

마우스 피부암에 대한 장뇌삼과 인삼의 특이적 항암 효능

이민희 · 최상원 · 김은정[†]
대구가톨릭대학교 식품영양학과

Differential Anti-Carcinogenic Effect of Mountain Cultivated Ginseng and Ginseng on Mouse Skin Carcinogenesis

Min-Hee Lee, Sangwon Choi, and Eunjung Kim[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract

Mountain cultivated ginseng (MCG) is a type of *Panax ginseng* C. A. Mayer, grown in the mountains by artificial seeding. In general, it has been known that the biophysical activities of MCG is greater than that of ginseng. However, the *in vivo* efficacy of MCG on cancer has not been studied. In this study, we investigated the anti-carcinogenic effect of MCG and ginseng using the 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA)-12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) two stage mouse skin carcinogenesis model. Six weeks of female ICR mice were divided into control, MCG, and ginseng diet groups and were subjected into two different experimental protocols. In the first study, each experimental diet was fed with TPA promotion for 24 weeks. The result showed that supplementation of MCG reduced tumor incidence, tumor multiplicity, and tumor size compared to those of the control and ginseng groups. In the second study, 3 groups of mice were supplied with each diet 4 weeks before DMBA tumor initiation, until the end of experiment. The result showed that tumor incidence, tumor multiplicity, and tumor size were reduced in the ginseng diet group compared to those of the control and MCG groups. TPA-induced BrdU incorporation was also significantly reduced in the ginseng diet group. Taken together, these results suggest that MCG is chemotherapeutic, whereas ginseng has a chemopreventative effect on mouse skin cancer.

Key words: ginseng, mountain cultivated ginseng, mouse skin cancer

서 론

암은 현 인류의 생명을 가장 심각하게 위협하고 있는 질병으로, 2009년 국내 연령대별 사망원인 통계에서 국민 사망원인 1위가 암인 것으로 나타났다(1). 국내·외적으로 암의 예방과 치료를 위해서 많은 연구들이 진행되어 왔으며, 특히 인삼(ginseng)의 항암효과는 암세포 증식억제 효과(2-4), 사포닌(ginsenoside)에 의한 암세포 분화유도(5-7), 흡연자 발암억제 및 니코틴 해독작용(8-10), 항산화 효과(11,12), 항염증 작용에 의한 항암효능(13,14) 등 그 동안 여러 실험적 연구와 임상실험을 통해 증명되어왔다.

장뇌삼(산양삼, mountain cultivated ginseng, MCG)은 산삼이나 인삼의 종자를 산중에 파종하여 인위적으로 산에서 재배한 것으로서 외형 면에서는 장뇌삼이 인삼보다 머리 부분이 많고 몸통에 가락지 모양의 태가 둘러져 있으며 인삼의 짧고 굵은 뿌리에 비해 장뇌삼의 뿌리는 가늘고 길다는 차이점이 있다(15). 또한 장뇌삼은 인삼에 비해 향기가 강하다. 일반적으로 여러 가지 생리활성도가 인삼보다 장뇌삼이

강하고, 장뇌삼보다는 산삼이 강한 것으로 알려져 있으나 장뇌삼은 유통가격이 고가이고 구하기가 어려워 성분분석 및 약리활성연구가 인삼에 비해 많이 부족한 실정이다. 현재 까지 보고된 장뇌삼에 대한 연구는 장뇌삼의 화학성분(16), 장뇌삼의 기능성 성분 분석과 항산화 활성(17), 생리활성 및 지질대사에 미치는 영향에 관한 보고(15) 등에 불과하다. 특히 장뇌삼의 항암효과는 사람의 급성 백혈병 세포주인 HL-60 세포에 장뇌삼 추출물을 처리하였을 때 세포의 자가 사멸(apoptosis)이 유도되었다는 결과(18)와 HeLa 세포에 장뇌삼과 장뇌삼 엽차 추출물을 처리했을 때 암세포 증식률이 30% 이상 억제되었다는 보고(19)를 제외하고는 접하기 어렵다.

마우스 피부암 모델은 동물을 희생하지 않고, 육안으로 암 발생을 관찰할 수 있는 특징이 있으며 특히, 상피세포성 암화 과정 및 상피세포 증식과 분화를 추적할 수 있어 예로부터 발암연구에 많이 사용되고 있는 동물모델이다(20-24).

지금까지 마우스 피부암 모델을 이용하여 인삼의 항암효능을 평가한 보고(14,25)는 있으나 아직까지 장뇌삼의 항암

[†]Corresponding author. E-mail: kimeunj@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523, Fax: 82-53-850-3516

효능을 *in vivo* 동물실험에서 평가한 연구는 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 최근 민간에서 재배가 증가하고 있는 장뇌삼의 생리활성을 인삼과 비교하기 위해 2단계 마우스 피부암 모델을 이용하여 장뇌삼과 인삼의 항암 및 치료 효과를 비교 연구하고자 실시되었다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 한국산 장뇌삼은 전북 진안 소재 산양삼 재배지에서 2007년 10월 중순경에 수확한 것을 수세하고 동결건조한 후 분쇄한 것을 공시재료로 사용하였다. 인삼은 충남 금산군 소재 인삼밭 농가에서 2007년도 재배한 4년근 수삼을 9월 말경에 수확하여 세척한 후 너두를 제거하고 동결건조한 후 30 mesh로 분쇄한 것을 사용하였다.

동물사육 및 식이제조

6주령 암컷 ICR 마우스 총 72마리를 오리엔트바이오사 (성남, 경기도)에서 구입하여 고형사료로 1주일 동안 사육하며 적응시켰다. 실험 식이와 급수는 완전 자유급식(*ad libitum*)으로 하였으며 사육환경은 온도 22°C, 상대습도 67%, 12시간 명암주기(7:00~19:00)로 일정하게 조절하였다.

실험동물은 체중에 따라 난괴법에 의하여 대조군(n=24), 장뇌삼군(n=24), 인삼군(n=24)의 3군으로 나누었다. 실험식은 AIN-93M 조성을 바탕으로 장뇌삼과 인삼의 동결건조분말을 1% 함량으로 첨가하였으며(Table 1) 장뇌삼과 인삼의 동결건조분말에 포함되어 있는 일반성분(Table 2)의 함량을 감안하여 제조하였다. 식이섭취량은 매일 일정시간에 측정하였으며 체중은 일주일에 1번씩 일정한 날에 측정하였다.

