Korean J. Food & Nutr. Vol. 25. No. 4, 800～806 (2012)
http://dx.doi.org/10.9799/ksfan.2012.25.4.800

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

산화적 스트레스에 대한 고온고압처리 인삼의 억제 효과

윤보라* · 이영준 · 홍희도* · 이영철* · 김영찬* · 이영경* · 김경탁* · †이옥환
강원대학교 식품생명공학과, *한국식품연구원

Inhibitory Effects of *Panax ginseng* C. A. Mayer Treated with High Temperature and High Pressure on Oxidative Stress

Bo-Ra Yoon*, Young-Jun Lee, Hee-Do Hong*, Young-Chul Lee*, Young-Chan Kim*, Young Kyoung Rhee*, Kyung-Tack Kim* and †Ok-Hwan Lee
Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
**Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea*

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) are produced by oxidative stresses which cause various chronic diseases such as diabetes and obesity. Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mayer) has been reported to contain various biological activities such as anti-cancer, anti-diabetic, neuroprotective, radioprotective, anti-amnestic and anti-aging effects. In this study, we investigated the effects of *Panax ginseng*, treated with high temperatures and high pressures, on oxidative stress in C2C12 myoblasts and 3T3-L1 adipocytes. Oxidative stress was induced in the C2C12 cells through the introduction of H_2O_2 (1 mM), and cells were then treated with various ginseng preparations: dried white ginseng (DG), steamed ginseng (SG) and high temperature and high pressure treated ginseng (HG). In addition, 3T3-L1 preadipocytes were treated with various ginsengs for up to 8 days following standard induction of differentiation. Our results show that HG treatment significantly protected oxidative stress in both cell lines and enhanced gene expression of antioxidant enzymes. Therefore, in this study, we investigated the protective effects of ginseng on the oxidative stress of adipocytes and muscle cells.

Key words: 3T3-L1 adipocyte, C2C12 myoblast, *Panax ginseng*, oxidative stress, antioxidant

서 론

Hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical(OH ·) 및 superoxide (O_2^-) 등과 같은 활성산소종(ROS, reacitve oxygen species)은 강력한 산화작용을 통하여 세포에 연쇄적인 비가역적 손상을 주게 된다(Halliwill B 1996). 체내에는 이러한 ROS로부터 신체를 지키기 위한 방어기구로 Mn-SOD(manganese superoxide dismutase), Cu/Zn-SOD(copper/zinc superoxide dismutase), CAT (catalase), GPx(glutathione peroxidase) 및 GR(glutathione reductase) 등과 같은 여러 종류의 항산화 효소가 존재한다(Michielis 등 1994; Yu BP 1994). 체내에서 생성되는 ROS의 발생이 세포내 항산화능력을 초과하는 경우, 산화적 스트레스에 노출되며, 이로 인한 노화, 세포의 돌연변이, 뇌질환, 심장질환, 동맥경화 등의 여러 질환이 발병하는 것으로 알려져 있다(Stadman & Berlett 1998; Seo & Kim 2012). 산화적 스트레스는 지방조직에서는 인슐린 저항성과 같은 만성질환이 주요 원인으로, 근육조직에서는 근육 내 피로감을 야기시키는 주요 물질로 알려져 있기 때문에, 체내 산화적 스트레스를 저감하는 천연물 유래 기능성식품을 개발하기 위하여 다양한 세포주 모델이 이용되고 있다. 세포주 모델 중, 3T3-L1 지방세포 및 C2C12 근육세포는 항비만, 항당뇨와 같은 만성질환의 효능을 평가하는 가장 널리 사용되는 세포주로, 최근에는 이들 세포주를 이용하여 세포내 산화적 스트레스 저감화 연구가 시도된 바 있다.

† Corresponding author: Ok Hwan Lee, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea. Tel: +82-33-250-6454, Fax: +82-33-241-0508, E-mail: loh99@kangwon.ac.kr

