

Dexamethasone에 의한 흉선 Apoptosis에 대한 홍삼과 백삼 조 Saponin 분획들의 억제작용

최동희 · 최상현 · 김철한 · 신경호 · 민본홍 · 전보관

고려대학교 의과대학 약리학교실
(1997년 7월 20일 접수)

Inhibitory Effects of Ginseng Saponin Fractions on Dexamethasone-induced Thymus Apoptosis

Dong-Hee Choi, Sang-Hyun Choi, Chul-Han Kim, Kyung-Ho Shin,
Bon-Hong Min and Boe-Gwun Chun

Department of Pharmacology, College of Medicine, Korea University, Seoul 136-705, Korea
(Received July 20, 1997)

Abstract : The present study was carried out to investigate the effects of Panax ginseng saponin extracts on the dexamethasone-induced apoptosis of mouse thymus in vivo and mouse thymocytes in vitro. The saponin fractions of red ginseng (R-SAP) and white ginseng (W1-SAP) were provided by the Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, and the other saponin fraction of white ginseng (W2-SAP) was extracted in our laboratory.

1. The male ICR mice (3~4 wk old; weighing 15 ± 2 g) were given by each saponin fraction of 5 mg/kg/day for 4 days, and at one hour after the last treatment, they were injected by dexamethasone (5 mg/kg : DX). The mouse thymus was extracted at 6 hours after DX injection, and they were stained with hematoxylin-eosin reagents and an Apop-Tag kit, respectively, and the thymocytes prepared from it were labelled with anti-mouse FITC-anti-CD4 and anti-mouse PE-anti-CD8 and then analyzed by fluorescence activated cell sorter (FACS). DX-induced reduction of thymus weight was significantly attenuated by W2-SAP but was not affected by other saponin fractions. And DX-induced apoptotic death of thymocytes, appeared in the histologic findings of the thymus, was inhibited by the saponin fractions and the order of these inhibitory potencies was R-SAP \gg W2-SAP > W1-SAP. However, in respect of T cell receptors, the differentiation of thymocytes seems not to be changed by treatments with DX or/and the saponin fractions.

2. In the primary thymocyte culture, the DX-induced reduction of thymocyte MTT values was rather greater in RPMI 1640 medium of 10% fetal bovine serum (FBS) or horse serum (HS). In addition, the DX-induced MTT reduction was significantly inhibited by R-SAP or W2-SAP, in the culture using that medium of 5% FBS or HS. But these saponin fraction did not effected the DX-induced reduction of thymocyte MTT value in primary culture of 10% FBS or 10% HS. These results suggest that R-SAP and some W-SAP fractions may protect thymocyte from stress or glucocorticosteroid-induced death of them.

Key words : Dexamethasone, apoptosis.

서 론

세포고사(Apoptosis)는 세포괴사(necrotic cell death)와 달리, ATP-에너지를 필요로 하는 생리적 현상

으로서 embryogenesis, 세포의 분화, 노화, metamorphosis, 내분비-호르몬 결핍에 의한 특정 세포의 위축, 및 정상 세포의 생리적 교체, 특히 흉선의 임파구-선별기능 등에 기여한다.¹⁻⁴⁾

아울러, 체외에서 부하한 여러 요소들에 의하여도 apoptosis 현상이 유발되기도 하는 데, 예를 들면, 당질코르티코스테로이드,⁵⁾ ionophore 약물,⁶⁾ tetra-chlorodibenzo-p-dioxin,⁷⁾ CD3-T cell 수용체에 대한 항체,⁸⁾ 적은 양의 γ -선,⁹⁾ lymphotoxin,¹⁰⁾ tumor necrosis factor,¹¹⁾ 기타의 cytotoxin들¹²⁾에 의한 세포-특히 면역세포의 세포사(cell death), 및 암-세포의 퇴축(regression)¹³⁾과 항암약의 항암작용¹⁴⁾ 등의 현상에 관련된다.

특히, 흉선의 임파구 선별기능에 있어서의 세포고사는 T 세포의 항원수용체 (antigen receptor)의 활성화로 인하여 미분화된 흉선세포의 약 90%가 세포고사의 과정을 거쳐 소멸되며 이과정을 통하여 자가항원(self antigen)이나, 특정 major histocompatibility complex(MHC) 분자 등을 인식하는 흉선세포를 선택적으로 제거하여 자가면역을 억지하는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ 흉선의 apoptosis에 대한 인삼의 작용에 대한 연구보고는 많지 않으나, 인삼의 'adaptogen'성 효과¹⁶⁾가 세포성 면역능의 강화에 관련됨은 이미 널리 인정되고 있으며 방사선 유해작용 방어, 핵산 합성촉진, 면역능 증강, 및 기타 항암, 뇌신경기능 항진 등 인삼 효과에 대하여 다각도의 연구결과들이 보고되었다.¹⁷⁾ 특히, 면역기능 조절 작용에 있어서의 인삼은 대식세포-식작용 증강,^{18, 20)} 대식세포의 중앙괴사인자 유리-촉진, 항체생성능과 자연살해세포능 강화, interleukin-1과 -6의 생합성과 작용 상승,²¹⁾ interferon생성 증가,^{21, 22)} 및 임파구 증식²³⁾ 등의 약리학적 효과를 일으킨다고 하며 Wei 등은 lipopolysaccharide에 의한 흉선의 apoptosis가 인삼성분으로 억제됨을 보고하였다.²⁴⁾

이러한 인삼 saponin 성분들의 조성은 홍삼과 백삼에서 서로 다르며 홍삼 saponin 분획에는 ginsenoside-Rh₂, -Rg₃, -Rg₅, -Rh₁, -Rs₁, -Rs₂등이 백삼 saponin분획에는 -Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd등이 특히 많이 함유되어 있다고 한다.²⁵⁾

따라서, 스트레스성 apoptosis에 대한 연구에 이용되는 대표적인 실험 model인 'dexamethasone에 의한 흉선의 apoptosis 반응'^{26, 27)}에서 스트레스성 당질코르티코스테로이드에 의한 흉선-apoptosis에 미치는 홍삼 및 백삼 saponin성분들의 억제성 효과와 그 억제성 작용으로 흉선세포의 분화에 미치는 영향에 대해 알아보려고 하였다.

