

마우스에서 고려 홍삼의 구강내 섭취를 통한 소음성 난청의 예방효과

안중호 · 김태수 · 정하나 · 이나영 · 정종우*

울산대학교 의과대학 서울아산병원 이비인후과학교실
(2009년 4월 3일 접수; 2009년 6월 18일 수정; 2009년 6월 20일 수리)

The Protective Effect of Orally Ingested Korean Red Ginseng on the Noise Induced Hearing Loss in Mice

Joong Ho Ahn, Tae Soo Kim, Hana Chung, Nayoung Lee and Jong Woo Chung*

Department of Otolaryngology, Asan Medical Center, University of Ulsan, College of Medicine, Seoul, Korea
(Received April 3, 2009; Revised June 18, 2009; Accepted June 20, 2009)

Abstract : It is well known that the saponin of Korean red ginseng (KRG) has an anti-oxidant effect and could suppress the accumulation of lipid peroxidation. The aim of the present study was to observe the inhibitory effect of KRG on mice with noise-induced hearing loss, and to determine its optimal dose. BALB/c mice with a normal hearing level and normal Preyer's reflexes were used in the study. The mice in the permanent-threshold-shift (PTS) group were exposed to noise (120-dB SPL, white noise band) in a noise booth for 3 h a day, for three consecutive days. The mice in the experimental group were given heat-processed red-ginseng extract (50 mg/kg, 100 mg/kg, and 200 mg/kg), and those in the control group were given normal saline alone during their noise exposure. The mice in the temporary-threshold-shift (TTS) group were exposed to noise (120 dB SPL, white noise band) in a noise booth for 3 h. The mice in the experimental group were given heat-processed red-ginseng extract (50 mg/kg, 100 mg/kg, and 200 mg/kg), and those in the control group were given normal saline alone before their noise exposure. The hearing levels of the mice were measured through auditory brainstem response (ABR) immediately and 1, 3, 5, 7, and 14 days after their noise exposure. Cochleae were removed from the mice 14 days after their noise exposure. Immunohistochemical and immunofluorescent staining were performed to observe the expression of 8-oxoG in cochlea. In the PTS group, the hearing function of the mice in all the groups was not recovered after their noise exposure. In the TTS group, however, the hearing function of the mice in all the groups was recovered within 14 days. Reduced hearing impairment and early recovery were observed in the mice that were given 200 mg/kg KRG, and early recovery was observed in the mice that were given 100 mg/kg KRG. The immunopositive staining of 8-oxoG was detected in the stria vascularis in the control group but was diminished in the mice that were given 200 mg/kg KRG. The ingestion of more than 100 mg/kg KRG demonstrated a protection and recovery effect on the noise-induced-TTS group. Since KRG has been reported to be a safe compound even up to hundreds of mg/kg, a higher concentration of it may effectively protect and recover TTS.

Key words : noise-induced hearing loss, cytoprotection, free radicals, recovery of the hearing function, inner ear

서 론

소음성 난청은 소음으로 인해 유발되는 청력손실로 정의할 수 있다. 소음이란 괴롭고 원치 않는 대단히 큰 소리를 뜻하는데 소음환경은 환경영향의 대표적 유해인자로 사회가 점점 산업화, 고령화되면서 소음성 난청은 증가되고 있다. 따라서

소음에 의해 유발되는 난청의 기전 및 이의 방지 및 회복 기전에 많은 관심을 가지고 연구가 진행되어 왔다.

기존의 연구자들은 과산화물 라디칼 (superoxide radical)들이 소음 손상 후에 내강의 연결 세포들에서 발현되는 것을 관찰하였다.¹⁾ 소음자극에 의하여 활성 산소종 (reactive oxygen species, ROS)의 증가가 와우 내 세척액을 분석을 통해 알려졌고 이를 통한 지방 과산화 (lipid peroxidation)가 촉진되며 세포내의 대사산물인 isoprostane이 축적되는 것이 밝혀졌으며, glutathione이나 항산화제의 전처치에 의하여 소음성

*Corresponding author. E-mail: jwchung@amc.seoul.kr
Phone: 02-3010-3718, Fax: 02-489-2773

