

## 산양삼 첨가 고지방식이 골격근의 항세포사멸에 대한 작용 연구

서효빈<sup>1</sup> · 김판기<sup>2</sup> · 류승필<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 레저스포츠학과, <sup>2</sup>경북대학교 생태환경시스템학부

### The Study of Mountain Ginseng-added High Fat Diet on Anti-Apoptosis of Skeletal Muscle

Hyobin Seo<sup>1</sup>, Pan-Gi Kim<sup>2</sup> and Sungpil Ryu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Leisure Sports, Kyungpook National University, Sangju 37224, Korea

<sup>2</sup>School of Ecological & Environmental Systems, Kyungpook National University, Sangju 37224, Korea

**요약:** 본 연구에서는 고지방식이에 산양삼 첨가량을 달리하였을 때, 흰쥐의 골격근에서 항세포사멸 단백질 발현을 보고자 하였다. 24마리의 SD계 수컷 흰쥐를 대상으로 CON(고지방식이군), MG1(0.5% 산양삼 첨가 식이군), MG2(1.0% 산양삼 첨가 식이군)으로 각 그룹별 8마리씩 분류하였다. 4주간의 각 식이섭취의 결과 세포사멸 활성유전자인 p53은 MG2군이 CON군과 MG1군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮게 나타났으며, 항세포사멸 인자인 bcl-2와 bcl-xl은 MG1군과 유의한 차이는 나지 않았으나 CON군보다 높은 발현량을 나타내었다. 최종 세포사멸의 인자인 caspase-9 및 3는 CON군과 비교하여 산양삼을 섭취한 그룹에서 낮은 발현량을 나타내었다. 특히, MG2군에서는 유의하게 낮은 발현량을 나타내어 고지방식이에 산양삼 첨가는 골격근에서 세포사멸 활성 유전자인 p53을 억제하고, 항세포사멸 유전자의 활성을 증가시켜 최종 세포사멸인자의 활성을 저해하여 약용식물로서의 인체에 긍정적인 역할을 할 것이라 사료된다.

**Abstract:** The purpose of this study was to investigate the anti-apoptosis-related protein expression in skeletal muscle of rats with different amount of mountain ginseng (MG) added high-fat diet fed. Twenty-four Sprague Dawley male rats were divided into the high-fat diet control group (CON), 0.5% of MG added diet group (MG1), and 1.0% of MG added diet group (MG2) with eight rats each. The P53, anti-apoptotic protein, was significantly lower in MG2 than CON and MG1. The bcl-2 and bcl-xl, however, were not significantly different from MG1 but from CON. The caspase-9 and -3, were significantly lower in MG groups than CON. In addition, it was dramatically lower in MG2. These results suggested that MG addition to the high-fat diet suppressed p53 protein expression and enhanced anti-apoptotic protein expression. MG may be a positive effects on health as a medicinal plant.

**Key words:** high-fat diet, mountain-cultivated ginseng, skeletal muscle, anti-apoptosis

## 서론

세포사멸은 유전적으로 결정되어진 생물학적 기능을 하는 세포의 죽음으로(Varras et al., 2012), phosphatidylserine (PS)이 정상적인 세포막에서 세포질면을 이동하면서 세포를 파괴시켜 세포사멸을 유도하는 과정이다(Kavitha et al., 2013). 즉, 세포의 죽음에 있어 미토콘드리아와 endoplasmic reticulum (ER)은 물리적 및 기능적으로 상호작용을 하게 되지만 미토콘드리아의 기능장애는 ER에 스트레스를 가중시켜 세포사멸을 유발함에 따라 최근엔 세포사멸과 관련

하여 미토콘드리아에 주목하고 있다(Zhang et al., 2013). 미토콘드리아는 세포사멸의 최대의 형상으로 ATP의 생성과 세포분화, 신호전달, 세포사멸 및 세포의 주기와 성장에 관여하여, 미토콘드리아가 인산화되는 과정에서는 reactive oxygen species (ROS) 및 nitric oxide (NO)를 생성시키고, 생성된 ROS는 미토콘드리아의 uncoupling proteins (UCPs)활성 조절과 세포의 에너지 대사에 중요한 역할을 한다(Green and Evan, 2002; Ricci et al., 2004; Pan et al., 2008). 또한, NAD(P)H oxidase에 의해 생성된 ROS는 세포의 신호전달에 관여하여 스트레스 활성화 단백질 키나제와 같은 JNK, p38은 ER에 산화스트레스를 가중시키며, 가중된 스트레스는 시간이 경과함에 따라 세포

