

원 저

산삼과 산양삼 추출물의 항암 및 항산화 효능

안영민* · 박희수* · 권기록*

* 상지대학교 한의과대학 침구학교실

Anti-cancer and anti-oxidant efficacies of wild ginseng and cultivated wild ginseng of Korea and China

Young-Min, Ahn* · Hee-Soo, Park* · Ki-Rok, Kwon*

* Dept. of Acup & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Sangji University

Abstract

Objectives : The aim of this study was to verify anti-cancer and anti-oxidant efficacies of Korean wild ginseng and cultivated wild ginseng of Korea and China.

Methods : For the measurement of anti-oxidation, SOD-like activity was evaluated using xanthine oxidase reduction method under in vitro environment. Subcutaneous and abdominal cancer were induced using CT-26 human colon cancer cells for the measurement of growth inhibition of cancer cells and differences in survival rate.

Results : 1. Measurement of anti-oxidant activity of ginseng, Chinese and Korean cultivated wild ginseng, and natural wild ginseng samples showed concentration dependent anti-oxidant activity in HX/XOD system. Anti-oxidant activity showed drastic increase at 1mg/ml in all samples.

2. For the evaluation of growth inhibition of cancer cells after hypodermic implantation of CT-26 cancer cells in the peritoneal cavity of mice, Chinese and Korean cultivated wild ginseng and natural wild ginseng groups showed significant inhibition of tumor growth from the 12th day compared to the control group. Similar inhibitory effects were also shown on the 15th and 18th days. But there was no significant difference between the experiment groups.

3. For the observation of increase in survival rate of the natural wild ginseng group, CT-26 cancer cells were implanted in the peritoneal cavity of mice.

Key words : Apoptosis, anti-cancer effect, wild ginseng, cultivated wild ginseng

1. 서 론

山蔘은 五加科(주릅나무과 ; Araliaceae)에 속한 다년

생 초목인 人蔘(panax ginseng C. A. Meyer)이 야생상태에서 자연 발아하여 성장한 蔘을 일컬으며¹⁾ 한방에서는 예로부터 대표적인 補氣劑이면서 靈藥으로 여겨졌다²⁾.

人蔘은 그 기원에 따라 인위적인 도움 없이 자연 발아하여 성장한 산삼과 천연산삼의 종자나 어린뿌리, 혹은 인삼의 종자를 산림 중에 파종하여 키운 산양삼, 그리고 논이나 밭에 인삼의 씨를 파종하여 재배한 인삼

* 교신저자 : 강원도 원주시 우산동 283
상지대학교 부속 한방병원 침구과
(Tel : 033-741-9257 E-mail: beevenom@paran.com)

으로 나눌 수 있다.

인삼은 補五臟, 安精神, 除邪氣, 久服輕身延年 등의 효능⁹⁾이 있어 한방에서는 중요한 약재로 사용되고 있으나 산삼이나 산양삼은 희소성이나 고가 등으로 인하여 대중화 되지 못하고 있는 실정이다.

그동안 산삼이나 산양삼과 관련한 연구로는 김 등⁴⁾의 항암 효과, 윤 등⁵⁾의 비만 예방 등과 권 등⁶⁾의 유전자 분석을 이용한 감별 연구가 있었고, 산양삼을 이용한 약침관련 연구로는 독성, 안전성 실험과 시험관 내 시험, 인삼과 산양삼의 효능 비교, 혈당 강하 및 항암효과 등이 보고^{7,8)}된 바 있다.

인체의 노화와 질병을 유발하는 free radical은 인체 내의 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되고, 세포와 조직 중에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 이러한 유해 free radical을 억제하는 생리작용으로는 전자 공여작용, SOD 유사활성이 있다. 인삼과 관련한 이전의 보고에서 TNF- α , interleukin-1 β , IL-6, IL-12 및 Interferon- γ 등의 생성을 억제시키고, TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)에 의한 NF- κ B, AP-1, COX-2의 활성을 저해하여 항산화효과를 나타내며, 이러한 전사인자들의 억제작용으로 항암활성을 가지고 있는 것¹⁰⁾으로 추측하고 있다.

따라서 본 연구에서는 자연산 산삼과 국내산 산양삼, 그리고 중국산 산양삼의 항산화효과와 항암효과를 알아보기 위해 열수 추출한 추출물과 증류 추출한 약침을 in vitro에서 xanthine oxidase 환원법을 이용하여 SOD 유사활성효과를 측정하였고, ICR mouse에 colon 26-L5(CT-26) human colon cancer cell line을 이용하여 피부

암과 복강암을 유발한 후, 추출물을 경구 투여하고 암 세포의 성장억제효과와 생존율의 차이를 비교한 결과 유의한 결론을 얻어 이에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 산삼, 산양삼 및 인삼

① 자연산 산삼

본 실험에 사용한 자연산 산삼은 2005년 7월 장백산에서 채집한 것으로 길이는 40cm, 무게는 21.45g, 그리고 추정 연령은 30년 전후이며 중국의 길림성 연길시에 있는 國家蔘茸 品質감독기관에서 자연산 산삼으로 인증 받은 후 실험에 사용하였다(Fig. 1).

② 산양삼

본 실험에 사용한 산양삼은 1995년에 파종하여 재배한 10년근 산양삼을 사용하였다. 국내산은 충남 서천시에 있는 천방농산에서 재배한 것을 사용하였고, 중국산은 吉林省 戊松市에 있는 해발 1600m의 장백산 내에서 재배한 것을 사용하였으며, 재배자가 직접 파종시기를 확인할 수 있는 삼만을 실험에 사용하였다(Fig. 2-3).

③ 인삼

본 실험에 사용한 인삼은 10년 이상 한약관련 분야

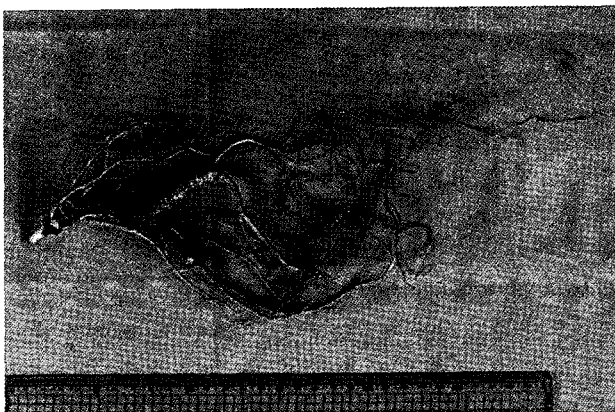


Fig. 1 Wild ginseng with approximate age of 30 years. It measured about 40cm from head to the tip of roots, and weighs 21.45g.

