

Adriamycin 및 AG60이 Ehrlich 종양세포를 이식한 생쥐 샘창자점막 상피세포의 DNA 합성에 미치는 영향

안병준, 안의태, 박경호, 김진국, 고정식

순천향대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 이 실험에서는 Ehrlich 암세포를 이식한 후 adriamycin 또는 AG60을 투여하였을 때, 샘창자점막의 형태학적 변화와 함께 DNA 합성지수를 비교 연구하고자 ^3H -thymidine을 투여한 후 자기방사법적 연구를 시행하였다.

실험동물로는 체중 20g 내외의 성숙한 생쥐(ICR계통)를 정상대조군, 암세포이식대조군, 암세포 이식후 adriamycin 투여군, 암세포 이식후 AG60 투여군으로 구분하였다. 정상대조군 이외의 암세포 이식군 동물들은 살부위 피부밑조직에 각각 1×10^7 개의 Ehrlich 암세포를 이식한 후, 다음날부터 실험군별로 adriamycin은 2 mg/kg, AG60은 실험군에 따라 각각 5 mg/kg와 30 mg/kg을 격일 간격으로 투여했으며, 암세포이식대조군은 암세포이식 후에 약제 대신 0.2 ml의 생리식염수를 피부밑에 주사하였고, 정상대조군은 암세포를 이식하지 않은 동물을 사용하였다. 자기방사법적 관찰을 위하여는 약제를 마지막으로 주사한 다음날 ^3H -thymidine (methyl- ^3H -thymidine: specific activity 25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) 0.7 $\mu\text{Ci/gm}$ 를 꼬리에 한차례 정맥주사하고, 70분 후 희생하여 샘창자조직을 떼어내어 10% formalin에 고정하였다. 관찰은 샘창자조직이 세로로 잘 절단된 창자음 부위를 택하여 점막근육판을 따라 점막길이 3.5 mm의 창자샘상피에 분포하는 ^3H -thymidine 표지세포의 수를 계수하였으며, 일반조직 관찰을 위하여는 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 시행하였다.

일반조직관찰에서 adriamycin 투여군의 경우 창자용모의 상피세포는 대부분 액포가 차있는 모습을 보였으며, 창자샘은 상피세포가 남작하고 속공간이 확장되어 있었고 고유판조직이 성글었다. 그러나 AG60 투여군은 샘창자의 조직에서 형태적으로 큰 변화를 볼 수 없었다. 자기방사법적 연구에서 정상대조군, 암세포이식대조군, adriamycin 투여군, AG60 5 mg/kg 투여군 및 AG60 30 mg/kg 투여군은 점막길이 3.5 mm 당 출현하는 표지세포수가 각각 595.3 ± 48.96 , 715.0 ± 89.11 , 96.0 ± 15.62 , 632.0 ± 83.16 및 370.3 ± 49.65 개 였다. Adriamycin 투여군과 AG60 30 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 은입자의 수가 매우 적어서 표지과립이 겨우 구별될 정도의 세포가 많았으나, 암세포이식대조군은 은입자가 밀집되어 있는 세포가 정상대조군에 비하여 더 많이 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 생쥐 샘창자조직의 경우 adriamycin과 AG60은 창자음에 분포하는 상피세포의 DNA 합성에 억제적으로 작용한다고 생각된다. 그러나 AG60은 adriamycin에 비하여 샘창자조직에 형태적인 손상을 거의 주지 않는 항암제라고 생각한다.

찾아보기 낱말 : 샘창자음, DNA 합성, 자기방사법적 연구, acriflavine-guanosine complex (AG60), adriamycin.

서론

현대인에게 암은 죽음에 이르는 병으로 인식되어 있을 만큼 공포의 대상으로 되어 있으며, 우리

correspondence to : 고정식 (순천향대학교 의과대학 해부학교실)

나라에서도 1988년부터 전체 사망원인 가운데 1위를 차지하게 되어 국민보건 문제 가운데 가장 중요한 과제로 등장하였다(박재갑 1994). 암에 대한 치료방법으로는 수술요법, 방사선요법, 항암화학요법 및 생물학적으로법 등으로 나눌 수 있다. 수술요

법과 방사선요법은 제한된 범위내의 종양을 치료 대상으로 하는 국소요법이고, 항암화학요법과 생물학적으로법은 전신의 종양을 치료대상으로 하는 전신요법이다. 항암화학요법으로 쓰이는 항암제란 세포내에서 DNA의 복제, 전사 및 번역을 방해하고 세포분열을 저해함으로써 암세포의 증식을 억제하는 약제를 총칭한다 (Gilman 등 1985, Clark 등 1992).