난청이 완화되는 결과들이 보고되고 있다.^{2,3)}

소음에 의한 활성 산소종의 downstream pathway에 의해 activating protein-1 (AP-1)이 증가되고 이는 DNA에 결합하여 cAMP response element binding protein (CREB)의 인산화를 통하여 apoptotic pathway를 진행시키는 것으로 보고되었다.⁴⁾ 이는 와우 조직에 있어서의 소음손상에 대해 활성 산소종 시스템이 관여함을 다시 한번 확인해 주었다. 항산화 단백질인 catalase나 glutathione reductase, gamma-glutamyl synthase 등은 코티 기관을 보호해줌과 동시에 혈관대 등도 보호해 준다. 이들은 소음 노출 시 발현이 억제되며, 더구나 glutathione을 합성 시키는 효소인 glutamylcysteinyl ligase의 억제제로 작용하는 buthionine sulfoximine은 와우 내 항산화 효과를 감소시켜 강한 소리 압력에 노출 후 일어나는 와우 손상을 증가시키는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 이와 같은 연구결과에 따라 동물실험에서 항산화제의 보충과 r-phenylisopropyl adenosine, deferoxamine mesylate등의 항산화 효과를 돕는 물질이 소음성 난청을 어느 정도 예방하는 것으로 보고되고 있다.^{2,6-8)} 그러나, 동물에서 실험된 이러한 결과를 실제의 임상적인 상황에 적용하는 데에는 시기적인 문제점이 있다. 동물실험은 소음에 노출되기 전에 항산화제를 투입할 수 있지만, 임상적으로는 청력 소실이 나타나는 시기는 다양한 기간의 소음에 노출된 후 이미 유묘세포가 손상을 받은 시점으로 항산화제 투입의 시기를 놓칠 수 있기 때문이다. 따라서 어느 시점에 치료를 시작해야 하는지 명확하지 않고 이러한 경우의 치료에 대하여는 아직 명확한 해답이 제시되고 있지 않다.

고려 인삼은 우리나라에서 뿐만 아니라 세계적으로 다양한 정도의 질화에 널리 사용되는 약물로서 특히, 인삼에 열과 압력을 가하여 제조되는 홍삼에 존재하는 사포닌은 ginsenoside라고도 불리며 약리작용으로 항당뇨, 심혈관 장애 개선 및 항동맥 경화 작용, 항스트레스 효과, 콜레스테롤 대사의 개선 효과, 암 발생 억제 및 항산화 작용에 탁월한 효능이 있다고 널리 알려져 있다.⁹⁻¹²⁾ 또한 홍삼의 혈관 이완 및 항산화 효과에 관한 연구들로는 prostacyclin과 thromboxane A₂비율 (PGL₂/TXA₂)의 증가를 통한 혈관이완작용, 항산화 효소의 증가를 통한 항산화작용을 보인다는 연구결과가 보고되었고 홍삼 사포닌이 기니픽을 이용한 동물 실험에서 소음으로 인한 역치의 상승과 와우의 형태학적 변화를 경감 시켜 줄 수 있다는 보고도 있었다.¹³⁾

본 연구에서는 소음성 난청을 유발한 마우스에서 고려 홍삼이 청력 회복에 관여하는 지를 보고하고 이의 해부생리학 및 항산화 기전을 밝히고자 하였다. 아울러 고려 홍삼이 청력 회복에 관여하는 적정 용량을 산출하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

1) 실험 동물

실험 동물로는 정상적인 Preyer's reflex를 보이고, 청성뇌간반응 (Auditory brainstem response, ABR)에서 정상 청력을 보인 8주된 BALB/c 마우스 (Orient Co. Ltd, Korea)를 사용하였다.

2) 실험 기기

사용한 실험기와 소음노출방법은 기존에 보고된 방법과 동일하게 시행하였다.¹⁴⁾ 소음을 주기 위해 외부소음과 차단되고 방음이 가능한 방음실 (noise booth)을 제작하여 사용하였다. 각각 8 Ω의 입출력을 가지는 스피커 (300~10,000 Hz; 290-8L, ALTEC LANSING, Oklahoma city, Oklahoma)와 증폭기 (R-399, INTER M, Seoul)를 직접 연결하여 사용하였다. 증폭기를 방음실의 좌측 코너에 위치시킨 후 그 위에 스피커를 설치한 다음 horn이 45° 각도로 놓이게 하였다. 스피커는 300~10,000 Hz의 rated power bandwidth를 가지며 120 watts의 continuous power capacity가 가능하였다. 증폭기는 스테레오 앰프를 보다 강력한 모노 사운드로 사용하기 위하여, 후면에 부착된 mode 스위치로 선택할 수 있는 bridged mono 기능이 설계되어 있으며 과전류와 과열로부터 기기를 안전하게 보호하기 위한 회로가 내장되어 있는 것으로 하였다. 방음실내에 발생하는 소음을 방음실의 중앙부와 각각의 모서리에서 sound level meter (B&K, Dærum, Denmark)로 측정하여 모두 원하는 음압 이상임을 확인하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물의 마취

실험 동물은 ketamine hydrochlorid (30 mg/kg)와 xylene (2 mg/kg, Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo)을 복강 내로 주사하여 마취하였으며 필요 시 상기 용량의 반을 추가로 주사하였다.

