

방사선 조사 마우스에서 학습기억 장애에 대한 홍삼의 효과

이해준¹ · 김종선¹ · 문창종² · 김종훈² · 조성기³ · 장종식⁴ · 김성호^{2,*}

¹한국원자력의학원, ²전남대학교 수의과대학, 전남대학교 동물의학연구소,

³한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소, ⁴경북대학교 축산학과

(2009년 5월 13일 접수; 2009년 6월 16일 수정; 2009년 6월 16일 수리)

Effect of Red Ginseng on Radiation-induced Learning and Memory Impairment in Mouse

Hae June Lee¹, Joong Sun Kim¹, Changjong Moon², Jong Choon Kim²,
Sung Kee Jo³, Jong Sik Jang⁴ and Sung Ho Kim^{2,*}

¹Korea Institute of Radiological & Medical Science, Seoul 139-240, Korea

²College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Animal Medical Center,
Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

³Advanced Radiation Technology Institute, KAERI, Jeongeup 580-126, Korea

⁴Department of Animal Science, Kyungpook National University, Sangju, 742-711, Korea

(Received May 13, 2009; Revised June 16, 2009; Accepted June 16, 2009)

Abstract : Previous studies suggest that even low-dose irradiation can lead to progressive cognitive decline and memory deficits, which implicates, in part, hippocampal dysfunction in both humans and experimental animals. In this study, whether red ginseng (RG) could attenuate memory impairment was investigated through a passive-avoidance and object recognition memory test, as well as the suppression of hippocampal neurogenesis, using the TUNEL assay and immunohistochemical detection with markers of neurogenesis (Ki-67 and doublecortin (DCX)) in adult mice treated with a relatively low-dose exposure to gamma radiation (0.5 or 2.0 Gy). RG was administered intraperitoneally at a dosage of 50 mg/kg of body weight, at 36 and 12 h pre-irradiation and at 30 minutes post-irradiation, or orally at a dosage of 250 mg/kg of body weight/day for seven days before autopsy. In the passive-avoidance and object recognition memory test, the mice that were trained for one day after acute irradiation (2 Gy) showed significant memory deficits compared with the sham controls. The number of TUNEL-positive apoptotic nuclei in the dentate gyrus (DG) was increased 12 h after irradiation. In addition, the number of Ki-67- and DCX-positive cells was significantly decreased. RG treatment prior to irradiation attenuated the memory defect and blocked apoptotic death as well as a decrease in the Ki-67- and DCX-positive cells. RG may attenuate memory defect in a relatively low-dose exposure to radiation in adult mice, possibly by inhibiting the detrimental effect of irradiation on hippocampal neurogenesis.

Key words : red ginseng, radiation, memory impairment, neurogenesis

서 론

두부 방사선 치료 (cranial radiation therapy)는 다수의 원발성 뇌종양, 전이성 종양, 혈액종양 및 두경부종양 등에 필수적인 치료방법이다. 그러나 이로 인한 인지력 감퇴가 유발

되는데, 방사선에 노출된 수개월에서 수년 후에 단기 기억, 공간 지각, 주의력의 감퇴 등으로 나타난다. 해마 기능 부전이 이러한 신경정신과적 현상과 밀접한 관계가 있으며 측두엽에 대한 방사선 피폭 용량에 의존적인 현상으로 보고되었다.^{1,2)}

기존에 알려진 방사선에 의한 중추신경계의 장애는 일반적으로 뇌혈관의 손상과 아교세포 변성괴사의 두가지 가설로 알려져 있으나 이러한 병변이 없이도 나타나는 인지 장애에 대한 설명으로는 부적절하였다. 해마의 생리적 기능에 대한 연구가

*Corresponding author. E-mail: shokim@chonnam.ac.kr
Phone: 062-530-2837, Fax: 062-530-2841

진행되면서 방사선 조사에 의한 인지장애와 연관하여 신경발생에 대한 방사선의 영향이 최근 관심의 대상이 되고 있다.^{2,3)} 방사선생물학에서 성숙개체의 뇌조직은 다른 장기에 비해 방사선에 의한 손상에 저항성을 나타낸다. 그러나 성숙 뇌조직도 방사선에 노출된 경우, 조직학적 손상이 적었음에도 불구하고 다양한 정도의 인지장애를 나타낸다.^{4,5)} 방사선에 의한 인지장애는 성숙동물에서 해마 신경발생 (hippocampal neurogenesis)의 억제와 관련이 있다.^{5,6)} 해마 신경발생은 구조적으로 평생 일어나고 새로운 신경세포는 치아이랑 (dentate gyrus)의 hilus와 granular cells layer 사이에 위치한 subgranular zone에서 유래된다.⁷⁾ 신경발생의 정도는 나이, 유전적 영향, 화학물질, 방사선과 같은 요인에 의해 영향을 받는다.⁶⁻⁸⁾