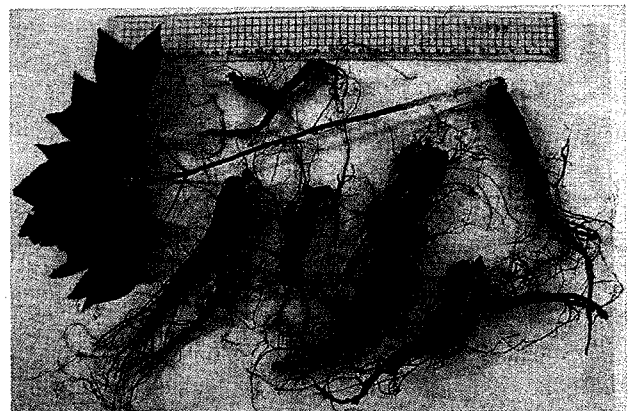


Fig. 2 Cultivated wild ginseng 10 years old Seeded in 1995 at ChonBangNongSan and harvested on Aug. 24, 2006.



Fig. 3 Chinese cultivated wild ginseng from Changbai Mt. at the altitude of 1600m in Jilin, China. Seeded in 1995 and purchased on Sept. 4, 2005.

에 종사한 전문가가 직접 강원도 홍천군의 인삼 재배 농가에서 채취한 5년근 인삼을 줄기와 잎은 제거하고 뿌리만 실험에 사용하였다.

④ 열수 추출물의 준비

위의 시료들을 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 얇게 잘라 round flask에 넣고 삼의 중량의 10배에 해당하는 증류수를 가하여 충분히 약재를 불린 후 전탕을 시작하였다. 전탕 시에는 약재의 유효성분이 달아나지 못하도록 환류냉각을 시행하였고, impellar speed는 4.5-5로, 환류 냉각관에는 5°C의 냉각수가 흐르도록 한 후 3시간 동안 100°C로 가열하여 산삼과 한국산 및 중국산 산양삼, 그리고 인삼 열 추출물을 얻었다.

⑤ 산삼약침의 조제

산양삼은 산삼 혹은 산양삼의 종자를 적절한 환경에서 재배한 것으로 수령은 10년 전후로, 무게는 10g내외의 국내산 산양삼을 사용하였다. 먼저 산양삼을 흐르는 물에 깨끗이 세척하여 뇌두를 제거하지 않은 100g의 산삼을 1200ml의 3차 증류수와 배합한 후 2시간 전탕하여 찌꺼기는 따로 분리하고, 전탕액을 무균실에 있는 증류추출기에 넣고 전탕하여 1,000ml의 약침을 얻었다. 얻어진 약침을 0.45µm, 0.2µm 여과지로 2회 여과한 후, 멸균된 용기에 일정 용량 주입하였고, 밀봉하여 멸균기에 다시 멸균과정을 거친 후 시료를 준비하였다(Fig. 4).

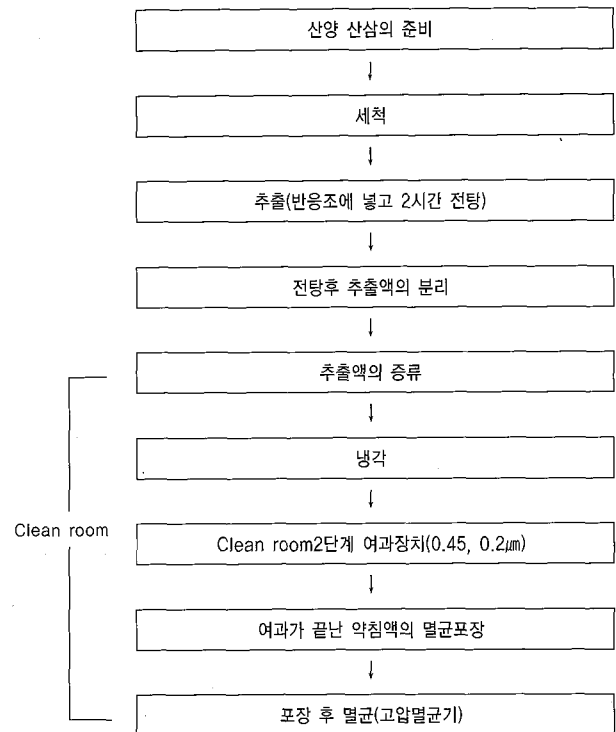


Fig. 4 Manufacturing process of distilled cultivated wild ginseng Pharmacopuncture

2) 실험동물

실험에 사용된 동물은 체중 20g 내외의 암컷 ICR mouse(오리엔트 바이오)로 2주 동안 고형사료와 물을 충분히 주며 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

3) 암세포의 준비

본 실험에 사용된 암세포주는 결장암세포인 colon 26-L5(이하 CT-26)로 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 사용하였다. CT-26 세포주는 Dulbecco's Eagle modified medium(DMEM)에 10%의 fetal bovine serum(FBS)이 함유된 것으로 tissue culture plate에 이식한 후 CO₂와 95% air의 배양기에서 37°C를 유지하며 배양하였다.

이 세포주를 2-3일에 1회 정도 새로운 배지로 교환하였고, plate에 암세포가 5×10⁴ cells/ml 정도 증식되면 plate의 medium을 suction하고 trypsin-EDTA를 plate 당 3 ml 씩 처리하여 바닥에서 세포를 분리하였다. 분리한 후 새로운 conical tube로 옮겨 900rpm, 300sec 동안 원심 분리 시킨 후 상층액은 제거하고 tube에 남아 있는 pellet에 10% FBS를 처리하여 pellet를 완전히 suspension시킨 후 9ml의 medium과 혼합하여 plate에 분주하였다. 분주한 plate는 현미경을 통해 세포가 plate 바닥에 고루 분포되었는지 확인한 후 배양하였고, 배양된 세포를 mouse의 복강과 피하에 각각 1×10⁶개씩 주입하였다.