2) 영구적 난청 유발 실험 (permanent hearing threshold shift)

사용된 소음은 120 dB SPL 크기의 광대역 백색잡음 (broad band white noise)이며 마우스를 하루 3시간씩 3일간 노출시켰다. 이러한 소음 노출은 영구적인 내이기능의 저하를 초래하며 한달까지 회복되지 않는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ 마우스는 총 16마리를 각 4마리씩 4군으로 나누어 대조군 (normal saline만 투여)과 3개의 실험군 (홍삼 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여군)으로 구성하였다. 홍삼을 소

음 노출 전과 소음에 노출 시킨 동안, 총 3번을 구강 내로 주입하면서 청력변화를 측정하였다.

3) 일과성 난청 유발 실험 (temporary hearing threshold shift)

사용된 소음은 120 dB SPL 크기의 광대역 백색잡음 (broad band white noise)이며 하루 3시간 1회 노출시켰다. 이런 소음은 일시적인 청력 역치의 상승을 가져오며 시간이 지남에 따라 서서히 회복되는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ 마우스는 총 16마리를 각 4마리씩 4군으로 나누어 대조군 (normal saline만 투여)과 3개의 실험군 (홍삼 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여군)으로 구성하였다. 홍삼을 소음 노출 전 1번 구강 내로 주입하여 청력변화를 측정하였다.

4) 고려 홍삼 엑기스 (extract of red ginseng produced by heat processing)의 투여

고려 홍삼 엑기스는 (주)한국인삼공사에서 공급한 홍삼 엑기스를 사용하여 각 실험군의 용량에 맞추어서 생리식염수에 녹여서 마우스의 구강 내로 주입하였다.

5) 소음에 의한 청력 역치의 변화 측정

청성뇌간유발반응으로 청력 역치를 측정하였다. 청성뇌간반응은 TDT auditory evoked potentials workstation (Tucker-Davis Technologies, Alachua, FL)을 사용하여 검사하였다. 자극음은 초당 13회의 교대상 클릭음을 90 dB HL의 강도부터 단계별로 10 dB 낮추며 측정하고, 파형이 불분명하게 나오는 음의 강도에 도달하면 5 dB씩 조절하면서 청력 역치를 측정하였다. 청력 역치는 wave I을 기준으로 측정하였다. 클릭음의 주파수 여과기 조절은 100~3000 Hz로 하였고, 총 자극음의 횟수는 1,024회로 하였다. 소음 노출 전 및 소음 노출 직후, 1일, 3일, 5일, 7일 그리고 14일 째에 청력 역치를 측정하여 결과를 분석하였다.

6) 조직 처리

일과성 난청 유발 실험의 대조군과 홍삼의 용량을 달리한 각 실험군에서 와우를 분리하였다. 분리해낸 와우를 2.5% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde, 4% formalin을 인산기 완충용액에 넣어 만든 고정액에서 3일간 실온에서 보관하였다. 탈석회화를 위해 10% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 용액에 5일간 보관하였고 자동 침투기를 이용해 탈수, 투명, 침투 과정을 거친 후 와우 축 중심부 방향으로 파라핀으로 포매하였다. 포매된 조직은 5 µm 두께로 조직을 박절하여 실험에 이용하였다.