인삼은 한국과 중국에서 노약자의 건강유지와 수명연장을 위해 전통적으로 사용되었던 강장제였으며,^{9,10)} 충추신경계, 심혈관계, 내분비계 및 면역계에 대한 효과가 알려졌고, 성분 연구에서 항암, 항스트레스, 방사선장해 경감 및 항산화 효과가 증명되었다.¹¹⁻¹⁵⁾ 상업적으로는 수삼, 백삼 및 홍삼이 알려져 있다. 홍삼은 장기보존을 위하여 수삼에 김찌기 (steaming) 후 말린 것으로, 열처리에 의한 화학적 변성이 있는 것으로 보고되었다.¹⁶⁾

본 연구에서는 각종 생리활성과 함께 방사선 장해 개선 효과가 알려져 있으나 방사선에 의한 뇌손상 및 행동학적 변화에 대한 연구가 전무한 홍삼의 효과를 비교적 저선량의 방사선을 조사한 마우스에서 인지, 기억장애 개선효과 및 해마 신경발생 장애에 대한 억제 효과를 평가 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

7주령의 수컷 ICR 마우스 (오리엔트바이오, 성남)를 사용하였다. 동물의 사육은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간은 12시간 (오전 8시 점등-오후 8시 소등) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 4마리씩 수용하였고 실험동물용 고품사료 (삼양사료, 원주)와 정수장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 마우스는 4마리를 하나의 실험군으로 적용하였으며, 모든 실험동물은 Institute of Laboratory Animal Resources의 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animal' (1996, USA)에 준하여 취급하였으며 동물실험은 전남대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 수행되었다.

2. 시료제조 및 투여

홍삼추출물은 한국인삼공사 (대전, 한국)에서 제공받았으며

동결건조하여 사용하였다. 분석결과 사포닌의 양은 약 3.3%였으며, Rb1 (15.8%), Rb2 (7.8%), Rc (8.1%), Rd (7.6%), Re (3.2%), Rf (4.7%), Rg1 (1.9%), Rg2 (22.2%), Rg3 (24.2%), Rh1 (4.7%)와 미량의 기타 사포닌을 포함하고 있는 시료였다. 홍삼의 투여는 복강내 주사군의 경우, 체중 kg당 50 mg의 양으로 방사선 조사전 36 및 12시간에 2회, 방사선 조사후 30분에 1회, 총 3회 주사하였으며, 경구투여군의 경우 방사선 조사 일주일 전부터 실험종료시 까지 매일 체중 kg당 250 mg의 양으로 경구투여하였다.

3. 방사선 조사

방사선조사는 실험용 방사선 조사기 (Gamma-cell Elan 3000, Nordion International, Canada)를 사용하여 ^{60}Co 감마선 (선량율 : 2 Gy/min)을 1회 전신조사 하였다.

4. 기능행동학적 평가

대조군, 방사선 조사군 및 홍삼병행투여군 (경구 및 복강내 주사)으로 각 군당 8마리를 공시하여 2 Gy의 방사선을 조사한 후 Passive avoidance test와 Object recognition test를 실시하였다. 간단히 설명하면, Passive avoidance test는 마우스의 밝은 곳을 싫어하는 습성을 이용한 행동학 실험이다. 어두운 방과 밝은 방으로 나누어진 구조물에 방 사이의 문이 설치되어 있는데, 마우스를 밝은 방에 두어 일정한 시간 (1분) 후 방사이의 문을 개방하면, 어두운 곳으로 들어가는 시간 (cross-over latency)을 측정하고, 어두운 방의 바닥의 grid에 0.7 mA의 전류를 2초간 흐르게 하여, 들어간 마우스에 전기 충격을 주게 하였다 (training). 이 후 마우스를 꺼내고 24시간이 지난 후 다시 밝은 방에 두고 (1분), 다시 방 사이 문을 개방하였을 때, 어두운 방으로 들어가는 시간 (cross-over latency)을 측정하여 (testing), 학습기억의 능력을 평가하였다. Object recognition memory test는 마우스의 새로운 물체에 대한 호기심을 표시하는 습성을 이용한 행동학 실험이다. 마우스케이지에 서로 다른 모양을 가진 물체를 넣고 마우스를 넣게 되면, 마우스는 새로운 두 물체에 같은 비율의 호기심 (sniffing, approaching)을 나타낸다. 10분 동안의 training 과정을 거친 후, 다시 마우스를 꺼내고 24시간 후에 두 물체 중 하나를 바꾸고 마우스를 동일 케이지에 넣게 되면, 일반적인 학습기억의 능력을 지닌 마우스는 새로운 물체에 더 많은 호기심을 표시한다. 이러한 호기심의 표시의 차이를 측정하여 학습과 기억의 능력을 평가하였다.