대부분의 항암화학요법이 기본적으로 세포분열을 억제하거나 핵산합성과 단백질합성을 억제하는 성질을 지니기 때문에, 암세포에만 선택적으로 작용하기 보다는 정상세포의 분열과 대사과정까지도 억제하므로 (Malpas 1991, King 1996) 세포에 상당히 큰 손상을 주고 있다. 대표적인 부작용으로는 뼈속질 기능에 장애를 주어 백혈구나 혈소판이 감소되며, 소화계통, 호흡계통, 생식계통에도 많은 손상을 초래한다 (Gilman 등 1985). 따라서 암세포에 대한 특이성을 높이고 정상세포에는 부작용이 적은 항암제를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 부작용이 적은 항암제를 개발하기 위해서는 암세포를 제거하는 약효용량과 정상세포에 미치는 유해용량 사이의 격차가 큰 약품을 개발하거나, 여러 가지 항암제를 복합 사용하여 암세포에 대한 선별력을 높이거나, 혈관신생을 억제시켜서 정상세포집단보다 많은 영양을 필요로 하는 암세포를 영양결핍으로 사멸시키는 약제의 개발이 필요하다 (King 1996). 실제로 5-fluorouracil 대신 5'-deoxy-5-fluorouridine을 사용한 결과, 항암효과는 더 높은 반면 소화관장애는 더 낮추는 등 상당한 효과가 있었으며 (Ninomiyama 등 1990), 기존 항암제와 nucleotide들을 복합 사용하였을 때도 항암효과가 크다고 한다 (Santelli와 Valeriote 1978, Osswald와 Youssef 1979, Iigo 등 1983, Iigo 등 1987).

Adriamycin은 anthracene 유도체 가운데 가장 광범위하게 이용되는 항암성항생물질로서 일명 doxorubicin이라고 한다. 이 약제는 DNA 염기쌍 사이에 작용하여 DNA합성을 방해하며 중추신경계통을 제외한 온몸에 분포하며, 반감기가 30시간 내지 50시간으로 매우 천천히 몸밖으로 배출되므로 항암효과가 높은 반면에 독성도 강하다 (DiPiro 등

1993, Craig와 Stitzel 1994, Hardman 등 1996). Adriamycin을 투여하면 백혈구가 감소하고 위창자관에 손상을 주며 체중이 감소되는 등 부작용이 있으며 (Killion 등 1996, Herman 등 1997, Kimura 등 2001), 단백질합성을 방해하고 지방과 산화물이 증가한다 (Agapito 등 2001).

AG60은 acriflavine과 guanosine을 1:1의 비율로 섞은 복합제로서 시험관 속에서 몇몇 암세포에 대해 뛰어난 항암효과를 보였고, 동물에 이식된 고형암(S-180)이나 Ehrlich 암세포에 대해서도 탁월한 항암효과를 보인데 비하여 부작용은 매우 적은 것으로 알려져 있다 (홍은경 등 1997, Kim 등 1997, 1998). Acriflavine은 항생제가 개발되기 전에는 항균제로서 상처의 치료에 이용되었으며 (Browning 등 1917, McIlwain 1941), 현재도 trypanosoma로 인한 질병치료에는 많이 이용되고 있는 약품으로서 형광을 나타내며 핵산(nucleic acid), 특히 DNA에 특이적으로 결합하기 때문에 세포핵의 형광염색에도 많이 쓰이고 있다 (Kasten 1967). 그 외에도 항체형성에 영향을 미치는가 하면 (Farr 등 1965), 암세포에 acriflavine을 처리하여 얻은 추출물이 암면역성을 나타내었다 (Chakraborty와 Bose 1987). 또 이 약품은 DNA와 RNA에 친화력을 지니며 (Bose 등 1966), DNA, RNA 및 단백질합성을 억제하는 작용을 한다 (Bose 등 1966, Roth 등 1967).

세포갱신에 대한 연구에는 ^3H -thymidine을 많이 이용하는데, thymidine은 DNA에만 함유되어 있는 물질로서 thymidine pool에 저장되어 있다가 세포분열시에 DNA합성에만 이용되기 때문에 DNA의 전단계물질인 ^3H -thymidine을 주사해주면 증식기 세포핵에 표지되어 나타난다. 또한 ^3H 는 방사능에너지가 낮은 β 선을 방출하므로 그 해상력이 매우 우수하여 자기방사법적 연구에 많이 쓰이고 있다 (Helpap 등 1981, Tielemans 등 1989, Ryberg 등 1990, Karam과 Leblond 1993).