천연물 유래 항산화 소재 중, 고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Mayer)은 수천 년 동안 피로 회복 및 면역력 증강제로 이용되어 왔고, 주요한 생리활성 물질로 ginsenosides, polyacetylenes, 산성다당체, 인삼단백질, 페놀성 화합물 등이 널리 알려져 있다(Sanata 등 1974; Kitagawa 등 1987; Park JD 1996). 인삼은 SOD, CAT, GPx 등과 같은 체내 항산화계 효소의 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있는데, Lee 등(1995)은 SD rat에 인삼 추출물을 24일간 투여하였을 때 간 조직 내 SOD, CAT, GPx의 활성이 유의적으로 증가하였다고 보고하였다. Jun & Chang(1993)도 ICR계 수컷 생쥐에게 감마선을 조사한 후 홍삼 추출물의 효과를 시험한 결과, SOD, CAT의 활성의 회복 속도가 빨라진다고 보고하였으며, Kim 등(2007)은 V79-4 세포주에 대한 항산화 활성 실험을 통해 홍삼 투여는 세포내 SOD 활성을 증가시키고, 혈청 내 MDA 함량을 유의적으로 감소시키는 것으로 보고한 바 있다. Xie 등(2002)도 *db/db* mice에 protopanaxatriol계의 ginsenoside Re와 ginseng berry 추출액 투여가 체중 증가를 감소시키는 것으로 보고하였다. Wang 등(2006)은 인삼추출액 투여에 따른 지방분해를 보고하였고, Liu & Xiao(1992)의 인삼 관련 연구보고에서도 인삼의 항비만 효과에 대해 보고하였다.

지난 10여 년 간 고려인삼의 고부가 가치화 및 효능 증대를 위하여 산처리(Kim 등 2009), 효소처리(Hyun 등 2009), 팽화처리(Song 등 2011) 등의 다양한 연구들이 시행되었고, 인삼의 구성성분인 인삼사포닌, 산성다당체, 인삼단백질, 페놀성 물질 등은 항고혈압 및 항동맥경화 효과, 조혈기능 항진 및 빈혈치료 효과, 혈당대사 및 당뇨병 개선 효과, 항암 효과, 간장 기능 부전 개선 효과, 숙취 해소 효과, 기생충 감염 감지 효과, 진통 및 소염 작용 등을 한다(Lee 등 2011). 이들 인삼 추출물들에 대한 다양한 효능이 연구된 바 있다. 하지만, 본 연구진에 의해 개발된 고온, 고압 처리된 인삼은 항산화/항피로와 관련된 효능평가가 이루어지지 않았고, 주요 작용기전 연구도 아직 초기단계에 있다. 따라서, 본 연구에서는 고온 및 고압 처리를 통해 유용성분이 증가된 인삼을 제조하였고, C2C12 근육세포 및 3T3-L1 지방세포를 이용하여 이들 인삼의 항산화 및 항피로 활성을 평가하고자 세포내 산화적 스트레스 저감 효과 및 항산화 효소의 유전자 발현 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 고온, 고압처리 인삼의 제조

본 연구에 사용된 인삼시료는 세 가지 종류를 사용하였다. 건조인삼(dried ginseng; DG)은 4년근 곡삼을, 수삼을 쪄서 말린 인삼(steamed ginseng; SG)은 4년근 홍삼을 금산에서 구입하여 사용하였으며, 고온고압처리 인삼(high temperature and high pressure ginseng; HG)은 한국식품연구원에서 개발한 제조법에 따라 4년근 수삼을 50℃ 열풍으로 1차 건조하여 3 ㎏/㎠(140℃)의 증기압 하에서 20분 동안 가열처리한 뒤, 열풍을 이용하여 수분 함량이 15% 이하가 되도록 2차 건조하여 사용하였다. 이들 인삼 분말 시료들은 PBS(phosphate-buffered serine, 1x)(Life technology, New York, USA)에 녹인 후, C2C12 근육세포 및 3T3-L1 지방세포의 세포독성 및 세포분화 실험에 사용되었다.

2. 실험재료

C2C12 근육세포와 3T3-L1 지방세포의 배양 및 분화에 사용된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), bovine serum(BS), fetal bovine serum(FBS), horse serum(HS), penicillin-streptomycin(P/S), phosphate-buffered saline(PBS) 및 trypsin-EDTA는 Gibco(Gaithersburg, MD, USA)로부터 구입하였고, insulin, dexamethason(DEX), 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMX)은 Sigma (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

3. C2C12 세포배양 및 분화

C2C12 근육세포 분화과정 중 DG, SG, HG에 의한 세포의 morphology 변화를 관찰하여 세포의 손상 여부를 확인하였다. 마우스 유래 C2C12 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, CL-173, Manassas, VA, USA)으로부터 분양 받아 사용하였다. C2C12 근육세포를 60 ㎜ petri dish 1×10^6 cell/㎖로 seeding한 후, FBS(10%) 및 P/S(1%)를 함유한 고농도 포도당 DMEM(89%)에서 100% confluent 될 때까지 배양하였다. 이후 HS(2%)를 함유한 DMEM으로 근육세포의 분화를 유도하였다. 근육세포 분화(day 0) 시 HS(2%)를 함유한 DMEM에 1 mM의 H_2O_2와 시료를 각각 100 ㎍/㎖로 처리하여 근육세포의 morphology 변화 및 산화적 스트레스 손상 억제 효과를 관찰하였다. 양성대조군(positive control)으로는 천연항산화제로 알려진 NAC(N-acetyl cysteine)를 이용하였으며, 세포 분화를 위해 매일 2% HS가 함유된 배지에 각각의 시료를 혼합하여 5일 동안 처리하였다.