\*Corresponding author  
E-mail: ryusp@knu.ac.kr

사멸을 더욱 증가시킨다(Yamamoto et al., 1999; Kim et al., 2008; Kim et al., 2008). 세포의 죽음에 있어 미토콘드리아의 장애를 유도하는 ROS의 생산과 산화스트레스를 억제하고자 항산화 활성이 강한 천연물들을 이용한 많은 연구는 현재에도 진행되고 있다. 이중 대표적으로 항산화 활성이 강한 것으로 알려진 산삼은 두릅나무과에 속하며 불로장생의 선약으로 알려져 있다. 그러나 가격적인 면과 채집이 어려워 재배 인삼의 원종인 산삼을 야생조건 하에서 재배하여 얻은 인삼인 산양삼(장뇌삼)은 재배인삼보다 진세노사이드의 함량이 높고, 효능면에서도 뛰어나다고 알려져 그 가치를 인정받고 있다(Ye et al., 2010; Lim et al., 2007; Lui and Staba, 1980). 장뇌삼, 발효 장뇌삼의 생리활성평가에서 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical의 제거활성과 superoxide dismutase (SOD) 활성이 매우 높으며, 항면역, 항부종, 항세포사작용에 중요한 기능을 할 것이라고 제시하고 있다(Ye et al., 2010; Ning et al., 2012). 또한 4년근, 6년근 인삼에 비하여 산양삼의 섭취에 있어 특정한 환경, 접근성에 따라 ginsenoside-Rg3, ginsenoside-Rh2의 함량이 증가하며(Cha et al., 2010), Choi et al. (2015)은 홍삼의 가수분해물 및 추출물은 농도나 첨가량에 따라 물리적 화학특성이 달라진다고 보고하고 있다. 이를 뒷받침하여 주는 연구로 Kwon et al. (2012)은 4주간 고지방식이와 산양삼을 동결건조하여 분말의 양을 조절하여 섭취하였을 때 골격근 내 지질과산화의 감소와 항산화활성 단백질 발현이 증가하였음을 보고하고 있고, 이는 산양삼의 ginsenoside Rg2가 Ca<sup>2+</sup>을 감소시켜 molondialdehyde (MDA)와 NO를 감소시키고, calpain II가 caspase-3의 상호작용을 억제하여 항세포사 및 세포보호 효능이 있음을 시사하고 있다(Li et al., 2007). 강제 운동의 부하로 인해 산화스트레스 유발시 ginsenoside Rd1을 25, 50, 100 mg/kg으로 투여량을 달리하여 공급한 결과 운동시간의 연장 뿐만 아니라 MDA함량 감소, SOD, catalase, GPx의 활성은 증가하여 ginsenoside Rd1이 산화스트레스에 효과적이라고 보고하고 있지만(Qi et al., 2014), Yu et al. (2014)은 신장성 수축시 인삼의 공급은 대식세포의 골격근 내 침투를 억제시키는데, 이때 인삼 배당체의 사포닌에 존재하는 dammarane의 공급량을 20-60 mg/kg 공급시 근섬유의 괴사, CD68+ M1 대식세포의 분배, 3-nitrotyrosine 등의 변화는 나타나지 않았지만, 다소 많은 양인 120 mg/kg의 dammarane 공급은 항염증 반응을 감소시킨다고 제시하고 있다. 이러한 인삼은 주요 성분 함량 및 공급량에 따라 생리활성에 영향을 미치게 된다. 이와 같이 인삼은 섭취량에 관련된 연구가 다수 이루어지고 있다. 현재의 산양삼 연구에서는 그 자체의 성분 분석에 관한 연구만 보고되고 있고, 따라서 다양한 연구가 이루어지고 있는 인삼 또는 홍삼과 비교할 때 알려진 것에 비

하여 그 효능에 관한 다양한 연구는 미비하다고 할 수 있다. 특히, 산양삼 추출물과 관련한 연구(Wang et al., 2013; Ahn et al., 2007; Kim and Son, 2012)는 많으나 산양삼의 첨가량에 따라 골격근에 작용하는 기능성에 관한 연구는 매우 부족하다. 따라서 본 연구에서는 동결건조된 산양삼을 식이에 첨가량을 달리 하여 4주간 섭취시킨 흰쥐의 골격근에서 항세포사명 단백질 발현에 미치는 영향에 관해 연구하고자 한다. 이를 통하여 산양삼이 세포사멸을 억제함으로써 노화를 방지한다는 것을 증명하고자 한다. 이는 산양삼 재배 농가의 수익창출을 위한 과학적 자료로 활용될 수 있을 것이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육 및 군의 분류

본 연구는 6주령의 수컷 SD계(Sprague Dawley) 24마리를 1주간 환경적응 후 고지방식이 대조군(CON: high-fat diet sedentary, n=8), 산양삼 0.5% 첨가식이군(MG1: high-fat diet+0.5% mountain ginseng-added diet group, n=8), 산양삼 1% 첨가식이군(MG2: high-fat diet+1% mountain ginseng-added diet group, n=8)으로 분류하고 4주간 사육하였다. 사육실 내부온도는 23-25°C, 상대습도는 60% 내외를 유지하였다. 사육실의 명암 사이클은 오전 8시부터 오후 8시까지 암기로 하고 익일 오후 8시부터 오전 8시까지 명기로 하여 12시간 간격으로 명암을 조절하였다.

