



# 人蔘이 CCl<sub>4</sub>에 의한 白鼠肝損傷 및 放射線障害에

## 미치는 影響에 對하여

### Effect of Panax Ginseng on CCl<sub>4</sub> induced liver injury and X-irradiation damage in rats

서울大學校 醫科大學 生化學教室

<指導 李 基 寧 教授>

崔 永 祚

#### I. 序 論

韓國固有의 藥草인 人蔘은 補身劑로 널리 愛用되어왔거니와 當教室에서는 人蔘의 藥效作用에 對한 生化的研究로 家兎를 實驗動物로 使用하여 人蔘이 脂質代謝에 미치는 影響을 調査한바 cholesterol 投與에 의한 hypercholesterolemia가 人蔘投與로 크게 抑制됨을 보았다.<sup>1)2)</sup>

또 放射線에 가장 敏感한 組織인 脾臟과 骨髓에 있어 放射線에 大端銳敏한 維生素 C와 核酸即 RNA, DNA 量의 變化를 基準으로삼아 著者は 共著로 人蔘投與가 <sup>60</sup>Co(500R 및 800R)  $\gamma$ 線으로 全身照射한 家兎에 미치는 影響을살피 放射線에 의한 該組織들의 維生素 C量과 核酸 特히 DNA 量의 減少가 人蔘投與로 크게 抑制됨을 觀察하여 維生素 C와 核酸量의 이와같은 改善으로 보아 放射線의 生物學的作用에 對한 人蔘의 큰 影響을 밝힌 바 있다.<sup>3)</sup> 따라서 放射線에 銳敏한 生體組織의 成分을 parameter 로하여 放射線障害에 對한 人蔘의 防禦作用을 追究하는 것은 實際面에서 裨益이 아니라 이에 關與하는 人蔘의 特殊成分이 純粹分離되어 化學成分이 밝혀진다면 既知의 放射線의 protective agent와 比較檢討하는데도 큰 意義가 있을줄 안다. 漢方藥으로서 또는 民間藥으로 強壯劑인 人蔘은 催淫作用以外에 胃腸 特히 肝臟機能을 補強하는데 널리 使用되고 있는것은 周知의 事實이다. 自古로 飲酒後 所謂獨蔘湯의 服用으로 飲酒後遺症의 輕快等은 飲酒家가 흔히 經驗하는바이며 또 肝臟機能이 나빠 顏色이 거이 黑色으로 變化한 患者들이 단지 人蔘湯만으로 健康이 거이 回復되는 例를 가끔 본다. 이리하여 肝臟機能이 크게 損傷되었을때 그 肝細胞의 代謝面에 있어서 人蔘이 어떠한 影響을 줄것이나를

살피는것은 人蔘效能을 生化學적으로 究明하는데 興味가 클 것이다. 人蔘成分에 關한 研究는 日本, 蘇聯 및 西獨等을 起始하여 여러나라에서 많이 推進되고 있으나<sup>4)</sup> 우리 環境으로서는 莫大한 研究費가 必要한 人蔘成分研究를 처음부터 着手하는 것은 거이 不可能한 것으로 首先 人蔘의 明確한 生物學的作用을 캐여낸 다음 各有效成分들을 screening test 形式으로 가려내어 그 化學成分까지 究明하는 方法이 妥當한 方法으로 生覺된다 本教室에서는 以上과 같은 趣旨에서 人蔘研究가 始作이 되고, 또 本研究가 企圖된 것이다. 일찍이 本教室에서는 알콜長期投與에 의한 白鼠臟器 特히 肝組織의 變化에 對한 生化學的研究를하여 알콜長期投與로 特히 核酸, 脂質代謝 및 蛋白質合成等에 顯著한 變化가 招來됨을 指摘한바 있다.<sup>5)6)</sup>

白鼠에 肝毒物質인 四鹽化炭素(CCl<sub>4</sub>)를 投與하여 肝障害를 惹起시켜 肝細胞損傷에 의한 脂質代謝異常 特히 中性脂肪의 激增, 에너지 및 核酸代謝의 變化에 起因되는 ATP, RNA 및 DNA 量의 變動等에 對하여 人蔘이 어떤 影響을 줄것이나하는 問題는 人蔘의 肝機能에 對한 效能을 밝히는데 큰 參考가 될 것이다. 이리하여 著者は 白鼠를 使用하여 CCl<sub>4</sub>投與前 10日間 人蔘을 每日 投與한 다음 CCl<sub>4</sub>를 주어 CCl<sub>4</sub>單獨投與群 및 對照群과 같이 上述한 代謝物質의 變動을 比較觀察하는 한편 역시 人蔘으로 前處理한 白鼠群에 800R의 X線으로 全身照射하여 X線單獨照射群 및 對照群과같이 肝의 ATP, RNA, DNA 및 脂質量의 變動을 觀察하여 여기 發表하는 바이다.

#### 實驗材料 및 實驗方法

##### I. 實驗動物, 人蔘, CCl<sub>4</sub> 投與法 및 X-線照射法

實驗動物은 Wistar 系의 雜種白鼠를 使用하였다. 서울大學校醫科大學生化學教室動物舍에서 飼育한 150g 內外的 암컷을 擇하였으며 飼育中 動物에게는 다음과같은 配合飼料를 一定量 供給하되 飲料水는 隨時로 攝取하게 하였다.

**配合飼料成分:** 밀(100g), 옥수수(300g) 粉乳(70g) 魚粉(70g) 및 酵母(20g)의 比率로 混合한 것이다.

人蔘은 下記한바와 같이 加熱煎湯液을 調製하여 一定量을 每朝一定時에 白鼠에 給與하였다. 即人蔘水浸液/ml (大略人蔘 50mg/마리, 1日量)를 rubber catheter No. 8을 使用하여 直接胃內로 投與하였으며 또 對照動物에는 水浸液代身에 물을 同一한 條件으로 給與하였다.

**人蔘煎出液調製法:** 約 10g의 上品人蔘을 2-3mm 두개의 切片으로 썰어 蒸溜水 約 100ml를 加하여 水浴上에서 可逆冷却裝置로 水分蒸發없이 約 10時間 加熱抽出한後, 그 濃液을 10倍로 稀석하여 4°C로 貯藏하되 5일이 넘은것은 使用치 않았다. 實驗動物은 10日間 人蔘을 每日 給與한뒤 CCl<sub>4</sub> 處理群은 18時間後에 또 X線照射群은 24時間後에 各各 屠殺하였다.

#### CCl<sub>4</sub> 投與群:

20% CCl<sub>4</sub>-olive 油液 0.5ml/100g 體重을 白鼠腹膜內에 注射하고 對照群에는 同量의 olive 油만을 注射하였다. 白鼠를 群當 2-3마리씩 다음과 같이 3群으로 區分하였다.

1) 對照群, 2) CCl<sub>4</sub> 만을 投與한 CCl<sub>4</sub> 投與群 3) 人蔘을 10日間給與한後 CCl<sub>4</sub>를 投與한 群(人蔘-CCl<sub>4</sub> 投與群).

**X線照射群:** 220KVp, 10mA에서 focal length 50cm를 두고 0.5mm Cu filter를 使用하여 dose rate 37R/min로 全量 800R을 白鼠全身에 照射하였다. 動物은 群當 2~3마리씩 다음과같이 3群으로 區分하였다.

即 1) 對照群, 2) X-線만을 照射한 X-線照射群 및 3) 人蔘을 10日間給與한後에 X-線을 照射한群(人蔘-X線照射群)

CCl<sub>4</sub> 投與實驗에서는 空腹時에 CCl<sub>4</sub>를 一回에 投與하고 18時間 斷食시킨後에 또 X線照射實驗에서는 X線照射後 24時間斷食시킨後에 白鼠群을 各各犧牲시켜 各各 肝臟을 摘出한다음 濾紙로 血液等を 充分히 除去하고나서 迅速히 torsion balance로 一定量을 秤量하여 各實驗에 使用하였다.

## II. 實驗方法

### 1. ATP의 定量法

Firefly luminiscence assay<sup>7)</sup> 法으로 肝組織內 ATP 量

을 測定하였다.

### Firefly luminiscence 酵素液調製法:

50mg의 眞空乾燥 firefly lantern(Sigma Co.)을 5ml의 氷冷 0.1 M sod. arsenate buffer, PH 7.4로 grinding하여 2~5分間 抽出하였다. 다음 이것을 水浴속에서 濾過한後 50mg의 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O를 加하여 溶解시킨것을 酵素液으로 使用하고 이 酵素液은 4°C로 貯藏하되 2日以上은 經過치 않았다.

**試料의 處理:** 肝조직 500mg을 迅速하게 正確히 秤取한다음 이것을 3ml의 湯水속에 넣고 蒸發을 防止하며 100°C에서 10分間 抽出하고 이 抽出上清液을 試料抽出液으로 하였다. 또 Sigma社處方에 依하여 肝組織 500mg을 2.5ml의 冷 0.5N HClO<sub>4</sub>를 加하고 磨碎하여 遠沈한後 그 上清液을 1N KOH로 中和한것을 試驗液으로 하였다. 上記 試料液 1.0ml에다 蒸溜水 1.2ml 및 酵素抽出液을 混合하여 即時 Photovolt Photofluorometer(Model 54)를 使用하여 螢光度를 測定하였다. ATP 標準液은 ATP(Sigma Co.)를 0.1M phosphate buffer, PH 7.4에다 溶解시켜 40r/ml가 되도록 調製하고 그 10r, 20r, 및 50r에 該當하는 標準曲線을 作成하여 ATP 量을 算出하였다.