4. 3T3-L1 세포배양 및 분화

3T3-L1 지방세포 분화과정 중 DG, SG, HG에 의한 세포내 활성산소종(ROS)의 변화를 관찰하였다. 마우스 유래 3T3-L1 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, CL-173, Manassas, VA, USA)으로부터 분양을 받아 사용하였다. 3T3-L1 전구지방세포는 실험목적에 따라 24-well plate 및 60 ㎜ petri dish에 각각 1×10^6 cell/㎖로 seeding한 후, BS(10%) 및 P/S(1%)를 함유한 고농도 포도당 DMEM(89%)에서 100% confluent

될 때까지 배양하였다. 이로부터 2일 후에, 지방세포 분화유도 물질(5 ㎍/㎖ insulin, 1 μM DEX, 0.5 mM IBMX)과 FBS (10%) 및 P/S(10%)를 함유한 DMEM으로 전지방세포를 지방세포로 분화 유도하였다. 지방세포 분화(day 0) 시 DMEM에 시료를 각각 10, 50 및 100 ㎍/㎖로 처리하여 지방세포의 분화 억제 효과 및 세포내 지방축적의 변화를 관찰하였다. 지방세포의 분화는 분화 유도 물질을 처리한 후, 2일마다 지속적으로 5 ㎍/㎖ insulin, 1% P/S, 10% FBS가 함유된 배지에 각각의 시료를 처리한 후, 8일 동안 분화시키면서 ROS 함량을 관찰하였다. 양성대조군(positive control)으로 수용성 비타민 E인 Trolox를 이용하였다. ROS 측정은 24-well plate에서 8일 동안 분화된 3T3-L1 세포의 배양액을 제거한 후, PBS로 2회 세척한 뒤 0.2% NBT(nitro blue tetrazolium) solution 200 ㎕를 첨가하여 90분 동안 incubator에서 반응시켰다. 90분 후 NBT solution을 제거하고 증류수로 2회 세척한 뒤 완전히 건조시켰다. NBT solution과 결합된 완전히 건조된 세포를 100% acetyl acid를 이용하여 모두 용출시킨 후, ELISA(Techan, Kawasaki, Japan)를 이용하여 570 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

5. XTT assay를 이용한 DG, SG, HG 시료의 세포독성평가

C2C12 근육세포 및 3T3-L1 지방세포에 대한 시료의 세포독성평가는 Kim 등(2011)의 방법을 변형하여 XTT {2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide innersalt} assay kit를 이용하여 측정하였다. XTT에 election coupling agent 역할을 하는 PMS(phenazine methosulfate)를 첨가하여 bioreduction을 증가시키게 한 후, 세포에 XTT와 PMS를 첨가하여 살아있는 세포의 mitochondria dehydrogenase에 의한 XTT의 tetrazolium ring이 분해시켜 formazan crystal을 형성하게 되면, formazan crystal은 수용액에 녹아 노란색을 나타나게 된다. 이 노란색을 ELISA(VersaMax ELISA Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, USA)로 측정하여 세포독성 평가에 이용하였다. 즉, C2C12 및 3T3-L1 세포는 실험 전날 1×10^6 cell/㎖ 농도로 96-well plate에 seeding하고, 시료를 처리하여 24시간 동안 배양한 후, −20℃에 보관 중인 XTT 및 PMS reagent를 37℃에서 완전히 해동시켜 XTT reagent 1 ml당 20 ㎕ PMS reagent를 혼합하여 working solution을 준비하여 놓고, pipet을 이용하여 96-well medium 부피의 20% 되는 양 만큼 취하여, 각각의 well에 조심스럽게 첨가하여 plate를 바닥에 붙인 상태로 전후좌우로 가볍게 흔들면서 혼합하여 CO_2 incubator에서 4시간 동안 배양한 후, ELISA를 이용하여 450 ㎚ 흡광도 값에서 655 ㎚의 흡광도 값을 뺀 결과 값으로 세포독성을 계산하였다.

