement of total activity (low Km and high Km activity).

^{c)} Concentration of 2 mM was used.

*p<0.05 comparing with ethanol treated group. n=4

() means the percentage of activity compared to activity of normal group as 100.

좀에는 주로 high Km형이 분포하는 것으로 알려져 있으며 이들은 다시 여러 종류의 isozyme으로 구성되어 있다. 그러나 현재까지 신경세포와 아교세포에 분포하는 isozyme들의 종류와 특성에 관한 정확한 연구보고는 없다. 미토콘드리아의 low Km ALDH의 항체를 이용하여 본 연구자가 시도한 면역조직화학 연구에 의하면 이 isozyme은 아교세포보다는 신경세포에 더 특이적으로 분포하며 그 분포양상은 뇌조직의 미세부위에 따라 차이가 있음을 확인한 바 있다 (unpublished data).

Ethanol과 사포닌 투여에 따른 astrocyte의 ALDH 활성변화는 Table 4에 나타내었다. 정상군의 경우 astrocyte의 indole-3-acetaldehyde에 대한 활성은 신경세포의 경우보다 낮았으며 propionaldehyde 기질의 차이도 뚜렷하지 않았다. 이는 astrocyte의 ALDH보다는 신경세포의 ALDH가 신경전달물질의 분해와 관련하여 생체 aldehyde와 유사한 구조의 indole-3-acetaldehyde를 더 적합한 기질로 사용하고 있음을 의미한다. 또한 분리한 astrocyte의 ALDH 활성이 백색질에 존재하는 활성(Table 1)에 비해 상당히 낮게 나타난 것은 상당부분의 ALDH 활성은 백색질에 분포하는 또 다른 아교세포인 oligodendrocyte가 가지고 있을 가능성을 보여주고 있으며 이는 효소조직화학적 염색을 이용한 연구보고²⁹⁾에서도 부분적으로 제시된 바 있다. Ethanol 투여군의 경우 propionaldehyde에 대한 활성은 정상군과 의미있는 차이를 나타내지 않

았으나 사포닌 투여에 의해 활성이 증가함을 보였으며 indole-3-acetaldehyde에 대한 활성은 동물군에 따라 통계적으로 의미있는 변화를 보이지 않았다. Astrocyte에 있어서 사포닌 투여에 의해 propionaldehyde에 대한 활성이 증가한다는 결과는 인삼 사포닌 성분이 혈액-뇌장벽 차원에서 aldehyde 제거를 촉진시킴으로써 acetaldehyde의 독성으로부터 신경세포를 보호할 수 있는 생화학적 효과를 가지고 있음을 시사하고 있다.

요 약

본 연구에서는 인삼 사포닌 성분의 astrocyte의 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성을 촉진시켜 aldehyde 독성으로부터 신 신경세포를 보호할 수 있는지를 확인하고자 ethanol과 사포닌을 투여한 후 신경세포와 astrocyte를 분리하여 효소활성을 측정하였다. Acetaldehyde와 propionaldehyde에 대한 ALDH 활성은 대뇌의 백색질이 회색질보다 높았으며 indole-3-acetaldehyde와 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde에 대한 활성은 큰 차이를 나타내지 않았다. Ethanol 투여시 ALDH 활성은 크게 저하되었으며 이는 사포닌을 투여하였을 경우 백색질에서 의미있는 증가를 보였다. Ethanol 투여시 ALDH 활성은 신경세포의 경우 크게 억제되었으나 astrocyte에 있어서는 큰 차이를 보이지는 않았으며 사포닌을 투여하였을 경우 두 종류의 세포 모두에서 propionaldehyde에 대한 활성이 의미있게 증가하였다. 이러한 결과는 인삼 사포닌 성분이 astrocyte의 aldehyde 제거능력을 촉진시켜 신경세포를 보호할 수 있는 효과를 갖고 있는 것으로 예상된다.

감사의 말씀

이 논문은 1994년 고려인삼학회 연구비에 의해 수행되었으며 이에 심심한 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

1. Tabakoff, B., Anderson, R. and Ritzmann, R. F. : *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 428 (1976).
2. Pettersson, H. and Kiessling, K. H. : *Biochem.*

- Pharmacol.*, **26**, 237 (1977).
3. Tuma, D. J., Donohue, T. M., Medina, V. A. and Sorrel, M. F. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **234**, 377 (1984).
4. Bowes, J. H. and Cater, C. W. : *Biochim. Biophys. Acta*, **168**, 341 (1968).
5. Baraona, E., Padova, C. D. Tabasco, J. and Lieber, C. S. : *Life Sci.*, **40**, 253 (1987).
6. Tottamer, O. and Nilsson, G. E. : *J. Neurochem.*, **45**, 744 (1986).
7. Cohen, G. : *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1123 (1976).
8. Collins, M. A. and Bigdeli, M. G. : *Life Sci.*, **16**, 585 (1975).
9. Lindahl, R. and Peterson, D. H. : *Biochem. Pharmacol.*, **41**, 1583 (1991).
10. Joo C. N. and Kwak, H. S. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **12**, 128 (1988).
11. Joo C. N. : *Surfactant in Solution*, ed. Mittel, K. L. and Lindman, B., vol 3, Plenum Press, p.2093 (1984).
12. Joo C. N., Tae, K. S., Joo, S. O. and Cho, K. S. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **9**, 1 (1985).
13. Joo C. N. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **16**, 222 (1992).
14. Lee Y. D. and Joo C. N. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **18**, 1 (1994).
15. Lee Y. D. and Joo C. N. : *Korean Biochem. J.*, **27**, 69 (1994).
16. Zimatkin, S. M. : *J. Neurochem.* **56**, 1 (1991).
17. Farooq, M., Ferezt, R., Moore, C. L. and Norton, W. T. : *Brain Res.*, **124**, 69 (1977).
18. Farooq, M. and Norton, W. T. : *J. Neurochem.*, **31**, 887 (1978).
19. Richardson, A. and Fedoroff, S. : *Tissue Culture in Neurobiology Laboratory Manual*, College of Medicine University of Saskatchewan, Saskatoon, p.171 (1988).
20. Nilsson, G. E. and Tottamer, O. : *J. Neurochem.*, **48**, 1566 (1987).
21. Pettersson, H. and Tottmar, O. : *J. Neurochem.*, **38**, 477 (1982).
22. Eriksson, C. J. P. and Sippel, H. W. : *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 241 (1977).
23. Tabakoff, B., Anderson, R. and Ritzmann, R. F. : *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1305 (1976).
24. Westcott J. I., Weiner H., Schultz J. and Myers R. D. : *Biochem. Pharmacol.* **29**, 411 (1980).

25. Jenkins, W. J., Cakebread, K. and Palmer, K. R. : *Lancet* **2**, 1048 (1984).
26. Palmer, K. R. and Jenkins, W. J. : *Hepatology* **5**, 260 (1985).
27. Weiner, H. : *Biochemistry and Pharmacology of Ethanol* ed. Majchrowics, E. and Noble, E. P., vol 1, Plenum Press, New York, p.120 (1984).
28. Tottamer, O. Petterson, H. and Kiessling, K. H. : *Biochem. J.* **135**, 577 (1973).
29. Lee Y. D. : *Biochemical and Histochemical Studies on Distribution of Aldehyde Dehydrogenase in Rat Brain*, Thesis, Yonsei University, Seoul (1994).