### 2) 肝組織內核酸(RNA, DNA)定量法

肝組織內核酸定量法은 大略 Schneider 法<sup>8)</sup> 및 Schmidt-Tannhauser 法<sup>9)</sup>에 準하여 다음과같이 施行하였다. 即 組織의 20% homogenate 1.0ml에 冷 10% trichloroacetic acid(TCA)溶液 2.5ml를 加하여 酸可溶性成分을 遠沈分離해서 除去하고 殘渣에다 95% ethyl alcohol 5.0ml를 加하여 磷脂質成分을 抽出하고 遠沈分離後 除去하였다. 이 phospholipid component의 抽出除去操作은 2回以上 施行하였다. 以上과같이 酸可溶性 및 磷脂質成分을 除去한 殘渣에다 1N KOH를 加하여 37°C에서 20分間 靜置한後 이것에다 氷醋酸을 少量式滴加하여 PH 4로 調整한 다음 暫時 0°로 放置한後 이것을 遠沈하여 溶液의 RNA 劃分과 沈澱物의 DNA 劃分을 各各 分離하였다. 以上과같이 얻은 上清液의 ribonucleotide 溶液을 그대로 RNA 定量用試料로 하고 한편 沈澱物의 DNA-蛋白質成分에는 다시 50%TCA 溶液을 2.0 ml 加하여 100°C에서 10分間 水浴上에서 加熱하여 DNA 成分을 充分히 抽出하고 遠沈分離後 그 上清液을 DNA 定量用試料로 한것이다. RNA 定量은 Orcinol 法<sup>10)</sup>에 依하여 試料 1.0ml에 Orcinol 試藥(FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 100mg을 conc. HCl 100ml에 溶解하고, 使用直後에 6%알콜性 Orcinol 溶液 3.5ml를 加하여 調製함) 2.0ml를 加하고 100°C 水浴上에서 5分間加熱하여 生기는 靑色發色을 655

m $\mu$ 에서 Spectronic 20 spectrophotometer를 사용하여 비색定量하였다.

또 DNA定量은 Dische法<sup>11)</sup>에 의하여 試料 1.0ml에 精製한 diphenylamine 試藥(diphenylamine 1.0g을 氷醋酸 100ml에 溶解하고 濃硫酸 2.75ml를 加함) 2ml를 加하여 100°C 水浴上에서 10分間 加熱하여 生기는 靑色 發色을 595m $\mu$  波長에서 比色定量하였다. RNA定量에 使用한 標準 RNA溶液으로는 市販의 Merck 製酵母 RNA를 Chargaff法<sup>12)</sup>으로 精製한것을 使用하였으며, DNA定量에 使用한 標準 DNA溶液作成에는 Sigma 製 精製 DNA로 充當하였다.

또 肝組織에서 다음과같이 Hogeboom法<sup>13)</sup>으로 調製한 mitochondria 浮游液의 一定量에서 上述한 方法으로 RNA를 比色하고, 한편 總 N量을 micro-Kjeldahl法으로 定量하였다.

#### Mitochondria 調製法 :

秤量한 肝組織片을 即時 氷冷 0.25M 蔗糖液으로 20% homogenate를 만든다음 refrigerating centrifuge(International model PR-2)를 使用하여 0-2°C에서 700×g로 10分間 遠沈하였고 그 殘渣에 다시 0.25M 蔗糖液을 加하여 振盪混合한 後 10分間 同一條件으로 遠沈한 다음 그 上清液과 첫번째 얻은 上清液을 合하여 850×g로 再次 10分間 遠沈하였다. 이때 生진 殘渣를 0.25M 蔗糖液으로 mitochondria 浮游液을 만들어 試料로 하였다. 이 mitochondria 浮游液을 micro-Kjeldahl法으로 總 N含量을 定量하여 實驗成績의 base를 삼았다.

#### 3) 肝組織의 triglyceride, phospholipid 및 cholesterol 定量法 :

肝組織 1.0g을 正確하게 秤量하여 Teflon homogenizer 속에 넣고 methanol-chloroform(1:1) 混合液 16ml를 加하여 磨碎한 다음 遠沈하여 粗脂質抽出液을 얻었다. 다음 이 抽出液을 安田法<sup>14)</sup>에 의하여 cellulose column(0.5×10cm)을 通過시켜 脂質外的 不純成分을 吸着除去하고 그 濾液을 完全蒸發시킨 다음 그 殘渣에 다 chloroform 20ml을 加하여 脂質을 溶解시켜 이것을 silicic acid(Mallinkrodt Co.) column에 通過시켰다. 이때 triglyceride 成分은 濾液으로 나오고 silicic acid에 吸着된 phospholipid 成分은 methanol-chloroform 및 메타놀을 各各 10ml씩 通過시켜서 分離케 하였다.<sup>15)</sup>

##### 1. Triglyceride 測定法 :

前記 triglyceride 劃分은 이것을 水浴上에서 蒸發시킨 다음 Van Handel<sup>16)</sup>法에 準하여 chromotropic reagent를 使用하여 triglyceride를 定量하였다.

##### 2. Phospholipid—磷定量法

上記 phospholipid 劃分에다 메타놀을 加하여 25.0ml로 만든 다음 그 2.0ml를 取하여 Fiske-Sabbarow法<sup>17)</sup>으로 磷을 定量하고, 磷脂質量은 磷量에다 25를 곱하여 算出하였다.

##### 3. Cholesterol 定量法 :

Zak法<sup>18)</sup>으로 總 cholesterol量을 測定하였다.

##### 4. Acetate-1-<sup>14</sup>C의 肝組織脂肪酸內 incorporation 實驗法 :

白鼠各群에서 肝組織을 두마리分씩 pool로 하여 氷冷下에서 安全面刀날로 0.5mm 以下の 두께로 slice를 만든 다음 torsion balance를 使用하여 그 500mg을 迅速히 秤量한 後 Baruch等<sup>19)</sup>이 考案한 50ml 드리 incubation用 Erlenmeyer flask에 넣고 Lieber等<sup>20)</sup>의 方法에 準하여 Krebs-Ringer-Bicarbonate(KRB)溶液, PH 7.4 4.5ml와 acetate-1-<sup>14</sup>C(6.4×10<sup>6</sup> cpm) (Radiochemical Centre, Amersham)를 加하고 Warburg 裝置를 利用하여 37°C에서 3時間 shaking하면서 incubation시켰다. 다음 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.4ml를 加하여 冷水속에서 30分放置하였다가 90% KOH溶液 2ml를 넣고 60分間 120°C로 autoclave 속에서 脂肪酸을 鹼化시킨 다음 石油에틸을 每回 20ml씩 加하여 不鹼化物等을 3回 되풀이하여 抽出하여 除去하였다. 다음 煮沸水浴中에서 水層部の 殘存알콜을 蒸發시킨 後 濃 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 加하여 約 PH 3程度로 調整한 다음 游離된 脂肪酸을 石油에틸로 每回 20ml씩 넣어 3回抽出하고 이 抽出液을 0.05N 醋酸 25ml로 洗滌한 後 extract를 100ml 드리 비커에 옮겨서 N<sub>2</sub> gas 氣流에서 乾固시킨 다음 그 殘渣를 10ml의 메타놀에 溶解시켜 그 溶液의 0.5ml를 plating하여 赤外線 lamp로 乾燥시킨 다음 gas flow counter로 <sup>14</sup>C의 radioactivity를 測定하였다.

### Ⅲ. 實驗結果

가. 人蔘給與가 CCl<sub>4</sub> 投與白鼠肝에 미치는 影響 :

#### A. 肝組織 ATP量에 對한 影響

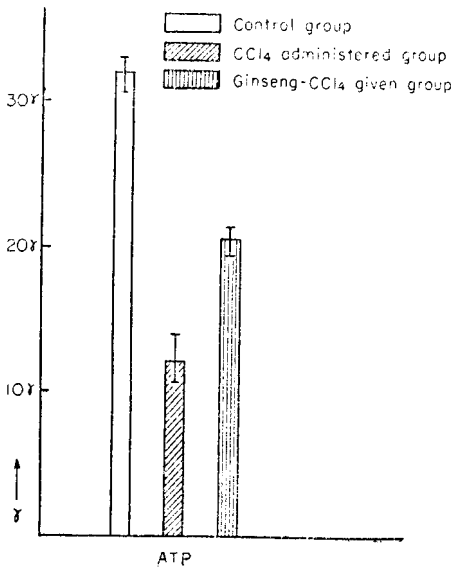
白鼠에 CCl<sub>4</sub>를 投與하면 18時間後에 肝 ATP量은 對照群의 32.1±3.5 $\gamma$ /g wet tissue에서 12.4±1.4 $\gamma$ /g로 激減한다. 그러나 人蔘을 미리 給與한 白鼠群에서는 肝 ATP量이 20.6±1.8 $\gamma$ /g로서 對照群에 比하면 減少되어 있으나 CCl<sub>4</sub>單獨投與群보다는 훨씬 높다. (第1表, 第1圖) 따라서 人蔘은 CCl<sub>4</sub>中毒에 依한 ATP 激減을 크게 防止함을 알수 있다.