6. 유전자 발현조사

C2C12 근육세포 및 3T3-L1 지방세포에서 분화에 관여하는 주요 유전자들의 변화를 검토하기 위하여 근육세포 및 지방세포에 존재하는 total RNA를 추출한 후, 역전사중합효소(reverse transcriptase)를 사용하여 cDNA를 만들었다. 합성된 cDNA와 각각의 유전자별 primer를 Reverse transcription (RT)-PCR로 증폭한 후 유전자의 발현 정도를 측정하였다(Table 1). C2C12 및 3T3-L1 세포는 PBS를 이용하여 2회 세척하고, 1 ㎖의 TRIzol을 첨가하여 각각의 세포들을 수확하였다. 1 ㎖의 TRIzol reagent당 0.2 ㎖의 chloroform을 넣고 15초간 잘 흔들어 준 후 실온에서 2～3분간 반응시키고, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 걷어내어 다른 튜브에 옮기고, isopropyl alcohol 0.5 ㎖를 넣고 10분간 반응시켜 RNA를 침전시켰다. 침전된 RNA에 70% DEPC-ethanol 1 ㎖로 씻어준 후 12,000 rpm에서 약 5분간 원심분리하고, 실온에서 pellet을 5～10분간 건조시킨 다음, DEPC water 40 ㎕에 녹여서 spectrophotometer(260 ㎚)로 O.D.값을 측정하여 total RNA의 농도를 정량하였다. cDNA Premix [Maxime RT Premix(oligo dT primer), Seongnam, Korea]에 동일한 농도의 total RNA를 각각 5 ㎍씩

Table 1. Primer sequences for semi-quantitative reverse transcription (RT)-PCR analysis

Primers	Sequences	
	Forward	Reverse
GAPDH	CAAGGTCATCCATGACAACTTTG	GGCCATCCACAGTCTTCTGG
Cu/Zn-SOD[1)]	CAGCATGGGTTCCACGTCCA	CACATTGGCCACACCGTCCT
Mn-SOD[2)]	GGGTTGGCTTGGTTTCAATAAGGAA	AGGTAGTAAGCGTGCTCCCACACAT
GR[3)]	ATGTGGAACACAGCAGTGCA	GTGCACTTGGAACTGATGAG
MRF4	CTGACCTGGGCAGTCGGGTGGCTG	ATGGACCTTTTTGAAACTGGCTCC
Catalase	TCTGCAGATACCTGTGAACTG	TAGTCAGGGTGGACGTCAGTG
GPx[4)]	CTCGGTTTCCCGTGCAATCAG	GTGCAGCCAGTAATCACCAAG

[1)] Cu/Zn-SOD; Copper/Zinc-superoxide dismutase. [2)] Mn-SOD; Manganese superoxide dismutase.
[3)] GR; Glutathione reductase. [4)] GPx; Glutathione peroxidase.

넣고 전체 용량이 20 ㎕가 되도록 DEPC-water를 첨가한 후, 45℃에서 60분간, 95℃에서 5분간 처리하여 cDNA를 합성하였다. 주요 유전자의 발현은 RT-PCR을 이용하여 증폭하였으며, RT-PCR 산물을 확인하기 위하여 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후, EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 자외선투시기(transilluminator)를 이용하여 증폭된 DNA band를 확인하였다. DNA band는 Carestream MI SE 프로그램을 이용하여 band intensity로 수치화하여 나타내었다.

7. 통계분석

모든 실험결과는 SAS package(release 8.01)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 및 student *t*-test를 수행하였고, 평균값의 통계적 유의성은 $p<0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 세포 독성 평가

C2C12 근육세포에서 DG, SG 및 HG의 독성 평가를 위한 XTT assay를 실시한 결과(Fig. 1A), 모든 시료에서 100 ㎍/㎖의 농도에서는 세포독성을 보이지 않았다. 3T3-L1 지방세포의 경우에도 200 ㎍/㎖ 농도에서는 모든 시료에서 세포독성은 보이지 않았다(Fig. 1B). 효소처리에 의한 백삼 저분자 화합물의 V79-4 세포주에 대한 항산화 활성을 연구한 논문에서(Kim 등 2007) 인삼 추출물의 농도를 50, 100 및 200 ㎍/㎖ 농도로 하여 Cell Viability를 확인한 것을 참조하여 세포내 산화적 스트레스 저감을 위한 적정 농도는 C2C12 세포에서는 100 ㎍/㎖, 3T3-L1 세포에서는 200 ㎍/㎖로 결정하였다.