7) 면역 염색을 통한 활성산소유리기의 측정

Oxidative DNA 손상의 정도를 측정하기 위해 DNA에서 8-oxoG residue를 측정하였다. 박절된 조직을 xylene에 넣어서 탈 파라핀 과정을 거친 후 고농도 알코올에서 저농도 알코올로 가며 흡수 과정을 거쳤다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위해 methanol에 희석된 3% H₂O₂ 용액에 5분간 반응시켰다. 그 후 phosphate buffer saline (PBS)로 수세한 후 avidine-biotin-peroxidase complex (Vector, Burlingame CA) 방법에 따라 면역 염색을 실시하였다. 비특이적인 반응을 차단하기 위해 biotin이 표지된 혈장에 30분간 반응을 시켰다. 그 후 1차 항체 8-oxoG (Chemicon, Int, CA)를 이용하여 4°C에서 12시간 이상을 반응시켰다. PBS용액에 수세한 후 biotin이 표지된 2차 항체를 30분간 반응시키고 PBS용액에 수세한 후 avidin과 biotin이 표지된 HRP 용액을 가해 30분간 실온에 반응시켰다. 발색 물질로는 3'-diaminobenzidine tetrachloride (Thermo Shandon Co., Pittsburgh, PA)로 7분 동안 반응을 시켰다. 조직 구조 및 세포의 동정을 살피기 위해 hemotoxylene (Sigma-Aldrich)을 이용하여 대조염색을 하였다. 수세 후 탈수 과정과 투명 과정을 거쳐 지용성 봉입제를 이용해 봉입 후 광학현미경으로 관찰하였다. 면역 형광 염색을 위해서는 PBS 용액에 수세한 후 2차 항체인 Alexa Fluor 488 (FITC)를 1:200으로 희석하여 실온에서 30분간 반응하였다. 반응 후 빛을 차단한 후 PBS 용액에 수세를 하였다. 그 후 수용성 봉입체 (Biomed Co., Foster City, CA)를 이용해 봉입 후 형광 현미경과 공초점 현미경으로 관찰하였다.

3. 통계처리

통계학적 검정은 SPSS통계프로그램 (version 12.0)을 이용하였다. 각 실험에서 대조군과 실험군과의 시간에 따른 청력 역치 변화의 차이를 검정하기 위하여 반복측정분산분석 (repeated measures ANOVA)을 시행하였고, 대조군과 실험군과의 시간별 청력 역치 비교 분석에는 비모수 검정의 Mann-Whitney 검정을 이용하였다.

결 과

1. 영구적 난청 유발 실험에서 청력 역치의 변화

실험군과 대조군에서 소음 노출 전 청력의 차이는 보이지 않았다. 실험군과 대조군 모두 소음 노출 직후에 최대의 역치 변화를 보였다. 소음 노출 전 후의 청력 역치 변화는 대조군 24±2.25 dB SPL (N=4)에서 83±2.88 dB SPL, 홍삼 50 mg/kg 투여군 20±4.08 dB SPL (N=4)에서 79±

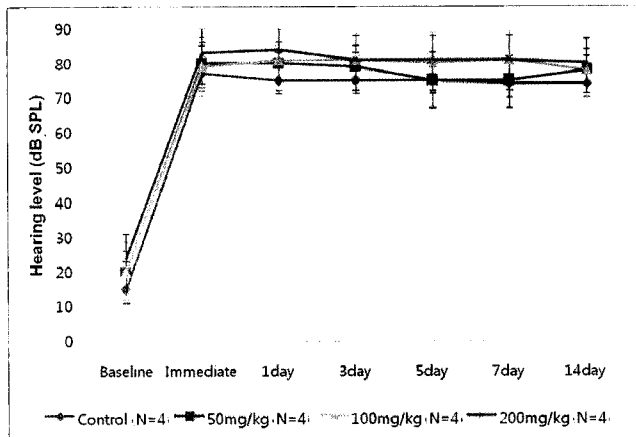


Fig. 1. Effect of Korean red ginseng on change of mean hearing threshold (dB SPL) after noise exposure during 3 hours a day for 3 consecutive days. There was no significant difference in hearing threshold between control group and red ginseng administered groups.

4.78 dB SPL, 홍삼 100 mg/kg 투여군 20 ± 4.08 dB SPL (N=4) 에서 80 ± 7.07 dB SPL, 홍삼 200 mg/kg 투여군 15 ± 5.77 dB SPL (N=4)에서 77 ± 2.88 dB SPL로 각 구간 차이를 보이지 않았다. 실험군과 대조군 모두 청력 역치 상승이 소음 노출 후 2주까지 지속되어 대조군과 비교하여 홍삼 투여 군에서 의미 있는 청력 역치의 변화가 보이지 않았다 (Fig. 1).