실험재료 및 방법

1. 인삼 조 Saponin 분획의 준비

한국인삼연구소가 제조한 인삼 saponin 분획(R-SAP)과 백삼 saponin 분획(W1-SAP)을 고려인삼학회를 통하여 공여받았고, 한편 본 연구실에서 시중의 5년근 백삼으로부터 추출^{28, 29)}한 백삼 조 saponin 분획(W2-SAP)을 사용하였다.

2. Dexamethasone에 의한 흉선 *In Vivo* apoptosis 실험

(1) 동물의 약물처리 및 흉선중량 정량

ICR계 웅성 생쥐(생후 3주; 체중 15±2 g)에 ① 생리적 식염수, 한국인삼연구소 연구원에서 공여한 ② R-SAP, 5 mg/kg과 ③ W1-SAP, 5 mg/kg, 및 본 연구실에서 추출한 ④ W2-SAP, 5 mg/kg을 각각 매일 오전 9~10시에 24시간 간격으로 4회 복강주사하고 마지막 주사 1시간 후에 dexamethasone(DX, 5 mg/kg)을 복강주사한 다음 6시간 후에 경추를 파괴하여 흉선을 적출하였고, 흉선의 중량을 torsion balance (sensitivity, 0.5 mg) 로 측정하였다.

(2) 흉선의 Hematoxylin-Eosin 조직염색

(1)에서와 같은 방법으로 처리하고 적출한 흉선에 10% 중성 formalin 완충액(pH 7.4; 37.5% formalin 용액 100 ml, monobasic sodium phosphate 4.0 g, dibasic sodium phosphate 6.5 g, 증류수 900 ml)에 고정하였다. 고정한 후 흐르는 물에서 12시간 수세하고 70%, 80%, 90%, 95%, 95%, 100%, 및 100% ethanol에서 각각 20분씩 탈수한 후 xylene에서 15분씩 2회 투명화하였다. Xylene : paraffin=1:1 혼합액에서 30분, paraffin에서 1시간씩 2회, 다시 정제된 paraffin에서 3시간동안 paraffin을 침투시켜 포매하였다. Microtome(AO 820 rotary microtome)을 사용하여 포매한 조직의 연속절편(3 μ m)을 얻었고, 이들을 slide glass위에 띄워 Hematoxylin-Eosin법으로 염색하였다. 염색후 Canada balsam으로 봉입하여 광학현미경(ZEISS, photomicroscope III)으로 검경하고, Kodak(ISO 100) 필름으로 인화하였다.

(3) 흉선의 3'-OH DNA end에 대한 *in situ* end labelling 염색

Apop-Tag(*in situ* apoptosis detection kit : oncor사)를 사용하였으며, HE 염색에서와 같은 방법으로 얻은 절편으로부터 paraffin을 xylene에서 제거시키

고 무수ethanol에서 5분씩 2회, 95 % ethanol과 70% ethanol에서 각각 3분씩 처리한 후 PBS 완충액(pH 7.4; 50 mM sodium phosphate, 200 mM NaCl)에 담근 후 실온에서 15분간 proteinase K(20 µg/ml)에 처리하여 단백질을 소화시키고 증류수로 각각 2분씩 4회 세척하였다. 0.2% H_2O_2 로 실온에서 5분간 처리하고 PBS로 각각 5분씩 2회 세척한 다음 1×equilibration buffer를 가하여 실온에서 20분간 방치하였다. Working strength TdT enzyme 54 µl를 가한 후 plastic coverslip을 덮고 37°C의 습한 상태에서 1시간 동안 부란시키었다. Working strength stop/wash buffer에 10분간 담그고 5분 마다 혼든 다음 5분간 PBS에서 3회 세척하고 anti-digoxigenin-peroxidase액을 가하여 실온에서 30분간 처리하였다. 다시 PBS로 세척한 다음 H_2O_2 가 첨가된 0.05% (w/v) diaminobenzidine(DAB)으로 발색한 후 0.5% methyl green(0.1M sodium acetate, pH4.0) 용액으로 대조염색하였다. 100% Butanol에서 2회, xylene에 1회 연속처리하고 canada balsam으로 봉입한 후 광학현미경 (ZEISS, photomicroscope III)으로 검경하고 Kodak(ISO 100) 필름으로 인화하였다.

(4) 흉선세포의 CD4와 CD8 수용체에 대한 fluorescence activated cell sorter(FACS) 분석방법

“흉선세포 분리” 적출한 흉선을 70% 알코올에 세정하여 RPMI 1640 배지가 담긴 petri dish에 옮겨 mince 한 후 RPMI 1640 용액을 첨가하여 cell dissociation sieve-tissue Grinder kit(Sigma사)에 여과한 후 여과된 흉선 세포 현탁액 4 ml를 Ficoll-Hypaque, 2 ml가 든 원심관에 조심스럽게 중층한 후에 400×g에서 30분간 실온에서 원심분리하였다. 흉선세포 분획을 파스테르 pipette으로 회수한 다음 배지를 넣어 200×g에서 10분 간 원심하는 과정을 2회 반복하였다.