2단계 피부암 발생 실험

실험동물 등의 털을 발암실험 시작 이틀 전에 면도하였다. 발암개시에는 빛을 차단한 상태에서 200 nmol(50 µg)의 7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)를 1회 실험동물의 등에 도포하는 것으로 하였으며 2주 후 6.5 nmol(4 µg)/200 µL acetone의 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)를 일주일에 2번씩 등에 도포하였다.

실험동물에서 장뇌삼과 인삼의 항암효과는 TPA 처리와 동시에 실험식이를 급여하거나(실험 I, Fig. 1A) 또는 미리 30일간 장뇌삼과 인삼식이를 섭취시킨 뒤 발암을 유도하고 이후 지속적으로 실험 종료 시까지 실험식이를 급여하는 실험 II(Fig. 1B)의 두 가지 모델로 조사하였다. 피부암 발생수(평균종양 개수/실험동물)와 발생률(종양 발생 동물의 수/총 실험동물의 수)은 매주 1회 일정한 날에 측정, 기록하였다.

피부상피세포 증식 실험

피부상피세포 증식률의 차이를 측정하기 위해 5주령의 암컷 ICR 마우스를 총 36마리 오리엔트바이오사에서 구입하

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Groups		
	Control	MCG ¹⁾	Ginseng
Corn starch	466	466	466
Dextrin	155	155	155
Casein	140	138.7	138.4
Sucrose	100	94	94
Cellulose	50	49	49.4
Soybean oil	40	40	40
Mineral mix ²⁾	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
L-Cystine	1.8	1.8	1.8
<i>t</i> -BHQ	0.008	0.008	0.008
MCG powder	—	10	—
ginseng powder	—	—	10

¹⁾MCG: mountain cultivated ginseng.

²⁾Composition of AIN-93M mineral mix (g/kg): calcium carbonate, anhydrous 357.00; potassium phosphate, monobasic 196.00; potassium citrate, tri-potassium, monohydrate 70.78; sodium chloride 74.00; potassium sulfate 46.60; magnesium oxide 24.00; ferric citrate 6.06; zinc carbonate 1.65; manganous carbonate 0.63; cupric carbonate 0.30; potassium iodate 0.01; sodium selenate, anhydrous 0.01025; ammonium paramolybdate 4 hydrate 0.00795; sodium meta-silicate 9 hydrate 1.45; chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275; lithium chloride 0.0174; boric acid 0.0815; sodium fluoride 0.0635; nickel carbonate 0.0318; ammonium vanadate 0.0066; powdered sucrose 221.026.

³⁾Composition of AIN-93 vitamin mix (g/kg): nicotinic acid 3.000; Ca pantothenate 1.600; pyridoxine-HCl 0.700; thiamin-HCl 0.600; riboflavin 0.600; folic acid 0.200; D-biotin 0.020; vitamin B-12 (cyanocobalamin) 2.500; vitamin E (all-*rac*- α -tocopheryl acetate, 500 IU/g) 15.00; vitamin A (all-*trans*-retinyl palmitate, 500.000 IU/g); vitamin D₃ (cholecalciferol) 400.000 IU/g; vitamin K (phyloquinone) 0.075; powdered sucrose 974.655.

Table 2. Comparison of proximate composition of MCG and ginseng

	Content (% dry weight)			
	Protein	Fat	Fiber	Ash
MCG	13.03±0.04	1.19±0.02	9.57±0.11	5.01±0.08
Ginseng	16.22±0.06	3.51±0.12	6.24±0.06	5.19±0.05

Proximate contents are determined by National Certified Testing, Inspection Agency, Scientec Lab Center Co., Ltd. (Daejeon, Korea) according to Food Standard Code. Data are mean±SD of duplicate determination. Statistical analysis are omitted for simplicity.

여 고형사료로 1주일 동안 사육하며 적응시켰다. 실험동물은 체중에 따라 난괴법에 의하여 12마리씩 3군(대조군, 장뇌삼군, 인삼군)으로 나누고, 각 군에서는 6마리씩 acetone 용매와 TPA를 처리하는 군으로 나누었다. 실험식이는 총 4주간 완전 자유급식(*ad libitum*)으로 하였으며, acetone과 TPA 처리는 실험 식이와 함께 시작하여 실험 종료 시까지 1주일에 2번씩 총 8번 처리하는 경우(실험 I-1, Fig. 2A)와 실험식이 급여 2주 후부터 시작하여 1주일에 2번씩 총 4번 처리하는 경우(실험 II-1, Fig. 2B)로 나누어 진행하였다.

Acetone과 TPA의 마지막 처리 24시간 후 100 mg/kg 체중의 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)를 동물희생 1시간

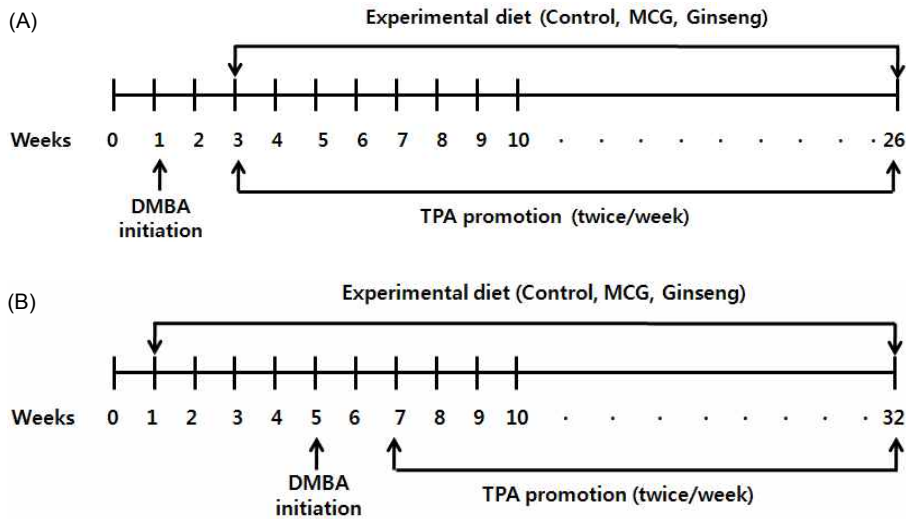


Fig. 1. Schematic representation of experiment. ICR mice were initiated with 200 nmol (50 µg) DMBA and promoted with 6.5 nmol (4 µg) of TPA in 200 µL of acetone twice a week. (A) Experiment I (anti-promotion protocol): animals were fed control, MCG, or ginseng diet from 2 weeks after DMBA initiation until the end of the study. (B) Experiment II (a combined anti-initiation, anti-promotion protocol): experimental diets were fed to mice 4 weeks prior to DMBA initiation until the end of the study.