### 2. 식이조성 및 섭취방법

본 연구에서 사용한 사료는 직접 조제하여 공급하였으며, 고지방식은 AIN-76을 기준으로 식물기름(corn oil) 대신 동물성기름(lard)로 치환하여 지방함량을 35%로 증가시켰다. 산양삼 섭취군은 산양삼을 동결건조하여 분말

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

	CON	MG1(0.5%)	MG2(1%)
Casein	200	200	200
Starch	200	200	200
Sucrose	150	150	150
Lard	350	350	350
Vit. Mix	10	10	10
Mineral mix	35	35	35
Cellulose	50	45	40
D.L-methionine	3	3	3
Choline barbiturate	2	2	2
D.L- $\alpha$ -tocopherol	1.2	1.2	1.2
Mountain ginseng	.	5	10

CON: High fat diet sedentary group, MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group, MG2: 1% mountain ginseng-added diet group.

로 만든 후 고지방식이의 식이섬유를 전체 식이조성의 각각 0.5, 1%를 산양삼분말로 치환하여 조제하였고, 사육기간 중 식이섭취는 1일 2회, 10 g씩 오전 8시-9시, 오후 8시-9시까지 공급하였다. 산양삼은 경상북도 안동시 소재의 A농원에서 씨삼 4년근을 구입하여 사용하였다. 식이 구성은 Table 1과 같다.

**3. 샘플채취 및 분석방법**

본 실험은 4주간의 사육 후 희생 전 12시간 이상의 공복을 유지한 상태에서 에테르를 이용하여 마취하였고, 마취가 확인이 되면 개복한 후 주사기를 이용하여 좌심실에서 혈액을 채취하였다. 채혈이 끝나면 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Smart-R17, GYROZEN, Korea) 후 -70°C의 초저냉동고(NF-400SF, NIHON FREEZER, Japan)에 분석 시 까지 보관하였다. 실험에 필요한 시료인 하지의 골격근을 적출한 후 무게를 정량하고, 액체질소에서 급속냉동시킨 후 -70°C의 초저냉동고(NF-400SF, NIHON FREEZER, Japan)에 분석 시 까지 보관하였다.

**4. Western blotting**

근육의 처리는 20 nM Tris-Hcl, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, protease inhibitor cocktail(P3100-001, Sigma, USA)을 근육 샘플에 넣어 균질화 작업을 실시하였으며, 균질화 작업이 끝난 후 근육샘플을 10분간 1,200×g에서 원심분리 후 상층액을 분리한 다음 p53, bcl-xl, bcl-2, caspase-9, caspase-3의 상층액을 이용하여 bread-ford를 이용하여 각각의 시료의 단백질 분석을 위한 단백질정량을 하였다. 모든 단백질은 분석을 위하여 SDS-PAGE gel에 단백질 샘플 40 µg을 loading한 후에 전기영동하여 단백질을 분리하였다. 단백질 분리 후 PVDF membrane에 transfer 한 후에 blocking buffer(10% skim milk in PBS)를 이용하여 1시간 30분간 blocking 시켰다. 1차 항체인 p53(ab26, abcam, U.K) bcl-xl(#2764, Cell Signaling, USA), bcl-2(ab18210, abcam, U.K), caspase-9(#9506, Cell Signaling, USA), caspase-3(Cell Signaling, #9665, USA)를 over night 시킨 후 PBS(5% tween-20)를 이용하여 10분간 5회 세척 후 2차 항체인(SC-2005, Santa Cruz, USA Goat antirabbit IgG(Santa Cruz, USA)를 처리하여 2시간 동안 반응을 시킨 후 PBS(5% tween-20)로 10분간 5회 세척하였다. 밴드의 동정은 ECL Kit을 이용해 membrane을 발광시킨 후 엑스레이 필름에 현상하였으며, 나타난 밀도는 Densitometry (Inage j)를 이용하여 정량하였다.

**5. 통계처리**

연구결과와 데이터는 Windows용 통계프로그램 SPSS/PC\*18.0K를 이용하였으며, 모든 실험 결과는 평균과 표준

편차로 나타내었다. 각 그룹의 유의성 검증을 위하여 일원변량분석을 실시하였으며, 유의한 차이가 나타난 항목에 대해서는 Scheffé 법으로 사후검정을 하였다. 통계적 유의한 차이는  $p < 0.05$ 로 설정하였다.

**결 과**

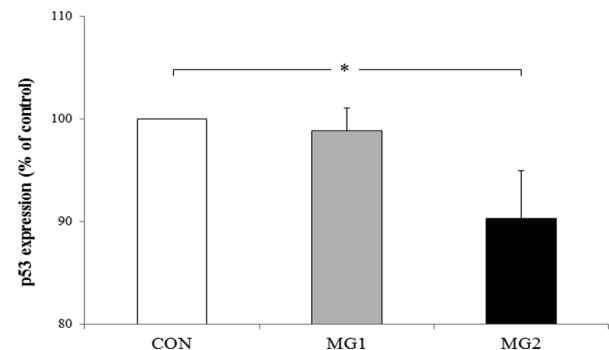
**1. p53 단백질 발현**

세포사멸의 활성화 유전자인 p53의 단백질 발현 결과는 Figure 1과 같다. CON군과 MG1군의 각 군에서는 유의한 차이가 나타나지 않았지만, MG2군은 CON군과 MG1군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).