“흉선세포의 CD4 및 CD8 표면항원에 대한 형광항체염색과 flow cytometry 분석”

위와 같이 분리한 흉선세포를 Ca^{2+} 과 Mg^{2+} 이 없는 PBS에서 원침하는(4000 rpm, 1분) 방법으로 2회 세척한 후 세포수를 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 개로 조절하여 다시 4000 rpm, 1분 동안 원침하고, 침전된 흉선세포를 얻었다. 이에 Fluorescein isothiocyanate(FITC)가 결합된 CD4 항체 (anti-mouse FITC-anti-CD4; Pharmingen사) 10 µl 및 phycoerythrin (PE)이 결합된

CD8 항체(anti-mouse PE-anti-CD8; Pharmingen사) 10 µl의 혼합액을 가하여 잘 섞은 후, 빛을 차단하고 4°C에서 30분 동안 반응시켰다. 염색된 세포를 Ca^{2+} 과 Mg^{2+} 이 없는 PBS세척액(1% FBS와 0.02% sodium azide 포함) 800 µl에서 2회 원침한(4000 rpm, 1분) 후, 침전된 세포들을 세척액 400 µl에 다시 부유 시켜서 flow cytometry로 분석하였다. FACScan(Becton Dickinson) 및 HP interface (Hewlett-Packard)를 이용하여 10,000개의 세포에 대하여, forward light scatter(FSC) 및 90° scatter(SSC) 상에서 세포불질편들을 제거한 후, 녹색형광(FITC) 및 적색형광(PE)의 2색 면역형광을 각각 x 및 y축에 도시하여 FACScan program(Becton Dickinson)으로 gating하고 분석하였다.^{30,31)}

3. Dexamethasone에 의한 흉선세포 *In Vitro* apoptosis 실험

(1) 흉선세포의 분리 및 배양

위의 (4)“흉선세포 분리”에서와 같이 흉선세포를 분리한후 10 mM HEPES, 100 U/ml penicillin과 streptomycin이 각각 들어있는 RPMI 1640 배양액에 송치혈청(fetal bovine serum, FBS) 또는 마혈청(horse serum, HS)을 각각 10% 또는 5%로 섞어 1×10^7 cells/ml로 배양 용기에 심어 37°C, 5% CO_2 incubator에 18시간 배양하였다.³²⁾

(2) 흉선세포의 약물처리

일차배양한 흉선세포를 0.01 mg/ml~0.1 mg/ml의 농도의 R-SAP, W1-SAP, 및 W2-SAP으로 처리하며, 1시간 배양한 후 6×10^6 M, DX로 처리하여, DX에 의한 흉선 세포의 apoptosis에 미치는 각 전처리 약물의 영향을 검토하였다.

(3) 흉선세포의 생존율에 대한 MTT 검사

Tetrasolium assay(MTT) Kit(BM사) 를 사용하여 검사하였다. 96 well plate에서 18시간 배양한 흉선세포 일차배양액(100 µl)에 MTT용액(10 µl)를 가하고 37°C, 5% CO_2 incubator에서 4시간 배양하고 formazan 용출액(100 µl)을 가하여 반응을 정지시킨 후 37°C, 5% CO_2 incubator에서 12~14시간 방치한 다음 ELISA reader(600 nm)에서의 흡광도를 측정하였다.

모든 성적은 평균값±표준편차(n≥6)로 표시하였고, 통계학적 유의성은 Student's t-test로 검정하였다.

결과 및 고찰

인삼의 'adaptogen'성 작용¹⁸⁾은 인삼의 대식세포-식 작용, 증강,¹⁹⁾ 대식세포의 중앙체사인자 유리-촉진, 항체생성능과 자연살해세포능 강화, interleukin-1과 -6의 생합성과 작용 상승,²⁰⁾ interferon생성 증가,²¹⁾ 및 임파구 증식²²⁾ 등의 효과에 관련될 수 있다고 사료 되어, 포유류 동물의 면역기능의 억제인 흉선세포의 dexamethasone에 의한 apoptosis 실험 model²³⁾에서 홍삼과 백삼에서 얻은 조saponin 분획의 항apoptosis 효과를 검토하였다.

흉선세포들의 분화과정에서 약 90% 이상의 세포들이 apoptosis 과정을 거쳐 소멸되므로 자가항원이나, 특정 MHC 분자 등을 인식하여 흉선세포들을 선택적으로 제거하는 현상(negative selection)이 나타난다²⁴⁾ 하므로 흉선세포 고사에 대한 인삼 saponin분획들의 억제 작용이 이들 흉선세포의 negative selec-

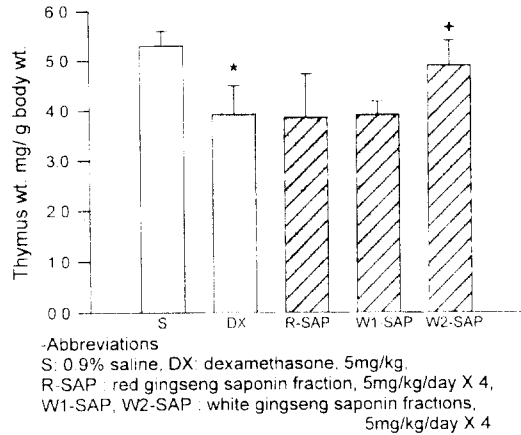


Fig 1. Effects of red ginseng saponin and white ginseng saponin on the dexamethason-induced decrease of mouse thymus weight. Each data mean the mean ±S.D. obtained from 6 samples and *indicates p<0.05 as compared to the values of control group. †indicates p<0.05 as compared to the values of the DX treated group.