소화기계통을 이루는 위창자는 상피의 세포생활 주기가 짧기 (Cameron 1971) 때문에 항암치료과정에서 부작용이 심하여 육지기를 비롯한 소화장애 등 부작용이 심한 장기이다 (Gilman 등 1985, Clark 등 1992). 샘창자는 위와 함께 스트레스, 감염 및

중양 등의 질병상태에 따라 민감하게 반응하는 장기(Rubio 등 1988, Varedi 등 1999, Martins 등 2001) 이므로 암세포를 이식하거나 항암제를 투여하면 그 기능이나 형태에 변화가 있으리라고 예상된다. 이 실험에서는 Ehrlich 암세포를 이식한 후 항암성 항생물질인 adriamycin과 새로 개발된 항암제인 AG60을 이용하여 실험적 중양을 치료할 때 샘창자조직에 미치는 영향을 형태학적으로 연구하고자 하였으며, ^3H -thymidine을 투여한 후 자기방사법적 연구를 시행하여 샘창자조직의 형태학적 변화 뿐만 아니라 DNA합성지수를 비교 관찰하여 종양치료과정에 따른 샘창자의 변화를 연구하는데 기본 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물로는 체중 20g 내외의 성숙한 생쥐(ICR계통)를 정상대조군, 암세포이식대조군, 암세포이식후 adriamycin 투여군, 암세포 이식후 AG60(acriflavine : guanosine = 1 : 1로 Aldrich chemical Co., USA제품을 태립 제약 중앙연구소에서 조제) 투여군으로 구분하였다. 한편 AG60 투여군은 용량에 따른 변화를 함께 관찰하기 위하여 5mg/kg 투여군과 30mg/kg 투여군으로 세분하였으며 각 실험군당 5마리씩의 동물을 사용하였다.

정상대조군 이외의 암세포 이식군 동물들은 살부위 피부밑조직에 각각 1×10^7 개의 Ehrlich암세포를 이식한후, 다음날 부터 실험군별로 adriamycin은 2mg/kg를, AG60은 실험군에 따라 각각 5mg/kg와 30mg/kg를 격일 간격으로 투여했으며, 암세포이식대조군은 암세포이식후에 약제 대신 0.2ml의 생리식염수를 피부밑주사하였고, 정상대조군은 암세포를 이식하지 않은 동물을 사용하였다. 실험동물은 각각 7회씩 투여한 후, 다음날 ether 마취하에 배를 열어 샘창자조직을 절취하였다. 일반조직관찰을 위하여는 10% 중성 formalin으로 고정한 후 hematoxylin-eosin(H-E)염색법을 시행하였다. 자기방사법적 관찰을 위하여는 모든 실험동물을 마지막 주사 후, 일주기에 따른 변화를 최소화하기 위하여 다음

날 오전 9시에서 10시 사이에 ^3H -thymidine (methyl- ^3H -thymidine: specific activity 25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) 0.7 $\mu\text{Ci/gm}$ 를 꼬리에 한차례 정맥주사하고, 70분 후 희생하여 샘창자조직을 떼어내 10% formalin에 고정하였다. 광학현미경관찰을 위한 표본은 통상적인 방법에 따라 수세, 탈수, 파라핀 포매과정을 거쳤고, 절편을 만들어 젤라틴을 입힌 슬라이드에 부착시킨 다음 파라핀을 제거하고 암실에서 감광유제 (autoradiographic emulsion EM-1, Amersham Lab., England)를 입혀 건조시켰다. 감광유제를 입힌 표본은 40°C 냉암소에서 5주일간 노출시켰고, D-19(Kodak, USA)로 현상한 다음 Meyer's hematoxylin으로 핵을 염색하여 영구표본을 만든 후 광학현미경으로 관찰하였다. 관찰방법으로는 샘창자조직이 세로로 잘 절단된 부위의 창자샘조직을 택하여 점막근육판을 따라 250배율로 관찰하되, 접안렌즈의 사진촬영용 직사각형의 긴쪽 길이(0.35 mm)내에 보이는 창자샘조직을 한 시야로 하여 각각 10시야씩(점막길이 3.5 mm) 관찰하였다. 창자샘을 이루는 세포 가운데 5개 이상의 은입자가 있는 세포를 표지세포로 간주하여 계수하였으며, student-t test를 이용하여 통계처리 하였다.