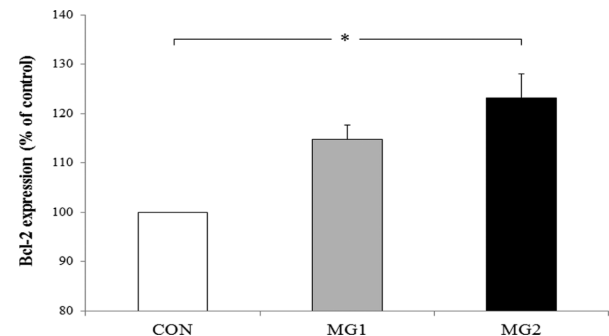
**2. bcl-2 단백질 발현**

항세포사멸 단백질인 bcl-2의 단백질 발현 결과는 Figure 2와 같다. CON군과 비교하였을 때 MG1군과 MG2군이 높게 나타났다. 특히, MG2군은 CON군에 비하여 통계적으로 높은 결과를 보였다( $p < 0.05$ ). MG1군과 MG2군 간에는 유의한 차이는 나타나지 않았다.

**3. bcl-xl 단백질 발현**



**Figure 1. Differences of p53 protein expression. CON: control group; MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group; MG2: 1.0%: mountain ginseng-added diet group; \*  $p < .05$ .**



**Figure 2. Differences of bcl-2 protein expression. CON: control group; MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group; MG2: 1.0%: mountain ginseng-added diet group; \*  $p < .05$ .**

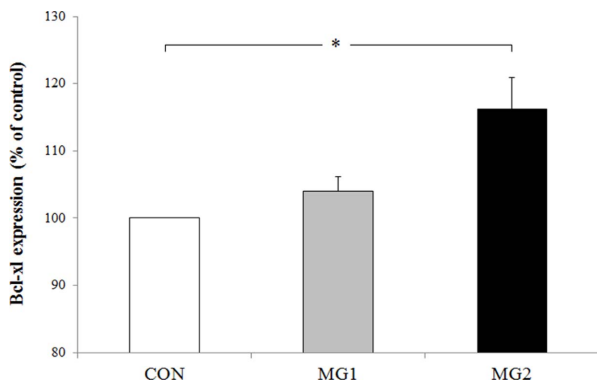


Figure 3. Differences of bcl-x1 protein expression. CON: control group; MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group; MG2: 1.0%: mountain ginseng-added diet group; \*  $p < 0.05$ .

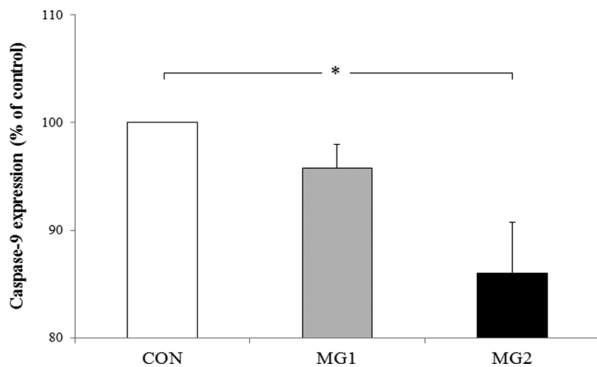


Figure 4. Differences of caspase-9 protein expression. CON: control group; MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group; MG2: 1.0%: mountain ginseng-added diet group; \*  $p < 0.05$ .

항세포사멸 bcl-2 protein family인 bcl-x1의 단백질 발현 결과는 Figure 3과 같다. CON군에 비하여 MG1군은 통계적으로 유의하게 높게 나타나지 않았으나, MG2군은 CON군과 비교하였을 때 통계적으로 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ), MG1군과 MG2군에서는 유의한 차이는 나지 않았으나 MG2군에서 높게 나타나는 경향을 보였다.

#### 4. caspase-9 단백질 발현

세포사멸 단백질 caspase-9의 단백질 발현 결과는 Figure 4와 같다. 각 그룹간에 비교를 하였을 때 MG2군이 CON군과 비교하여 통계적으로 유의하게 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), MG1군은 CON군보다 낮고, MG2군보다 높았으나 통계적으로 유의한 결과는 나타나지 않았다.

#### 5. caspase-3 단백질 발현

4주간 산양삼 함량에 따른 섭취로 인한 항세포사멸의 연구결과 세포사멸 단백질 caspase-3의 결과는 Figure 5와 같다. Caspase-9의 활성화는 pro-caspase-3를 활성화로 이어져 caspase-3의 발현량을 증가시키는데 각 그룹간에 비교

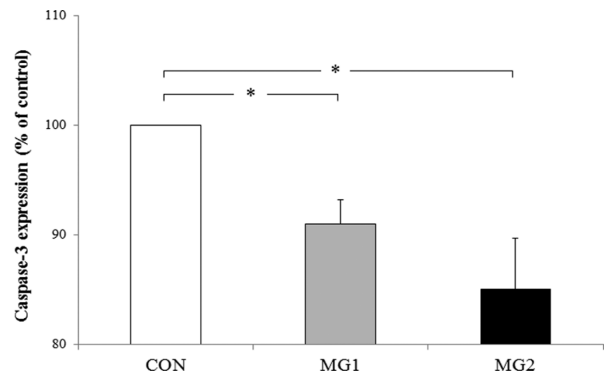


Figure 5. Differences of caspase-3 protein expression. CON: control group; MG1: 0.5% mountain ginseng-added diet group; MG2: 1.0%: mountain ginseng-added diet group; \*  $p < 0.05$ .