#### B. 肝組織內核酸量에 對한 影響

RNA 含量은 對照群이 39.6±1.9mg/g wet tissue, CCl<sub>4</sub> 投與群이 39.0±3.0mg/g, 또 人蔘前處理한 CCl<sub>4</sub> 投

**Table 1.** Effect of Panax Ginseng on ATP content of liver of CCl<sub>4</sub> poisoned rats

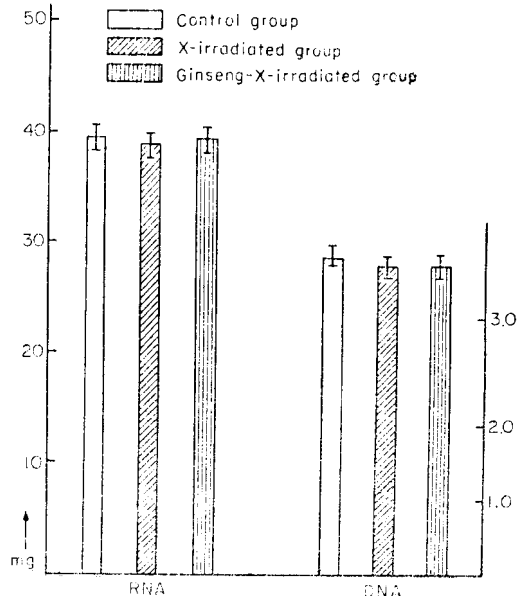
Control (γ/g wet tissue)	CCl <sub>4</sub> -treated (γ/g wet tissue)	Ginseng administered and CCl <sub>4</sub> -treated (γ/g wet tissue)
39.5	11.5	22.0
35.5	10.5	21.0
—	—	18.5
28.0	12.0	23.5
27.5	11.5	21.0
27.5	10.5	22.5
32.0	12.5	22.5
29.5	13.5	17.5
—	—	18.0
31.0	11.5	21.5
32.5	12.5	22.0
33.0	13.5	19.5
32.5	12.5	21.0
35.5	15.0	18.5
34.5	14.5	20.5
32.1±3.5	12.4±1.4	20.6±1.8



**Fig. 1.** Effect of Ginseng on ATP content of liver of CCl<sub>4</sub> poisoned rats

**Table 2.** Effect of Panax Ginseng on hepatic nucleic acid content of CCl<sub>4</sub> poisoned rats

Control (mg/g wet tissue)		CCl <sub>4</sub> treated (mg/g wet tissue)		Ginseng administered and CCl <sub>4</sub> -treated (mg/g wet tissue)	
RNA	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA
39.4	3.4	42.5	3.6	45.0	2.9
41.3	3.7	44.5	2.9	39.0	3.5
38.5	4.0	33.0	3.8	35.0	3.9
39.7	4.1	38.5	3.4	42.4	3.9
41.9	3.9	41.0	3.9	39.8	4.1
40.1	4.2	37.5	4.0	37.0	3.9
41.2	4.7	40.5	4.1	40.6	3.6
42.0	4.1	40.5	3.8	37.0	3.5
37.0	3.7	38.5	4.1	36.5	4.2
36.6	3.8	36.5	3.6	42.5	3.8
40.8	3.9	40.5	3.9	38.0	3.5
42.1	3.6	40.5	3.2	38.5	3.1
35.7	3.7	38.6	3.8	39.5	3.9
41.8	3.3	35.9	3.6	42.7	3.8
36.8	3.9	38.3	4.0	39.1	4.2
39.6 ± 1.9	3.8 ± 0.3	39.0 ± 3.0	3.7 ± 0.3	39.5 ± 2.7	3.7 ± 0.3



**Fig. 2.** Effect of Ginseng on hepatic nucleic acid content of CCl<sub>4</sub> poisoned rats

與群이 39.5±2.7mg/g 로서 CCl<sub>4</sub> 投與後 18時間에서는 肝組織內 RNA 含量에는 別變化가 없고 또 人蔘給與로 도 別影響이 없다.

肝組織 DNA 含量은 對照群이 3.8±0.3mg/g wet tissue 이고 CCl<sub>4</sub> 投與群이 3.7±0.3mg/g, 人蔘—CCl<sub>4</sub> 投與群이 3.7±0.3mg/g 로서, DNA 亦時 CCl<sub>4</sub> 및 人蔘 前處理로 影響을 받지 않는거 같다.(第2表, 第2圖)

한편 肝細胞 mitochondria 의 RNA 含量을 보면 例數가 3例에 不過하지만 CCl<sub>4</sub> 投與後 18時間에서는 對照群 및 人蔘投與群에 比하여 差果가 없다.(第3表)

### C. 肝脂質變化에 對한 影響

1. Triglyceride 量 : 白鼠肝은 CCl<sub>4</sub> 投與로 18時間後에 正常值 4.1±0.9mg/g wet tissue 에서 15.2±4.2mg/g 로 激增하였으며 人蔘—CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 9.8±2.9mg/g 로서 對照值에 比하여 相當히 增加되었으나 CCl<sub>4</sub> 單獨群 보다는 增加率이 훨씬 낮다. 人蔘投與가 CCl<sub>4</sub> 投與에 依한 肝中性脂의 激增을 抑制함을 알수 있다.

2. 總 Cholesterol 量 : CCl<sub>4</sub> 投與群의 肝組織內總 cholesterol 含量은 10.3±4.0mg/g 로서 對照值 6.4±1.0mg/g 보다 훨씬 增加되었으나 人蔘—CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 7.4±5.6mg/g 로서 CCl<sub>4</sub> 에 依한 肝組織 cholesterol 의 增加 역시 人蔘給與로 減少되었음을 알수 있다.

Table 3. Effect of Panax Ginseng on mitochondrial RNA content of liver in CCl<sub>4</sub> poisoned rats

Control ( $\frac{\mu\text{g RNA} \times 100}{\mu\text{g Protein N}}$ )	CCl <sub>4</sub> treated (#)	Ginseng administered and CCl <sub>4</sub> -treated (#)
12.1	10.8	10.5
10.6	11.0	10.9
9.8	10.5	10.2
10.8±1.3	10.7±0.2	10.6±0.4

3. 燐脂質量 : CCl<sub>4</sub> 投與群의 肝燐脂質量은 32.3±6.1mg/g 로서 對照值의 38.9±4.8mg/g 에 比하여 減少되었으며 한편 人蔘—CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 38.4±4.5mg/g 로서 對照值와 거의 같다. 이와같이 肝燐脂質含量은 CCl<sub>4</sub> 投與로 減少되며 人蔘投與는 그 減少率을 輕減케함을 알수 있다.(第4表, 第3圖)

以上과 같이 人蔘의 前處理는 CCl<sub>4</sub> 中毒肝의 脂質의 量的變化를 크게 改善한다.

4. 肝組織切片으로 acetate-1-<sup>14</sup>C 를 使用하여 肝組織脂肪酸內 轉入率을 *in vitro* 로 살핀 結果 cpm 이 對

Table 4. Effect of Panax Ginseng on the content of hepatic lipids in CCl<sub>4</sub> poisoned rats

Control(mg/g wet tissue)			CCl <sub>4</sub> -treated(mg/g wet tissue)			Ginseng administered and CCl <sub>4</sub> -treated(mg/g wet tissue)		
Tri-glyceride	Cholesterol	Phospholipid	Triglyceride	Cholesterol	Phospholipid	Triglyceride	Cholesterol	Phospholipid
3.0	5.6	47.0	14.2	9.1	35.2	7.5	7.4	41.5
3.4	5.7	44.5	15.1	8.2	34.2	7.8	7.7	40.5
3.0	5.1	43.0	14.9	10.1	36.2	8.0	7.1	36.2
3.2	7.2	39.2	19.2	23.5	35.0	15.0	12.5	40.0
—	—	—	25.0	13.4	39.2	—	—	—
4.6	5.6	39.0	16.5	11.5	32.0	10.0	9.0	33.8
4.4	5.5	37.5	19.8	12.4	24.0	8.2	8.8	39.0
5.3	6.5	35.4	11.6	6.0	24.8	8.3	5.2	33.2
6.6	6.0	34.2	15.7	6.2	31.4	12.6	6.6	30.6
—	—	—	14.8	14.1	28.5	9.1	6.2	35.4
5.0	6.4	32.4	16.6	8.7	29.5	9.6	5.1	32.4
5.8	7.0	33.4	16.8	7.8	22.0	11.7	7.2	31.6
3.8	7.2	42.3	15.0	8.5	42.3	8.88	6.2	41.0
3.8	6.4	40.0	14.6	8.2	40.0	9.2	6.1	44.8
3.7	6.3	38.9	6.0	7.8	32.0	4.6	6.6	38.0
3.1	5.6	—	6.3	7.4	—	5.5	6.4	—
3.6	8.4	—	16.4	12.0	—	14.5	9.3	—
4.5	8.5	—	15.4	11.4	—	12.3	8.2	—
4.1±0.9	6.4±1.0	38.9±4.8	15.2±4.2	10.3±4.0	32.3±6.1	9.8±2.9	7.4±5.6	38.4±4.5

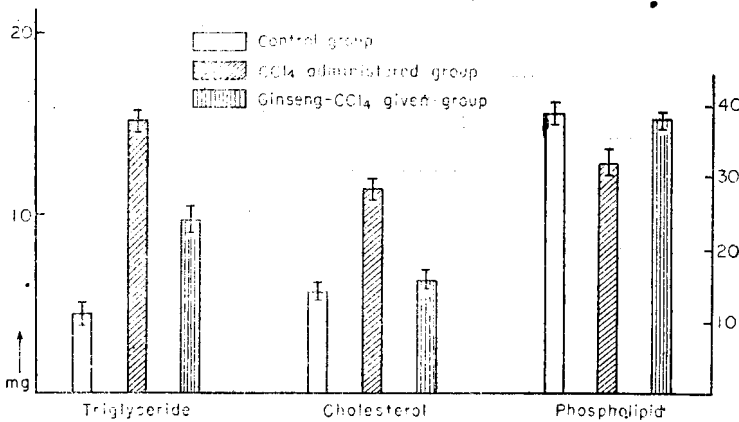


Fig. 3. Effect of Ginseng on the content of hepatic lipids in CCl<sub>4</sub> poisoned rats.