전에 복강 내 주사하였다. 희생 후 피부를 적출하여 formalin 에 고정시키고, paraffin 포매한 후 anti-BrdU 항체로 면역 염색 하였다. Labeling index는 모낭사이 상피층(interfollicular epidermis)에 존재하는 기저세포 총 수에 대한 BrdU 염색세포의 비율로 계산하였다.

간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 사후검정을 실시하였으며, 그 결과를 $\text{mean} \pm \text{SE}$ (standard error)로 표시하였다.

결 과

통계분석

본 실험의 결과는 컴퓨터 통계 프로그램 중의 하나인 SPSS package program(ver. 17, IBM, New York, NY, USA)을 이용하여 통계분석 하였다. 각 군 간의 평균차이에 대한 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하였고 다군

식이섭취량 및 체중 변화

실험식이 급여와 TPA 종양촉진제 도포를 동시에 시작한 실험 I의 경우, 일일 평균 식이섭취량은 대조군보다 장뇌삼 군과 인삼군이 유의적으로 낮았다(Table 3). 체중은 대조군 에 비해 장뇌삼군과 인삼군이 적게 나가는 경향을 보였으나

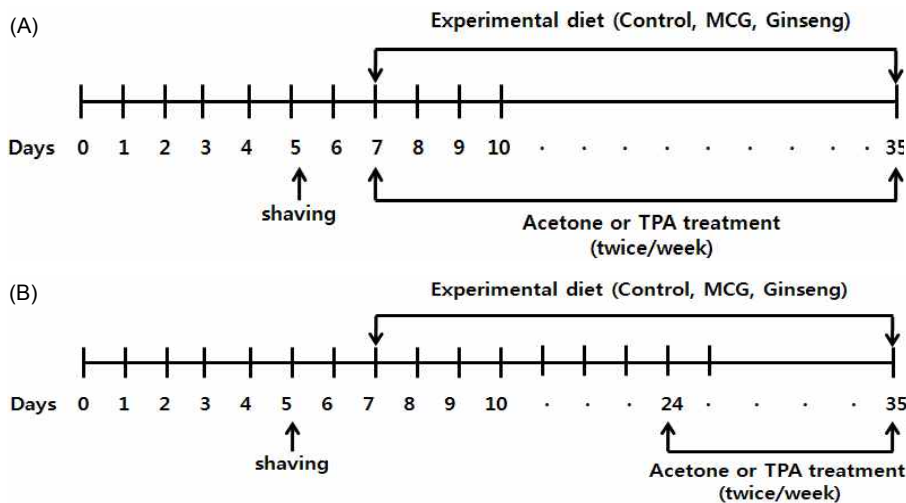


Fig. 2. Schematic representation of BrdU incorporation study. (A) Experiment I-1: female ICR mice were fed control, MCG, or ginseng diet for 4 weeks. In each diet group, dorsal skin of the mice were shaved 2 days before treatment and treated with either acetone or TPA (6.5 nmol (4 µg)/200 µL acetone/mouse) twice a week for 4 weeks. (B) Experiment II-1: female ICR mice were fed control, MCG, or ginseng diet for 4 weeks. In each diet group, dorsal skin of the mice were shaved 2 days before treatment and treated with either acetone or TPA (6.5 nmol (4 µg)/200 µL acetone/mouse) twice a week for last 2 weeks of the study. BrdU incorporation experiment was performed as described in Materials and Methods.

Table 3. Daily diet intakes and body weight of control, MCG and ginseng diet

Groups	Diet intake (g/day)	Body weight (g)
Experiment I		
Control	7.08±0.18 ^a	39.27±5.74
MCG	6.78±0.22 ^b	36.70±7.23
Ginseng	6.66±0.16 ^b	34.50±5.90
Experiment II		
Control	9.74±0.06 ^a	44.33±7.51 ^a
MCG	9.06±0.65 ^a	38.17±4.86 ^b
Ginseng	7.25±0.28 ^b	36.50±5.38 ^b

Data are mean±SE.

^{ab}Means not sharing same letter are significantly different between groups at p<0.05 by one-way ANOVA.

유의한 차이는 없었다. 실험 식이를 DMBA 종양개시 한 달 전부터 급여하기 시작한 실험 II의 경우, 식이섭취기간 동안 하루 평균 식이섭취량은 대조군과 장뇌삼군보다 인삼군의 식이섭취량이 유의적으로 낮았다(p<0.05, Table 3). 체중은 대조군에 비해 장뇌삼군과 인삼군이 적었다.

피부종양 발생수와 발생률

Fig. 3A에서 보는 바와 같이 실험 I에서 대조군, 장뇌삼군, 인삼군 세 군 모두 TPA 종양촉진 5주 후에 종양이 발생하기

시작하였으나 대조군과 인삼군에서는 각각 TPA 종양촉진 9주와 8주째에 모든 실험동물에서 종양이 발생된 반면, 장뇌삼군에서는 13주째에 종양발생률 100%를 보였다. 이와 같이 대조군과 인삼군에 비해 장뇌삼군에서 종양발생률(tumor incidence)이 지연되는 것으로 나타났다. 종양 발생 수(tumor multiplicity)도 대조군과 인삼군에 비해 장뇌삼군에서 적게 나타났다(Fig. 3B).

한편, 실험 II에서 종양발생률을 측정한 결과, Fig. 3C에서 보는 바와 같이 대조군에서는 TPA 종양촉진 6주 후에 실험동물의 17%에서 종양이 발생되기 시작하여 실험종료 시점에는 90%의 동물에서 종양이 발생되었다. 한편, 장뇌삼군과 인삼군은 TPA 종양촉진 후 12주까지는 종양발생률이 대조군보다 높았으나 13주부터는 대조군의 종양발생률은 계속 증가된 반면 이들 두 군의 종양발생률은 그대로 유지되어 실험종료 시점에는 각각 80%와 70%의 종양발생률을 보여 대조군보다 낮았다. 이와 같이 대조군에 비해 장뇌삼군과 인삼군 모두 종양발생의 감소를 보이는 것으로 나타났다. 종양발생 수에서는 대조군과 장뇌삼군에 비해 인삼군의 종양 수가 적은 것으로 나타났다(Fig. 3D).