결 과

1. 일반조직 관찰

정상대조군 샘창자의 점막은 단층원주형의 상피, 성긴결합조직의 고유판과 얇은 점막근육판으로 이루어 졌는데 점막의 표면에는 길이 약 400 μm 인 손가락모양의 창자용모가 돌출되어 있었다. 용모 사이에는 상피세포들이 고유판 속으로 함몰되어 창자용(intestinal crypt)을 이루었는데, 창자용은 단순대롱형 샘이며 샘의 깊이가 약 120 μm 로서 용모의 길이에 비하여 짧았다. 용모 상피세포의 표면에는 줄무늬가장자리(striated border)가 비교적 뚜렷이 구별되었으며 슬잔세포(goblet cell)가 사이사이에 관찰되었다. 이 실험에서는 항암제를 투여한 후 샘창자점막상피세포의 DNA합성능력에 미치는 영

향을 관찰하기로 하였기 때문에 점막상피의 생장 부위인 창자움을 주로 관찰하였다. 창자움의 샘상피는 주로 원주세포로 구성되어 있었는데 원주세포 사이에 슬잔세포들이 끼어 있었고, 상피세포 속에서 림프구가 소수 관찰되기도 하였다. 또한 창자 내분비세포로 보이는 세포질이 밝은 세포와 유사분열중인 핵들과 함께 바닥부위에서 붉은 과립을 함유하고 있는 호산성과립세포 (Paneth cell)가 소수 관찰되었으며, 창자움의 샘상피주위의 고유판은 성긴결합조직으로 이루어졌다 (Fig. 1).

암세포이식대조군의 경우 조직학적 구조는 정상대조군에 비하여 고유판에서 림프구와 호산성백혈구가 비교적 많이 관찰된 것 외에는 정상대조군 소견에 비하여 별다른 차이가 없었다 (Fig. 2). 또한 AG60 5 mg 투여군과 30 mg 투여군의 경우 조직학적 구조가 암세포이식대조군의 소견과 유사하였다 (Fig. 3). 그러나 adriamycin 투여군은 정상대조군에 비하여 용모가 매우 짧거나 (120 μ m) 또는 위축되어 용모를 거의 식별할 수 없는 부위가 관찰되었으며, 창자샘부위는 주위의 고유판이 넓고 형성했으며 샘상피세포가 납작하고 창자샘의 속공간이 넓은 경우가 많았다 (Fig. 4).

2. 자기방사표본의 관찰

정상대조군을 포함한 실험군의 샘창자조직에는 은입자들이 세포핵 위에 나타나고 이 표지세포들은 주로 창자샘의 상피세포에서 관찰되었으며, 용모부위의 상피세포에서는 관찰되지 않았다. 그러나 용모와 창자샘의 고유판에서는 표지세포가 드물게 관찰되었다. 이 실험에서는 샘창자점막상피세포의 DNA 합성정도를 관찰하기로 하였기 때문에 상피세포에 은입자가 표지된 세포만 헤아렸다.

정상대조군의 경우 창자샘상피에 출현하는 표지세포는 점막길이 3.5 mm당 595.5개가 관찰되었는데 은입자의 수가 많아서 은입자를 헤아리기가 어려운 세포가 많았다 (Table 1, Fig. 5). 암세포이식대조군은 점막길이 3.5 mm 당 715.3개가 관찰되어 정상대조군에 비하여 120% 더 많았으며 은입자의 수가 많아서 밀집되어있는 세포가 많았다 (Table 1,

Table 1. Relative number of labeled cells in the area of 3.5 mm width (6 μ m thickness) of intestinal gland of mouse duodenum, after injection of 3 H-thymidine in different groups

Group	Number	Ratio	
		experiment /normal	experiment /tumor control
Normal control	595.3 (\pm 48.96)	1.00	0.83
Tumor control	715.3 (\pm 89.11)	1.20	1.00
AG60 (5 mg)	632.0 (\pm 83.16)	1.06	0.88
AG60 (30 mg)	370.3 (\pm 49.65) *	0.62	0.52
Adriamycin	96.0 (\pm 15.62) **	0.16	0.13

Numbers in parenthesis denote standard deviation of means.

*difference between normal control and AG60 (30 mg)-treated groups is significant at $p < 0.005$ or better.