결과를 보면 CON군이 MG1군과 MG2군에 비하여 통계적으로 유의하게 높은 결과를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

## 고 찰

영양화합물의 잠재적 이익에 대한 관심의 증가는(Schaffer et al., 2011) 식품의 3차적 기능인 생체조절기능성으로 인체의 항상성유지 및 질병예방, 항암, 면역, 항노화 등 기능성 인자의 체내기작이 생리적으로 효능을 나타내고 있기 때문이다(Moon, 2003). 따라서 본 연구에서는 기능성식품으로서 인삼의 효능과 흡사하다고 알려진 산양삼을 이용하여 최근 섭취량이 증가하고 있는 고지방식이에 첨가 함량을 다르게 하여 4주간의 공급하였을 때 골격근의 항세포사멸 단백질 발현에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 본 연구의 결과에서는 세포의 기능을 정지시키고 세포사멸을 유도하는 p53단백질을 분석한 결과 CON군과 MG1군에서는 유의한 차이는 나지 않았으나 MG2군에서 유의하게 낮은 단백질 발현을 나타내었다. 최근 알려지고 있는 pro-apoptotic 유전자인 p53단백질은 산화스트레스와 nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B)의 관여로 인하여 미토콘드리아의 구조를 변경하여 형태학적 및 기능적 장애를 유발시켜(Chen et al., 2014; Saleem et al., 2014), 세포의 주기차단, DNA회복, 노화, 세포사멸을 선택적으로 조절하며 특히, 내인성 스트레스에 반응한다고 알려져 있다(Milisav et al., 2012). 또한 Sun et al.(2014), Oh et al.(2013)은 고지방식이와 약용식물의 복합처치는 염증 및 산화스트레스를 억제하여 세포를 보호하고 세포사멸 유도분자의 발현을 감소시킨다고 보고하고 있다. 본 연구에서 나타난 p53 단백질 발현 감소는 Kim and Son(2012)은 공급량을 달리한 산양삼의 항산화물질 연구결과에서 SOD활성은 산양삼 공급량이 증가 할 수록 높은 활성을 나타내었다고 보고로 일부

설명 가능할 것이다. 즉, Kwon et al.(2012)의 연구를 살펴보면 고지방식이와 산양삼 첨가를 달리하여 흰쥐를 대상으로 4주간 섭취시킨 결과 산양삼의 첨가량 증가는 골격근의 MDA를 감소시켜, 항산화활성이 효과적으로 증가하였다고 보고하고 있다. 따라서 산양삼 첨가량의 증가는 천연물이 함유한 폐놀성 물질의 섭취 증가로 인하여 산화 스트레스가 억제되고 항산화기능을 활성화시켜 pro-apoptotic 유전자인 p53이 감소하였을 것으로 사료된다.

세포사멸을 집행하는 caspase활성 경로에는 pro-apoptotic인 bid, bax, bak가 있지만 최종 caspase 3-9의 활성을 억제 하는 anti-apoptotic으로 bcl-2, bcl-xl이 있다(Zhao et al., 2009). 본 연구의 결과 항세포사멸 유전자인 bcl-2, bcl-xl의 단백질 발현이 CON군과 MG1군에 비하여 유의하게 높은 결과를 나타내었다. 이는 장뇌삼에 함유한 산성다당체는 세포사멸로 이어지는 p53경로와 미토콘드리아/카스파제 경로를 억제하는 bcl-2 family members의 발현량을 증가시키고, *Panax quinquefolium* L.(American Ginseng)의 에탄올 추출물 투여는 bcl-2, bcl-xl, bad를 증가시켜 항염증 및 항세포사멸을 유도한다고 보고에서도 추론할 수 있을 것이다(Bing et al., 2014; Huang et al., 2013). 본 연구에서 항세포사멸 유전자의 발현 증가는 천연 약용식물의 생리활성 물질이 항산화작용을 증가시켜, 세포사멸이 억제된 것을 알 수 있다. 예를 들어 천연 약용 식물인 인삼은 진세노사이드 Rg1과 사포닌이 항암, 항산화 등 다양한 약리 효과를 가진 것으로 보고되고 있으며(Choi et al., 2013; Li et al., 2014), 이를 뒷받침하여 주는 연구로서 산양삼 보강 섭취가 골격근의 항산화능의 활성화와 세포사멸 억제 효과에 대한 가능성을 제시하고 있다(Song et al., 2011). 따라서 본 연구에서 항세포사멸 유전자인 bcl-2, bcl-xl의 발현증가는 인삼의 종자를 이용한 산양삼의 효과가 자연산삼에 버금가는 것으로 알려져 있으므로 인삼의 약리작용 물질인 진세노사이드와 사포닌이 식이에 첨가되는 함량이 증가 하였을 것으로 추측되며, 이를 통하여 세포사멸을 억제하였을 것으로 사료된다.