照群의 1072±247에 비하여 CCl<sub>4</sub> 投與群은 1821±325로 相當히 增加하여 CCl<sub>4</sub> 中毒에 依한 肝組織脂肪酸合成의 增加를 알수 있다. 그러나 人蔘-CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 cpm 이 1464±287로서 對照群 보다는 增加되었으나 CCl<sub>4</sub> 單獨投與群에 비하면 增加率이 적다. 이와 같이 放射性 acetate 에 依한 脂肪酸 轉入率의 差異는 中性脂肪量의 變化를 그대로 反映하고 있다. (第5表)

Table 5. Effect of Panax Ginseng on incorporation of acetate-1-<sup>14</sup>C into fatty acids of liver slices in CCl<sub>4</sub> poisoned rats

Control cpm	CCl <sub>4</sub> treated cpm	Ginseng administered and CCl <sub>4</sub> treated cpm
1132	1630	1402
1014	1476	1280
824	1604	1064
784	1804	1208
1420	2332	1850
1258	2080	1620
1072±247	1821±325	1,404±287

나. 人蔘投與가 X線照射白鼠肝에 미치는 影響:

A. 肝組織 ATP 量 變化에 對한 影響

線量 800R 의 X線全身照射로 白鼠肝의 ATP 量은 對照值 36.41.0γ/g wet tissue 에서 13.9±2.6γ/g 로 激減하였다. (第6表, 第4圖)

그러나 人蔘-CCl<sub>4</sub> 投與群에 있어서 는 20.0±2.5γ/g 로서 對照值에 비하여 相當히 減少되어 있으나 CCl<sub>4</sub> 單獨投與群 보다는 相當히 높다(P<0.001). 이와 같이 人蔘은 X線全身照射에 依한 肝 ATP 量의 激減을 防止함을 보였다.

B. 肝組織內核酸量에 對한 影響

肝內 RNA 量은 800R 의 X線照射로 X線照射群이 對照值 41.0±3.9mg/g 에서 37.2±2.2mg/g 로 減少되었으며 (P<0.001), 人蔘投與-X線照射群에서는 39.3±3.3 mg/g 로서 X線照射群에 비하여 높다. (P<0.01)(第7表, 第5圖)

肝內 DNA 量은 X線照射로 對照值 4.1±0.4mg/g 에서 3.3±0.2mg/g 로 減少되었으며 (P<0.001) 人蔘投與-X線

Table 6. Effect of Panax Ginseng of ATP content of liver of whole-body irradiated rats

Control (γ/g wet tissue)	X-irradiated (γ/g wet tissue)	Ginseng administered and X-irradiated (γ/g wet tissue)
40.5	18.5	24.0
38.0	17.0	23.0
35.5	15.5	22.0
38.5	12.5	18.5
32.0	15.2	21.0
31.5	12.0	19.5
—	11.5	19.0
49.5	12.0	17.0
36.0	11.5	18.0
36.4±1.0	13.9±2.6	20.0±2.5

照射群은 3.7±0.4mg/g 로서 對照值 보다 減少되었으나 X線照射群 보다는 높다(P<0.01). 이와 같이 人蔘投與는 X線全身照射에 依한 肝內核酸量의 變化를 輕減케한다.

C. 脂質量에 對한 影響:

1. Triglyceride 量: 白鼠肝은 X線全身照射로 肝 triglyceride 量은 對照值 4.7±0.5mg/g 에서 10.9±2.9 mg/g 로 增加되었으나 人蔘投與 및 X線照射群에서는 6.9±2.5mg/g 로서 對照值와 X線照射群值의 中間值가 된다. 따라서 人蔘投與는 X線照射에 依한 肝의 中性脂

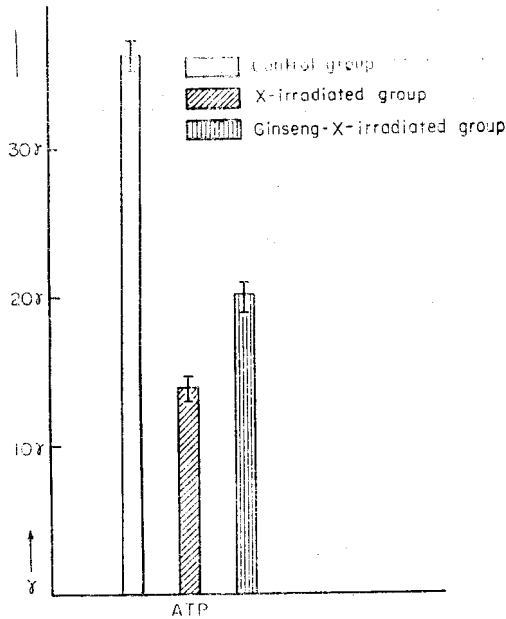


Fig. 4. Effect of Panax Ginseng on ATP content of liver of whole-body irradiated rats

Table 7. Effect of Panax Ginseng on hepatic nucleic acid content of whole-body irradiated rats

Control (mg/g wet tissue)		X-irradiated (mg/g wet tissue)		Ginseng administered and X-irradiated (mg/g wet tissue)	
RNA	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA
45.0	3.8	42.4	3.2	46.5	4.5
40.0	4.7	37.5	2.8	38.0	3.2
41.4	3.3	36.0	3.0	38.6	3.7
41.2	3.9	36.5	3.6	39.0	3.6
44.2	4.6	35.5	3.6	40.5	4.1
40.1	4.3	36.5	3.2	40.0	3.6
39.0	3.9	36.5	3.4	37.5	3.9
38.0	3.8	37.0	3.2	35.0	3.6
41.1 ± 2.4	4.1 ± 0.4	37.2 ± 2.2	3.3 ± 0.2	39.3 ± 3.3	3.7 ± 0.4

增加를防止하는作用이있음을알수있다.

### 2. Cholesterol 量에 對한 影響:

X線照射群의肝內總cholesterol量은 $7.2 \pm 0.8$ mg/g으로照射值 $6.4 \pm 1.1$ mg/g보다若干높고( $P < 0.01$ )人蔘投與-X線照射群은 $6.9 \pm 2.9$ mg/g로서對照群과거

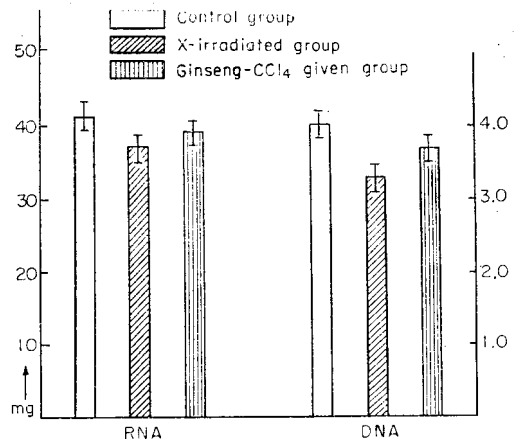


Fig. 5. Effect of Panax Ginseng on hepatic nucleic acid content of whole-body irradiated rats

이 같다.

### 3. 燐脂質量에 對한 影響:

X線照射로白鼠肝의燐脂質量은 $35.1 \pm 3.7$ mg/g으로서對照值 $41.0 \pm 3.9$ mg/g에比하여알다. ( $P < 0.001$ )人蔘投與-X線照射群은 $35.1 \pm 3.7$ mg/g으로X線照射群値와거이같다.(第8表,第6圖)

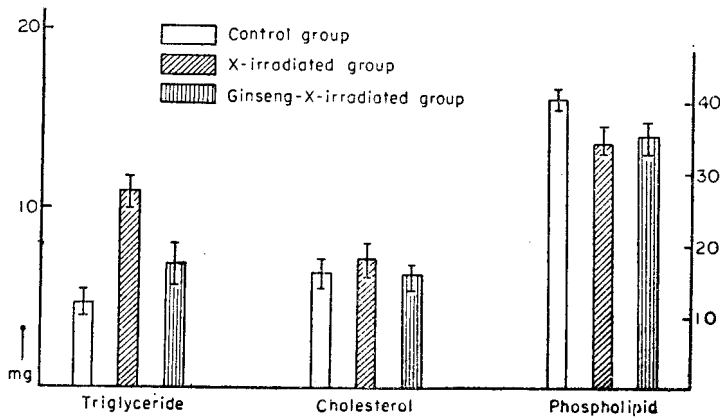
以上 모든實驗結果를綜合하여보면적어도肝細胞의에너지,核酸및脂質等の代謝面으로보아人蔘投與가CCl<sub>4</sub>에依한肝損傷및放射線障害를크게抑制할수있음을示唆한다.

## IV. 考 察

從來實驗動物에依한肝臟障害研究에여러化學物質即CCl<sub>4</sub>, chloroform, ethionine, thioacetamide, dimethylsamine 등이使用되어왔고最近에와서는tetracycline<sup>21)</sup>도利用되고있다.即이러한藥物들이肝에對하여短時日에正確하고또甚한障害를주는故로肝損傷에關한病理組織學的또는電子顯微鏡的研究또는그豫防및治療에關한여러agent等の生化學的研究에가장便利하고適合하기때문이다.CCl<sub>4</sub>는經口的,皮下또는腹膜內注射및吸入等の方法으로動物에投與되어惹起되는肝損傷에對해많은形態學的研究가되어있다.그主要한變化를간추려보면그様相은CCl<sub>4</sub>의投與量및投與後經過時間에따라큰差異가있으나急性病狀으로肝細胞의hydropic swelling壞死및脂肪浸着들을들수있다.그러나CCl<sub>4</sub>의이와같은肝