2. 일과성 난청 유발 실험에서 청력 역치의 변화

실험군과 대조군 모두에서 소음노출 직후에 최대 역치 상승을 보였으며 시간이 경과함에 따라 서서히 회복되는 양상이었다. 실험군과 대조군 사이의 소음 노출 전 청력의 차이는 없었다. 소음 노출 전 청력역치와 비교하여 대조군과 홍삼 50 mg/kg 및 홍삼 100 mg/kg 투여군에서는 소음노출 직후와 노출 후 1일 및 3일 후에 유의한 역치 상승을 보였다 ($p < 0.05$, Fig. 2). 홍삼 200 mg/kg 투여군에서는 소음노출 직후와 노출 후 1일까지만 소음 노출 전 청력역치와 비교하여 유의한 역치 상승을 보이는 것으로 나타났다 ($p < 0.05$). 홍삼 50 mg/kg 투여군은 대조군과 비교하여 각 시간에 따른 청력 역치가 차이를 보이는 시간은 없었다 ($p > 0.05$). 홍삼 200 mg/kg 투여군은 대조군과 비교하여 소음노출 직후와 노출 후 1일의 청력 역치에서, 홍삼 100 mg/kg 투여군에서는 소음노출 후 1일의 청력 역치에서 대조군에 비하여 청력역치가 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$, Fig. 2, inset).

3. 8-oxoG의 조직내의 발현

8-oxoG에 의한 세포질의 면역반응은 소음노출만을 시행한

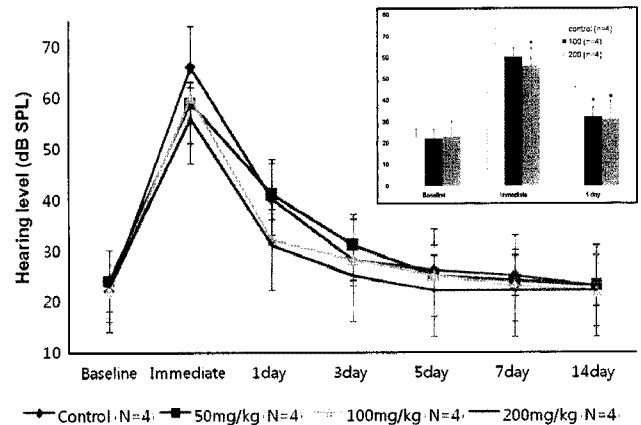


Fig. 2. Effect of Korean red ginseng on change of mean hearing threshold (dB SPL) after noise exposure during 3 hours. Red ginseng-administered group has better hearing threshold than control group at immediately after noise exposure in 200 mg/kg group and 1 day after noise exposure in 100 mg/kg and 200 mg/kg groups (inset) (*: significantly different hearing threshold between control group and experiment group, $p < 0.05$)

은 대조군의 경우 혈관조에서 뚜렷하게 증가하였고, 코티기관에서는 약간의 염색반응만 찾아볼 수 있었다. 그러나 200 mg/kg의 홍삼을 투여한 실험군에서 혈관조에서의 반응이 대조군에 비하여 뚜렷히 감소하였고, 코티기관에서는 약간의 반응이 남아 있었다 (Fig. 3).

8-oxoG에 의한 핵내의 염색반응은 대조군에서 혈관조의 양성소견이 뚜렷히 관찰되었고 200 mg/kg의 홍삼 투여군에서는 감소된 염색소견을 보였다 (Fig. 4).

고찰

소음이 청력에 미치는 영향은 소음에 노출된 후 짧은 기간

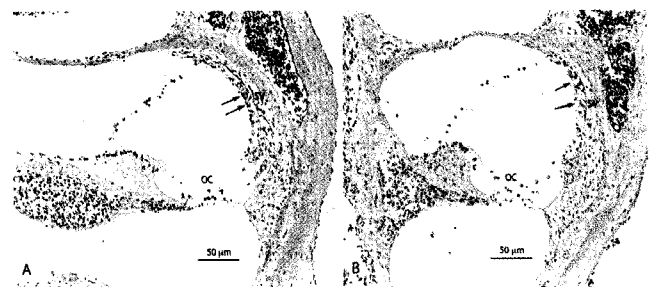


Fig. 3. Immunohistochemical staining of cytoplasm to 8-oxoG. A. Control group, which was stimulated by noise without ingestion of KRG, showed positive staining (arrows) in stria vascularis (SV). Organ of Corti (OC) showed a little positive staining. B. Experimental group, which was stimulated by noise with ingestion of 200 mg/kg KRG, showed decreased staining in SV (arrows).