한편, 고지방식으로 인해 증가된 체내의 지방 조직은 산화 스트레스의 증가로 인하여 지방세포형성 분자가 pro-apoptotic과 anti-apoptotic의 균형을 저해하여 세포사멸 저항성을 증가시키며(Hatia et al., 2014; Nagel et al., 2013), 이들 세포사멸의 중요한 효소인 cysteine proteases인 caspase-3, 6, 7이 세포사멸을 집행하며, 이들의 활성 중간체로는 caspase-8, 9가 있다고 밝혀져 있다. 본 연구의 caspase-9의 단백질 발현량은 CON군 보다 MG2군이 유의하게 낮게 나타났으며, MG1군은 유의한 차이는 나지 않았으나 CON군에 비해 낮은 경향을 나타내었다. 또한 세포사멸의 최종인자인 caspase-3의 단백질 발현량은 CON군과 비교하여 MG1군, MG2군이 유의하게 낮은 발현량

을 나타내었다. Jiang et al.(2015)은 PC12 cell에 장뇌삼 추출물 250  $\mu\text{mol/L}$ 의 처치 결과 intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ [ $\text{Ca}^{2+}$ ], 과부하와 ROS함량을 억제하고, mitochondrial permeability transition pore (mPTP)와 mitochondrial membrane potential (MMP)를 포함한 미토콘드리아의 기능을 재생하여, cytochrome C, caspase-activated deoxyribonuclease 억제제, caspase-3, caspase-9, 뿐만 아니라 ER 스트레스 발현량을 낮게 조절하게 된다고 하였다. 이는 인삼의 진세노이드가 세포질 이동을 저하시켜 미토콘드리아의 cytochrome C 방출을 감소시키고, 이로 인해 caspase-9 및 3를 억제시켰다는 보고에서도 나타난바 있다(Wang et al., 2013). 따라서 본 연구의 결과 세포사멸의 최종유전자로 caspase-9 및 3의 감소는 산양삼에 함유되어 있는 진세노사이드가 생물학적 활성에 영향을 주었을 것이라 사료되며, 그 외 산양삼이 가진 약용식물로서의 여러 생화학적 물질의 작용 및 생리학적 기전에 대한 보충 연구를 통하여 건강기능성식품으로서의 효능에 대하여 입증하여야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구의 결과 산양삼의 함량의 증가할 수록 세포사멸 유전자 p53의 발현량을 억제하고, 세포내 미토콘드리아에서 작용하는 항세포사멸 유전자 bcl-2와 bcl-xl의 발현량을 증가시켜, 최종 사멸인자인 caspase-9 및 3의 발현을 감소시켰다. 이러한 세포사멸 유전자의 억제 및 항세포사멸 유전자의 발현 증가는 산양삼의 함량에 따른 생리활성물질의 섭취증가로 인하여 항산화활성을 증가시켜 항세포사멸 작용을 하였을 것이라 사료된다. 따라서 산양삼의 기능성에 대하여 긍정적인 결과를 나타내어 향후 산양삼이 가진 약용식물로서의 여러 생화학적 물질의 작용 및 생리학적 기전에 대한 연구를 통하여 천연 건강기능성식품으로서 인체의 긍정적인 작용을 할 것이라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 산림청 ‘산림과학기술개발사업(과제번호: S121010L080100)’의 지원에 의해 이루어진 것임.

## References

- Ahn, Y.M., Park, H.S., and Kwon, K.R. 2007. Anti-cancer and anti-oxidant efficacies of wild ginseng and cultivated wild ginseng of Korea and China, Journal of Korean pharmacopuncture institute 10(1): 5-16.
- Bing, S.J., Kim, M.J., Ahn, G., Im, J., Kim, D.S., Ha, D., Cho, J., Kim, A., and Jee, Y. 2014. Acidic polysaccha-