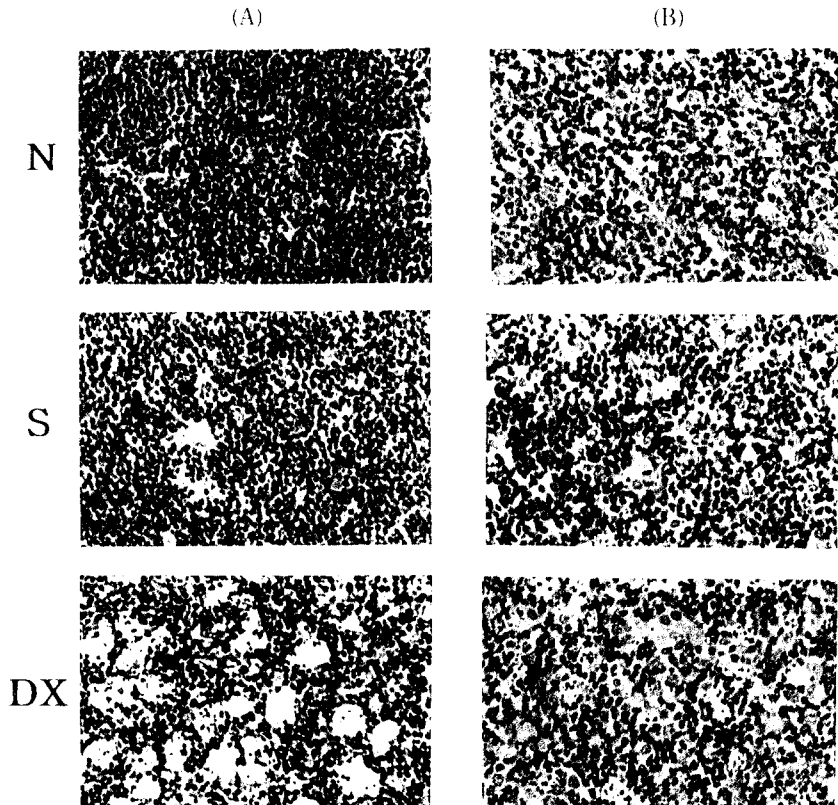


Fig. 2-1. Dexamethasone-induced apoptotic death of the thymus stained with hematoxylin and eosin (X200). (A): cortex, (B): medulla, N: normal, S: saline, DX: saline + dexamethasone, 5 mg/kg/day.

tion 현상에 부정적 영향을 미칠 수도 있다고 사료되어, 본 연구에서는 dexamethasone의 흉선세포에 대한 apoptosis 작용에 미치는 홍삼과 백삼의 각 saponin 분획들의 영향을 비교검색하며, 이들에 의한 흉선세포의 분화기능 변동 유무를 T세포-수용체를 중심으로 평가하였다.

그 결과, dexamethasone, 5.0 mg/kg(DX)에 의한 흉선 중량의 유의한 감소가 홍삼 saponin(R-SAP)과 백삼 saponin(W1-SAP)에 의하여 별 영향을 받지 않았으나, 백삼 조saponin(W2-SAP)에 의하여는 유의하게 억제되었다(Fig. 1). 한편, 흉선의 HE 조직염색 소견에서 DX에 의하여 유도되는 세포사, 세포 구성 배열의 심한 파괴 및 조직의 동공화는 특히 피질부위에서 현저하게 나타났으며 이러한 세포의 파괴는 R-SAP의 사흘간 전처치에 의하여 현저히 억제되었고,

W2-SAP의 사흘간 전처치에 의하여도 유의하게 억제되었으나, W1-SAP 사흘간 처치에 의하여는 다소 감약되는 경향이었다(Fig. 2-1, 2-2). 또한 흉선의 3'-OH DNA end에 대한 *in situ* end labelling 염색소견에서 DX에 의한 DNA 분절화 증가 반응이 역시 흉선의 피질에서 특히 조직 동공화 부위에서 강하게 나타나 흉선의 세포 apoptosis가 피질부위에서 보다 특이적으로 유발됨이 확인되었으며, 이같은 흉선세포의 apoptosis도 R-SAP 사흘간 전처치에 의하여 현저히 억제되었고, W2-SAP의 사흘간 전처치에 의하여도 유의하게 감약되었으나, W1-SAP 사흘간 전처치에 의하여는 다소 감약되는 경향 만이 나타났다(Fig. 3). 이상의 조직학적 소견들은 DX에 의한 흉선의 apoptosis성 세포사가 R-SAP와 W2-SAP, 특히 R-SAP에 의하여 유의하게 억제됨을 시사하며, DX에 의한 흉