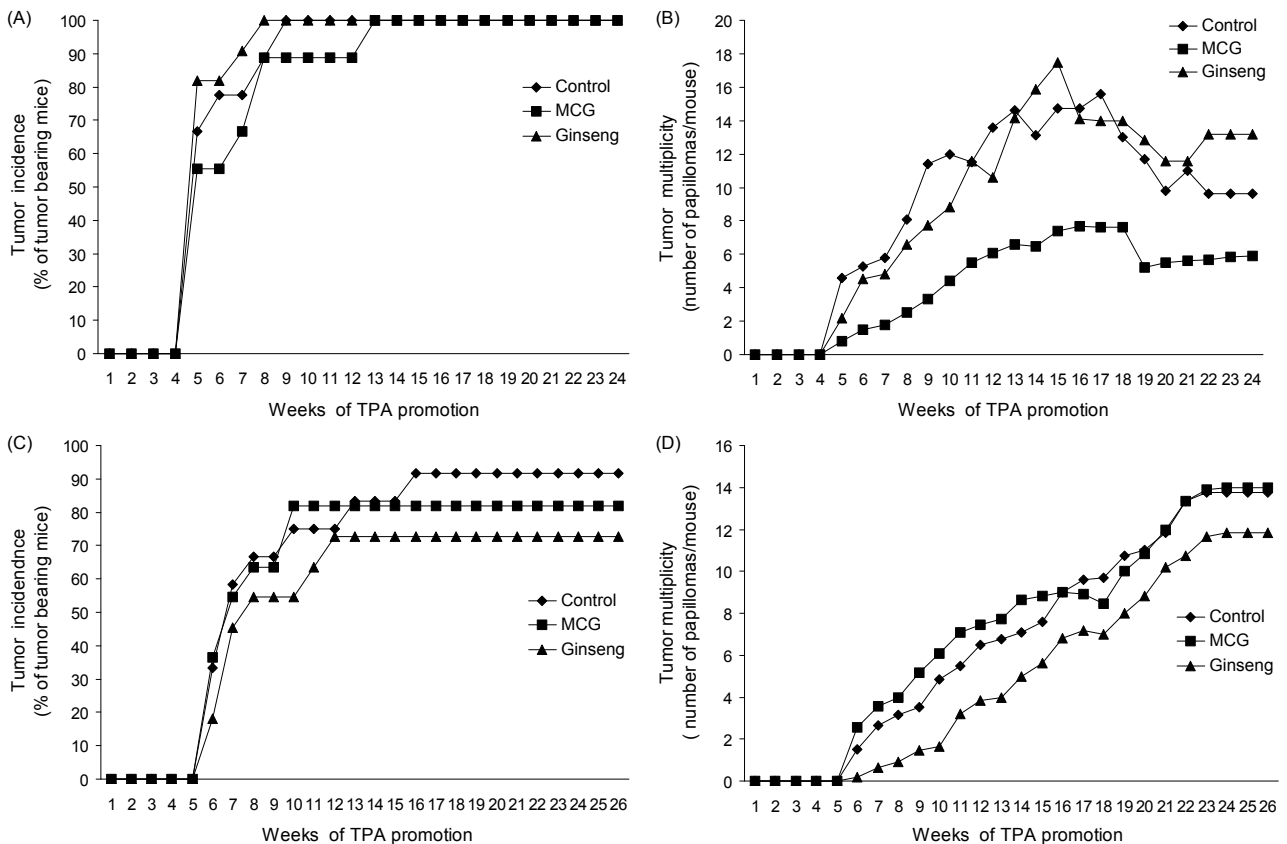


Fig. 3. Tumor incidence and multiplicity in two-stage mouse skin carcinogenesis. Twelve female mice in each diet group were initiated with 200 nmol (50 µg) DMBA and promoted with 6.5 nmol (4 µg) of TPA in 200 µL of acetone twice a week. (A) tumor incidence (percentage of mice bearing tumors) and (B) multiplicity (average number of papillomas/mice) of experiment I. (C) tumor incidence and (D) multiplicity of experiment II.

Table 4. Tumor size, total number of tumors, and average number of tumors/tumor bearing mouse of control, MCG and ginseng diet group

Groups	No. of tumors	Tumor size (cm)			Total tumors	Average No. of tumors/ tumor bearing mouse
		<0.5	0.5~1	1<		
Experiment I						
Control		39	39	9	87	9.60±4.03 ^{ab}
MCG		37	13	2	52	5.70±6.81 ^b
Ginseng		110	40	10	160	13.33±6.68 ^a
Experiment II						
Control		133	23	9	165	13.75±8.37 ^b
MCG		134	17	3	154	14.00±12.77 ^a
Ginseng		116	11	3	130	11.81±7.99 ^c

The size and number of tumors were measured in each diet group at the end of experiment.

Data are mean±SE.

^{a,b}Means not sharing same letter are significantly different between groups at $p<0.05$ by one-way ANOVA.

크기별 종양 발생수

실험 도중 사망한 동물을 제외하고 실험 종료 전날 측정된 크기 별 종양개수, 총 종양수 그리고 평균 종양수를 보면, 실험 I에서 장뇌삼군은 크기 0.5 cm 미만의 종양개수는 대조군과 비슷하였으나 대조군에 비해 0.5~1 cm, 그리고 1 cm 이상의 종양수가 적었고 총 종양수도 대조군보다 적었다 (Table 4). 반면에 인삼군은 크기 0.5 cm 미만의 종양개수가 대조군에 비해 가장 많았고 총 종양수도 대조군보다 더 많았다. 총 종양수를 실험동물 마리수로 나눈 평균 종양수에서도 장뇌삼군의 평균 종양수가 가장 적었으며 인삼군의 종양수가 가장 많았다. 이상의 결과에서, 장뇌삼의 급여는 종양의 크기 및 종양수를 대조군에 비해 유의적으로 감소(40.7%)시킨 반면 인삼의 급여는 오히려 종양수를 증가(38.5%)시키는 것으로 나타났다.