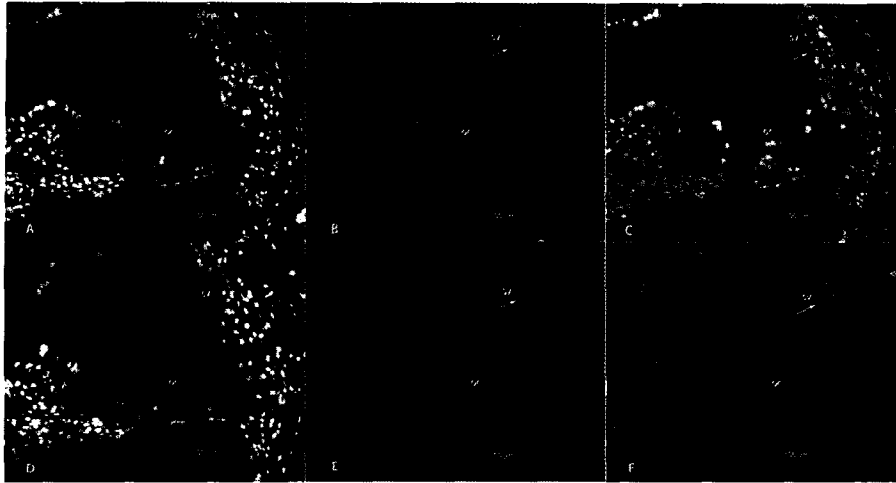


Fig. 4. Immunofluorescent stainings of nucleus to 8-oxoG. A-C. Nucleus staining with DAPI (A), 8-oxoG staining(B), and merged image (C) in control group shows positive staining to 8-oxoG (arrow) especially in stria vascularis (SV). D-E. DAPI(D), 8-oxoG(E) and merged image (F) in experimental group of 200 mg/kg KRG ingestion shows decreased staining in stria vascularis (arrow). Organ of Corti (OC) shows no definite difference between two groups.

동안 발생하는 일과성 역치 변동 (temporary threshold shift) 과 소음에 오래 폭로되어 초래되는 영구성 역치 변동 (permanent threshold shift) 및 폭발음이나 총성 같은 강대음에 단 시간 폭로되어 유발되는 음향외상 (acoustic trauma)의 세가지로 나눌 수 있다. 일과성 역치 변동은 소음에 노출된 후 휴식기간을 가지면 청력이 회복되는 일시적이며 가역적 청력 손실을 말하며 영구성 역치 변동은 장기간의 소음 노출 후 회복되지 않는 비가역적 감각신경성 난청을 말한다.¹⁶⁾

소음에 의한 내이의 파괴기전은 물리적인 손상과 대사성 손상으로 나눌 수 있으며 대사성 손상의 경우 세포의 생화학적 인 시스템의 손상을 초래하여 세포의 괴사를 일으키고 이로써 내이 유모세포의 변형을 가져와 소음성 난청을 일으킨다. 대사성 손상을 일으키는 기전으로는 혈액 순환 장애와 세포막 투과성 변화에 의해 초래된다고 밝혀져 있다. 여기에 대표적으로 작용하는 것이 활성 산소종 (reactive oxygen species)이다. 소음 자극에 의해 활성 산소종이 증가하고 이를 통한 지방 과산화가 촉진되며 세포내의 대사산물인 isoprostane 이 축적되는 것이 보고되었다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 또한 소음에 의한 와우내 유모세포 부동모의 형태학적인 변형이 칼슘 이온의 세포내 흐름을 일으키고 이는 와우 혈류를 감소 시키는 데 이에 따른 허혈이 활성 산소종 형성에 관여하여 내이 손상을 일으킨다는 기전도 제시되고 있다.^{1,19)}

와우에 어느 정도의 소음이 단기간 가해질 때 일시적으로 가역적인 변화가 올 수 있고 이는 일시적 청력 역치 변화를 일으킬 수 있다. 하지만 소음의 지속적인 자극을 받게 되면 비가역적인 손상이 유모 세포에서 보이게 되는 데 특히 유모 세포의 부동모가 상하게 되며 그 중에서도 외유모 세포에 있

는 actin filament의 변화가 생겨 tip links가 해리되는 일련의 과정으로 영구적 난청이 유발된다고 알려져 있다.¹⁵⁾

본 연구에서 소음에 의한 영구적 난청 유발 실험에서는 홍삼 투여군이 대조군과 비교하여 유의한 보호효과를 보이지 않았다. 이는 내이의 파괴기전으로 생각되는 물리적인 손상 및 대사성 손상이 유발하는 내이 손상의 진행을 홍삼 투여만으로는 효과적으로 억제하지 못했기 때문인 것으로 판단된다. 특히 3시간씩 3일간의 소음노출은 내이기관의 물리적인 변화를 초래하며,¹⁴⁾ 영구성 역치 변동이 일어나면 손상의 범위가 외유모세포를 위시해서 내유모세포와 신경전도로에까지 미치게 되므로²⁰⁾ 아직까지 이러한 일련의 변화를 효과적으로 억제할 수 있는 방법은 개발되지 않았다.