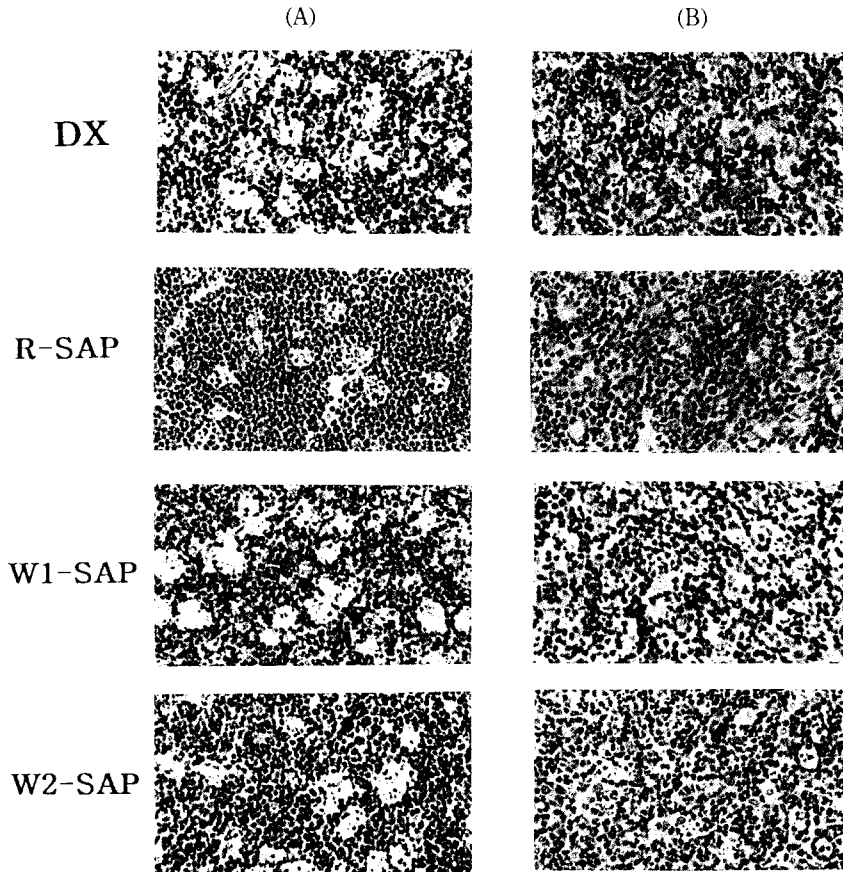


Fig. 2-2. Effects of *panax ginseng* saponin fractions on the dexamethasone-induced apoptotic death of the thymus stained with hematoxylin and eosin (x 200). (A); cortex. (B); medulla, DX; saline+DX, R-SAP; red ginseng saponin+DX, W1-SAP; white ginseng saponin+DX.

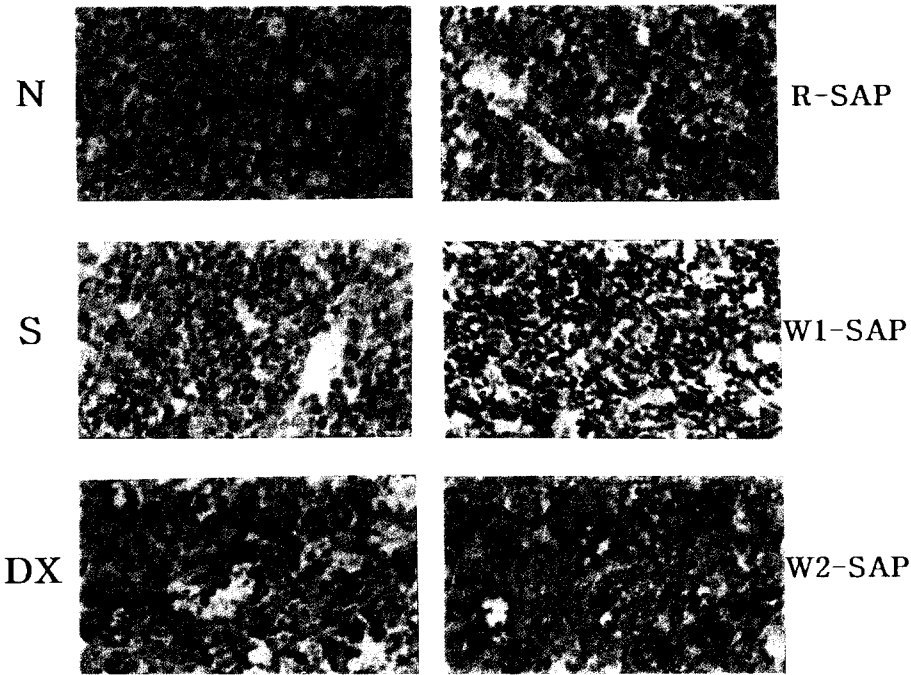


Fig. 3. Effects of *Panax ginseng* saponin fractions on the dexamethasone-induced apoptotic death of cortex of the thymus which was stained with Apop-Tag kit and counterstained with methyl green (X300). DX: saline+DX, R-SAP; red ginseng saponin+DX, W1-SAP; white ginseng saponin+DX, W2-SAP; white ginseng saponin+DX.