실험 II에서는 장뇌삼군은 크기 0.5 cm 미만의 종양개수는 대조군과 비슷하였으나 크기 0.5 cm 이상의 종양수는 대조군보다 더 적었다(Table 4). 반면에 인삼군은 각 크기별 종양수가 대조군과 장뇌삼군보다 적어 총 종양수는 세 군 중 가장 적게 나타났다. 총 종양수를 실험동물 마리수로 나눈 평균 종양수도 인삼군의 평균 종양수가 가장 적은 것으로 나타났다.

피부상피세포증식

장뇌삼과 인삼의 급여가 TPA에 의한 마우스 피부상피세포증식에 어떤 영향을 주는지 알아보기 위하여 ICR mouse를 대조군(n=6), 장뇌삼군(n=6) 그리고 인삼군(n=6)으로 나누고 각 군내에서 다시 3마리씩 acetone 용매처리군과 TPA 처리군으로 나눈 후, 실험 I과 유사하게 실험 식이를 급여하면서 1주일에 2번씩 총 4주에 걸쳐 acetone 혹은 TPA를 마우스 등에 국소도포 하였다(실험 I-1, Fig. 2A). 세 군 모두에서 TPA 처리는 acetone 처리군에 비해 피부상피세포증식을 유발하였지만 식이급여에 따른 피부상피세포증식 정도의 차이는 없었다(Fig. 4A). 모낭사이 상피층에 존재하는 BrdU 염색 세포의 숫자를 측정한 결과 acetone 처리에 비해 TPA를 처리한 피부상피세포에서의 labeling index가 모두 증가

하였으며 장뇌삼군의 labeling index는 대조군에 비해 조금 줄어든 반면 인삼군에서는 그 증가폭이 가장 크게 나타났다 (Fig. 4B).

한편, 인삼의 암 예방 효과가 마우스 피부상피세포증식 저해로 인한 것인지를 알아보기 위하여 ICR mouse를 대조군(n=6), 장뇌삼군(n=6) 그리고 인삼군(n=6)으로 나누고 각 군내에서 다시 3마리씩 acetone 용매처리군과 TPA 처리군으로 나눈 후, 실험 II와 유사하게 실험식이를 먼저 2주 급여한 후, 1주일에 2번씩 총 4번에 걸쳐 acetone 혹은 TPA를 마우스 등에 국소도포 하였다(실험 II-1, Fig. 2B). Fig. 4C에서 보이는 바와 같이 acetone 처리에 비해 TPA의 처리는 피부상피세포증식을 유발하였지만 식이급여에 따른 피부상피세포증식 정도의 차이는 없었다. Labeling index는 대조군에 비해 장뇌삼군과 인삼군의 TPA 처리에 의한 피부상피세포증식이 감소되었으며 인삼군에서 그 감소가 더욱 현저하였다(Fig. 4D).

고 찰

실험동물을 이용한 발암과정은 개시(initiation), 촉진(promotion), 진행(progression)의 세 단계로 구분할 수 있는데 종양 개시 단계에서는 마우스의 등에 발암원인 DMBA를 단일 도포하거나 혹은 자외선(ultraviolet)을 조사함으로써 돌연변이 등의 유전적 변화를 유발시키게 된다(26). 그러나 각 세포는 손상된 DNA를 수리하는 기능을 가지고 있기 때문에 영구적으로 세포에 돌연변이를 일으키기 위해서는 TPA와 같은 종양촉진제(tumor promoter)를 반복적으로 도포함으로써 변이된 세포가 계속적으로 분열하고 DNA를 합성할 수 있도록 하는 것이 필요하다(27). 종양의 발달은 개시와 촉진단계를 통하여 이루어지기 때문에 이를 2단계 마우스 피부암 발생과정(two-stage mouse skin carcinogenesis)이라 부르며 이러한 과정 동안에 개시단계에서 변이된 세포는 양성 종양인 유두종(papilloma)으로 발달한다. 암 진행단계에서는 부가적인 유전적 변이에 의해 유두종에서 악성의 암종(carcinoma)으로 전환되게 되며, 악성 암종은 조직을 침