**Difference between normal control and adriamycin-treated groups is highly significant at $p < 0.001$ or better.

Fig. 6). AG60 5 mg 투여군은 점막길이 당 표지세포 수가 632.0개로서 정상대조군의 결과와 유사하였으나, 암세포이식군에 비하여 12% 감소하였다. AG60 30 mg 투여군은 표지세포 수가 점막길이 당 370.3개로서 정상대조군의 62%, 암세포이식군이 52% 밖에 안될 정도로 유의하게 감소하였다 (Table 1, Fig. 7). 한편 adriamycin 투여군의 경우에는 표지세포 수가 정상대조군의 16%밖에 안될 정도로 현저히 감소하였을 뿐만 아니라 은입자의 수도 적어서 은입자를 쉽게 헤아릴 수 있는 세포가 대부분이었다 (Table 1, Fig. 8).

고 찰

동물세포의 분열은 태생기와 성장기에만 나타나는 것이 아니라 성숙된 개체에서도 세포의 노화 및 탈락에 대한 보상으로서 세포갱신이 일어나며, 이러한 활동은 생체내외의 조건에 따라 이루어진다. 샘창자를 비롯한 창자의 점막상피는 세포갱신이 왕성하여 생쥐의 경우 세대교체시간이 3일 정도밖에 되지 않는 것으로 알려져 있다 (Stevens와 Leblond 1953, Cameron 1971). 설치류의 창자점막에 대한 자기방사법적 연구에서 성체는 상피세포의 증식이 창자움 (intestinal crypt)에서만 일어나나 발생

단계에서는 용모에서도 일어난다고 한다(Beaulieu와 Calvert 1987). 나이에 따라서도 세포는 증식정도에 차이를 보이며, 흰쥐의 경우 작은창자점막의 상피세포는 젊은 쥐에 비하여 늙은 쥐에서 더욱 활발하게 증식한다(Holt와 Yeh 1989). 또한 사람에서는 노인이 젊은 사람에 비하여 점막상피세포의 증식이 많이 일어나나 미성숙세포가 많고 apoptosis가 많이 일어나기 때문에 전체적으로 점막상피세포의 구조에는 큰 차이가 없으며, 나이가 증가함에 따라 흡수기능이 감소하는 것은 세포가 긴장상태가 되기 때문이라고 한다(Ciccocioppo 등 2002). 그러나 유아와 성인을 비교하였을 때 유아의 작은창자의 용모면적은 성인의 것과 유사하였으나 창자용의 길이는 성인 것보다 31%나 더 길었고 유사분열지도 유아가 성인 보다 68%나 더 높았으며 상피세포의 길이는 성인의 것 보다 다소 짧았다(Thompson 등 1998).

음식물이나 스트레스에 의한 변화로는 굶긴 후 음식을 주었을 때 샘창자는 상피세포의 증식이 활발하고 apoptosis가 감소하며 상피세포의 탈락이 촉진되었고(Martins 등 2001), 뜨거운 물로 몸표면에 화상을 입힌 흰쥐의 경우 샘창자 용모의 폭과 창자샘의 면적이 현저히 감소하였으며, 용모상피세포는 그 모습이 원주형에서 입방형으로 변화였다(Varedi 등 1999). 또한 인위적으로 운동을 억제하였을 때 위턱샘, 위샘 및 샘창자샘은 점액다당류가 감소하고 창자점막에 분포하는 술잔세포내에 공포가 출현하였으나 위점막에 분포하는 벽세포와 gastrin 세포는 활성을 띠었다(Groza 등 1979). 또 흰쥐를 물속에 잠그거나 수영을 시키는 등 스트레스를 주었을 때는 위 창자점막의 DNA 합성율이 감소하였으나 스트레스 기간이 길어지면 적응 및 보상작용에 의해 DNA 합성율이 회복된다(Rubio 등 1988). 한편 만성간염이나 간경화 등 간에 질환이 있을 때는 샘창자의 점막이 위축되는 현상을 관찰할 수 있었는데, 이와 같은 현상은 샘창자용의 세포증식이 억제되기 때문이다(Gerlovich 등 1977).