2. 방법

1) 활성산소 제거효과

① DCFDA를 이용한 항산화효능 측정

산삼추출물의 활성산소 제거 효과는 hypoxanthine/xanthine oxidase (HX/XOD) system에서 발생하는 superoxide를 얼마나 잘 제거하는지 실험하는 방법으로 측정하였다. 제거되지 않은 superoxide는 반응액에 포함되어 있는 DCFDA와 반응하여 형광을 나타내게 된다. 0.1M phosphate buffer (pH7.0)에 2 mM hypoxanthine, 12.5 μM DCFDA와 지정된 양의 산삼추출물과 산삼약침이 포함되어 증류수로 부피가 맞추어진 180 μl 용액에 20 μl의 0.5 U/ml xanthine oxidase를 가하고 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 반응시키는 동안 10분 간격으로 Beckman DTX 800/880 microplate reader를 사용하여 형광을 측정하였다. 측정에 사용된 시료는 산삼, 국내산 및 중국산 산양삼, 인삼 추출물과 증류 추출한 산삼약침을 측정하였고, 대조군은 추출물 대신 93.75 μM ascorbic acid가 추가로 포함된 것을 사용하였다. 이 때 excitation wavelength는 485 nm이고 emission wavelength

는 535 nm이었다. Intergration time은 5μsec 이었다. Plate background는 xanthine oxidase가 포함되지 않은 반응액을 사용하여 측정하였으며 모든 측정값에서 plate background 값은 제외하였다. 모든 실험 조건은 세 배수로 수행하였으며 결과 값은 평균 ± 표준오차로 나타내었다.

2) CT-26으로 유도된 피부암 성장억제 효과

각 실험군은 6마리를 한 군으로 하여 종양을 피하에 이식한 후 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 국내산 산양삼군(K-CWG), 중국산 산양삼군(C-CWG), 자연산 산삼군(WG)으로 나누어 시행하였고 모든 시료는 열수 추출물을 사용하였다. CT-26 결장암세포를 mouse의 복강에 이식한 후 암세포의 성장을 육안으로 확인한 다음(Fig. 5) 종류별 추출물을 하루에 100 μl 씩 매일 경구 투여하면서 종양의 체적을 측정하였다.



Fig. 5 ICR Mice induced peritoneal cancer using CT-26 cells

3) CT-26으로 유도된 복강암 모델에서 생존율 측정

각 실험군은 10마리를 한 군으로 하여 mouse의 복강 안에 CT-26 종양세포를 이식한 후 복강암을 유발하였고, 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 자연산 산삼군(WG)의 두 군으로 나누어 시행하였다. 대조군에는 생

리식염수를, 산삼군은 자연산 산삼 추출물을 하루에 100 μ l 씩 매일 경구투여하면서 생존률의 변화를 측정하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SPSS Version 10.0을 이용하여 student' t-test를 시행하였고, 각 군별 항산화작용의 비교에서는 일표본 t-test를 시행하였으며 유의수준은 0.05로 검증하였다.

III. 결 과

1. DCFDA를 이용한 활성산소 제거효과

1) 국내산 인삼 추출물의 항산화 효능

HX/XOD system에 존재하는 국내산 인삼 추출물의 농도에 따른 항산화 효능을 평가하였다. 0.01mg/ml에서 20mg/ml까지 농도를 다양하게 하여 DCFDA에 의한 형광 값을 측정한 결과 농도의존성으로 항산화작용이 증가하는 것을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도조건에서 그 효과가 급격하게 증가하였다.

일표본 분석을 통한 인삼의 항산화작용은 Normal Saline에 비하여 전 구간에서 유의한 항산화작용을 나타내었다(Table 1. & Fig. 6).

Table 1. Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean 5 years Cultivated ginseng extract in DCFDA

Concentration	Mean \pm SD(ROS Forming Unit-RFU)
NS	1379794 \pm 102151
0.01mg/ml	992235 \pm 87556*
0.1mg/ml	916236 \pm 25411*
1mg/ml	216850 \pm 14846*
10mg/ml	314534 \pm 19310*
20mg/ml	454213 \pm 15823*

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

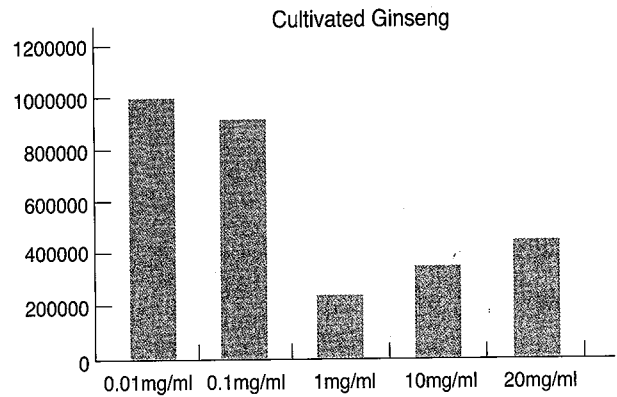


Fig. 6 Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean 5 years cultivated ginseng extract in DCFDA. y values are ROS forming Unit-RFU

2) 국내산 산양삼 추출물의 항산화 효능

HX/XOD system에 존재하는 국내산 10년근 산양삼 추출물의 농도에 따른 항산화 효능을 평가하였다. 0.01mg/ml에서 20mg/ml까지 농도를 다양하게 하여 DCFDA에 의한 형광 값을 측정한 결과 농도의존성으로 항산화작용이 증가하는 것을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도조건에서 그 효과가 급격하게 증가하였고 가장 우수한 항산화 작용을 나타내었다.

일표본 분석을 통한 인삼의 항산화작용은 Normal Saline에 비하여 전 구간에서 유의한 항산화작용을 나타내었다(Table 2. & Fig. 7).