그러나 일과성 난청 유발 실험에서는 100 mg/kg 및 200 mg/kg 홍삼의 투여가 대조군과 비교하여 소음성 난청에서의 회복을 효과적으로 도와주는 결과를 보였고 200 mg/kg 홍삼의 투여는 소음성 난청으로 인한 청력 역치가 상승하는 것도 감소시켜 소음에의 보호 역할도 한다는 결과를 보였다. 일과성 역치 변동 시에는 세포내의 Na^+ , K^+ -ATPase와 Ca^{2+} -ATPase의 활성도가 감소하고 이에 따라 세포의 수용체 전류 (receptor current)와 내림프전압 (endolymphatic potential)이 감소하는 것으로 알려져 있으며 유모세포의 부동모 (stereocilia)는 형태적 변화를 겪기 이전에 세포의 이온통로가 가역적으로 비활성화된다. 결국 소음에 의해 칼슘이온의 세포내 유입이 이루어지고 와우 혈류가 감소하게 되어 허혈이 발생하고 이에 순차적으로 활성 유리산소기 형성되어 내이 손상을 일으키는 것이 일과성 역치 변동시 발생하는 난청의 기전으로 생각할 때 홍삼의 세포막에 대한 칼슘이온 결합력의 저

해,²¹⁾ prostacyclin과 thromboxane A₂ 비율 (PGL₂/TXA₂)의 증가를 통한 혈관 이완작용,²²⁾ 항산화효소의 증가를 통한 항산화작용¹⁰⁾이 일과성 난청에서의 회복을 효과적으로 돕는다는 것을 간접적으로 증명할 수 있었다.

8-oxoguanine (8-oxoG)은 세포 핵 내 DNA에서 활성 산소종의 생성에 의해 만들어지는 물질이다. 8-oxoG의 항체를 이용한 면역 염색을 통해서 세포 내 활성 산소종의 생성 여부를 판단할 수 있다. 특히 소음성 난청의 기전 중 활성 산소종의 생성이 내이 손상을 일으킨다고 생각할 때 와우 내 세포 안의 활성 산소종에 대한 정량적 분석이 내이 손상 정도를 예측할 수 있게 하며 홍삼과 같은 항산화물을 돕는 물질의 항산화 작용의 효과도 감별할 수 있게 해준다.

혈관조는 와우관의 외벽에 있는 구조물로 풍부한 혈관과 미토콘드리아가 있어 내이의 대사작용에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 활발한 대사작용의 결과로 활성 산소종에 의한 손상이 많을 것으로 생각되며 본 실험에서도 소음에 노출된 마우스의 혈관조에서 전반적으로 8-oxoG가 발견되었다. 반면에 일과성 난청 유발 실험의 유도세포나 와우 신경절에는 8-oxoG가 발견되지 않았다. 이는 영구적 역치 변동을 일으키는 세포의 손상에는 이르지 않았기 때문으로 생각된다. 200 mg/kg 홍삼의 투여에 의하여 혈관조에서 발생하는 8-oxoG의 발현이 억제된 것으로 미루어 보아 홍삼의 투여가 내이에 대사 작용에 중요한 역할을 하는 혈관조에 작용하여 소음성 난청의 초기에 발생하는 활성 산소종에 대한 보호효과를 가지는 것으로 판단된다.

요 약

고려 홍삼이 소음성 난청에서 청력 보호 및 회복에 관여하는지를 밝히기 위하여 마우스에서 홍삼을 투여 후 소음에 노출시켜 청력 역치의 변화 및 와우의 활성 산소 유리기에 대한 노출 정도를 보았다. 영구적 청력 역치 이동의 경우에 홍삼은 청력 보호 및 회복에 관여하지 못했다. 하지만 일과성 청력 역치 이동의 경우에는 홍삼이 어느 정도의 농도 이상으로 투여 된다면 청력 회복에 효과적으로 작용하는 것으로 밝혀졌다. 향후 홍삼의 난청 억제 효과에 대해 적정 농도 및 투여 방법 등에 대한 후속연구가 뒤따라야 하겠고 인간에서 발생하는 소음성 난청에의 적합성 판정을 위해 보다 장기적인 소음 노출 기간과 장기적인 홍삼 복용에 대한 연구가 필요하겠다. 또한 홍삼내의 여러 활성물질에 관한 연구를 통하여 보다 효과적인 화합물을 찾기 위한 노력도 동반되어야 할 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 2007년도 (주)한국인삼공사의 연구출연금 지원(2007)에 의한 연구결과입니다. 시료는 한국인삼공사에서 제공한 홍삼 엑기스를 사용하였습니다.