항암제는 그 작용기전과 화학구조에 따라 대사길항제(5-fluorouracil, methotrexate), 알킬화제(melphalan, busulfan), 항암성항생물질(mitomycin C,

adriamycin, bleomycin), 세포분열억제제(vinblastine, vincristine), 호르몬제(androgen, estrogen, adrenal steroid) 등으로 나눌 수 있다(Gilman 등 1985, Clark 등 1992). 일반적으로 항암제는 분열이나 증식이 빠른 세포인 골수세포, 위창자상피세포 및 털주머니세포에 많은 피해를 입히므로 정도의 차이는 있으나 골수기능장애, 위장장애 및 탈모증 등의 부작용이 생긴다. 한편 항암제는 항암효과 이외에도 면역성을 억제하는 작용이 있어서 장기이식후 거부반응을 억제시킬 목적으로도 사용되나, 동시에 병균에 대한 개체면역성도 저하시키는 부작용이 있다.

Adriamycin은 광범위하게 이용되는 항암성항생물질로서 일명 doxorubicin이라고 하는데, DNA 염기쌍 사이에 작용하여 DNA합성을 방해하며 반감기가 30시간 내지 50시간으로 비교적 길기 때문에 항암효과가 높은 반면에 독성도 강하다(DiPiro 등 1993, Craig와 Stitzel 1994, Hardman 등 1996). Adriamycin을 투여하면 백혈구가 감소하고 위창자관이 손상을 입는 등 부작용이 있으나(Killion 등 1996, Herman 등 1997), chitosan을 함께 투여하면 작은창자점막에 doxorubicin-chitosan 복합체를 형성하여 위창자관에 대한 독성을 방지한다(Kimura 등 2001). 또한 melatonin을 투여하면 adriamycin 투여 후에 뇌, 심장, 콩팥조직에서 현저히 증가하였던 지방산 화물이 감소한다(Agapito 등 2001).

AG60은 acriflavine과 guanosine을 1:1의 비율로 섞은 복합체로서 시험관 속에서 잘록창자암(COLO205), 허파암(A549, NCI-H2226), 콩팥암(UO-31)과 전립샘암(PC-3) 세포주에 대해 뛰어난 항암효과를 보인데 비하여 부작용은 매우 적은 것으로 알려져 있다(홍은경 등 1997, Kim 등 1997, 1998). Acriflavine은 acridine의 유도체로서 3,6-diamino-10-methylacridium chloride (tryptaflavine)와 3,6-diaminoacridine (proflavine)이 2:1의 비율로 섞여 있는 화합물이다(Macadam과 Williamson 1974). Acriflavine 수용액은 강한 형광을 나타내며 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ M의 저농도에서도 미생물의 발육을 억제하고 항암작용도 나타내는 것으로 알려져 있다(Bose 등 1966, Canellakis와 Chen 1979). Acriflavine은 DNA topoisomerase II의 작용을 저해하여 세포분열을 억제하

며, RNA 합성을 저해하고 핵소체와 세포질에서의 단백질 합성을 저해한다(Charkraborty 등 1980). 또한 세포막에 acriflavine이 결합하면 세포막의 구조나 세포 표면 항원을 변화시켜 암세포에 대한 면역성을 높일 가능성도 있다(Charkraborty 등 1980, 1984, Charkraborty와 Bose 1987). Guanosine은 화학명이 2-amino-9-β-D-ribofuranosyl-9H-purine-6(1H)-one으로서 guanine과 β-D-ribose가 배당체 결합으로 된 nucleoside 중의 하나이다. Guanosine 유도체들은 항원에 의해 유도되는 T림프구의 증식을 촉진하며 IFN-, TNF-, IL-1, IL-6와 같은 림포카인(lymphokine)의 분비를 증가시키며(Feldbush와 Ballas 1985, Goodman 1988), 큰포식세포와 자연살해세포(NK cell)에 의한 세포독성을 증가시킨다(Koo 등 1988, Pope 등 1993, 1995). Guanosine은 단독으로 투여될 경우 세포에 대한 독작용이 미약하고, 사용되는 여러 용량범위에서 어떠한 항암효과도 보고되지 않았다. 그러나 guanosine을 다른 항암제와 병용 투여할 경우 항암제의 효과가 증진된다는 연구 결과들이 있으며(Osswald와 Yussef 1979, Iigo와 Hoshi 1984, Iigo 등 1987), 특히 [6-¹⁴C] 5-fluorouracil과 guanosine을 병용 투여하면 암세포에서 guanosine에 의하여 [6-¹⁴C] 5-fluorouracil이 RNA와 병합되는 현상이 증가됨으로써 항암작용을 향상시킨다(Iigo 등 1983).