Table 2. Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean Cultivated Wild ginseng extract in DCFDA

Concentration	Mean \pm SD(ROS Forming Unit-RFU)
NS	1379794 \pm 102151
0.01mg/ml	1067035 \pm 37061*
0.1mg/ml	969201 \pm 243231*
1mg/ml	191766 \pm 32876*
10mg/ml	228152 \pm 31588*
20mg/ml	294610 \pm 2506*

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

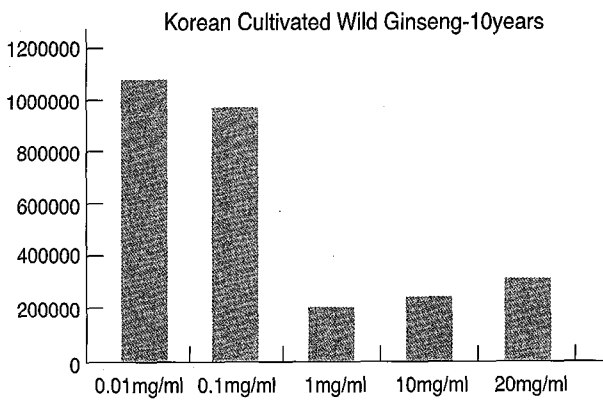


Fig. 7 Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean Cultivated Wild ginseng extract in DCFDA. y values are ROS forming Unit-RFU

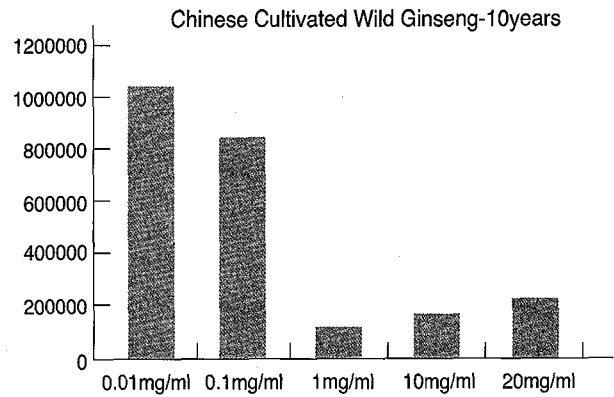


Fig. 8 Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Chinese Cultivated Wild ginseng extract in DCFDA. y values are ROS forming Unit-RFU

3) 중국산 산양삼 추출물의 항산화 효능

HX/XOD system에 존재하는 중국산 산양삼 10년근 추출물의 농도에 따른 항산화 효능을 평가하였다. 0.01 mg/ml에서 20mg/ml까지 농도를 다양하게 하여 DCFDA에 의한 형광 값을 측정하고 농도의존성으로 항산화작용이 증가하는 것을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도조건에서 그 효과가 급격하게 증가하였고 가장 우수한 항산화작용을 나타내었다.

일표본 분석을 통한 중국산 산양삼의 항산화작용은 Normal Saline에 비하여 전 구간에서 유의한 항산화작용을 나타내었다(Table 3. & Fig. 8).

Table 3. Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Chinese Cultivated Wild ginseng extract in DCFDA

Concentration	Mean ± SD(ROS Forming Unit-RFU)
NS	1379794 ± 102151
0.01mg/ml	1041678 ± 19364*
0.1mg/ml	846602 ± 43835*
1mg/ml	138541 ± 9060*
10mg/ml	168806 ± 18838*
20mg/ml	212053 ± 7521*

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

4) 자연산 산삼 추출물의 항산화 효능

HX/XOD system에 존재하는 자연산 산삼 추출물의 농도에 따른 항산화 효능을 평가하였다. 0.01mg/ml에서 20mg/ml까지 농도를 다양하게 하여 DCFDA에 의한 형광 값을 측정하고 농도의존성으로 항산화작용이 증가하는 것을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도조건에서 그 효과가 급격하게 증가하였고 가장 우수한 항산화작용을 나타내었다.

일표본 분석을 통한 자연산 산삼의 항산화작용은 Normal Saline에 비하여 전 구간에서 유의한 항산화작용을 나타내었다(Table 4. & Fig. 9).

Table 4. Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean Wild ginseng extract in DCFDA

Concentration	Mean ± SD(ROS Forming Unit-RFU)
NS	1379794 ± 102151
0.01mg/ml	1104331 ± 71162*
0.1mg/ml	888806 ± 47471*
1mg/ml	167121 ± 5329*
10mg/ml	207397 ± 3113*
20mg/ml	273445 ± 6787*

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

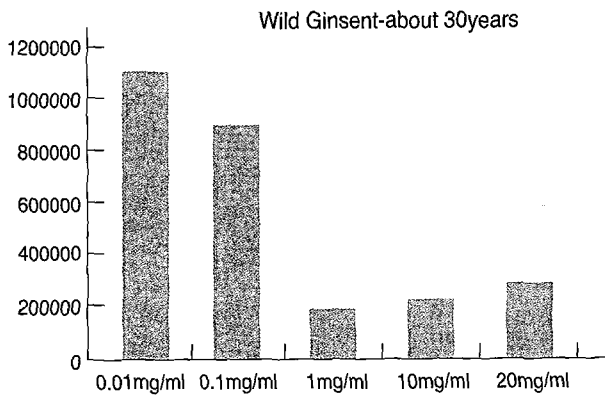


Fig. 9 Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Wild ginseng extract in DCFDA. y values are ROS forming Unit-RFU

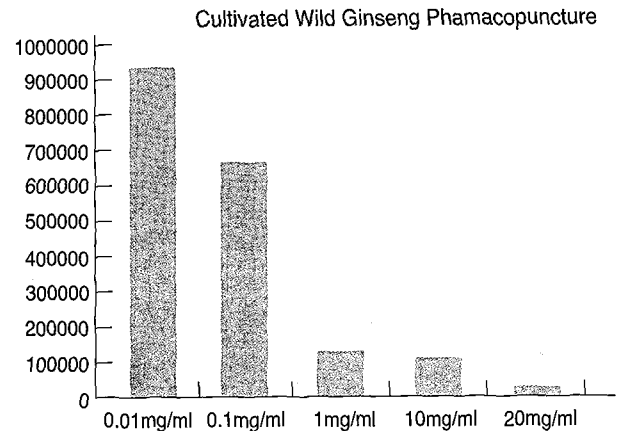


Fig. 10 Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean Wild ginseng Pharmacopuncture in DCFDA. y values are ROS forming Unit-RFU

5) 산삼 약침의 항산화 효능

HX/XOD system에 존재하는 산삼약침의 농도에 따른 항산화 효능을 평가하였다. 0.01mg/ml에서 20mg/ml까지 농도를 다양하게 하여 DCFDA에 의한 형광 값을 측정 한 결과 농도의존성으로 항산화작용이 증가하는 것을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도조건에서 그 효과가 급격하게 증가하였고, 농도가 높아질수록 우수한 항산화작용을 나타내어 20mg/ml에서 가장 우수한 항산화작용을 나타내었다.