5. 신경줄기세포 변화의 조직형태학적 평가

대조군, 방사선 조사군 (0.5 및 2.0 Gy) 및 홍삼병행 투여

군 (경구 및 복강내 주사)으로 나누고, 각 군은 4마리로 하였다. 방사선 조사 후 12시간에 마우스를 희생시키고, TUNEL 방법과 면역염색법으로 각각 해마신경세포의 apoptosis 발생과 doublecortin (DCX), Ki-67 양성세포의 변화를 확인하였다. 각 마우스의 뇌는 정확히 정수리점 뒤 2.12 mm에서 시료를 채취하여 통상적 방법에 따라 조직을 고정하고 파라핀 포매 후 절편을 제작하였다. 세포사멸은 apoptosis 발생, 내인성 증식인자는 Ki-67, 미성숙 신경줄기세포 변화는 doublecortin (DCX)를 관찰하였다. 마우스 뇌의 정수리점 뒤 2.12 mm에서 5 µm 두께의 절편을 시작으로 연속된 절편의 10개 중 각각 3개의 절편에서 apoptosis 발생, Ki-67과 DCX 양성 세포 수를 측정하였다. 양성세포 수 측정은 치아이랑 칼모양면의 위쪽과 아래쪽 subgranular zone에 존재하는 모든 양성반응세포를 정량하였다. 각각의 마우스 3개의 절편에서 얻어진 양성세포의 수에 대한 평균값을 n=1로 결정하였다. Apoptosis 검사는 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT)-mediated dUTP Nick End-labeling (TUNEL) 기법과 hematoxylin-eosin 염색으로 확인한다. Intergen (NY, USA)사의 TUNEL kit를 이용하고, 그들이 제안한 방법으로 실시하였다. 면역조직화학 (Immunohistochemistry)염색은 Avidin-biotin-complex-horseradish conjugation (ABC-HRP) 방법 (Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 따라 실시하였다. 내재성 peroxidase를 제거하기 위해 0.3% 과산화수소수가 포함된 3차 증류수에 20 분간 반응시켰다. 단클론 토끼 anti-Ki-67항체 (DRM004; Acris Antibodies GmbH, Hiddenhausen, Germany)를 1:500으로 희석한 것과 단클론 토끼 anti-DCX 항체 (Cell signaling Technology, Beverly, MA, USA)를 1:400으로 희석하여 반응시켰다. 면역반응은 avidin-biotin peroxidase complex (Elite kit; Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하였으며, diaminobenzidine substrate kit (Vector)를 사용하여 발색하였다.

6. 자료통계 및 분석

모든 실험에서 얻어진 자료는 one-way ANOVA (the post-hoc Student-Newman-Keuls)의 방법으로 유의성 검사를 하였고, 그들의 수치는 평균 표준편차 또는 표준오차의 값으로 나타났다. 또한 유의성은 p 값이 0.05보다 작을 때 그 값을 유의성이 있는 값으로 하였다.

결 과

1. 기능행동학적 평가

Passive avoidance test에서 training 동안 모든 마우스가

비슷한 정도의 짧은 시간 (cross-over latency, 비조사대조군 36.40±4.83, 방사선 단독조사군 36.42±3.52, 홍삼병행 복강내 주사군 30.42±3.05, 홍삼병행 경구투여군 31.35±2.40)내에 어두운 방으로 들어가 전기쇼크 받았다. 기억력 test를 위해 24시간 후 다시 밝은 방에 노출되었을 때 비조사 대조군은 어두운 방으로 들어가는 시간 (cross-over latency, 368.05±41.28)이 오래 걸린 반면, 방사선 단독조사군은 유의성 있는 감소를 나타냈다 (223.78±27.11). 그러나 홍삼병행투여군에서 방사선 단독 조사군에 비해 증가하는 경향을 보였고 특히 복강내 주사군은 유의성 있는 기억 결손 경감효과가 관찰되었다 (368.14±31.97, p<0.01, Fig. 1). Object recognition memory test에서 비조사 대조군, 방사선 단독조사군 및 홍삼병행투여군 모두에서 training 중 두개의 물체에 같은 선호도를 보였다. 비교 가능한 주의력 (attention), 동기부여 (motivation), 시각적 인식 (visual perception) 정도는 모든 실험군에서 차이가 없었다. Test에서 (training 24시간 후), 새로운 물건에 대한 선호도는 비조사 대조군에서 65.01±2.67%였으며, 방사