생창자를 비롯한 위창자의 점막상피는 세포갱신이 왕성하며 생쥐의 경우 창자음의 세대교체시간이 3일 정도밖에 되지 않으므로(Stevens와 Leblond 1953, Cameron 1971) 위창자관은 항암제 투여시에 부작용이 많이 나타나는 조직으로 알려져 있다. 이 실험에서 암세포이식대조군과 AG60 5 mg 투여군 및 30 mg 투여군의 경우 정상대조군에 비하여 창자샘의 고유판에서 림프구와 호산성백혈구가 비교적 많이 관찰된 것 외에는 조직학적 구조가 정상대조군 소견에 비하여 별다른 차이가 없었다. 이와 같은 실험결과는 뜨거운 물로 온몸에 화상을 입혔을 때 생창자 용모의 폭과 창자샘의 면적이 현저히 감소하고 상피세포가 납작해졌다는 보고(Varedi 등 1999)에 비추어 볼 때 AG60을 5 mg/kg 씩 7회 정도 투여해서는 생체에 심한 스트레스를 주었을 때

에 비하여 생창자점막에 주는 손상의 정도가 미약했다고 생각된다. 그러나 adriamycin 투여군은 정상대조군에 비하여 매우 짧은 용모를 갖고 있거나 또는 거의 위축되어 용모를 식별할 수 없는 부위가 관찰되었으며, 창자음 부위는 주위 결합조직성이 증가하여 고유판이 넓고 엉성했으며 생창피가 납작하고 창자음의 속공간이 넓은 경우가 많았다. 이와 같은 실험결과는 많은 양의 감마선을 전신에 조사하였을 때 점막이 큰 손상을 입어 용모가 짧거나 거의 없는 부분이 관찰되었다는 보고(Labejof 등 2002)와 유사하였다. 그러나 sarcoma 180 암조직을 이식한 다음 adriamycin 투여한 후 관찰된 창자점막의 염증현상 등의 손상(Herman 등 1997, Kimura 등 2001)에 비하여 훨씬 심하게 손상된 모습을 보였다. 한편 Herman 등(1997)은 고혈압 흰쥐에 adriamycin을 1주일에 1 mg 투여하였고, Kimura 등(2001)은 sarcoma 180 암조직을 이식한 생쥐에 8일간격으로 5 mg씩 2회 투여하였는데 비하여 이 실험에서는 하루건너 간격으로 2 mg씩 7회 총 14 mg을 투여하였다. 그러나 이 실험에서 생창자점막조직이 심하게 손상을 입은 것이 투여량에 따른 차이인지 또는 실험동물이나 실험조건에 따른 차이인지 확실하지 않으나 다른 실험에 비하여 지속적으로 많은 양의 약제가 투여되었으며 adriamycin의 반감기가 30시간 내지 50시간으로 매우 천천히 몸밖으로 배출된다는 사실(DiPiro 등 1993, Craig와 Stitzel 1994, Hardman 등 1996)에 비추어 볼 때 동물에 축적된 양이 많았기 때문이 아닌가 생각된다.

한편 자기방사표본 관찰에서 암세포이식군이 정상대조군에 비하여 표지세포가 20% 더 많이 관찰되었는데, 특히 일부 세포는 표지된 은입자가 너무 많아서 은입자의 수를 헤아리기 어려운 세포들이 많았으며, 은입자를 계수할 수 있을 정도로 적게 표지된 세포들은 적었다. 이와 같은 결과는 EA21a 유방암조직을 이식한 생쥐의 경우 암세포를 이식하면 생체내의 면역기전이 생창자음을 구성하는 상피세포의 분열능력을 조절하는 기전에 혼란을 주기 때문에 세포분열이 증가하였다는 보고(Barbeito 등 2002)와 일치하였다. 또 지라조직에서는 암세포를