신중량의 감소가 R-SAP에 유의한 영향을 받지 않고 오히려 W2-SAP에 의하여 유의하게 억제되었음은 DX에 의한 흉선중량의 감소기전이 그에 의한 apoptosis 발현기전과 다를 수 있음을 제시하는 것으로 사료된다. 아울러, 백삼 saponin중 W2-SAP은 DX에 의한 흉선중량의 감소와 흉선조직손상의 염색소결에 대하여 모두 억제적 효과를 나타내었으나, W1-SAP이 이같은 항 apoptosis성 효과는 보이지 못하였음은 백삼 saponin 분획의 추출 과정에 연유된 W1-SAP과 W2-SAP의 활성성분 구성의 차이에 관련될 수 있는 것으로 판단된다.²⁹

한편, 흉선세포의 'negative selection' 과정³⁰에서 나타나는 T-세포의 분화도에 대한 DX과 인삼 saponin의 상호작용을 *in vivo* 상에서 CD4와 CD8 표면 항원 양성도를 기준으로 검토하기 위하여, anti-mouse FITC-anti-CD4와 anti-mouse PE-anti-CD8로 흉선세포를 표지한 다음 flow cytometry로 분석하였다.^{30,31} 그 결과, 흉선세포들의 CD8⁺ 흉선세포 백분비가 DX에 의하여 다소 증가 되었을 뿐 별 다른 변

동은 유도되지 않았으며, 이는 홍삼 및 백삼saponin 분획들에 의하여 별 영향을 받지 않았다 (Fig. 4). 이로 미루어 볼 때, 인삼 saponin 분획들은 흉선세포에 대한 DX의 apoptosis성 작용을 억제하나, 이들 세포의 분화과정에는 별 영향을 끼치지 않는 것으로 판단되며, 이같은 판단은 lipopolysaccharide에 의한 흉선중량의 감소와 Bax단백질 발현 증가에 대한 인삼의 억제성 영향³²과 연관될 수 있을 것으로 사료된다.

따라서, 이상의 흉선에 대한 *in vivo* 실험결과를 일차배양 흉선세포에 대한 *in vitro* 실험에서 재검토 하였다. 일반적인 방법에 의거하여 흉선세포의 일차배양에 사용되는 10% FBS(송치혈청)를 함유한 RPMI 1640 배양액을 이용하여 흉선세포에 대한 DX의 치사효과와 이에 미치는 인삼 saponin분획들의 영향을 검토한 결과, DX에 의한 MTT치 감소가 R-SAP, W1-SAP, 및 W2-SAP의 모든 인삼 saponin 분획의 영향을 받지 않았고, HS(마혈청)을 10% 함유한 배양액 실험에서도 DX의 MTT치 감소효과가 다소 증강되어 나타났을 뿐 인삼 saponin의 영향

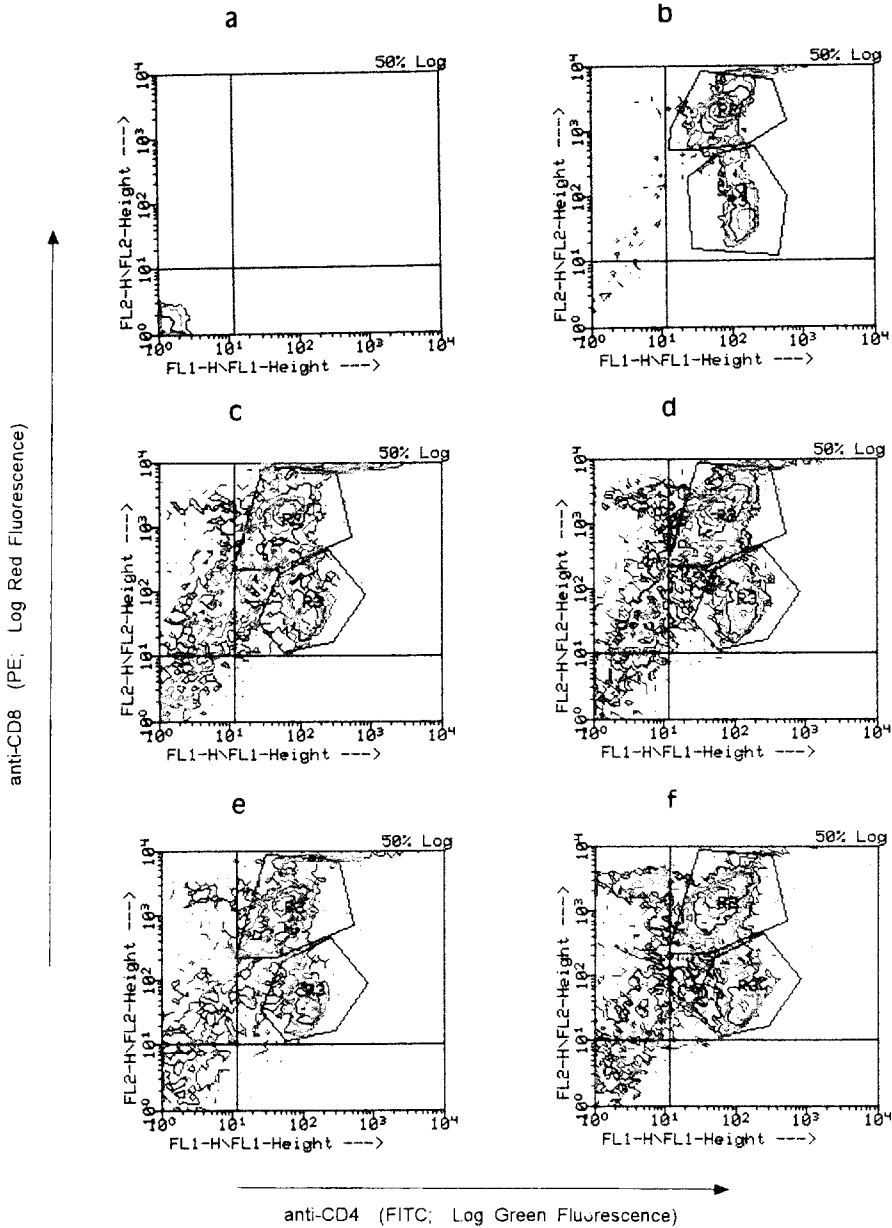
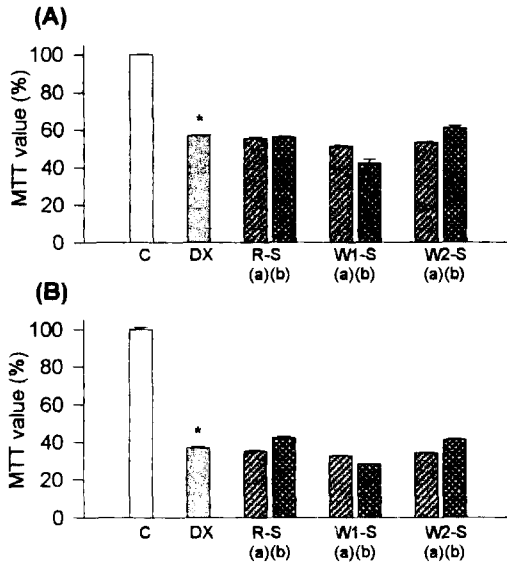