일표본 분석을 통한 인삼의 항산화작용은 Normal Saline에 비하여 전 구간에서 유의한 항산화작용을 나타내었다(Table 5. & Fig. 10).

Table 5. Changes of SOD activities of various concentration after treatment of Korean Wild ginseng Pharmacopuncture in DCFDA

Concentration	Mean ± SD(ROS Forming Unit-RFU)
NS	1379794 ± 102151
0.01mg/ml	943839 ± 3346*
0.1mg/ml	824528 ± 6117*
1mg/ml	120560 ± 4752*
10mg/ml	110726 ± 4627*
20mg/ml	20593 ± 4700*

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

6) 인삼 및 수종의 산삼추출물에 대한 항산화 효능 비교

HX/XOD system에 존재하는 인삼과 국내산 및 중국산 산양삼, 자연산 산삼 추출물의 항산화작용을 비교하여 보았다. 대부분의 시료들이 1mg/ml의 농도에서 항산화 효과가 급격하게 증가하였고, 산삼추출물의 종류에 따라 대조군에 비해 활성산소가 약 10배에서 약 29배까지 제거되는 효과를 나타내었다. 이 효과는 대표적인 항산화제인 93.75 μM ascorbic acid 조건과 비슷한 수준의 항산화 효력임을 확인할 수 있었다 (Fig. 11).

2. CT-26으로 유도된 ICR mouse의 피부종양에서 산삼추출물의 암세포 성장억제 효과

6마리의 ICR mouse를 한 군으로 하여 CT-26 cancer cell을 복부의 피하에 이식한 후 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 국내산 산양삼군(K-CWG), 중국산 산양삼군(C-CWG), 자연산 산삼군(WG)으로 나누어 암세포의 성장억제효과를 평가하였다. CT-26 결장암세포의 성장을 육안으로 확인한 후 종류별 산삼 추출물을 하루에 100 μl 씩 매일 경구투여하면서 종양의 크기를 종양 발생 후 9일부터 3일 간격으로 종양의 체적을 측정하였다. 그 결과 실험군 모두 12일째부터 대조군에 비하여 유의하게 종양의 성장을 억제하였고, 15일과 18일에서도 유의한 억제효과를 나타내었다(Table 6. & Fig. 12)

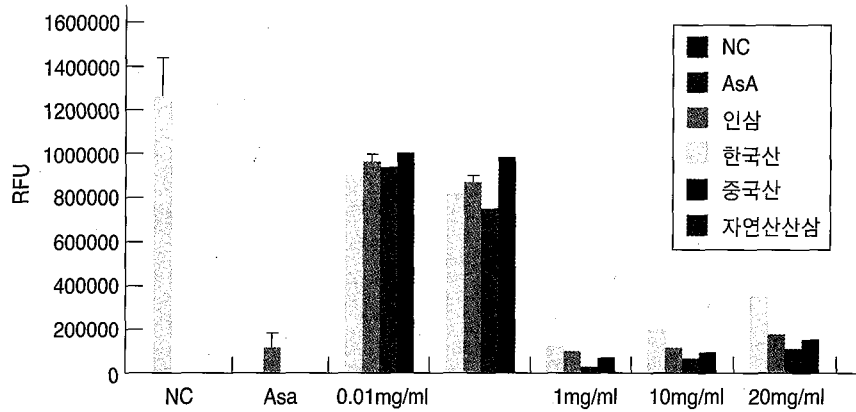


Fig. 11 Changes of SOD activities of various ginseng extracts.

Table 6. Growth inhibition effects of various ginseng extract to the cancer induced by CT-26 cancer cell at subcutaneous region in ICR mice

Group	Mass Volumes(mm ³)				
	9	12	15	18	21days
Control	304.2±100.3	677.5±202.3	1067.7±337.2	1726.6±425.1	2203.3±543.8
Chinese CWG	199.7±76.4	351.9±100.7*	750.9±220.4*	1198.8±327.2*	1744.5±455.2
Korean CWG	184.5±65.7	349.5±74.3*	642.7±141.1*	1103.9±238.5*	1740.4±378.9
Wild ginseng	221.4±107.9	402.6±123.6*	571.4±127.4*	1296.5±378.9*	1977.1±452.3

* The mean difference is significant at the 0.05 level (p<0.05)

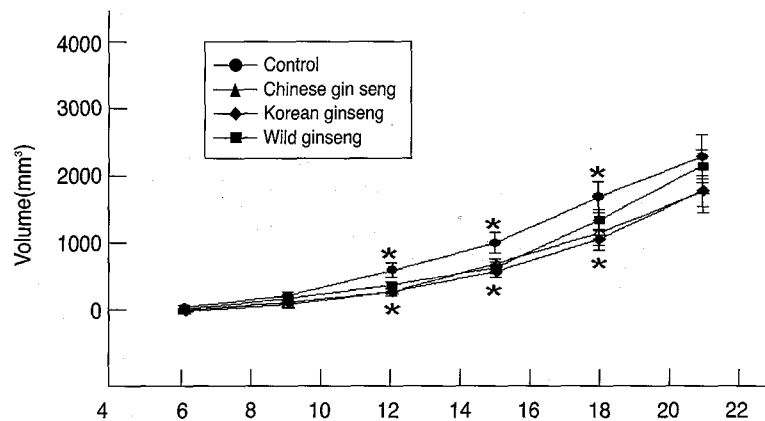


Fig. 12 Anti-cancer effects of various ginsengs extract induced by CT-26 cancer cell at subcutaneous region in ICR mice

3. CT-26으로 유도된 ICR mouse의 복강암에서 자연산 산삼 추출물의 생존률 평가

각 실험군을 10마리로 하여 종양을 복강에 이식한 후 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 자연산 산삼 열수 추출물을 하루에 100 μ l 씩 매일 경구 투여한 실험군(WG)의 두 군으로 나누어 복강암 유발 후부터 생존 기간을 관찰하였다. 그 결과 대조군은 복강에 CT-26 cell을 주입한 후 10일째부터 죽기 시작하였고 10마리 모두 사망하는데 19일이 걸렸으나, 자연산산삼 투여군에서는 14일째부터 죽기 시작하여 모두 사망하는데 25일이 걸렸다. 따라서 산삼투여군은 대조군에 비하여 31.6%의 생존 증가율을 나타내었다(Fig. 13).