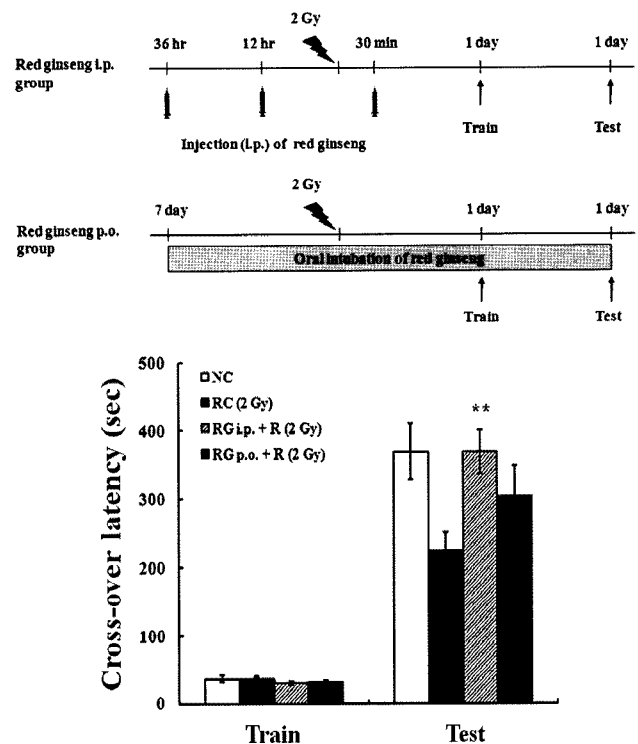


Fig. 1. Effect of pre-treatment of red ginseng (RG) on avoidance learning-related memory. Sham controls (1 day after sham irradiation, NC) and mice 1 day after 2 Gy of gamma-irradiation with (RG+R) or without RG treatment (RC) were trained by passive avoidance, respectively (n=8 for each group). The trained mice were tested 1 day after training. The cross-over latency was recorded. Values are expressed as mean ± SEM. **Indicates a significant difference at p<0.01 compared with the radiation control group.

선 단독조사군에서는 $53.64 \pm 1.48\%$ 로 기억 결손을 보였다. 홍삼병행투여군의 경우 복강내 주사군에서 $64.16 \pm 0.66\%$ 의 선호도를 보여 유의성 있는 기억 결손 경감효과가 관찰되었다 ($p < 0.01$, Fig. 2).