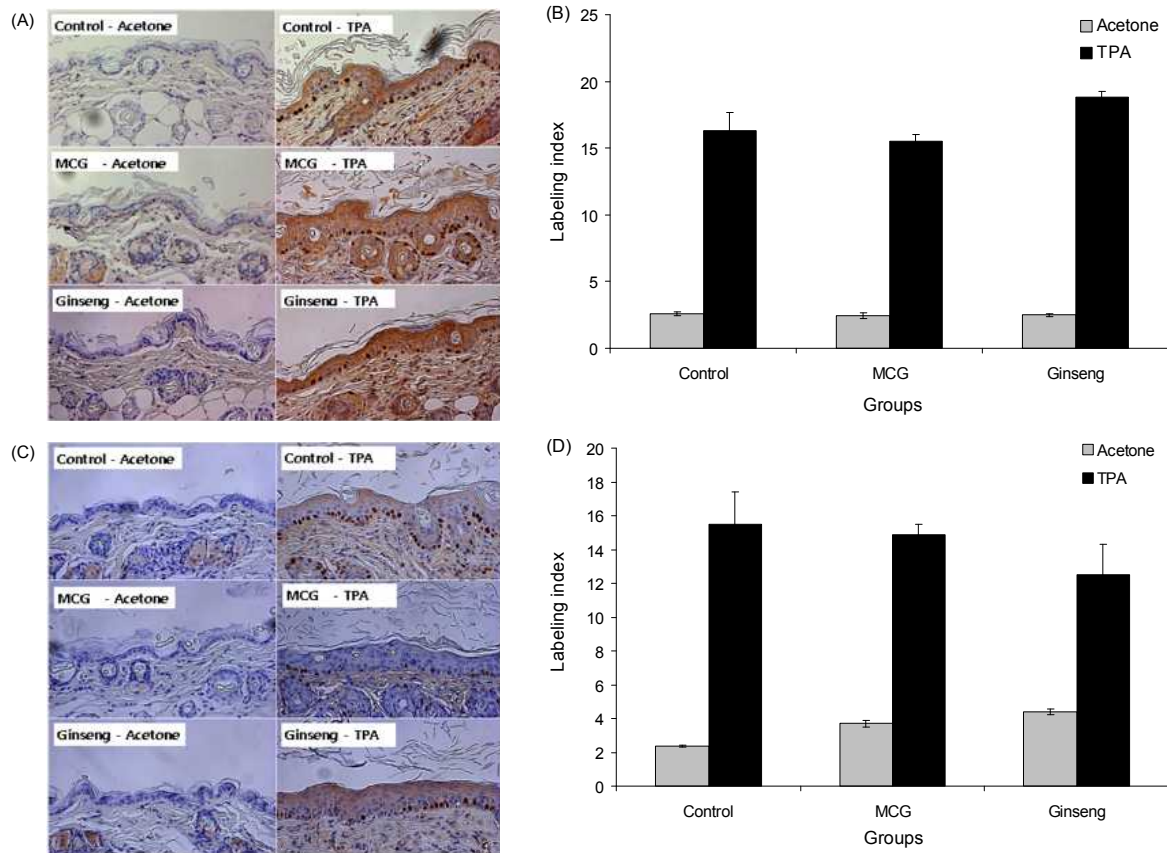


Fig. 4. Epidermal cell proliferation. Histological analysis of mouse skin in experiment I-1 (A) and in experiment II-1 (C). Dorsal skin of each mice was removed and fixed in formalin. Tissue sections were immunostained with BrdU and photographed at 200X. Labeling index of acetone or TPA-treated mouse skin in each diet group in experiment I-1 (B) and in experiment II-1 (D). It represents the percentage of BrdU-positive cells relative to the total number of basal cells in the interfollicular epidermis. Each value is the mean±SE of labeling indices from three mice/group.

투하여 다른 조직이나 장기로 전이될 수 있다.

본 연구에서는 장뇌삼과 인삼의 식이급여가 각 발암단계에 미치는 영향을 살펴보고자 두 가지 종류의 실험을 진행하였다. 실험 I에서는 TPA 종양촉진 시작과 함께 실험식이를 급여함으로써 암세포 증식 및 성장에 미치는 영향을 분석해 보고자 하였고, 실험 II에서는 DMBA 종양개시 한 달 전부터 실험 종료 시까지 실험식이를 급여함으로써 발암 예방에 미치는 영향을 살펴보았다.

먼저, 실험 I과 II에서 장뇌삼과 인삼군의 식이섭취량이 모두 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났는데 이는 두 시료가 지니는 화학성분의 차이, 특히 쓴맛의 saponin과 특유한 향기성분인 sesquiterpenoid계 파나센(panacene)과 polyacetylene 성분(28)이 식이섭취량에 영향을 미친 것으로 생각된다. 실험 II에서는 체중 또한 대조군에 비해 장뇌삼과 인삼군이 적게 나갔는데 Bae 등(15)의 연구결과에서도 장뇌삼 염차를 고지방식이와 함께 투여하였을 때 유의적인 체중감소가 나타난 것을 볼 때 본 연구결과에서 나타난 장뇌삼과 인삼군의 체중감소가 이들 식품의 급여효과인지 식이섭취량 감소에 기인하는 것인지에 대해서는 향후 보다 구체적인 확인이 필요한 것으로 사료된다. 한편, 식이섭취량의 감소는 마

우스 피부암 발생에도 영향을 미치는 것으로 보고되었는데 2단계 마우스 피부암 모델에서 식이섭취를 70%로 제한하였을 때 자유식이(ad libitum)를 섭취시킨 대조군에 비해 상피세포증식률과 DNA 손상이 감소되었으며 그 효과는 TPA 처리용량의 감소와 동일한 것으로 나타났다(29). 또 다른 연구에서는 식이섭취량을 대조군의 60%로 제한하였을 때 피부양성종양발생률과 종양개수가 대조군에 비해 감소하였으나 종양의 크기와 악성종양발생률에 있어서는 식이섭취량 제한군보다는 지방과 탄수화물을 제한한 열량제한군에서 유의적으로 감소한 것으로 나타났다(30). 본 연구에서는 실험 I의 경우, 장뇌삼과 인삼군의 식이섭취량 감소는 대조군의 10% 미만이었으나 실험 II에서는 인삼군의 식이섭취량이 대조군보다 20% 정도 감소되어 식이섭취량 감소가 피부종양발생억제에 기여하였을 가능성을 완전히 배제할 수는 없는 것으로 보인다.

실험 I에서 장뇌삼은 대조군과 인삼군보다 낮은 피부종양 발생수를 나타내었으며 종양발생률에서도 대조군과 인삼군에 비해 장뇌삼군에서 종양의 발생이 지연되는 것으로 나타났는데 이는 장뇌삼이 인삼보다 암세포 증식 및 성장 저해 효과가 더 크기 때문인 것으로 생각된다. 피부암세포에도

장뇌삼과 인삼의 에테르 추출물을 농도별로 처리하였을 때 장뇌삼 추출물이 인삼 추출물보다 더 낮은 농도에서 세포 증식과 성장에 관련된 Akt와 Erk 인산화 저해효능을 보였다 (data not shown). Kim 등(18)의 산삼, 장뇌삼, 인삼의 항암 활성에 대한 비교연구결과에서 보면, 장뇌삼 추출물은 인삼 추출물에 비해 사람의 급성 백혈병 세포주인 HL-60 세포의 세포 생존율을 유의하게 감소시켰으며 이는 장뇌삼의 apoptosis 유발 작용이 인삼보다 뛰어나기 때문인 것으로 보고되었다. 이와 같이 장뇌삼이 인삼보다 더 높은 항암활성을 가지는 것은 보다 야생에 가까운 장뇌삼이 인삼보다 사포닌 함량이 높고(31) cinammic acid와 p-hydroxybenzoic acid 같이 항산화 효과를 나타내는 페놀성 화합물의 함량(32) 및 총 항산화력도 높을 뿐만 아니라(31) 특유의 향기성분이 많이 함유된 것이 하나의 요인으로 작용했으리라 생각된다. 그러나 고려인삼과 장뇌삼의 성분비교 연구에서 총 페놀성 성분 함량(32)이나 유리아미노산 함량(33)에는 차이가 없다고 한 연구들도 있으므로 향기성분과 같이 인삼에 비해 장뇌삼에 특이적으로 많은 성분들을 중심으로 한 항암활성 기전 연구가 수반될 필요가 있다.