2. C2C12 근육세포의 산화적 스트레스 억제 효과

C2C12 근육세포에 H_2O_2을 처리한 후, 인삼 시료에 의한 산화적 스트레스 억제효과를 평가하였다. 먼저, C2C12 근육세포를 5일간 분화시킨 후, C2C12 myotube에서의 cell morphology 변화를 확인한 결과는 Fig. 2(A)와 같다. 대조군의 경우, H_2O_2에 의하여 cell morphology가 심하게 손상된 것으로 확인된 반면, 양성대조군으로 NAC를 처리한 세포들은 H_2O_2에 의한 산화적 손상이 억제되는 것으로 관찰되었다. HG 처리를 한 세포에서도 전형적인 C2C12 myotube 형태의 cell morphology를 나타내어 양성대조군과 유사한 경향을 나타내었다. 이는 산화적 스트레스를 저감하는 주요 항산화효소의 결과와 비슷한 것으로, Fig. 2(B)에서와 같이 HG를 처리한 세포에서 GPx의 발현은 큰 차이를 보이지 않았으나, SOD 및 catalase의 발현이 대조군에 비해 높게 나타났다. 인삼은 SOD, catalase, GPx 등과 같은 체내 항산화계 효소의 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Kim 등 2007). SOD, catalase, GPx 등과 같은 효소는 체내 활성산소 소거와 관련된 항산화계 효소로 알려져 있다. 이들 항산화 효소는 서로 작용을 받고 있으며, 세포내의 free radical의 소거와 생성에 깊은 관련을 가지고 있다(Kim 등 2007). 한편, C2C12 근육분화의 transcription factor 중에 하나인 MRF4의 mRNA 발현도 인삼시료에서 대조군에 비해 약간의 증가치를 보여 근육세포의 분화에 도움을 주는 것으로 판단되었다.

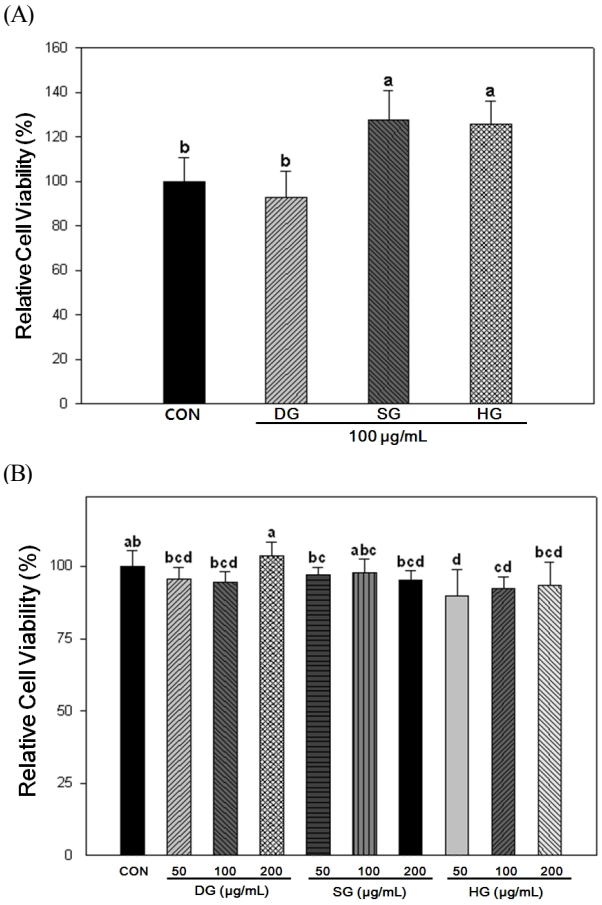

Fig. 1. Effect of various ginseng samples on cell cytotoxicity in C2C12 (A) and 3T3-L1 (B) cells. DG; dried ginseng, SG; steamed ginseng, HG; high temperature and high pressure-treated ginseng. Cell viability was measured by XTT assay. The exponentially growing cells were plated into 96-well micro plates at a density of 1×10^6 cells/well in DMEM/FBS medium and incubated for 24 hr prior to treatment at 37℃ in 5% CO_2. Cells were divided into a control group and a ginseng samples at concentration indicated. Each value is the mean ± standard deviation of the results from six different plates (n=6) and is representative of results from at least two different experiments. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ($p<0.05$).