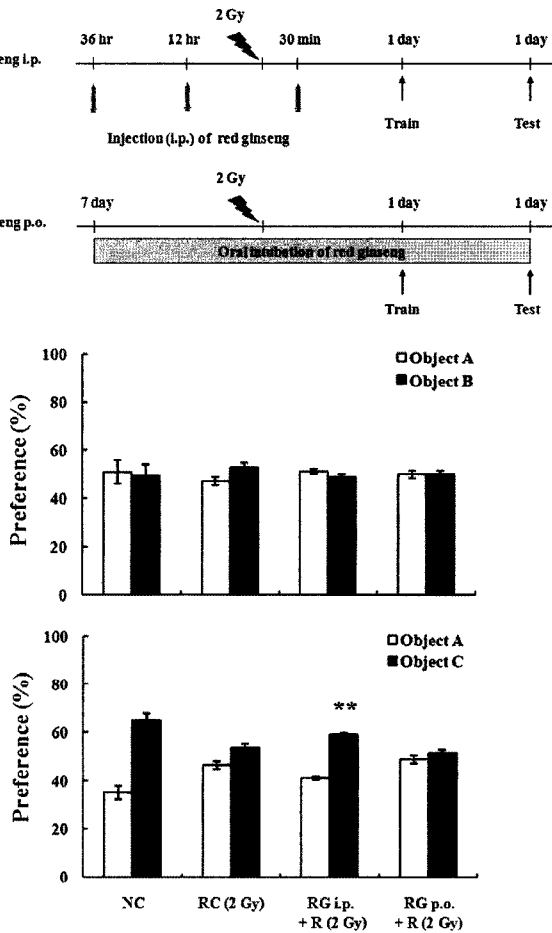


Fig. 2. Effect of pre-treatment of red ginseng (RG) on object recognition learning-related memory. Sham controls (1 day after sham irradiation, NC) and mice 1 day after 2 Gy of gamma-irradiation with (RG + R) or without RG treatment (RC) were examined ($n=8$ for each group). During training, two objects were presented to each mouse for 15 min. After 24 h, one of the old objects was replaced with a novel object (testing). If the mouse remembered the old object, it would spend more time with the novel object during testing, as indicated by higher percentage of object preference. (A) The mice of each group showed equal preference to the two objects during training. (B) During testing, sham control and irradiated mice treated with RG showed significant preference to the novel object, but there is no significant preference for the novel object in the mice trained 1 day after irradiation without RG treatment. Values are expressed as mean \pm SEM. **Indicates a significant difference at $p < 0.01$ compared with the preference of object B in corresponding group and significant difference at $p < 0.01$ compared with the preference of object C in the radiation control group.

2. 신경줄기세포 변화의 조직형태학적 평가

Apoptosis 발생 세포는 H&E 염색상에서 핵염색질과 세포질의 농축 및 산호성 세포질의 특성을 나타내었으며, TUNEL 염색에서 양성의 세포 및 apoptotic body가 관찰되었다 (Fig. 3). 비조사 대조군에서는 양성세포가 관찰되지 않았으며 방사선 단독조사군에서는 0.5 Gy 조사군은 평균 5.36개, 2.0 Gy 조사군은 18.50개로 그 수가 증가하였다. 0.5 Gy 조사와 홍삼병행투여군에서 평균을 기준으로 apoptosis의 발생은 감소의 경향을 보였으나 개체차로 유의성은 없었으며, 2.0 Gy 조사와 홍삼병행 투여군에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군에서 37%, 경구투여군에서 43%의 유의성 있는 감소를 나타냈다 ($p < 0.05$, Table 1). Ki-67과 DCX 양성 세포 (Fig. 3)는 비조사 대조군에서 각각 평균 9.57개 및 46.86개가 관찰되었으며, 0.5 Gy 및 2Gy 방사선 단독 조사군에서 현저히 감소하였다. 홍삼병행투여군의 경우 방사선 단독조사군에 비하여 평균치를 기준으로 증가의 경향을 보였으며, 특히 0.5 Gy 방사선 조사군에서 홍삼병행 (경구)투여에 따라 Ki-67 양성세포가 유의성 있게 증가하였고, 2.0 Gy 방사선 조사군에서 홍삼병행 (복강내 주사)투여에 따라 Dcx 양성세포가 유의성 있게 증가하였다 ($p < 0.05$, Table 1).

고찰

홍삼은 6년근 인삼을 증기 열처리 후 건조한 제품으로, 뇌

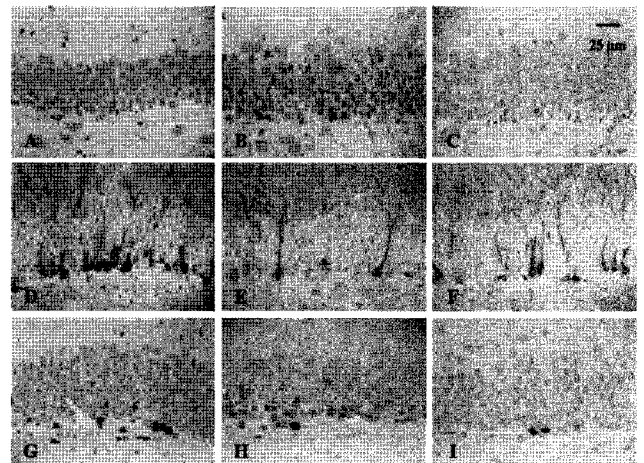


Fig. 3. Photomicrographs of TUNEL (A, B, C)-stained sections, immature progenitor cells (DCX, D, E, F) and proliferating cells (Ki-67, G, H, I) of dentate gyrus 12 h after irradiation with or without red ginseng (RG) treatment. No apoptotic cell was observed in sham control (A). RG (C) attenuated radiation-induced increases (B) in the number of apoptotic cells. Representative images (D and G) showing the DCX- and Ki-67-positive cells in the mice from the sham controls. RG (F and I) attenuated radiation-induced decreases (E and H) in the number of DCX- and Ki-67-positive cells.