- ride of *Panax ginseng* regulates the mitochondria/caspase-dependent apoptotic pathway in radiation-induced damage to the jejunum in mice, *Acta Histochemica* 116(3): 514-521.
- Cha, B.C., Yoon, H.C., Lee, D.H., Park, J.S., and Kwon, K.R. 2010. Component analysis of cultivated ginseng and mountain ginseng to the change of ginsenoside components in the process of heating and fermentation, *Journal of pharmacopuncture* 13(2): 33-49.
- Chen, L., Li, S., Guo, X., Xie, P., and Chen, J. 2014. The role of GSH in microcystin-induced apoptosis in rat liver: Involvement of oxidative stress and NF- $\kappa$ B, *Environmental toxicology* doi: 10.1002/tox.22068.
- Choi, K.H., Min, J.Y., Ganesan, P., Bae, I.H., and Kwak, H.S. 2015. Physicochemical and Sensory Properties of Red Ginseng Extracts or Red Ginseng Hydrolyzates-added Asiago Cheese during Ripening, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28(1): 120-126.
- Choi, S.J., Kim, Y.S., Song, Y.J., Kim, J.H., and Kim, J.S. 2013. Screening of Korean Herbal Medicines with Inhibitory Activity on Advanced Glycation End Products Formation (XI), *Korean Journal of Pharmacognosy* 44(4): 372-378.
- Gong, Y.Y., Liu, Y.Y., Li, J., Su, L., Yu, S., Zhu, X.N., Cao, X.P., and Xiao, H.P. 2014. Hypermethylation of *cox5a* promoter is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of high fat diet-induced insulin resistant rats, *The Public Library of Science ONE* 1: 9(12): e113784.
- Green, D.R. and Evan, G.I. 2002. A matter of life and death, *Cancer Cell* 1: 19-30.
- Hatia, S., Septembre-Malaterre, A., Le, Sage, F., Badiou-Bénéteau, A., Baret, P., Payet, B., Lefebvre, Hellencourt, C., and Gonthier, M.P. 2014. Evaluation of antioxidant properties of major dietary polyphenols and their protective effect on 3T3-L1 preadipocytes and red blood cells exposed to oxidative stress, *Free Radical Research* 48(4): 387-401.
- Huang, C.C., Chen, Y.M., Wang, D.C., Chiu, C.C., Lin, W.T., Huang, C.Y., and Hsu, M.C. 2013. Cytoprotective effect of American ginseng in a rat ethanol gastric ulcer model, *Molecules* 27: 19(1): 316-326.
- Jiang, Y., Li, Z., Liu, Y., Liu, X., Chang, Q., Liao, Y., and Pan, R. 2015. Neuroprotective effect of water extract of *Panax ginseng* on corticosterone-induced apoptosis in PC12 cells and its underlying molecule mechanisms, *Journal of Ethnopharmacology* 15: 159C: 102-112.
- Kavitha, C.V., Nambiar, M., Narayanaswamy, P.B., Thomas, E., Rathore, U., Ananda, Kumar, C.S., Choudhary, B., Rangappa, K.S., and Raghavan, S.C. 2013. Propyl-2-(8-(3,4-Difluorobenzyl)-2',5'-Dioxo-8-Azaspiro[Bicyclo[3.2.1] Octane-3,4'-Imidazolidine]-1'-yl) Acetate Induces Apoptosis in Human Leukemia Cells through Mitochondrial Pathway following Cell Cycle Arrest, *The Public Library of Science ONE* 26: 8(7): e69103.
- Kim, J.Y., Lee, S.K., Baik, H.W., Lee, K.H., Kim, H.J., Park, K.S., and Kim, B.J. 2008. Protective Effects of Glucagon Like Peptide-1 on HIT-T15  $\beta$  Cell Apoptosis via ER Stress Induced by 2-deoxy-D-glucose, *Diabetes and Metabolism Journal* 32: 477-487.
- Kim, S.S. and Son, S. Man. 2008. Oxidative Stress and Cell Dysfunction in Diabetes: Role of ROS Produced by Mitochondria and NAD(P)H Oxidase, *Diabetes and Metabolism Journal* 32: 389-398.
- Kim, Y.J. and Son, D.Y. 2012. Antioxidant and Inhibitory Effects of Korean *Panax ginseng* Extract on Pro-inflammatory Mediators in LPS-stimulated RAW264.7 Macrophages, *Journal of the Korean society of food science and nutrition* 41(10): 1371-1377.
- Kwon, D.K., Kang, J.Y., Song, Y.J., Kim, P.G., Seo, H.B., and Ryu S.P. 2012. Effects of Mountain Ginseng-added High Fat diet on Lipid Peroxidation and Antioxidant Protein Expression of Skeletal Muscle in Rat, *Journal of Korean Forestry Society* 101(1): 69-76.
- Li, J., Wei, Q., Zuo, G.W., Xia, J., You, Z.M., Li, C.L., and Chen, D.L. 2014. Ginsenoside Rg1 induces apoptosis through inhibition of the EpoR-mediated JAK2/STAT5 signalling pathway in the TF-1/Epo human leukemia cell line, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(6): 2453-2459.
- Li, N., Liu, B., Dluzen, D.E., and Jin, Y. 2007. Protective effects of ginsenoside Rg2 against glutamate-induced neurotoxicity in PC12 cells, *Journal of Ethnopharmacology* 22: 111(3): 458-463.
- Lim, W., Mudge, K.W., and Weston, L.A. 2007. Utilization of RAPD makers to assess genetic diversity of wild populations of north American ginseng (*Panax quinquefolium*), *Journal of Medicinal Plant Research* 73: 71-76.
- Lui, J.H.C. and Staba, E.J. 1980. The ginsenosides of various ginseng plants and selected products, *Journal of Natural Products* 43: 340-346.
- Milislav, I., Poljsak, B., and Suput, D. 2012. Adaptive response, evidence of cross-resistance and its potential clinical use, *International Journal of Molecular Science* 13(9): 10771-10806.
- Moon, J.W. 2003. The Present Situation and Therapeutic Effects of physiologically Functional Food, *Journal of the Korean professional engineers association* 36(6): 78-81.
- Nagel, S.A., Keuper, M., Zagotta, I., Enlund, E., Ruperez, A.I., Debatin, K.M., Wabitsch, M., and Fischer-Posovszky, P. 2013. Up-regulation of Bcl-2 during adipogenesis mediates apoptosis resistance in human adipocytes, *Molecular and Cellular Endocrinology* 25: 382(1): 368-376.
- Ning, N., Dang, X., Bai, C., Zhang, C., and Wang, K. 2012. *Panax notoginsenoside* produces neuroprotective effects in rat model of acute spinal cord ischemia-reperfusion injury, *Journal of Ethnopharmacology* 31: 139(2): 504-512.
- Oh, T.W., Lee, M.Y., Lee, H.W., and Park, Y.K. 2013. Neuroprotective effects of some herbal medicine plant extract