한편, 인삼군의 종양개수와 labeling index가 대조군에 비해 유의적으로 높게 나온 것은 마우스 피부암 모델에서 인삼의 항염증 및 종양축진억제효과를 보여준 기존의 연구결과들(14,25,34)과 상반되는 결과이다. 이는 인삼의 항암효과는 인삼의 종류와 연근에 따라, 그리고 피험자의 특성이나 실험동물의 종에 따라 다르게 나타날 수 있다는 것을 반영한다고 볼 수 있다. 본 실험에서는 4년근 인삼 분말을 식이에 첨가하였는데 Yun과 Lee(35)의 연구에 따르면 수삼은 6년근의 경우에 마우스 폐선종을 억제한다는 결과가 보고된 바 있다. 또한 암 환자를 대상으로 한 연구에서도 수삼즙 혹은 수삼절편을 복용한 사람에서는 암의 위험비가 감소되지 않으나 수삼열탕 또는 홍삼을 복용했을 때는 암 위험비가 현저히 감소하였다고 보고된 바 있다(36).

따라서 본 연구결과 앞으로 인삼의 항암효능에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하리라 사료되며 항암성분 및 항암효능 기전 그리고 인체 안전성이 구체적으로 밝혀지지 않은 상태에서 암 환자들이 인삼을 건강보조식품으로 다량 섭취하는 것은 주의를 기울여야 함을 제시하는 결과라 생각된다.

한편, 실험 I과 다르게 실험 II의 결과에서는 대조군과 장뇌삼군에 비해 인삼군의 종양발생수가 감소된 것으로 나타났는데 이는 종양개시 한 달 전부터 실험 식이를 급여한 것을 고려하였을 때 대조군과 장뇌삼군에 비해 인삼이 특히 종양개시단계에 영향을 미친 것으로 사료된다(37). 실제로 인삼 추출물 EFLA400을 용량별로 Swiss albino mice에 경구 투여하였을 때 DMBA에 의해 유도된 염색체 이상(chromosomal aberrations)과 소핵(micronuclei) 유도가 현저히 감소되었다(38). Keum 등(14)은 2단계 마우스 피부암 발생실험에서 인삼의 주요 사포닌인 Rg3를 매 TPA 처리

30분전에 도포하였을 때 종양발생수와 발생률이 유의적으로 감소되었으며 TPA 처리에 의한 ornithine decarboxylase와 cyclooxygenase-2 발현, 그리고 NF- κ B와 AP-1 활성이 억제됨을 보인 바 있다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때, 인삼은 종양개시단계와 촉진단계 모두를 저해하는 효과가 있다고 하겠으나 실험 I에서 종양발생이 오히려 증가된 결과로 볼 때 종양개시를 저해하는 항돌연변이 효과가 보다 강한 것으로 생각되며 발암 전 인삼의 급여는 종양의 크기 및 종양수를 유의적으로 감소시켜 암 예방 효과가 있는 것으로 보인다. 이는 인삼복용과 암 발생에 관한 코호트 연구에서 인삼이 장기 비 특이성 암 예방작용이 있다고 밝힌 연구결과(39)와 일치하는 결과라 볼 수 있다. 한편, 실험모델 II에서 장뇌삼군은 대조군에 비해 유의한 항암효과가 나타나지 않았는데 이에 대해서는 보다 명확한 후속연구가 절실히 요구된다.

요 약

본 연구의 결과, TPA 종양축진 시작과 함께 실험식을 급여하였을 때, 장뇌삼은 대조군과 인삼군보다 낮은 피부종양발생수를 나타내었으며 종양발생률에서도 대조군과 인삼군에 비해 장뇌삼군에서 종양의 발생이 지연되는 것으로 나타났다. 반면, DMBA 종양개시 한 달 전부터 실험 종료 시까지 실험식을 급여하였을 때는 대조군과 장뇌삼군에 비해 인삼군의 종양발생수가 감소된 것으로 나타나 인삼은 암 예방효능이 장뇌삼보다 더 높은 것으로 나타났다. 장뇌삼과 인삼은 마우스 피부암이 아닌 다른 상피세포성 암에 대해서도 각각 이러한 효능을 보일 것인지에 대해서 후속연구가 요구되며 또한 앞으로 인삼과 장뇌삼의 유효성분을 발굴하고 이를 더욱 효과적으로 섭취할 수 있는 방법이 개발되어야 할 것으로 생각된다. 아울러 질적으로 우수한 우리나라 장뇌삼과 인삼이 건강기능식품으로서 뿐만 아니라 암 예방과 암 치료에 사용될 수 있는 대체의약품으로 개발되기 위해서는 실질적인 임상치료 연구와 더불어 보다 구체적인 과학적 기능 규명연구가 필요하다고 생각된다.

감사의 글

본 연구는 한겨레산삼영농조합법인과 2010년도 교육과학기술부 시행 한국연구재단의 기초연구사업(331-2008-1-C00308)의 연구비 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Annual report on the cause of death statistic. 2009. Korea National Statistical Office.
2. Kim AD, Kang KA, Zhang R, Lim CM, Kim HS, Kim DH, Jeon YJ, Lee CH, Park J, Chang WY, Hyun JW. 2011.