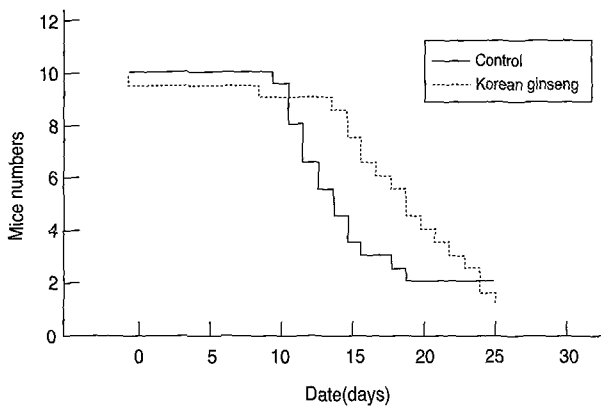


Fig. 13 Median survival time of ICR mice of peritoneal cancer induced by CT-26. Experimental group was treated with wild ginseng extracts.

IV. 고 찰

산삼은 오래전부터 영약으로 취급되어온 고귀한 한약재이다. 인삼의 인위적 재배가 이루어진 시기를 15C로 본다면 고전의 인삼은 현재의 산삼을 의미하는 것이다¹⁵⁾. 고전에서 설명하고 있는 蔘의 性은 微寒, 微溫, 溫 등으로, 味는 甘, 苦 등으로 표현되고 있으며, 補五臟, 安精神, 定魂魄, 止驚悸, 除邪氣, 明目, 開心, 益智, 久服輕身延年 등의 효능이 있다¹⁶⁾고 기록되어 있다. 자연에서 자생한 산삼은 비록 효능은 인삼보다 우수하다고 추정되지만¹⁴⁾ 희귀성과 고가로 인해 약재로 사용하기가 어려

운 실정이므로, 그 대체 약물로서 산삼의 씨앗을 산속에 뿌려 키운 산양산삼이 주목을 받고 있다.

암이란 체세포의 조절기전의 손상으로 인하여 세포의 증식이 계속적으로 일어나는 병적 상태를 말한다¹⁷⁾. 현재 우리나라의 가장 중요한 사망원인으로, 암으로 인하여 사망률은 점차 증가추세에 있다¹⁸⁾. 암은 많은 형태가 있으나 특정 장기에 고형의 종양으로 나타나는 경우가 많고, 피부, 유방, 폐, 장, 그리고 전립선 등에 흔하게 나타난다. 암이 양성 종양과 다른 점은 주변조직으로 침투해 들어가서 그 조직을 파괴시키거나 혈액이나 임파절을 타고 멀리 떨어진 지역으로 전이 될 수도 있다는 것이다.

한의학에서 암을 치료하는 방법은 扶正과 祛邪로 대별되며, 扶正法은 補氣, 滋陰 등의 治法으로 補脾, 補腎이 위주가 된다^{19,20)}. 인삼이나 산삼을 이용하여 암을 치료하는 기전은 補氣를 위주로 한 扶正의 치료법에 해당된다고 할 수 있다.

인삼의 항암작용은 Woo 등²¹⁾이 인삼의 알칼로이드화합물을 세포배양액에 첨가할 때 human amnion cell의 성장 억제와 Hela cell과 K.B. cell에서의 DNA 또는 total protein 합성이 억제되어 암세포의 증식을 억제한다고 보고한 이후로 암의 예방효과나 ginsenoside에 의한 암세포 분화 유도 및 그 기전 연구 등이 이루어져 왔다.

특히 인삼은 쥐의 복강 대식세포에서의 TNF- α (tumor necrosis factor- α), interleukin-1 β , IL-6, IL-12 및 interferin- γ 등의 생성을 증가시키고^{22, 23)}, TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)에 의한 NF- κ B, AP-1, COX-2의 활성을 저해함으로써 항산화효과를 나타내며, 일한 전사인자들의 down-regulation으로 항암활성을 나타내는 것으로 추정하고 있다²⁴⁾.

현재 인삼의 항암연구는 전 세계적으로 활발히 이루어지고 있고, 특히 주목할 만한 것은 한국산 인삼의 항암작용이 우수한 것으로 보고되고 있다는 것이다²⁵⁾.

그동안 많은 연구를 통하여 인삼은 어느 정도 암을 예방하는 효과가 있고²⁶⁾, 암 환자의 면역기능을 향상시켜 삶의 질을 높이는데 기여하며²⁷⁾ 특히 항암제와 같이 복용할 때에는 항암효과를 더욱 우수하게 하는 상승작용을 지니고 있음이 보고된 바 있다²⁸⁾.

고전의 인삼에 가장 가까운 자연산 산삼이나 산양산삼에 대한 연구는 재료의 희귀성이나 고가 등으로 인삼에 비하여 많은 연구가 진행되지는 않았지만 국내에서 김 등⁴⁾이 사람의 급성 백혈병 세포주인 HL-60을 이용

하여 자연산 산삼과 산양삼 그리고 인삼의 apoptosis에 미치는 영향을 연구한 결과 cell viability의 감소와 cell membrane bleb를 형성하여 apoptotic body를 형성하는데 자연산 산삼 > 산양삼 > 인삼의 순서로 효과를 나타내었음을 보고한 바 있고, 동물모델에서 Yun 등이 고혈당과 비만에 효과가 있음을 보고한 바 있다⁹⁾.