인용문헌

1. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Konishi K, Iguchi H, Nakagawa T, Shibata S, Kato A, Sunami K, Kawakatsu C. The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl.* 519: 87-92 (1995)
2. Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, Miller JM. Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res.* 146: 28-34 (2000)
3. Ohlemiller KK, Wright JS, Dugan LL. Early elevation of cochlear reactive oxygen species following noise exposure. *Audiol Neurootol.* 4: 229-236 (1999)
4. Ogita K, Matsunobu T, Schacht J. Acoustic trauma enhances DNA binding of transcription factor AP-1 in the guinea pig inner ear. *Neuroreport.* 11: 859-862 (2000)
5. Yamasoba T, Harris C, Shoji F, Lee RJ, Nuttall AL, Miller JM. Influence of intense sound exposure on glutathione synthesis in the cochlea. *Brain Res.* 804: 72-78 (1998)
6. Hu BH, Zheng XY, McFadden SL, Kopke RD, Henderson D. R-phenylisopropyladenosine attenuates noise-induced hearing loss in the chinchilla. *Hear Res.* 113: 198-206 (1997)
7. Yamasoba T, Nuttall AL, Harris C, Raphael Y, Miller JM. Role of glutathione in protection against noise-induced hearing loss. *Brain Res.* 784: 82-90 (1998)
8. Yamasoba T, Schacht J, Shoji F, Miller JM. Attenuation of cochlear damage from noise trauma by an iron chelator, a free radical scavenger and glial cell line-derived neurotrophic factor in vivo. *Brain Res.* 815: 317-325 (1999).
9. Chong SK, Oberholzer VG. Ginseng, is there a use in clinical medicine? *Postgrad Med J.* 64: 841-846 (1988)
10. Kim JS, Kim KW, Choi KJ, Kwak YK, Im KS, Lee KH, Chung HY. Screening of antioxidative components from red ginseng saponin. *J Ginseng Res* 20: 173-178 (1996)
11. Sidhu GS, Oakenfull DG. A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *Br J Nutr.* 55: 643-649 (1986)
12. Yun TK, Yun YS, Han IW. Anticarcinogenic effect of long-term oral administration of red ginseng on newborn mice exposed to various chemical carcinogens. *Cancer Detect Prev.* 6: 515-525 (1983)
13. Sin GC, Lee SH, Nam BH, Park CI, Nam KY. Effect of Korean red ginseng saponin on cochlear damage induced by

- noise exposure. *Korean J Otolaryngol.* 43: 804-807 (2000)
14. Chung JW, Kang HH, Shin JE, Kim JU. Accumulation of hypoxia-inducible factor-1alpha in mouse inner ear by noise stimulation. *Neuroreport.* 15: 2353-2356 (2004)
 15. Lee SK, Kang HH, Gong MK, Lee KS, Chung JW. Morphological change of mouse inner ear hair cells after noise exposure. *Korean J Otolaryngol.* 48: 967-974 (2005)
 16. Lee HY. A Clinical Audiological Survey of Noise-Induced Hearing Loss. *Korean J Otolaryngol.* 14: 21-31 (1971)
 17. Axelsson A, Vertes D, Miller J. Immediate noise effects on cochlear vasculature in the guinea pig. *Acta Otolaryngol.* 91: 237-246 (1981)
 18. Gao WY, Ding DL, Zheng XY, Ruan FM, Liu YJ. A comparison of changes in the stereocilia between temporary and permanent hearing losses in acoustic trauma. *Hear Res.* 62: 27-41 (1992)
 19. Seidman MD, Shivapuja BG, Quirk WS. The protective effects of allopurinol and superoxide dismutase on noise-induced cochlear damage. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 109: 1052-1056 (1993)
 20. Schwartz IR, Keh A, Hsu G. Morphology, GluR1 and GRIP-C localization differ in octopus cells of C57BL6 and B6Cast mice. *Hear Res.* 171: 1-12 (2002)
 21. Jeon BH, Kim HS, Chang SJ. Effect of saponin and non-saponin of *Panax ginseng* on the blood pressure in the renovascular hypertensive rats. *J Ginseng Res.* 23: 81-87 (1999)
 22. Tamura Y, Hiari A, Terano T, Tahara K, Saitoh S, Kondo S. Effect of Korean red ginseng on eicosanoid biosynthesis in platelets and vascular smooth muscle cells. *J Ginseng Res.* 17: 28-29 (1993)