**Table 8.** Effect of Panax Ginseng on the content of hepatic lipids in X-irradiated rats

Control(mg/g wet tissue)			X-irradiated(mg/g wet tissue)			Ginseng administered and X-irradiated(mg/g wet tissue)		
Tri-glyceride	Cholesterol	Phospholipid	Triglyceride	Cholesterol	Phospholipid	Triglyceride	Cholesterol	Phospholipid
4.6	7.9	41.0	11.1	8.1	37.2	4.0	5.0	36.2
4.3	7.8	43.5	14.2	7.5	39.2	5.8	6.1	35.4
4.6	—	36.0	7.2	—	30.4	5.3	6.4	39.4
5.1	5.5	44.4	6.5	7.3	31.6	3.3	6.9	31.6
4.2	6.5	38.0	14.8	7.2	30.0	3.0	6.1	40.8
4.4	5.0	44.5	10.5	7.5	39.0	10.0	5.0	37.3
5.4	6.2	—	11.1	8.5	—	6.6	7.0	—
5.6	5.7	—	8.5	6.4	—	9.1	5.6	—
5.6	5.2	—	12.0	6.2	—	6.7	6.0	—
4.7±0.5	6.4±1.1	41.0±3.9	10.9±2.9	7.2±0.8	34.5±4.3	6.9±2.5	6.0±0.9	35.1±3.7



**Fig. 6.** Effect of Ginseng on the content of hepatic lipids in X-irradiated rats

損傷의 作用 mechanism 은 아직도 確實치 않다. CCl<sub>4</sub>에 의한 急性中毒肝에서 電顯所見으로 mitochondria의 構造變化를 보았다 하며<sup>22, 23</sup> 또 CCl<sub>4</sub>는 肝細胞의 endoplasmic reticulum 및 mitochondria 腫脹을 惹起하고 다음 中性脂肪이 浸着된다고 한다.<sup>24, 25</sup> CCl<sub>4</sub>는 直接 mitochondria를 物理적으로 侵犯하여 mitochondria의 解體를 招來하여 에너지生産을 못하게 한다고 한다.<sup>26</sup> 肝의 脂肪浸着의 原因으로 mitochondria에 의한 脂肪酸化의 障害를 생각할수 있으나 mitochondria 損傷을 차져 볼수 없는데도 脂肝이 發生된다고 한다.<sup>27</sup> 肝의 脂質代謝와 密接한 關聯性이 있는 것으로 endoplasmic reticulum의 膜成分을 생각하는 이가 있으며<sup>28</sup>, Recknagel, Lombardi 및 Schotz 등<sup>29</sup>은 CCl<sub>4</sub>中毒肝에 있어서 肝의 triglyceride secretory mechanism의 故障이

가장 重要한 變化로 보고 있다. 또 肝細胞壞死, 肝內酵素의 leakage 및 mitochondria의 損傷은 서로 關聯性이 있으나 退行性脂肪變性은 單 現象으로 보고 있다.<sup>30</sup>

實驗動物에 CCl<sub>4</sub>를 給與하면 肝組織에 中性脂肪(triglyceride)이 많이 沈着되고 肝機能에 障害가 招來되며 또 centrolobular necrosis가 惹起되는 것은 이미 잘 알려져 있는 事實이다.<sup>26, 27, 31, 32, 33</sup> 肝組織은 大量의 triglyceride를 血漿속에 배설하는게 正常機能이지만 CCl<sub>4</sub>中毒으로 肝組織의 이와 같은 secretory mechanism이 障害를 입어 中性脂肪이 蓄積되는 結果로 解釋하고 있다.<sup>34</sup> 動物에 CCl<sub>4</sub>를 投與하

면 1時間內에 34%, 3時間에 195%나 肝組織의 triglyceride가 增加된다.<sup>35</sup> 脂肪酸化의 異常 또는 oxidative phosphorylation의 uncoupling 만으로는 肝組織의 早期增加를 說明할수 없고 CCl<sub>4</sub>給與後 4時間에 microsome의 酵素인 glucose-6-phosphatase가 正常值의 59%로 減少<sup>36</sup>되는 것으로 미루어 보아 肝細胞質의 endoplasmic reticulum의 膜性成分은 그 mechanism은 잘 모르지만 肝脂質代謝에 가장 密接한 關係가 있는 場所로 생각된다. 體內脂質運搬에 있어 肝조직의 重要한 役割로 보아 肝의 脂質 secretory mechanism이 脂質代謝에 直接關與할 公算이 크고 CCl<sub>4</sub>로 이 mechanism이 마비되는 것으로 推測된다.<sup>29</sup> CCl<sub>4</sub>中毒으로 肝細胞內 endoplasmic reticulum의 膜性成分의 構造 및 機能上 큰 變化가 招來되며<sup>37, 38</sup> 이 膜成分은 蛋白質合成뿐 아니라 肝



細胞의 中性脂肪 또는 lipoprotein 合成에 關與되는 곳이고 secretory mechanism 이 存在하여 있는 곳이다.<sup>39)</sup> 한편 Seakins<sup>40)</sup>에 依하면 CCl<sub>4</sub>는 血漿 lipoprotein 의 蛋白質 moiety 合成을 크게 害치고 甚하면 結局 脂肪 肝이 惹起되며 血漿脂質이 減少된다고 하였다. triglyceride 는 普通 hepatic lipid-acceptor 와 結合되어 lipoprotein 으로서 血漿으로 運搬된다는 것인데 肝脂質—hepatic lipid acceptor 合成이 阻害되면 肝에 脂肪이 增加된다는 것이다.<sup>41, 42, 43)</sup>

한편 linoleic-1-<sup>14</sup>C acid 를 使用한 肝조직脂質內 incorporation 實驗<sup>44)</sup>을 보면 正常白鼠肝脂質內에 注射한 全 radioactivity 의 17.9%가 轉入되었는데 그中 52.8%가 中性脂肪, 47.2%가 磷脂質區分에 들어 있다. 그러나 CCl<sub>4</sub> 投與群에는 CCl<sub>4</sub> 處理後 4時間에 注射한 radioactivity 의 27.4%가 肝脂質에 incorporate 되었고 이中 66.7%가 中性脂에 33.2%가 磷脂質區分에 分布되어 있다 한다. 即 <sup>14</sup>C로 標識된 linoleic acid 를 注射한지 20 分에 CCl<sub>4</sub> 處理群은 對照群에 比하여 더 빨리 中性脂肪이나 磷脂質에 incorporate 됨을 알 수 있다. 또 Maling<sup>45)</sup>도 <sup>14</sup>C로 標識한 palmitic acid 에 依한 CCl<sub>4</sub> 處理動物의 肝脂質內 incorporation 이 時間經過에 따라 相當히 變化가 있음을 報告하였다.

또 Weinstein 등<sup>46)</sup>은 acetate-1-<sup>14</sup>C 를 使用하여 CCl<sub>4</sub> 投與白鼠群의 肝조직 全脂質內 incorporation 率이 對照群 보다 높다고 指摘하였다. 即 CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 肝조직의 gram 當 灌流한 全 acetate-1-<sup>14</sup>C 의 radioactivity 는 3.36%로 incorporate 되어 對照群의 2.06% 보다 높다. 또 incorporate 된 <sup>14</sup>C 의 肝조직 脂質內 分布를 보면 CCl<sub>4</sub> 投與群에서는 中性脂肪이 67.1%, 磷脂質이 32.1%이며 對照群에서는 中性脂肪이 40.7%, 磷脂質이 58.4%로서 그 比率이 反對로 되어 있다. CCl<sub>4</sub>는 肝의 gluconeogenesis 를 減少시키며 <sup>14</sup>C로 標識한 아미노酸注射로 CCl<sub>4</sub> 投與群의 肝조직內 RNA 의 <sup>14</sup>C-incorporation 에는 큰 變化는 없으나 肝脂肪에서는 倍로 增加되었다. 이것으로 보면 아미노酸의 炭素는 hexose-monophosphate(HMP) shunt 보다는 lipogenesis 의 代謝路를 取했음을 알 수 있다. 이와 같이 CCl<sub>4</sub>로 生成되는 肝脂의 變化는 肝에서의 脂肪排泄의 減少에 依據할 뿐만 아니라 含N物質等에서의 lipogenesis 의 亢進에도 起因된다고 한다.

實驗動物을 CCl<sub>4</sub>로 處理하여 惹起되는 肝損傷에 있어 重要한 組織學的變化인 壞死와 脂肪浸着은 Rees 등<sup>47, 48)</sup>이 指摘한바와 같이 pathogenic mechanism 이 서로 많은 경로로 推測이 든다. Leach, Forbes<sup>49)</sup>와 Leduc, Wi-

lson<sup>52)</sup> 등은 sulfa 劑인 sulfaguandine 과 sulfathiazol 의 給與로 CCl<sub>4</sub> 中毒에 依한 hepatic necrosis 가 有意義하게 減少되었다고 하며, Gallager<sup>50)</sup>에 依하면 phenergan 또는 anthisan 으로 肝毒物質인 thioacetamide 投與白鼠의 hepatic necrosis 를 거이 防止할 수 있다고 한다. 또 adrenalectomy 의 前處理가 白鼠의 CCl<sub>4</sub> 中毒肝의 損傷을 훨씬 輕減시켜 脂肪浸着에는 別效果가 없었지만 hepatic necrosis 를 減少시켰다고 한다.<sup>50)</sup> Rees<sup>47)</sup>도 phenergan 및 anthisan 의 投與와 adrenalectomy 의 前處理 등이 肝壞死發生을 防止하고 肝組織內 各種酵素의 循環血內의 漏出等을 防禦함을 確認하였다. 한편 Crafton 등<sup>51)</sup>은 lipid antioxidant 인 DPPD(N, N-diphenyl-p-phenylene-diamine)의 前處理로 CCl<sub>4</sub> 中毒白鼠의 血漿內 triglyceride 의 減少를 防止한다 하고 Di Luzio 등<sup>52, 53)</sup>은 DPPD 로 하여 CCl<sub>4</sub>로 惹起된 肝의 脂肪蓄積과 hepatic necrosis 를 有效하게 防止하고 또 死亡率을 減少케 한다고 報告하였다. 이와 같은 効能은 酸化防止劑인 DPPD 의 lipoperoxidation 抑制作用에 있는 것으로 보고 있다.<sup>54)</sup>

이리하여 CCl<sub>4</sub> 또는 알콜로 生起되는 肝障害의 pathogenesis 의 한 要因으로서 細胞內脂質의 亢進된 peroxidation 을 重要視하고 있다.<sup>55, 56)</sup> 한편 Yun<sup>57)</sup>은 白鼠를 使用하여 CCl<sub>4</sub> 處理後 大量의 crystalline RNase 를 腹膜內注射로 投與하여 主要로 病理組織學的研究로 hepatic necrosis 뿐 아니라 fatty metamorphosis 가 同時에 顯著하게 減少됨을 報告하고, CCl<sub>4</sub>에 依한 肝細胞損傷은 核酸代謝障害에 2次的인 意義가 있지 않나 推想하고 있다.