Table 1. Effect of red ginseng (RG) pre-treatment against gamma radiation-induced histological changes of dentate gyrus

Groups	TUNEL	Ki-67	DCX
NC	0	9.57±1.27	46.86±6.07
RC (0.5Gy)	5.36±1.25	4.25±1.26	31.71±5.74
RG ¹⁾ + R (0.5 Gy)	4.83±2.40	5.43±1.62	30.57±9.47
RG ²⁾ + R (0.5 Gy)	3.25±2.63	7.00±1.83*	30.50±5.45
RC (2.0Gy)	18.50±3.19	2.86±1.21	19.57±4.20
RG ¹⁾ + R (2.0 Gy)	11.60±3.36*	4.57±1.38	29.50±4.20*
RG ²⁾ + R (2.0 Gy)	10.50±3.51*	3.50±1.91	20.33±4.62

The ICR mice (n=4) were irradiated with gamma-rays (0.5 or 2.0 Gy) and were autopsied 12 hours later. Values are expressed as mean ± SD.

¹⁾RG (50 mg/kg of body weight) was given i.p. at 36 and 12 hours before irradiation, and 30 minutes after irradiation.

²⁾RG (250 mg/kg of body weight/day) was given p.o. for 7 days before autopsy.

*Indicates a significant difference at p<0.05 compared with corresponding radiation control group.

졸중,¹⁷⁾ 간손상,¹⁸⁾ 발기부전,¹⁹⁾ 암전이,²⁰⁾ 울혈성 심부전²¹⁾ 및 암예방²²⁾ 등에 효과를 나타내며, 사포닌 성분이 중국 또는 일본에서 가공된 제품에 비하여 한국 홍삼이 가장 많이 함유되어 있고,²³⁾ 혈액순환 개선효과, 항혈전효과, 섬유소 용해작용, 세망내피계세포의 탐식능 증강 및 노화방지 효과가 백삼에 비하여 우수하다고 보고²⁴⁾되고 있다.

인삼의 방사선 장해에 대한 효과연구에서 김 등은 인삼의 물분획 및 알칼로이드분획을 이용하여 감마선에 의한 털주머니세포에서의 apoptosis 유발 억제 및 털수질세포의 성장 촉진 효과를 관찰하였고,²⁵⁾ 방사선에 의한 소장암 생존율, 세포질 분열차단 림프구의 미소핵 형성 및 DNA 손상에 대한 보호 효과도 보고하였다.^{26,27)} Kumar 등은 감마선에 의한 랫드의 정소 손상에 있어 인삼 물분획의 방사선 방호 효과를 보고하였고,²⁸⁾ 이 등은 인삼 물분획이 HaCaT keratocyte에서 자외선 B에 의해 유발되는 apoptosis의 발생빈도를 낮추는 것을 관찰하였다.²⁹⁾ 최근 이등에 의해 전리방사선 장해 경감 유효 성분에 대한 연구¹³⁾가 수행되었으며, 자외선에 의한 피부노화, 피부암발생 및 미백효과에 대한 보고³⁰⁻³²⁾가 있었다.

방사선에 의한 생체손상은 일부 물리적 작용을 포함한 활성산소에 의한 DNA 손상이 주원인³³⁾으로 작용한다. 방사선에 의한 뇌손상은 해마 신경발생세포의 급성세포사와 생존세포의 증식력 저하 등의 직접적 원인과 미세아교세포 염증, 미세혈관손상 등의 이차성 변화가 원인으로 알려져 있다.^{2,3)} 따라서 방사선 손상에 대한 경감개선은 신경줄기세포에 대한 직접적 장해 경감제 처치와 미세환경의 회복을 위한 항염증 치료가 병행되어야 한다.

본 연구에서 홍삼은 방사선에 의한 신경발생세포의 apoptosis를 효과적으로 억제하였으며, Ki-67 및 DCX 양성 세포의 수 감소도 상당부분 개선 시켰다. 이와 같은 결과는 홍삼의 신경발생세포에 대한 직접적 수적 감소 방지와 이차적인 미세환경 변화에 의한 생존세포의 증식력 회복에 효과가 있을 가능성을 제시하였으며 이로 인한 인지장애의 행동

학적 결손을 개선시킨 것으로 사료된다.