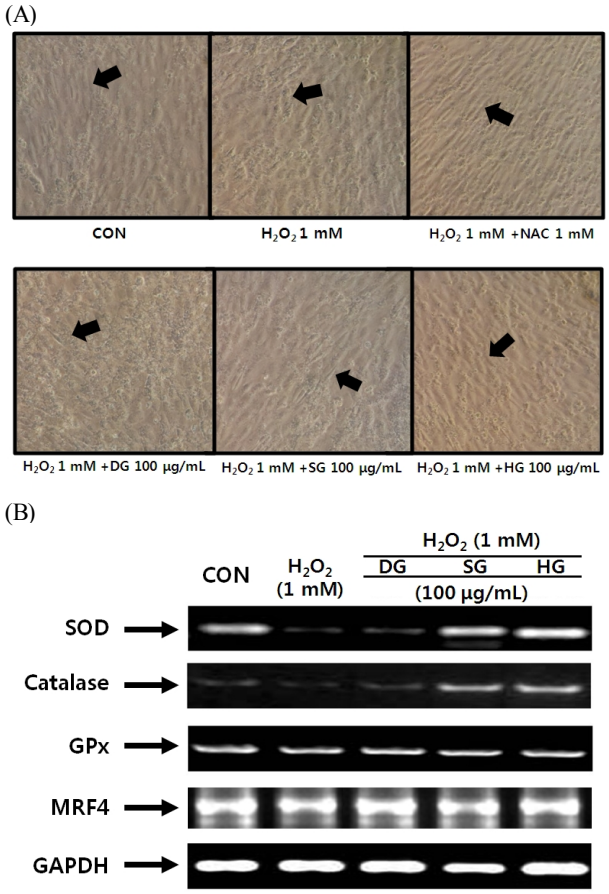

Fig. 2. Effect of various ginseng samples on morphology of myotube (A) and the mRNA expression of SOD, catalase, GPx and MFR4 (B). NAC; n-acetyl-l-cysteine, DG; dried ginseng, SG; steamed ginseng, HG; high temperature and high pressure.

3. 3T3-L1 지방세포의 산화적 스트레스 억제 효과

ROS는 세포 또는 조직의 손상뿐만 아니라 염증, 노화 관련 변성, 종양의 생성 등과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Kim & Son 2008). ROS의 과다한 생성과 ROS에 대한 세포 내의 적절한 방어 기전에 문제가 생길 경우, 여러 질환의 병인에 직 · 간접적으로 관여하게 된다(Turrens JF 2003; Fridlyand & Philipson 2005). 따라서 3T3-L1 세포 분화과정 중, 과도하게 생성되는 ROS에 대한 억제효과를 평가하고자, 전처리 조건을 달리한 인삼 시료들의 ROS 저감효과 및 유전자 발현을 조사하였다. ROS 생성량은 NBT assay를 이용하였다. 즉, 지방세포 내에 축적된 ROS와 반응한 NBT 용액은 dark blue formazan을 생성하게 되며, 이를 용출하여 세포내 ROS 생성량을 알 수 있다(Lee 등 2012).

3T3-L1 세포의 분화과정 중, 인삼 시료를 처리하여 세포내 ROS 함량을 분석한 결과는 Fig. 3(A)와 같이 HG 처리한 세포

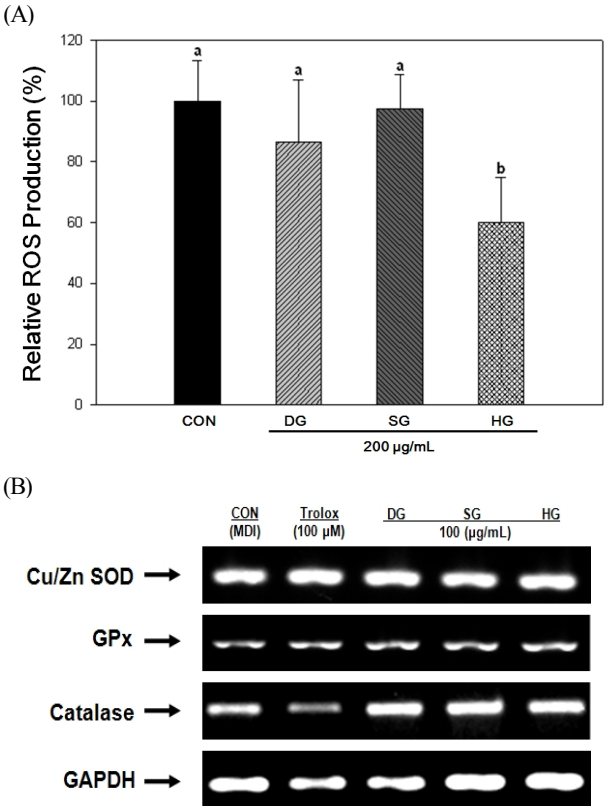

Fig. 3. Effect of various ginseng samples on ROS production and the mRNA expression of Cu/Zn-SOD, catalase, GPx and during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. DG; dried ginseng, SG; steamed ginseng, HG; high temperature and high pressure.