권 등^{7,10)}은 이러한 산양산삼을 이용한 약침연구를 시행하여 독성, 안전성 실험과 시험관 내 시험, 인삼과 산양삼의 효능 비교, 혈당 강하 및 항암효과와 관련하여 유의한 결과를 보고한 바 있다.

따라서 본 연구는 인삼과 국내산 및 중국산 산양삼, 자연산 산삼의 열수 추출물과 국내산 산양삼으로 증류 추출한 산삼약침의 항산화작용을 평가하고, 특히 산양삼과 산삼이 암세포의 성장을 얼마나 억제하며 생존 증가효과를 나타내는가를 비교해 보고자 시도되었다.

실험에 사용된 인삼은 재배시기를 정확하게 파악하기 위하여 직접 인삼 농가에서 5년근을 확보하여 사용하였고, 국내산 산양삼, 중국산 산양삼 모두 재배자가 1995년에 파종한 10년생 삼을 확보하여 실험에 사용하였다.

자연산 산삼은 장백산에서 채취한 수령 30년 전후의 삼을 전문가의 감정을 확인한 후 사용하였다.

산삼약침을 제외한 모든 시료들은 고전적 섭취방법인 열수추출법을 동일하게 적용하여 어떠한 차이를 나타내는가를 관찰하고자 시도하였다.

항산화 방법은 형광법을 이용한 DCFDA로 측정하였고, 암세포의 성장억제효과와 생존을 평가는 human colon cancer cell인 colon26-L5(CT-26) 암세포주를 mouse의 복부에 있는 피하와 복강에 주입하여 암을 유발한 후 시행하였다.

SOD는 체내에서 발생하는 활성산소 중 하나인 superoxide를 hydrogen peroxide로 전환시키는 효소로 산소호흡을 하는 생물이 superoxide의 세포 독성을 중화하는데 중요한 역할을 하는 효소이다¹¹⁾. 본 실험은 산삼 추출물의 활성산소 제거 효과를 확인하기 위해 HX/XOD system에서 superoxide의 발생을 유도하고 이것이 DCFDA와 반응하여 형광을 나타내는 원리를 이용하였다. 만일 이 반응계에 존재하는 산삼추출물이 SOD와 유사한 효과가 있어서 생성된 superoxide를 scavenging하면 DCFDA와의 반응이 감소하고, 따라서 형광의 강도가 감소될 것이다.

HX/XOD system에서 인삼과 중국산 산양삼, 한국산

산양삼, 자연산 산삼의 항산화작용을 측정한 결과 모든 시료에서 유의하게 농도 의존적 경향을 나타내는 항산화 작용이 있음을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도에서 항산화 효과가 급격하게 증가하는 공통점을 나타내었고, 산삼추출물의 종류에 따라 대조군에 비해 활성산소가 약 10배에서 약 29배까지 제거되는 효과를 나타내었다. 이 효과는 대표적인 항산화제인 93.75 μ M ascorbic acid 조건과 비슷한 수준의 항산화 효력임을 확인할 수 있었다. 특히 산삼약침의 항산화효과가 가장 우수하였으나 다른 시료들에 비하여 유의성은 인정되지 않았고, 다른 시료들에 비하여 농도 의존의 양상을 20mg/ml의 농도까지 유지하였다.

이는 산삼약침과 관련한 기존의 연구에서 산삼약침이 항암효과가 있다고 보고^{23,26)}한 것과 관련하여 항암능의 기전과 연관이 있을 것으로 추정되었다.

CT-26 cancer cell을 mouse의 복부 피하에 이식한 후 암세포의 성장억제효과를 평가한 결과 중국산 산양삼, 한국산 산양삼 그리고 자연산 산삼열수 추출물 투여군 모두 12일째부터 대조군에 비하여 유의하게 종양의 성장을 억제하였고, 15일과 18일에서도 유의한 억제효과를 나타내었다. 그러나 중국산, 한국산 산양삼과 자연산 산삼군 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이는 김 등⁴⁾이 보고한 HL-60 급성 백혈병 세포주를 이용한 in vitro 실험에서 자연산>산양삼>인삼의 유효성을 나타낸 것과 일치하지 않음을 알 수 있었다.

암 발생시에 자연산 산삼의 경구 복용이 생존을 증가에 어떠한 영향을 미치는지를 관찰하기 위하여 CT-26 cancer cell을 mouse의 복강에 이식한 후 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 자연산 산삼 열수추출물을 경구 투여한 실험군의 생존율을 관찰한 결과 산삼 추출물 경구 투여군에서 31.6%의 생존 증가율을 나타내어 산삼의 복용이 암의 발현을 어느 정도 억제하고 생존을 증가시켜주는 효과가 있음을 알 수 있었다. 하지만 이러한 결과는 권 등⁷⁾이 Sarcoma-180 복강암 모델에서 산양삼을 증류하여 조제한 산삼약침을 mouse의 미정맥에 주입하였을 때 생존증가율 115%를 나타낸 것과 비교하였을 때 상당히 낮은 수준임을 알 수 있었다.

이는 동일한 약제라 하더라도 제형의 변화나 투여방법에 따라 상당히 다른 결과가 나올 수 있다는 것과 암세포의 종류에 따라 효능의 차이가 있을 수 있음을 가정할 수 있으므로 향후 이에 대한 후속 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

산삼과 국내산 및 중국산 산양삼, 인삼의 항산화효과를 알아보기 위해 DCFDA system에서 xanthine oxidase 환원법을 이용하여 SOD 유사활성효과를 관찰하였고, 산삼과 산양삼의 항암효과를 관찰하기 위해 CT-26 human colon cancer cell을 이용하여 mouse에 피부암과 복강암을 유발한 후 암세포의 성장억제효과와 생존율의 차이를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HX/XOD system에서 인삼과 중국산 산양삼, 한국산 산양삼, 자연산 산삼의 항산화작용을 측정하여 결과 모든 시료에서 유의하게 농도 의존적 경향을 나타내는 항산화작용이 있음을 알 수 있었다. 특히 1mg/ml의 농도에서 항산화 효과가 급격하게 증가하는 공통점을 나타내었다.
2. CT-26 cancer cell을 복부의 피하에 이식한 후 암세포의 성장억제효과를 평가한 결과 중국산 산양삼, 한국산 산양삼 그리고 자연산 산삼 열수 추출물 투여군 모두 12일째부터 대조군에 비하여 유의하게 종양의 성장을 억제하였고, 15일과 18일에서도 유의한 억제효과를 나타내었다. 그러나 중국산, 한국산 산양삼과 자연산 산삼군 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다.
3. 자연산 산삼의 경구 복용이 암으로 인한 사망률에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 CT-26 cancer cell을 mouse의 복강에 이식하여 복강암을 유발한 후 생존기간을 관찰한 결과 대조군에 비하여 자연산 산삼 열수추출물을 투여한 실험군에서 31.6%의 생존 증가율을 나타내었음을 알 수 있었다.