또 CCl<sub>4</sub> 中毒에 依한 肝細胞障害로 mitochondria 의 構造와 機能에 變化를 招來하여 mitochondria 의 透過性이 增加되고<sup>26)</sup> 生化學的變化로 NAD 의 消失<sup>31)</sup> 및 oxidative phosphorylation 의 高度의 uncoupling 과 ATPase 의 活性化를 들 수 있다.<sup>27, 58, 59, 60)</sup> 이것이 CCl<sub>4</sub>에 依한 肝그리코젠 減少<sup>32)</sup>와 CoA 減退 및 中性脂肪增加와 關聯된 것으로 보고 있다.

白鼠에 CCl<sub>4</sub> 少量을 single gastric intubation 으로 投與하여 7日後에 屠死하면 肝脂質 및 肝의 hydroxyproline 量이 크게 增加한다. 그러나 같은 量을 皮下注射하면 肝脂質이나 肝조직 hydroxyproline 量이 다 같이 增加됨을 못 본다 한다. microscopic lipase 生成率이 gastric 投與群, 皮下注射群에서 最高이고 necrosis 形成은 皮下注射群 보다 gastric 群과 吸入群에서 甚하다.<sup>61)</sup> 이와 같이 CCl<sub>4</sub> 投與方法에 따라 實驗成績에 差異가 生김을 알 수 있다.

한편 핵산과의 關聯性을 보면 Farber<sup>62)</sup> 등은 白鼠에 CCl<sub>4</sub> 投與後 24時間에 핵산량의 減少를 보았고 24時間後에 正常値로 回復된다고 하였다. 또 Tsuboi 등<sup>63)</sup>은 마우스에 CCl<sub>4</sub>를 經口로 給與하여 肝細胞의 初期壞死時期에 RNA와 DNA량이 減少되었다가 그後에 핵산량이 增加되었다고 한다. 그러나 Hoffman 등<sup>64)</sup>에 의하면 白鼠의 hepatic necrosis期에는 組織의 핵산량에는 別變化가 없다가 再生期에 가서 顯著한 增加를 보았다 한다. 또 Smuckler 등<sup>65)</sup>은 CCl<sub>4</sub> 投與後 3時間만에 肝組織의 電子顯微鏡所見으로 많은 肝細胞에 있어 endoplasmic reticulum 膜에 附着되어 있는 ribosome 粒子가 廣範圍하게 解離되고, 游離 ribosome의 不規則한 cytoplasm 內分布를 보여 주었으나 肝組織內 RNA, DNA 量에는 別다른 變化가 없다고 報告하고 있다. 또 Richter<sup>66)</sup>는 CCl<sub>4</sub> 中毒後 2時間의 白鼠 肝組織의 subcellular fraction의 RNA 分布를 研究한 結果 mitochondria의 RNA 含量이 顯著히 減少된데 反하여 上清液의 RNA 量은 많이 增加되어 있어 肝組織의 全 homogenate 內 RNA 量에는 變化가 없었었다. 著者の 實驗結果를 보면 CCl<sub>4</sub> 投與後 18時間에 肝組織內 RNA, DNA 量에 別變化를 못 보았고 따라서 人蔘投與에도 別影響은 없었고 또 肝 mitochondria에서도 RNA 量에는 變化가 없었다.

放射線의 生物學的作用은 一次的作用(直接效果)과 二次的作用(間接效果)으로 區分하여 생각할 수 있다. 即 直接效果로는 放射線에 expose된 組織 또는 細胞內에 局限되어 일어나는 것으로 放射線에너지가 細胞成分에 直接 吸收되어 이온화가 되는 直接作用과 細胞內主成分인 水分子가 放射線飛跡 바로 近傍에서 分解되어 free radical이 생겨서 이것이 細胞成分에 作用하는 間接作用도 包含되는데 이 一次的作用이 放射線生物學的作用의 根源을 이루고 있다.

肝은 放射線에 對하여 抵抗이 대단히 강한 臟器로 推測되는데 이것은 肝의 再生力이 큰데 基因한다. 放射線의 大量照射로 肝內 그리코젠 量이 減少되며 또 脂肪浸潤이 생기는데 이러한 變化는 아마 他體部の stress와 非特異的適應現象으로 일어나는 것 같다고 한다.<sup>67)</sup>

또 中等度の 放射線照射로 거이 直刻의으로 副腎皮質의 비타민 C와 cholesterol 量이 減少되는데<sup>67), 3)</sup> 이것은 adrenal secretion의 增加를 意味하는 것으로 많은 各種 stress에 對한 反應으로 볼 수 있고 radiation을 nonspecific stress로 보는 學者가 많다.

放射線障害에 있어 가장 效果의인 chemical protector는 aminothioli이며 특히 自然아미노酸인 cysteine을 위시하여 cysteamine(MEA) S, 2-aminoethylisothiurea

dihydrobromide(AET), 2-mercaptoethylguanidine(MEG) 및 類似物質을 들 수 있다. 이러한 aminothioli compound의 放射線障害 防禦作用으로 1) free radical의 相競의 除去, 2) 標的分子에 水素原子提供에 依한 修復作用 3) 細胞內化學物質과의 相互作用 및 4) 組織 特히 骨髓, 脾의 hypoxia 形成 등을 生覺할 수 있다. 그러나 어느 것이든지 한가지만으로 모든 것을 說明할 수는 없다.<sup>67)</sup>

即 aminothioli은 free radical을 不活性化 即 radical scavenger의 役割을 한다는 것이다. cysteamine 등은 OH°와 같은 遊離基에 依해 酸化되어 resonance-stabilized free radical을 만들어 細胞成分과 反應을 못하게 한다는 것이다.

어떤 分子(RH)가 放射線照射로 다음과 같이 遊離基(R°)로 變化되면, 即 RH→R°+H로 생기는 R°이 cross-linking, R°+R°→R-R 또는 R°+O<sub>2</sub>→RO<sub>2</sub>°와 같이 peroxidation 基를 形成하면 aminothioli 등이 水素原子를 提供하여 原狀으로 復歸된다(R°+PH→RH+P°). 이와 같은 防禦作用은 Omerod, Alexander<sup>68)</sup> 등이 electron spin resonance를 使用하여 直接證明한 바 있다. 또 cysteamine과 같은 aminothioli劑는 組織蛋白質의 SH基와 一時的인 混合 disulfide를 形成하는데 이것이 遊離基로부터 攻擊을 받아 硫黃原子의 하나는 酸化되고 또 하나는 還元된다. 따라서 蛋白質의 S는 還元이 되고 aminothioli의 S는 酸化되어 蛋白質은 放射線에서 保護된다는 것이다. 또 thiol은 쉽게 酸化되는 故로 이러한 酸化로 하여 O<sub>2</sub>가 充分히 消耗되어 組織의 O<sub>2</sub>張力이 減少된다는 것이다. 끝으로 以上 thiol化合物은 細胞分裂과 DNA合成을 抑制하여 細胞分裂이 遲延되어 細胞를 放射線障害에서 保護한다는 것이다.<sup>69)</sup> 한편 spleen 또는 bone marrow cell transfusion이 放射線障害를 防止하는데 效果가 있는데 이것은 脾組織 또는 骨髓 homogenate內 intact cell이 stem cell로써 放射線障害를 입은 造血組織에 播種("seed") 또는 殖細胞("repopulate")의 役割을 하는 것으로 믿어진다.<sup>69)</sup>

以上文獻들을 要約하면 endoplasmic reticulum의 膜性成分은 mechanism은 잘 모르지만 肝組織에 있어서 脂質代謝와 密接한 關聯性이 있는 것으로 推測된다. 即 endoplasmic reticulum은 蛋白質合成 뿐만 아니라 中性脂肪 또는 lipoprotein合成에도 關與하고 있다는 것이다. CCl<sub>4</sub> 中毒肝에 있어서 細胞의 endoplasmic reticulum의 構造 및 機能障害를 血漿 lipoprotein의 protein-moiety合成이 低下되어 中性脂肪의 secretory mechanism의 變化로 肝에 脂肪이 浸着된다는 것이다. 또 CCl<sub>4</sub>에 依한 肝障害發生의 한 要因으로서 脂質의 充

進된 peroxidation 을 들고 있다. 한편  $CCl_4$ 의 中毒肝에서 mitochondria의 構造와 機能에 變化가 와서 oxidative phosphorylation의 高度의 uncoupling이 일어나고 또 ATPase 活性이 增大된다고 한다. 그런데 肝細胞壞死, mitochondria의 損傷 및 그 酵素의 漏出等은 相互間에는 關聯性이 있으나 退行性脂肪變性은 單 現象으로 보고 있다.