에서 대조군에 비해 유의적으로 ROS의 생성이 억제되는 것으로 나타났다. 인삼은 제조과정 중 일부 성분의 화학적 변환이 일어나 새로운 생리활성 성분의 생성과 함량 증가가 일어난다(Kitagawa 등 1987; Choi 등 2010; Nam 등 2012). 특히 열에 의해 생성되는 특유 성분에는 ginsenoside Rg_2, Rg_3, Rh_1, Rh_2 등이 있는데, 이들이 항산화 작용이 있는 것으로 보고되고 있으며(Keum 등 2000; Jo 등 2011), Kim 등(2011)의 흑삼 제조과정 중 증포 횟수에 따른 에탄올 추출물의 항산화 활성을 연구한 논문에서도 가공법을 달리한 인삼의 항산화 효능에 대해 보고한 바 있다.

한편, 3T3-L1 지방세포의 HG의 ROS 저감과 연관된 주요 항산화효소의 mRNA 수준을 관찰한 결과는 Fig. 3(B)와 같이 HG를 처리한 세포에서 Cu/Zn-SOD, catalase 및 GPx의 발현이 Control 군과 비교하여 유의적으로 강하게 나타났다. Catalase와 GPx는 일반적인 물질대사 과정 동안에 발생한 hydrogen peroxide(H_2O_2)를 H_2O와 O_2로 변환시키는 역할을 하기 때문에 ROS에 대항하는 중요한 항산화효소이며, 세포내 H_2O_2를

유의적으로 소거하여 산화적 스트레스를 감소시킬 수 있다 (Chance & Oshino 1971). 본 연구에서는 HG에서 3T3-L1 지방세포의 ROS를 유의적으로 감소시켰으며, 이와 연관된 세포 내 주요 항산화효소의 발현도 증가시키는 것으로 나타났다. 따라서 고온, 고압처리한 인삼이 열풍건조한 건조인삼 및 쪄서 말린 인삼에 비해 항산화 및 항피로 효과가 우수하게 나타났다. 하지만, 본 연구는 세포 수준에서의 초기 연구로 향후 동물모델을 비롯하여 HG의 주요 성분에 대한 분자수준에서의 작용기전 연구가 추후 진행되어야 할 것으로 사료되었다.

요 약

체내에서 산화스트레스에 의해 생성되는 활성산소종(reacitve oxygen species, ROS)은 당뇨병, 비만 등과 같은 만성질환을 야기시키는 것으로 알려져 있다. 고려인삼(*Panax ginseng*)은 수천 년간 피로 회복 및 면역증강용 기능성식품으로 이용되어 왔고, 사포닌, 산성다당체, 페놀성 화합물과 같은 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있다. 따라서 본 연구에는 고온, 고압처리하여 제조한 신규 인삼에 대한 산화적 스트레스 저감 효능을 평가하고자 하였다. C2C12 근육세포에 산화적 스트레스를 유도하기 위해 H_2O_2 1 mM 처리하고, 전처리 조건을 달리한 인삼 시료를 처리하여 cell morphology 및 항산화 관련 유전자인 SOD, CAT 및 GPx를 살펴보았고, 3T3-L1 지방세포는 분화과정 중 ROS 생성 억제효과 및 CAT, GPx 및 Cu/Zn-SOD의 항산화효소 관련 유전자의 발현 정도를 조사하였다. 고온, 고압처리한 인삼은 산화적 스트레스가 유도된 C2C12 근육세포 및 3T3-L1 지방세포에서 유의적으로 산화적 스트레스를 저감하는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아, 본 연구진에 의해 개발된 고온 및 고압 처리된 인삼은 항산화 및 항피로 효능이 기대되는 바이며, 본 연구는 동물세포 수준에서의 비교이며, 보다 정확한 작용기전의 구명을 위해 향후 추가적인 연구를 통한 비교 실험이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

Chance B, Oshino N. 1971. Kinetics and mechanism of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction. *Biochem J* 112:225-233

Choi JE, Nam KY, Li XG, Kim BY, Cho HS, Hwang KB. 2010. Changes of chemical compositions and ginsenoside contents of different root parts of ginsengs with processing method. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 18:118-125

Fridlyand LE, Philipson LH. 2005. Oxidative reactive speies in cell injury: Mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches. *Ann N Y Acad Sci* 1066:136-151

Halliwill B. 1996. Antioxidant in human health and disease. *Anmu Rev Nutr* 16:33-49