Fig. 4. Flow cytometric analysis of thymocytes evaluating the effects of ginseng saponins on the changes of CD4 and CD8 expression by dexamethasone in the mouse thymus. panel (a): unstained thymocytes, panel (b): 0.9% saline treated, panel (c): DX treated, panel (d): R-SAP & DX treated, panel (e): W1-SAP & DX treated. R2: low level of CD4/CD8 expression, R3: high level of CD4/CD8 expression

은 분수 없었다(Fig. 5). 그러나, 5% FBS 또는 5% HIS를 함유한 RPMI 1640 배양액 실험에서 DX에 의한 흉선세포의 MTT치 감소작용은 FBS 또는 HIS를 10% 함유한 배양액에서 보다 다소 미약하게 나타났으며 더욱이 W2-SAP에 의하여 현저히 억제되었고

R-SAP에 의하여도 유의하게 억제되었다(Fig. 6). 따라서 이상의 흉선세포 일차배양 실험성적의 차이는 FBS와 HIS 성분인 polyamine이나 amine 물질들에 대한 oxidase등의 차이때에 연유되기 보다는 흉선세포사 과정에서 FBS와 HIS 각각의 농도차이가 세포생



-Abbreviations:

C; PBS, DX; dexamethasone 6×10^{-8} M, R-S; DX+red ginseng saponin fraction, W1-S, W2-S; DX+white ginseng saponin fractions, -Concentration of ginseng saponin fraction: (a) contains 0.2 mg/ml, (b) contains 1.0 mg/ml.

Fig. 5. Effects of red ginseng saponin and white ginseng saponin on the dexamethasone-induced decrease of thymocyte viability. Each data mean the mean \pm S.D. obtained from 6 samples and *indicates $p < 0.001$ as compared to the values of the control group. Culture media: (A) contains 10% FBS, (B) contains 10% horse serum

존 활성에 지대한 영향을 미칠 수 있음을 시사한다고 판단된다.

이상의 성적은 DX에 의한 흉선세포의 세포사가 인삼saponin 분획들에 의하여 억제됨을 시사하며 이에 대한 흉선세포 일차배양 실험의 배양액내 FBS와 HS의 혈청농도가 세포사 과정에서의 생존률 변동에 지대한 영향을 미칠 수 있음을 제시하는 것으로 사료된다.

요 약

흉선세포의 dexamethasone(DX)에 의한 apoptosis에 미치는 홍삼 조saponin 분획과 백삼의 조saponin 분획의 영향을 비교하였다. 그 결과 Dexamethasone 의한 흉선의 apoptosis는 홍삼 saponin

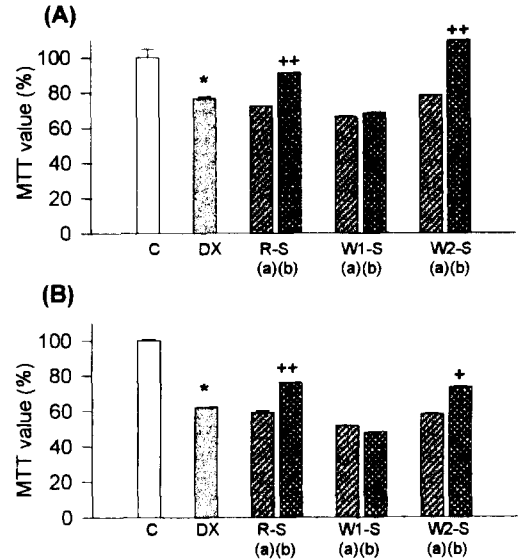


Fig. 6. Effects of red ginseng saponin and white ginseng saponin on the dexamethasone-induced decrease of thymocyte viability. Each data mean the mean \pm S.D. obtained from 6 samples, and *indicates $p < 0.05$ as compared to the values of the control group, + and ++ indicate $p < 0.05$ and $p < 0.05$ as compared to the values of the DX treated group. Culture media: (A) contains 5% FBS, (B) contains 5% horse serum.