한편  $CCl_4$  中毒肝의 防止 또는 治療劑에 關한 研究를 概觀하면 sulfa劑는 hepatic necrosis를 有意義하게 減少시키고 antihistamine劑는 hepatic necrosis 및 酵素 漏出을 防止한다고 하며 DPPD와 같은 酸化防止劑는 hepatic necrosis를 有效하게 防止하는 同時에 肝의 脂肪蓄積과 血漿中性脂肪量의 減少를 防止한다고 한다. 抗酸化劑의 이와 같은  $CCl_4$  中毒肝의 脂質代謝에 미치는 影響을 lipoperoxidation의 抑制作用으로 最近 보고 있다. 이것이 事實이면 上述한 lipoperoxidation이 肝損傷의 主要한 發生要因이 될 것이라는 說을 뒷받침하는 것으로 볼수 있다. Yun<sup>67</sup>에 依하면 結晶 RNase의 大量給與로 hepatic necrosis와 肝의 脂肪蓄積을 同時에 顯著하게 減少시키는 것을 보고 肝細胞損傷에 對하여 核酸代謝障害에 一次的인 意義를 두고 있다.

著者は 人蔘投與로  $CCl_4$  中毒肝에 있어 ATP量의 減少와 triglyceride量의 激增을 相當히 防止하고 또 cholesterol量의 增加와 磷脂質量의 減少를 抑制함을 보았다. 또 放射性醋酸의 脂肪內轉入率로 보아 人蔘이  $CCl_4$ 에 依한 肝組織의 脂肪合成을 크게 抑制함을 보았다. 이와 같이 人蔘은 ATP量의 影響으로 보아  $CCl_4$  投與에 依한 肝細胞의 oxidative phosphorylation의 uncoupling을 크게 防止함을 알수 있다. 即  $CCl_4$ 에 依한 肝細胞 mitochondria의 損傷을 抑制함을 推測할수 있다. 또  $CCl_4$  中毒肝의 脂質 異常代謝를 人蔘이 크게 改善한 것으로 보아 從來의 學說로 본다면 endoplasmic reticulum의 機能을  $CCl_4$  損傷으로 부터 相當히 防禦함을 짐작할수 있다. 한편 組織學的所見으로도 人蔘投與群이  $CCl_4$  投與群에 比하여 hepatic necrosis가 훨씬 輕함을 보았다. 人蔘의 이와 같은 作用은 上述한 抗酸化劑를 聯想케 한다. 또 一般의 抗酸化劑에 放射線障害防止作用이 있음을 想起할 때 人蔘의 肝機能保護作用과 放射線障害防禦作用은 抗酸化劑를 방물케 한다.

X線으로 全身照射한 白鼠에 있어 肝組織의 ATP, 核酸 및 脂質代謝에 對한 人蔘投與의 影響은 前報<sup>3)</sup>의 所見을 한층 補強하는 것으로 人蔘의 放射線防禦作用은 興味있는 問題로 더욱 追究할 必要性을 느낀다.

即 著者は 前報<sup>3)</sup>에서  $^{60}Co-\gamma$ 線(500 및 800R)으로 全

身照射한 家兎에 있어서는 骨髓 및 脾組織內核酸 및 비타민 C量의 減少率이 照射前 人蔘投與로 크게 改善됨을 報告하였거니와 本論文에서도 X線-全身照射(800R)한 白鼠에서 人蔘投與로 肝組織의 ATP, 核酸 및 脂質量等의 減少를 크게 낮추는 것을 觀察하여 人蔘成分中에 未知의 어떤 物質이 있어 放射線照射에 依한 生物學的作用에 큰 影響을 주는 것으로 推測하게 되었다. 이미 前報에서 指摘한 바와 같이 人蔘에 放射線障害抑制物質이 含有되어 있다 하면 이 化學物質이 既知의 放射線 protective agent 即 antioxidant, aminothiols等과의 類似乃至 關聯性이 있는지는 該成分이 아직 밝혀지지 않은 以上 알 道理가 없지만 人蔘의 既知成分으로도 推測할 수 없다. 따라서 意外의 化學成分이 關與할지도 몰라 興味를 끄는 바이며 本教室에서는 이에 關하여 有效成分檢出에 着手中이다.

## V. 結 論

人蔘이  $CCl_4$ 에 依한 肝損傷과 X線照射障害에 對한 防禦作用有無를 白鼠를 使用하여 다음과같은 實驗을 하였다.

白鼠를 對照群,  $CCl_4$  單獨投與群, 또는 X線單獨照射群 및 人蔘을 미리 投與한 動物에  $CCl_4$ 를 投與 또는 X線을 照射한 群으로 區分하여  $CCl_4$  投與後 18時間, 800R의 X線照射後 24時間에 各各 肝組織의 ATP量 RNA, DNA量 肝脂質量 및 acetate- $^{14}C$ 를 使用한 triglyceride incorporation 率等을 調査하여 다음과같은 結論을 얻었다.

1) 白鼠의  $CCl_4$  中毒肝組織의 ATP量은  $12.4 \pm 1.47/g$ 로 對照群의  $32.1 \pm 3.57/g$ 에 比하여 相當히 低下되었으며, 人蔘投與群에서는  $CCl_4$  處理에도 不拘하고 ATP量은  $20.6 \pm 1.87/g$ 로서  $CCl_4$  注射前 人蔘投與가 肝組織의 ATP量의 減少를 크게 輕減시켰다.

2) 白鼠肝組織의 RNA, DNA量은  $CCl_4$  投與로 別變化는 없으며 人蔘投與로 特異한 變化는 볼수 없다.

3) 白鼠肝組織의 mitochondria內 RNA量은  $CCl_4$  및 人蔘投與로 別變化는 볼수 없다.

4) 白鼠의 肝組織의 脂質量은  $CCl_4$  投與로 triglyceride量은 對照群  $4.1 \pm 0.9mg/g$ 에서  $15.2 \pm 4.2mg/g$ 로 크게 增加하였지만 人蔘前處理群에서는  $9.8 \pm 2.9mg/g$ 로서  $CCl_4$  誘發의 脂肝產生이 人蔘投與로 相當히 抑制되었음을 알수 있다. 한편 肝組織의 cholesterol 및 磷脂質量은  $CCl_4$  中毒으로  $6.4 \pm 1.0mg/g$ ,  $38.9 \pm 4.8mg/g$ 에서 各各  $10.3 \pm 4.0mg/g$ ,  $32.3 \pm 6.1mg/g$ 으로 變化되었으나 人蔘前處理로 肝組織의 cholesterol量은  $7.4 \pm$

5. 6mg/g, 그 磷脂質은  $38.4 \pm 4.5$ mg/g 으로, cholesterol 量은 對照群과  $CCl_4$  投與群과의 中間值며 磷脂質量은 對照值와 同一하다.

5) Acetate- $1-^{14}C$ 를 使用한 肝組織切片의 triglyceride 內 轉入率을 보면  $CCl_4$  投與群에 있어 cpm 이  $1,821 \pm 325$ 로서 對照群의  $1,072 \pm 247$ 에 比하여 相當히 높아,  $CCl_4$  中毒에 依한 肝組織 脂肪酸合成의 增加를 알수 있다. 그러나 人蔘- $CCl_4$  投與群에서는 cpm 이  $1,464 \pm 287$ 로서 對照群보다 增加되었으나  $CCl_4$  投與群에 比하면 增加率이 적다.

6) 白鼠의 X線照射群의 肝組織 ATP 量은  $13.9 \pm 2.6$  r/g 으로 對照群의  $36.4 \pm 1.0$ r/g에 比하여 훨씬적고 人蔘前 處理群은  $20.0 \pm 2.5$ r/g 으로 對照群과  $CCl_4$  投與群의 中間值가 된다.

7) 800R 의 X線照射로 白鼠肝組織 RNA, DNA 量은 有意義한 減少를 보여준다 人蔘投與로 核酸減少量은 輕減된다.

8) X線照射로 白鼠肝組織 triglyceride 量은  $4.7 \pm 0.8$  mg/g 에서  $10.9 \pm 2.9$ mg/g 로 增加되나 人蔘投與群은  $6.9 \pm 2.5$ mg/g 로 그 增加率이 相當히 抑制된다. cholesterol 量은 3群 모두 變化가없으며 磷脂質量은 X線照射로 減少되나 人蔘投與로 別變化가 없다.

9) 以上結果를 綜合하여보면 人蔘投與가  $CCl_4$ 에 依한 肝細胞損傷 및 X線障害를 肝細胞代謝面으로 보아 相當히 抑制함을 알수 있다.

## ABSTRACT

### Effect of Panax Ginseng on $CCl_4$ Induced Liver Injury and X-Irradiation Damage in Rats

(Director: Prof. Ki Yung Lee)

Y. C. Choi

Department of Biochemistry, College of Medicine  
Seoul National University

Following experiments were conducted for the study of Panax Ginseng effect on  $CCl_4$  induced liver injury and on X-irradiated damage of albino rats.

Male rats of Wistar hybrid, weighing  $150 \pm 10$ g, were divided into 6 groups and first 3 groups were control,  $CCl_4$  given, and the previous Ginseng decoction given and  $CCl_4$  administered animals, and another 3 groups were control, X-irradiated, and

the previous Ginseng decoction administered and X-irradiated ones. Animals were sacrificed 18 hours after  $CCl_4$  administration or 24 hours after X-irradiation with the dose of 800R. Livers were removed immediately for the determination of contents of ATP, nucleic acids and lipids as well as for the incorporation of acetate- $1-^{14}C$  into fatty acids in liver slices. Following results were obtained.

1) The ATP content of  $CCl_4$  poisoned liver was  $12.4 \pm 1.4$ r/g, showing much less than  $32.1 \pm 3.5$ r/g of control value, and that of Ginseng and  $CCl_4$  administered group was  $20.6 \pm 8$ r/g, it was thus shown that the previous administration of Ginseng lessened the decrease in hepatic ATP content of  $CCl_4$  given animals.

2) No appreciable alteration was observed in the hepatic nucleic acid content by the  $CCl_4$  treatment, with the consequence of no Ginseng effect.