Hyun MS, Hur JM, Shin YS, Song BJ, Mun YJ, Woo WH. 2009. Comparison study of white ginseng, red ginseng, and fermented red ginseng on the protective effect of LPS-induced infalmmation in raw 264.7 cells. *J Appl Biol Chem* 52:21-27

Jo HK, Sunh MC, Ko SK. 2011. The comparison of ginseng prosapogenin composition and contents in red and black ginseng. *Kor J Pharmacogn* 42:361-365

Jun C, Chang CC. 1993. The effect of red ginseng extracts on the superoxide dismutase, peroxidase and catalase activities in the liver of gamma ray irradiated mice. *Korean J Ginseng Sci* 17:29-34

Keum YS, Park KK, Lee JM, Chum KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. 2000. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett* 150:41-48

Kim DJ, Jung JH, Kim SG, Lee HK, Lee SK, Hong HD, Lee BY, Lee OH. 2011. Antioxidant and anti-obesity activities of hot water and ethanolic extracts from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Preserv* 18:368-373

Kim HJ, Lee JY, You BR, Kim HR, Choi JE, Nam KY, Moon BD, Kim MR. 2011. Antioxidant activities of ethanol extracts from black ginseng prepared by steaming drying cycles. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:156-162

Kim MH, Lee YC, Choi SY, Cho CW, Rho J. 2009. Characteristics of acid pre-treated red ginseng and its decoction. *J Ginseng Res* 33:343-348

Kim SS, Son SM. 2008. Oxidative stress and cell dysfunction in diabetes: Role of ROS produced by mitochondria and NAD(P)H oxidase. *Korean Diabetes J* 32:389-398

Kim YC, Yim JH, Rho JH, Cho CW, Rhee YK. 2007. Antioxidant activity of white ginseng extracts prepared by enzyme treatment on V79-4 cells induced by oxidative stress. *J Ginseng Res* 31:203-209

Kitagawa I, Taniyama T, Shibuya H, Nota T, Yoshikawa M. 1987. Chemical studies on crude durg processing. V. on the constituents of ginseng radix rubra (2); Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. *Yakugaku Zasshi* 107:495-505

Lee DW, SHon HO, Lim HB, Lee YG. 1995. Antioxidant action of ginseng: An hypothesis. *Korean J Ginseng Sci* 19:31-38

Lee SY, Kim DH, Woo WH. 2011. Antioxidant activity of black *Panax ginseng*. *Koraen J Oriental Physioloy & Pathology* 25:115-121

Liu CX, Xiao PG. 1992. Recent advances on ginseng research in China. *J Ethnopharmacol* 36:27-38

Michielis C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. 1994. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biol Med* 17:235-248

Nam KY, Lee NR, Moon BD, Song GY, Shin HS, Choi JE. 2012. Changes of ginsenosides and color from black ginsengs prepared by steaming-drying cycles. *Korea J Medicinal Crop Sci* 20:27-35

Park JD. 1996. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng. *Korean J Ginseng Sci* 20:389-415

Sanata, S, Kondo N, Shoji J, Tanaka O, Shibata S. 1974. Studies on the saponins of ginseng. I. structure of ginseng-R0, Rb_1, Rb_2, Rc and Rd. *Chem Pharm Bull* 22:421-428

Seo J, Kim GH. 2012. Antioxidant activity and differentiation effect of *Taraxacum mongolicum* extracts against hydrogen peroxide-induced oxidative damage of MC3T3=E1 Osteoblast cells. *Korean J Food Cookery Sci* 28:311-318

Song GY, Chung KJ, Shin YJ, Lee GW, Lee SY, Seo YB. 2011. Study on antiangiogenic effect of black ginseng radix. *Kor J Herbology* 26:83-90

Stadman ER, Berlett BS. 1998. Reactive oxygen-mediatied protein oxidation in aging and disease. *Drug Metabolism Reviews* 30:225-243

Turrens JF. 2003. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 552:335-344

Wang H, Reaves LA, Edens NK. 2006. Ginseng extract inhibits lipolysis in rat adipocytes *in vitro* by activating phosphodiesterase 4. *J Nutr* 56:337-342

Xie JT, Zhou YP, Dey L, Attele AS, Wu JA, Gu M, Polonsky KS, Yuan CS. 2002. Ginseng berry reduces blood glucose and body weight in *db/db* mice. *Phytomedicine* 9:254-25

Yu BP. 1994. Cellular defense against damage from reactive oxygen species. *Phsiol Rev* 74:139-162

접 수 : 2012년 10월 5일
최종수정 : 2012년 11월 2일
채 택 : 2012년 11월 5일