분획(R-SAP)에 의하여 현저히 억제되었고 백삼 saponin분획(W2-SAP)에서는 다소 억제되는 경향이었으나 다른 백삼 saponin분획(W1-SAP)에서는 더 약화되는 경향이였다. 또한, 일차배양한 흉선세포의 apoptosis에서는 백삼 saponin분획(W2-SAP)에 의하여 현저하게 억제 되었으며 홍삼 saponin분획(R-SAP)에 의하여도 유의하게 억제되었으나 백삼 saponin분획(W1-SAP)에서는 별 영향을 미치지 않았다. 더불어, DX은 CD8⁺ 흉선세포 백분비를 다소 증가시켰으며 이는 홍삼 및 백삼 saponin분획에 별 영향을 받지 않았다. 그러므로 홍삼 및 백삼 조saponin 분획은 흉선세포의 DX에 의한 수용체와 연관되는 분화에는 별 영향 없이 생존률 감소 효과에 대하여 홍삼 saponin분획은 유의한 억제효과를 미치며 백삼 saponin분획은 그 추출조건에 따라서 항 apoptosis 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 특히, 홍삼 saponin 분획의 흉선세포 apoptosis에 대한 방어효과는 유효할 것으로 기대된다.

인용문헌

1. Goya R. G. : *Gerontology* **32**, 37-42 (1986).
2. Kerr J. F. R and Harmon B. V. : The Molecular Basis of Cell Death, ed by LD Tomei and FO Cope., Cold Spring Harbor Lab Press, pp.5-29 (1991).
3. Duke R. C and Cohen J. J. : *Current Protocols in Immunology*, ed by JE Coligan, AM Kruisbeek, DH Margulies, EM Shevach and W Strober and W Strober, pp.3.17.1-3.17.16 (1992).
4. Caron-Leslie L. M, Evans R. B and Cidlowki J. A. : *FASEB. J.* **8**, 639-645 (1994).
5. Wyllie A. H : *Nature* **284**, 555-556 (1980).
6. McConkey D. J, Hartzell P, Nicotera P and Orrenius S. : *FASEB. J.* **3**, 1843-1849 (1989).
7. McConkey D. J, Hartzell P, Duddy S. K, Häkansson H and Orrenius S. : *Science* **242**, 256-259 (1988).
8. Smith C. A, Williams G. T, Kingston R, Jenkinson E. J and Owen J. J. : *Nature* **337**, 181-187 (1989).
9. Sellins K. S and Cohen J. J. : *J. Immunol.* **139**, 3199-3206 (1987).
10. Schmid D. S, Tite J. P and Ruddle N. H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 1881-1885 (1986).
11. Laster S. M, Wood J. G and Gooding L. R. : *J. Immunol.* **141**, 2629-2634 (1988).
12. Liu C. C, Steffen M, King F and Young J. D. E. : *Cell* **51**, 393-403 (1987).
13. Szende B, Schally A. V, Cormaru-Schally A. M, Redding T. W, Strkalovic G, Groot K, Lapis K, Timar J, Neil J, and Mulchahey : *The Molecular Basis of Cell Death*, ed by LD Tomei and FO Cope, Cold Spring Harbor Lab Press., pp.139-155 (1991).
14. Tritton T. R. : *The Molecular Basis of Cell Death*, ed by LD Tomei and FO Cope, Cold Spring Harbor Lab Press., pp.121-119 (1991).
15. McConkey D. J, Hartzell P, Amado-Pérez J. F, Orrenius S and Jondal M. : *J. Immunol* **143**, 1801-1806 (1989).
16. Breckhman II and Dardymove IV : *Ann Rev Pharm* **9**, 419-426 (1969).
17. 한국인삼연초연구원 : 최신고려인삼, pp.13-18 (1996).
18. Matsuda H, Hasegawa T and Kubo M : *Yakugaku Zasshi* **105**, 948-954 (1985).
19. Kim Y. S, Kang K. S and Kim S. I. : *Arch. Pharm. Res.* **13**, 330-337 (1990).
20. 신은경, 박한우, 정노팔 : 고려인삼학회 창립20주년 기념 학술대회 초록, pp.40 (1995).
21. 정노팔, 진승하 : *ibid*, pp.16 (1995).
22. Jie J. H, Cammisuli S and Baggiolini M. : *Agents and Actions* **15**, 386-391 (1984).
23. 이혜연, 이한수 : *ibid*, pp.46 (1995).
24. Wei Y. I, Jin E. Y, Niu J. Z, Cao W and Kumagai : '96 Korean-Japan Ginseng Symp, Korea Ginseng & Tobacco Res Institute, pp.1-21 (1996).
25. Kitagawa I, Taniyama T, Hayashi T and Yoshikawa M : *Chem Pharm Bull.* **31**, 3353-3356 (1983).
26. McConkey D. J, Orrenius S, Okret S and Jondal M. : *FASEB. J.* **7**, 580-585 (1993).
27. Comton M. M and Cidlowski J. A. : *Trends Endocrinol Metab.* **3**, 17-23 (1992).
28. Shibata S, Tanaka O, Soma K, Iita Y, Ando T and Nakamura H : *Tetrahedron Lett.* **3**, 207-213 (1965).
29. Shibata S, Tanaka O, Ando T, Sado M, Tsushima S and Ohsawa T. : *Chem. Pharm. Bull.* **14**, 595-600 (1966).
30. Wojciech S, Leszek I, Haraid B and Pawel K. : *Nature* **351**, 150-153 (1991).
31. Charles D. S and Jonathan S. : *Nature* **372**, 100-103 (1994).
32. Yael G and Yoav S. : *J. Cell. Biol.* **119**, 493-501 (1992).
33. Bozena K, Leszek K and Barbara G. S. : *Exp. Cell. Res.* **191**, 239-245 (1990).