- against ischemia-reperfusion-induced cell death in SK-N-SH neuronal cells, *The Korea Journal of Herbology* 28(2): 45-53.
- Pan, M.H., Ghal, G., and Ho, C.T. 2008. Food bioactives, apoptosis, and cancer, *Molecular Nutrition and Food Research* 52(1): 43-52.
- Qi, B., Zhang, L., Zhang, Z., Ouyang, J., and Huang, H. 2014. Effects of ginsenosides-Rb1 on exercise-induced oxidative stress in forced swimming mice, *Pharmacognosy Magazine* 10(40): 458-463.
- Ricci, E.J., Muñoz-Pinedo, C., Fitzgerald, P., Bailly-Maitre, B., Perkins, G.A., Yadava, N., Scheffler, I.E., Ellisman, M.K., and Green, D.R. 2004. Disruption of mitochondrial function during apoptosis is mediated by caspase cleavage of the p75 subunit of complex I of the electron transport chain, *Cell* 11: 117(6): 773-786.
- Saleem, A., Iqbal, S., Zhang, Y., and Hood, D.A. 2014. Effect of p53 on mitochondrial morphology, import and assembly in skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Cell Physiology* doi: 10.1152/ajpcell.00253.
- Schaffer, M., Schaffer, P.M., Zidan, J., and Bar, Sela, G. 2011. Curcuma as a functional food in the control of cancer and inflammation, *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 14(6): 588-597.
- Song, Y.J., Kwon, D.K., Kang, J.Y., Seo, H.B., Kim, P.G., and Ryu, S. 2011. Effects of Mountain-cultivated ginseng ingestion on antioxidant capacity and apoptosis in rats, *Congress of Forestry Science of Korean Forest Society* 2011: pp. 926-929.
- Sun, W., Zhang, Z., Chen, Q., Yin, X., Fu, Y., Zheng, Y., Cai, L., Kim, K.S., Kim, K.H., Tan, Y., and Kim, Y.H. 2014. Magnolia extract (BL153) protection of heart from lipid accumulation caused cardiac oxidative damage, inflammation, and cell death in high-fat diet fed mice, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014:205849: doi: 10.1155/2014/205849.
- Varras, M., Polonifi, K., Mantzourani, M., Stefanidis, K., Papadopoulos, Z., Akrivis, C., and Antsaklis, A. 2012. Expression of antiapoptosis gene survivin in luteinized ovarian granulosa cells of women undergoing IVF or ICSI and embryo transfer: clinical correlations, *Reproductive Biology and Endocrinology* 7: 10: 74.
- Wang, H.P., Yang, X.B., Yang, X.W., Liu, J.X., Wang, Y.P., and Zhang, L.X. 2013. Chemical constituents from roots and rhizomes of *Panax ginseng* cultivated in Jilin province, China *Journal of Chinese Materia Medica* 38(17): 2807-2817.
- Wang, Y., Li, X., Wang, X., Lau, W., Wang, Y., Xing, Y., Zhang, X., Mam X., and Gao, F. 2013. Ginsenoside Rd attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via Akt/GSK-3 $\beta$  signaling and inhibition of the mitochondria-dependent apoptotic pathway, *The Public Library of Science ONE* 16: 8(8): e70956.
- Yamamoto, K., Ichijo, H., and Korsmeyer, S.J. 1999. BCL-2 is phosphorylated and inactivated by an ASK1/Jun N-Terminal protein kinase pathway normally activated at G<sub>2</sub>/M, *Molecular and Cellular Biology* 19(12): 8469-8478.
- Ye, E.J., Kim, S.J., Nam, H.S., Park, E.M., and Bae, M.J. 2010. Physiological Evaluation of Korean Mountain Ginseng and Korean Mountain Ginseng Leaf Tea, *Journal of The Korean Society of Dietary Culture* 25(3): 350-356.
- Yu, S.H., Huang, C.Y., Lee, S.D., Hsu, M.F., Wang, R.Y., Kao, C.L., and Kuo, C.H. 2014. Decreased eccentric exercise-induced macrophage infiltration in skeletal muscle after supplementation with a class of ginseng-derived steroids, *The Public Library of Science ONE* 11: 9(12): e114649.
- Zhang, J., Tang, J., Cao, B., Zhang, Z., Li, J., Schimmer, A.D., He, S., and Mao, X. 2013. The Natural Pesticide Dihydrorotenone Induces Human Plasma Cell Apoptosis by Triggering Endoplasmic Reticulum Stress and Activating p38 Signaling Pathway, *The Public Library of Science ONE* 26: 8(7): e69911.
- Zhao, Z., Yang, P., Eckert, R.L., and Reece, E.A. 2009. Caspase-8: a key role in the pathogenesis of diabetic embryopathy, *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology* 86(1): 72-77.