인삼의 항산화효과에 대한 연구결과는 다수 보고되었다.^{34,35)} 특히 방사선 조사시 DNA 손상을 일으키는 자유라디칼과 금속이온에 대한 직접적 소거효과가 있으며 또한 간접적으로 항산화 효소의 상향조절 능력을 가진 것으로 알려져 있다.^{36,37)} 한편 인삼의 항염증효과 연구에서 일반적 지표인 부종 및 혈관 투과성을 억제하였으며,³⁸⁾ 최근 뇌의 미세아교세포에서 proinflammatory cytokine인 iNOS와 MMP-9의 발현을 억제하며, 특히 Rh2 및 Rh3가 효과적이고, 인삼사포닌에 의한 미세아교세포의 활성화 억제가 퇴행성 뇌질환 치료에 효과가 있을 것으로 보고되었다.³⁹⁾ 따라서 본 연구에서 확인된 홍삼의 학습기의 장해 개선효과는 방사선 조사에 의해 생성되는 자유라디칼에 대하여 인삼의 항산화 작용에 의한 직접적 소거효과와 이차적인 항염증효과가 관여된 것으로 사료되며 이에 대한 기전적 추가 연구가 요구되며, 투여경로, 적용용량 및 유효성분에 대한 계속적 연구 또한 필요하다. 이상의 결과에서 홍삼은 방사선 사고 피폭자 또는 치료 환자의 질적 생존의 관점에서 효과적인 개선제가 될 수 있을 것이다.

감사의 말씀

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 시행하는 한국과학재단의 원자력기술개발사업으로 지원받았습니다.

인용문헌

- Crossen JR, Garwood D, Glatstein E, Neuwelt EA. Neurobehavioral sequelae of cranial irradiation in adults: a review of radiation-induced encephalopathy. *J Clin Oncol.* 12: 627-642 (1994)
- Monje ML, Palmer T. Radiation injury and neurogenesis. *Curr Opin Neurol.* 16: 129-134 (2003)
- Strother DR, Pollack IF, Fisher PG, Hunter JV, Woo SY,