3) The mitochondrial RNA content of  $CCl_4$  poisoned liver was not altered 18 hours after  $CCl_4$  administration.

4) The triglyceride content of  $CCl_4$  poisoned rats was  $15.2 \pm 4.2$ mg/g which was lowered to  $9.8 \pm 2.9$  mg/g by the previous Ginseng administration. The hepatic cholesterol content of  $CCl_4$  given rats was  $10.3 \pm 4.0$ mg/g, comparing with  $6.4 \pm 1.0$ mg/g of normal value, and the phospholipid content ( $32.3 \pm 6.1$ mg/g) of  $CCl_4$  poisoned liver was decreased as compared to  $38.9 \pm 4.8$ mg/g of control value. The previous administration of Ginseng caused to normalize significantly such a change of cholesterol and phospholipid content.

5) The incorporation of acetate- $1-^{14}C$  into the triglyceride was much increased with cpm of  $1,821 \pm 325$  in liver slices of  $CCl_4$  poisoned rats, as compared to the control value of  $1,072 \pm 247$ . The synthesis of fatty acids was thus shown to be increased, reflecting the marked increase in hepatic triglyceride in  $CCl_4$  administered rats. This isotopic incorporation rate in liver slices of Ginseng administered group was shown to be intermediate between the values of normal and  $CCl_4$  treated animals.

6) The hepatic ATP content ( $13.9 \pm 2.6$ r/g) of X-

irradiated group was much less than control value of  $36.4 \pm 1.0$  r/g, but it was reached to  $20.0 \pm 2.5$  r/g by the previous administration of Ginseng.

7) The hepatic nucleic acid content was diminished significantly by the X-irradiation of 800R, but it was ameliorated by the previous Ginseng administration.

8) The hepatic triglyceride content of X-irradiated rats was increased to  $10.9 \pm 2.9$  mg/g from  $4.7 \pm 0.5$  mg/g of control value, but that of Ginseng administered group was  $6.9 \pm 2.5$  mg/g. The hepatic cholesterol content of X-irradiated group was  $7.2 \pm 0.8$  mg/g, showing slight increase, comparing to control value of  $6.4 \pm 1.1$  mg/g, and that of Ginseng administered group was  $6.0 \pm 0.9$  mg/g. The phospholipid content was decreased by X-irradiation, with no appreciable effect of Ginseng.

It was concluded from the above observations that Ginseng appears to be the protective agent against  $CCl_4$  induced liver injury and irradiation hazard in terms of the metabolic activities of hepatic cells.

### References

1. 金蕙昌：韓國醫藥 5, 21, 1962.
2. 丁海源：大韓生化學會誌, 1, 25, 1964.
3. Lee, K. Y. Kim, H. S., Cheon, H. W., Ahn, H. J. and Choi, Y. J. *Korean J. Biochem.*, 2, 35, 1969.
4. 洪基元：韓國醫藥, 4, 41, 1961.
5. 林漢喆：綜合醫藥, 7, 11, 1962.
6. 人蔘文獻特輯(1967)：大韓民國專賣廳, 中央專賣技術研究所.
7. Strehler, B. L. and Totter, J. R., *In methods of biochemical analysis, Vol. 1, edited by D. Glick, New York, Academic Press p. 341.*
8. Schneider, W. C., *J. Biol. Chem.*, 164, 747, 1946.
9. Schmidt, G. and Thannhauser, S. T., *Ibid.*, 161, 83, 1945.
10. Mejbaum, W., *Z. Physiol. Chem.*, 258, 117, 1939.
11. Dische, Z., *Microchemie*, 8, 4, 1930.
12. Vischer, E. and Chargaff, E., *J. Biol. Chem.*, 176, 715, 1948.
13. Schneider, W. C. and Hogeboom, G. H., *Ibid.*, 183, 123, 1950.
14. 安田守雄, 蛋白質, 核酸, 酵素, 7, 34, 1962.
15. 安田守雄, " " " 7, 107, 1962.
16. Van Handel, E. and Zilversmit, D. B., *J. Lab. & Clin. Med.*, 50, 152, 1957.
17. Fiske, C. H. and Subbarow, Y., *J. Biol. Chem.*, 66, 375, 1925.
18. Zak, B., Dickenman, R. C., White, E. G., Burnett, H. and Cherney, P. J. *Am. J. Clin. Path.*, 24, 1307, 1954.
19. Baruch, H. and Chaikoff, I. L., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 86, 97, 1954.
20. Lieber, C. S. and Schmid, R., *J. Clin. Invest.* 40, 394, 1961.
21. Lewis, M., Schenker, S. and Combes, B., *Am. J. Digest Disease*, 12, 429, 1967.
22. Dianzani, M. U. and Bahr, G. F., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 35, 25, 1954.
23. Mölbert, E., *Beitr. Path. Anat.*, 118, 203, 1957.
24. Oberling, C. and Rouiller, C., *Ann. Anat. Path.*, 1, 401, 1956.
25. Bassi, M., *Exptl. Cell Research*, 20, 313, 1960.
26. Christie, G. S. and Judah, J. D., *Proc. Roy. Soc., London, Series B*, 142, 241, 1954.
27. Dianzani, M. U., *Biochim. Biophys. Acta*, 14, 514, 1954.
28. Neubert, D. and Maibauer, D., *Arch. Exp. Path.*, 235, 291, 1959.
29. Recknagel, R. O., Lombardi, B. and Schotz, M. C., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 104, 608, 1960.
30. Leevy, C. M., Hollister, R. M., Schmid, R., MacDonald, R. A. and Davidson, C. S., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 102, 672, 1959.
31. Dianzani, M. U., *Biochim. Biophys. Acta*, 17, 391, 1955.
32. Leduc, E. H. and Wilson, J. W., *A. M. A. Arch. Path.*, 65, 147, 1958.
33. Heim, F., Leuschner, F. and Ott, A., *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 229, 360, 1956.
34. Popper, H. and Schaffner, F., *Liver; Structure and function, McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, p. 391, 1957.*
35. Schotz, M. C. and Recknagel, R. O., *Biochim. Biophys. Acta*, 41, 151, 1960.
36. Recknagel, R. O., *Fed. Proc.*, 19, 137, 1960.

37. Reynolds, E. S., *J. Cell Biol.*, 19, 139, 1963.
38. Smuckler, E. A. and Benditt, E. P., *Science*, 140, 308, 1963.
39. Lombardi, B., *J. Lab. Invest.*, 15, 1, 1966.
40. Seakins, A. and Robinson, D. S., *Biochem. J.*, 86, 40, 1963.
41. Hansen, C. H., Pearson, L. H. and Schenker, S., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 128, 143, 1968.
42. Isselbacher, K. J. and Greenberger, N. J., *New Engl. J. Med.*, 270, 402, 1964.
43. Feingold, D. S., *New Engl. J. Med.*, 269, 957, 1963.
44. Sgoutas, D. S. and Kummerow, F. A., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 123, 279, 1966.
45. Mallng, H. M., Frank, A. and Horning, M. G., *Biochim. Biophys. Acta*, 64, 540, 1962.
46. Weinstein, I. and Heimberg, M., *Fed. Proc.*, 21, 291, 1962.
47. Rees, K. R., Sinha, K. P. and Spector, W. G., *J. Path. Back.*, 81, 107, 1961.
48. Rees, K. R. and Spector, W. C., *Nature*, 190, 821, 1961.
49. Leach, B. E. and Forbes, J. C., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 48, 361, 1941.
50. Gallager, C. H., Gupta, D. N., Judal, J. D. and Rees, K. R., *J. Path. Back.*, 72, 193, 1956.
51. Recknagel, R. O., Stadler, J. and Litteria, M., *Fed. Proc.*, 17, 129, 1958.
52. Di Luzio, N. R. and Costales, F., *Exp. Mol. Path.*, 4, 141, 1965.
53. Di Luzio, N. R., *Life Sci.*, 5, 1467, 1966.
54. Kalish, G. H. and Di Luzio, N. R., *Science*, 152, 1390, 1966.
55. Di Luzio, N. R., *Physiologist*, 6, 169, 1963.
56. Recknagel, R. O. and Ghoshal, A. K., *Lab. Invest.*, 15, 132, 1966.
57. Yun, T. K., *Seoul Univ. J. (C)*, 14, 1, 1963.
58. Hutterer, F., Fitschen, W. and Popper, H., *Brit. J. Exp. Path.*, 42, 187, 1961.
59. Rossi, C. R. and Pittoni, A., *Biochim. Biophys. Acta*, 50, 271, 1961.
60. Calvert, D. N. and Brody, T. M., *J. Pharm. Exp. Therap.*, 124, 273, 1958.
61. Dodson, V. N., Friberg, R. and Ketchum, D., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 120, 355, 1965.
62. Farber, E., Koch-Wesser, D., Szanto, P. B. and Popper, H., *A. M. A. Arch. Path.*, 51, 399, 1951.
63. Tsuboi, K. K., Stowell, R. E. and Lee C. S., *Cancer Res.*, 11, 87, 1951.
64. Hoffman, J., Himes, M. B., Lapan, S., Riszki, R. and Post, J., *A. M. A. Arch. Path.*, 59, 429, 1955.
65. Smuckler, E. A., Esseri, O. A. and Benditt, E. P., *J. Exptl. Med.*, 116, 55, 1962.
66. Richter, G., *Biochim. Biophys. Acta*, 61, 144, 1962.
67. Casarett, A. P., *Radiation Biology*, p. 211, *Prentice-Hall, Inc.*, Englewood Cliffs, New Jersey, 1968.
68. Omerod, M. G. and Alexander, P., *Radiation Res.*, 18, 495, 1963.
69. Thomson, J. F., *Radiation Protection in Mammals*, *Reinhold Publishing Corp.*, New York, 1962.