Acknowledgement

"This study was supported by a grant of the Oriental Medicine R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea. (B050054)"

참고문헌

1. 신순식, 김경철, 최영현, 이용태, 엄현섭, 김창식. 산삼 감정 기준의 객관성. 한의학연구소 동의 한의연 제 5집. 2001 ; 107-114.
2. 전국한외과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 영림사. 1994 ; 531.
3. 중약대사전 편찬위원회. 완역중약대사전. 정담. 1997 ; (7) : 3473-3479.
4. 김성진, 신순식, 서부일, 지선영. 산삼, 장뇌삼, 인삼의 항암효과 비교연구. 대한본초학회지. 2004 ; 19(2) : 41-50.
5. Se Na Yun, Sang Jung Moon, Sung Kwon Ko, Byung Ok Im, Sung Hyun Chung. Wild Ginseng Prevents the Onset of High-Fat Diet Induced Hyperglycemia and Obesity in ICR mice. Arch Pharm Res. 2004 ; 27(7) : 790-796.
6. Ki-Rok Kwon, Jung-Chul Seo. Genetical Identification of Korean Wild Ginseng and American Wild Ginseng by using Pyrosequencing Method. Kor. J. Herbology. 2004 ; 19(4) : 45-50.
7. 권기록, 조아라, 이선구. 정맥주입용 산양산삼 증류약침의 급성, 아급성 독성 실험 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구. 대한약침학회지. 2003 ; 6(2) : 7-27.
8. 조희철, 이선구, 권기록. 농도별 산양산삼 증류약침의 apoptosis에 관한 실험적 연구. 대한약침학회지. 2004 ; 7(2) : 1-15.
9. 곽경승, 이선구, 권기록. pH 및 전해질 조절 산양산삼 증류약침의 apoptosis에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2004 ; 21(6) : 1-17.
10. 권기록. 정맥주입용 산삼약침이 인체에 미치는 영향에 관한 임상적 연구. 대한약침학회지. 2004 ; 7(1) : 15-26.
11. Ki-Rok Kwon, Chi-Wan Park, Min-Soo Ra, Chong-Kwan Cho. Clinical Observation of Multiple Metastatic Cancer Patient with Hepatocellular Carcinoma treated with Cultivated Wild Ginseng Herbal Acupuncture Therapy, J. of Korean Acupuncture & Moxibustion Society, 2005 ; 22(2) : 211-217.
12. 권기록, 윤희철, 김호연. B16/F10 세포를 이식한 C57/BL6 생쥐에서 산삼약침의 항암효과 및

- Doxorubicin에 의한 생식독성 완화효과. 대한침구학회지. 2006 ; 23(1) : 105-120.
13. Devy, C. and Gautier, R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.* 1990 ; 39 : 399-405.
14. Keum Y. S., Han S. S., Chun K. S., Park K. K., Park J. H., Lee S. K., Surh Y. J. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- κ B activation and tumor promotion. *Mutat Res.* 2003 ; 75-85 : 523-524.
15. 권기록, 위중성, 김성욱. 산삼에 대한 문헌적 고찰. 대한약침학회지. 2003 ; 6(2) : 67-76.
16. 單書健, 神農本草經校證, 吉林科學技術出版社. 1988 ; 150.
17. David R. Goldman. Complete Home Medical Guide. DK Publishing. 2003 ; 320.
18. <http://www.nso.go.kr>
19. 潘敏求. 中華腫瘤治療大成. 河北科學技術出版社. 1996 ; 837-838.
20. 李家庚, 屈松柏 主編. 實用中醫腫瘤病學. 제 2판. 北京. 科學技術文獻出版社. 2001 ; 694-697.
21. Woo, L.K., Nakamura, Y. and Donat, L. Effect of Korean Ginseng on the growth Rate of Cell. *Arch. Ital. Patol. Clin. Tumori.* 1965 ; 8 : 53.
22. Shin, J.Y., Song, J.Y., Yun, Y.S., Yang, H.O., Rhee, D.K., Pyo, S. Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of Panax ginseng on macrophage function. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2002 ; 24 : 469-482.
23. Song, J.Y., Han, S.K., Son, E.H., Pyo, S.N., Yun, Y.S., Yi, S.Y. Induction of secretory and tumoricidal activities in peritoneal macrophages by ginsan. *Int Immunopharmacol.* 2002 ; 2 : 857-865.
24. Keum, Y.S., Han, S.S., Chun, K.S., Park, K.K., Park, J.H., Lee, S.K., Surh Y.J. Inhibitory effects of the ginsenosides Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- κ B activation and tumor promotion. *Mutat Res.* 2003 ; 75-85 : 523-224.
25. Yun, T.K. and Lee, Y.S. Comparison of anticarcinogenicity between Panax ginseng C.A. Meyer and Panax quinquefolieds L. using Yun's nine-week medium term mouse model. *Proceeding of the American Association for cancer research.* 1999 ; 40.
26. Yun, T. K., Choi, S. Y. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.* 1995 ; 4 : 401.
27. 서성욱, 정철현, 손길수, *The Ginseng Review.* 1998 ; 25 : 10.
28. 광이성, 김영숙, 신한재, 송용범, 박종대. 홍삼산성다당체(RGAP)와 항암제의 병행투여에 의한 항암시너지 효과. *J. Ginseng Res.* 2003 ; 27(2) : 47-51.
29. C.A. Rice, A. Diplock. Current of status of antioxidant therapy. *Free Radic. Biol. Med.* 1993 ; 15 : 77-96.