- Pomeroy SL, Rorke LB. Tumors of the central nervous system. p. 751-824. In: Pizzo PA, Pollack IF. (ed), Principles and practice of pediatric oncology. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2002)
4. Tada E, Parent JM, Lowenstein DH, Fike JR. X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats. *Neuroscience* 99: 33-41 (2000)
 5. Raber J, Rola R, LeFevour A, Morhardt D, Curley J, Mizumatsu S, VandenBerg SR, Fike JR. Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis. *Radiat Res.* 162: 39-47 (2004)
 6. Kim JS, Lee HJ, Kim JC, Kang SS, Bae CS, Shin T, Jin JK, Kim SH, Wang H, Moon C. Transient impairment of hippocampus-dependent learning and memory in relatively low-dose of acute radiation syndrome is associated with inhibition of hippocampal neurogenesis. *J Radiat Res.* 49: 517-526 (2008)
 7. Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 10409-10414 (1997)
 8. Kim JS, Jung J, Lee HJ, Kim JC, Wang H, Kim SH, Shin T, Moon C. Differences in immunoreactivities of Ki-67 and doublecortin in the adult hippocampus in three strains of mice. *Acta Histochem.* 111: 150-156 (2009)
 9. Sonnenborn U, Propert Y. Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Br J Phytother.* 2: 3-14 (1991)
 10. Tang W, Eisenbrand G. *Panax ginseng* C. A. Meyer. p.711-737. In: Chinese Drugs of Plant Origin. Springer, London (1992)
 11. Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol.* 58: 1685-1693 (1999)
 12. Gillis CN. *Panax ginseng* pharmacology: a nitric oxide link. *Biochem Pharmacol.* 54: 1-8 (1997)
 13. Lee HJ, Kim SR, Kim JC, Kang CM, Lee YS, Jo SK, Kim TH, Jang JS, Nah SY, Kim SH. In vivo radioprotective effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer and identification of active ginsenosides. *Phytother Res.* 20: 392-395 (2006)
 14. Shin HR, Kim JY, Yun TK, Morgan G, Vainio H. The cancer-preventive potential of *Panax ginseng*: a review of human and experimental evidence. *Cancer Causes Control* 11: 565-576 (2000)
 15. Lee TK, Johnke RM, Allison RR, O'Brien KF, Dobbs LJ Jr. Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis* 20: 237-243 (2005)
 16. Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Kor J Ginseng Sci.* 20: 389-415 (1996)
 17. Lim JH, Wen TC, Matsuda S, Tanaka J, Maeda N, Peng H, Aburaya J, Ishihara K, Sakanaka M. Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neurosci Res.* 28: 191-200 (1997)
 18. Jeong TC, Kim HJ, Park JI, Ha CS, Park JD, Kim SI, Roh JK. Protective effects of red ginseng saponins against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague Dawley rats. *Planta Med.* 63: 136-140 (1997)
 19. Choi HK, Seong DH, Rha KH. Clinical efficacy of Korean red ginseng for erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 7: 181-186 (1995)
 20. Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, Sato K, Saiki I, Tonooka S, Samukawa K, Azuma I. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng. *Biol Pharm Bull.* 18: 1197-1202 (1995)
 21. Ding DZ, Shen TK, Cui YZ. Effects of red ginseng on the congestive heart failure and its mechanism. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 15: 325-327 (1995)
 22. Yun TK, Choi SY. Preventive effect of ginseng intake against various human cancers: a case-control study on 1987 pairs. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 4: 401-408 (1995)
 23. Samukawa K, Yamashita H, Matsuda H, Kubo M. Simultaneous analysis of ginsenosides of various ginseng radix by HPLC. *Yakugaku Zasshi* 115: 241-249 (1995)
 24. Li X, Guo R, Li L. Pharmacological variations of *Panax ginseng* C.A. Meyer during processing. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 16: 3-7 (1991)
 25. Kim SH, Jeong KS, Ryu SY, Kim TH. *Panax ginseng* prevents apoptosis in hair follicles and accelerates recovery of hair medullary cells in irradiated mice. *In Vivo* 12: 219-222 (1998)
 26. Kim SH, Cho CK, Yoo SY, Koh KH, Yun HG, Kim TH. In vivo radioprotective activity of *Panax ginseng* and diethyldithiocarbamate. *In Vivo* 7: 467-470 (1993)
 27. Kim TH, Lee YS, Cho CK, Park S, Choi SY, Yool SY. Protective effect of ginseng on radiation induced DNA double strand breaks and repair in murine lymphocytes. *Cancer Biother Radiopharm.* 11: 267-272 (1996)
 28. Kumar M, Sharma MK, Saxena PS, Kumar A. Radioprotective effect of *Panax ginseng* on the phosphatases and lipid peroxidation level in testis of swiss albino mice. *Biol Pharm Bull.* 26: 308-312 (2003)
 29. Lee EH, Cho SY, Kim SJ, Shin ES, Chang HK, Kim CD, Yeom MH, Woe KS, Lee JS, Sim YC, Lee TR. Ginsenoside F1 protects human HaCaT keratocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintaining constant levels of Bcl-2. *J Invest Dermatol.* 121: 607-613 (2003)
 30. Lee HJ, Kim JS, Song MS, Seo HS, Moon C, Kim JC, Jo SK, Jang JS, Kim SH. Photoprotective effect of red ginseng

- against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Phytother Res.* 23: 399-403 (2009)
31. Lee HJ, Kim SR, Kim JS, Moon C, Kim JC, Bae CS, Jang JS, Jo SK, Kim SH. The effect of red ginseng on epidermal melanocytes in ultraviolet B-irradiated mice. *J Ginseng Res.* 30: 188-193 (2006)
32. Lee HJ, Kim SR, Kim JS, Moon C, Kim JC, Bae CS, Jang JS, Jo SK, Kim SH. The effect of red ginseng on ultraviolet B-induced skin damages in mouse. *J Ginseng Res.* 30: 194-198 (2006)
33. Zhao W, Robbins ME. Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications. *Curr Med Chem.* 16: 130-143 (2009)
34. Kitts DD, Hu C. Efficacy and safety of ginseng. *Pub Health Nut.* 4: 473-485 (2000)
35. Kim YK, Guo Q, Packer L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. *Toxicology* 172: 149-156 (2002)
36. Kumar M, Sharma MK, Saxena PS, Kumar A. Radioprotective effect of *Panax ginseng* on the phosphatases and lipid peroxidation level in testes of Swiss albino mice. *Biol Pharm Bull.* 26: 308-312 (2003)
37. Zhang D, Yasuda T, Yu Y, Zheng P, Kawabata T, Ma Y, Okada S. Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 20: 145-150 (1996)
38. Matsuda H, Samukawa K, Kubo M. Anti-inflammatory activity of ginsenoside Ro. *Planta Med.* 56: 19-23 (1990)
39. Park JS, Park EM, Kim DH, Jung K, Jung JS, Lee EJ, Hyun JW, Kang JL, Kim HS. Anti-inflammatory mechanism of ginseng saponins in activated microglia. *J Neuroimmunol.* 209: 40-49 (2009)