- Ginseng saponin metabolite induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells through the modulation of AMP-activated protein kinase. *Environ Toxicol Pharmacol* 30: 134-140.
3. Kang JH, Song KH, Woo JK, Park MH, Rhee MH, Choi C, Oh SH. 2011. Ginsenoside Rg1 from *Panax ginseng* exhibits anti-cancer activity by down-regulation of the IGF-1R/Akt pathway in breast cancer cells. *Plant Foods Hum Nutr* 66: 298-305.
 4. Kang MR, Kim HM, Kang JS, Lee K, Lee SD, Hyun DH, In MJ, Park SK, Kim DC. 2011. Lipid-soluble ginseng extract induces apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest in NCI-H460 human lung cancer cells. *Plant Foods Hum Nutr* 66: 101-106.
 5. Wang ZJ, Song L, Guo LC, Yin M, Sun YN. 2011. Induction of differentiation by panaxydol in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells via cAMP and MAP kinase dependent mechanism. *Yakugaku Zasshi* 131: 993-1000.
 6. Guo L, Song L, Wang Z, Zhao W, Mao W, Yin M. 2009. Panaxydol inhibits the proliferation and induces the differentiation of human hepatocarcinoma cell line HepG2. *Chem Biol Interact* 181: 138-143.
 7. Hai J, Lin Q, Lu Y, Yi J, Zhang H. 2008. Growth inhibition and induction of differentiation by panaxydol in rat C6 glioma cells. *Neurol Res* 30: 99-105.
 8. Kim SE, Shim I, Chung JK, Lee MC. 2006. Effect of ginseng saponins on enhanced dopaminergic transmission and locomotor hyperactivity induced by nicotine. *Neuropsychopharmacology* 31: 1714-1721.
 9. Shim I, Javaid JI, Kim SE. 2000. Effect of ginseng total saponin on extracellular dopamine release elicited by local infusion of nicotine into the striatum of freely moving rats. *Planta Med* 66: 705-708.
 10. Lee BM, Lee SK, Kim HS. 1998. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng). *Cancer Letter* 132: 219-227.
 11. Kim HG, Yoo SR, Park HJ, Lee NH, Shin JW, Sathyanath R, Cho JH, Son CG. 2011. Antioxidant effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer in healthy subjects: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Food Chem Toxicol* 49: 2229-2235.
 12. Liu Q, Kou JP, Yu BY. 2011. Ginsenoside Rg1 protects against hydrogen peroxide-induced cell death in PC12 cells via inhibiting NF- κ B activation. *Neurochem Int* 58: 119-125.
 13. Wong VK, Cheung SS, Li T, Jiang ZH, Wang JR, Dong H, Yi XQ, Zhou H, Liu L. 2010. Asian ginseng extract inhibits in vitro and in vivo growth of mouse lewis lung carcinoma via modulation of ERK-p53 and NF- κ B signaling. *J Cell Biochem* 111: 899-910.
 14. Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, Surh YJ. 2003. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- κ B activation and tumor promotion. *Mutat Res* 523-524: 75-85.
 15. Bae MJ, Kim SJ, Ye EJ, Nam HS, Park EM. 2009. Antioxidant activity of tea made from Korean mountain-cultivated leaves and its influence on lipid metabolism. *Korean J Food Culture* 24: 77-83.
 16. Kim JH, Kim JK. 2005. Effect of extracting conditions on chemical compositions of Korean mountain ginseng extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 862-868.
 17. Kim JH, Kim JK. 2006. Antioxidant activity and functional component analysis of Korean mountain ginseng's different sections. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1315-1321.
 18. Kim SJ, Shin SS, Seo BI, Jee SY. 2004. Effect of mountain grown ginseng radix, mountain cultivated ginseng radix, and cultivated ginseng radix on apoptosis of HL-60 cells. *Kor J Herbology* 19: 41-50.
 19. Ye EJ, Kim SJ, Nam HS, Park EM, Bae MJ. 2010. Physiological evaluation of Korean mountain ginseng and Korean mountain ginseng leaf tea. *Korean J Food Culture* 25: 350-356.
 20. Slaga TJ, Fischer SM, Weeks CE, Klein-Szanto AJ, Reiners J. 1982. Studies on the mechanisms involved in multistage carcinogenesis in mouse skin. *J Cell Biochem* 18: 99-119.
 21. Slaga TJ, Fischer SM, Nelson K, Gleason GL. 1980. Studies on the mechanism of skin tumor promotion: evidence for several stages in promotion. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 3659-3663.
 22. DiGiovanni J. 1992. Multistage carcinogenesis in mouse skin. *Pharmacol Therapeu* 54: 63-128.
 23. Slaga TJ, Klein-Szanto AJ, Fischer SM, Weeks CE, Nelson K, Major S. 1980. Studies on mechanism of action of anti-tumor-promoting agents: their specificity in two-stage promotion. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 2251-2254.
 24. Boutwell RK, Verma AK, Ashendel CL, Astrup E. 1982. Mouse skin: a useful model system for studying the mechanism of chemical carcinogenesis. *Carcinog Compr Surv* 7: 1-12.
 25. Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun 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.
 26. Brown K, Buchmann A, Balmain A. 1990. Carcinogen-induced mutations in the mouse c-Ha-ras gene provide evidence of multiple pathways for tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 538-542.
 27. Slaga TJ. 1983. Overview of tumor promotion in animals. *Environ Health Persp* 50: 3-14.
 28. Kim MW, Park JD. 1984. Studies on the volatile flavor components of fresh ginseng. *Korean J Ginseng Sci* 8: 22-31.
 29. Fischer WH, Lutz WK. 1998. Influence of diet restriction and tumor promoter dose on cell proliferation, oxidative DNA damage and rate of papilloma appearance in the mouse skin after initiation with DMBA and promotion with TPA. *Toxicol Lett* 98: 59-69.
 30. Birt DF, Pelling JC, White LT, Dimitroff K, Barnett T. 1991. Influence of diet and calorie restriction on the initiation and promotion of skin carcinogenesis in the SENCAR mouse model. *Cancer Res* 51: 1851-1854.
 31. Joung EM, Hwang IG, Lee MK, Cho SK, Chung BW, Jo SJ, Lee SH, Lee JS, Jeong HS. 2010. Ginsenoside compositions and antioxidant activity of cultured and mountain ginseng. *J Agr & Life Sci* 44: 61-67.
 32. Yoo BS, Lee HJ, Byun SY. 2000. Differences in phenolic compounds between Korean ginseng and mountain ginseng. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 120-124.
 33. Lee HJ, Yoo BS, Byun SY. 2000. Differences in free amino acids between Korean ginsengs and mountain ginsengs. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 323-328.
 34. Konoshima T, Takasaki M, Tokuda H. 1999. Anti-carcinogenic activity of the roots of *Panax notoginseng*. II. *Biol Pharm Bull* 22: 1150-1152.
 35. Yun TK, Lee YS. 1994. Anticarcinogenic effect of ginseng powders depending on the types and ages using Yun's anticarcinogenicity test (I). *Korean J Ginseng Sci* 18: 89-94.
 36. Yun TK, Choi SY, Yun HY. 2001. Epidemiological study on cancer prevention by ginseng: are all kinds of cancers

- preventable by ginseng? *J Korean Med Sci* 16: S19-27.
37. Varjas T, Nowrasteh G, Budán F, Nadasi E, Horváth G, Makai S, Gracza T, Cseh J, Ember I. 2009. Chemopreventive effect of *Panax ginseng*. *Phytother Res* 23: 1399-1403.
38. Panwar M, Kumar M, Samarth R, Kumar A. 2005. Evaluation of chemopreventive action and antimutagenic effect of the standardized *Panax ginseng* extract, EFLA400, in Swiss albino mice. *Phytother Res* 19: 65-71.
39. Yun TK, Choi SY. 1998. Non-organ specific cancer prevention of ginseng: a prospective study in Korea. *Int J Epidemiol* 27: 359-364.

(2011년 9월 15일 접수; 2012년 3월 15일 채택)