생체에 이식한 실험대조군의 경우 방사성표지세포의 수가 정상대조군에 비하여 약 10%정도 증가하였다는 보고(고정식 등 2000)에 비추어 볼 때 샘창자조직은 지라조직에 비하여 암세포이식과 같은 생체내 이물질 침입에 더욱 예민하게 반응하는 것 같다. AG60 5 mg 투여군은 표지세포의 수가 정상대조군과 유사하였으나 암세포이식군에 비하여 12% 감소하였고, 30 mg 투여군은 암세포이식대조군에 비하여 52% 정도 감소하였는데, 이와 같은 결과는 AG60은 실험판 실험에서 잘룩창자암(COLO205), 허파암(A549, NCI-H2226), 콩팥암(UO-31)과 전립샘암(PC-3) 세포주에 대해 뛰어난 항암효과를 보이는데 비하여 부작용은 매우 적다는 보고(홍은경 등 1997, Kim 등 1997)에 비추어 볼 때 AG60은 5 mg/kg 정도의 용량을 7회 정도 반복 투여하여도 샘창자조직에는 거의 손상을 주지 않으나 DNA합성은 다소 억제하였다고 생각된다. 그러나 30 mg/kg 정도의 용량을 반복 투여하면 샘창자조직의 조직학적 구조에는 거의 손상을 주지 않으나 샘창자음의 상피세포의 DNA합성을 상당히 억제한다고 판단된다. 또한 AG60의 조직내 분포에 대한 형광현미경적 연구에서 샘창자의 용모부분과 샘부분에서 강한 형광이 관찰되었고, 점막의 고유관과 점막밑조직에서는 약한 형광이 나타났다는 보고(고정식 등 1999)에 비추어 볼 때 투여량이 많은 30 mg 투여군의 경우 acriflavine이 세포내의 DNA합성을 억제하였기 때문에 표지세포가 적게 관찰되었을 뿐만 아니라 표지세포의 은입자 수도 적게 관찰되었다고 생각된다. 한편 AG60을 투여하면 가슴샘세포의 방출이 급격히 일어나나 상피세망세포의 영역이 늘어나고 림프모세포가 증가하여 다른 항암제와는 달리 가슴샘이나 지라의 기능적인 손상을 입히지는 않는 것 같다는 보고(안의태 등 1997, 고정식 등 2000)에 비추어 볼 때, AG60은 가슴샘과 지라를 포함한 면역조직 뿐만 아니라 위창자조직에 대해서도 독성이 적으면서도 항암효과가 좋은 약품이라고 생각된다.

Adriamycin 투여군의 경우는 표지세포 수가 암세포이식대조군의 13%밖에 안될 정도로 현저히 감소하였을 뿐만 아니라 은입자의 수도 적어서 은

입자를 쉽게 헤아릴 수 있는 세포가 대부분이었다. 이와 같은 실험결과는 adriamycin이 지라조직에 분포하는 림프구의 DNA합성을 억제하며, 특히 적색속질에 분포한 세포에 비하여 백색속질과 가장자리구역에 분포하는 세포에 더욱 억제적으로 작용한다는 보고(고정식 등 2002)에 비추어 볼 때, adriamycin은 지라조직 뿐만 아니라 샘창자조직의 상피세포의 DNA합성에도 매우 억제적으로 작용하였다고 판단된다. 그러나 지라조직에서는 백색속질에 농축핵을 포함하고 있는 공포가 관찰되었으나 지라를 구성하는 조직학적 구조에는 비교적 큰 손상을 볼 수 없었는데 비하여 샘창자의 경우에는 용모가 매우 짧거나 거의 위축되어 용모를 식별할 수 없는 부위가 관찰되었으며, 창자음 부위는 결합조직성분이 증가하여 고유관이 넓고 엉성했으며 샘상피세포가 납작하고 창자음의 속공간이 넓어지는 등 큰 손상을 주었다. 이와 같은 실험결과는 adriamycin은 지라조직에는 형태적으로 큰 손상을 주지 않으나 샘창자에는 형태적으로도 큰 손상을 준다고 생각된다.

이상의 고찰을 종합하여 보면 AG60은 adriamycin에 비하여 샘창자의 조직에 형태적인 손상을 거의 주지 않으면서도 샘상피세포의 DNA합성을 효과적으로 억제하는 항암제라고 생각한다.

참 고 문 헌

- 고정식, 안의태, 박경호, 김진국, 김의한, 정영신 : 중앙치료제가 Ehrlich 암세포를 이식한 생쥐 지라조직에 미치는 영향: 자기방사법적 연구. 대한해부학회지 33(3) : 315-326, 2000.
- 고정식, 안의태, 박경호, 김진국 : Adriamycin 과 CP-2가 Ehrlich 암세포를 이식한 지라조직에 미치는 영향: 자기방사법적 연구. 대한체질인류학회지 15(3) : 185-195, 2002.
- 고정식, 임수제, 안의태, 김진국, 김상건, 이경영, 강종구, 홍은경, 정영신, 유보림, 한영복 : Acriflavine-Guanosine 복합제(AG60)의 조직내 분포에 대한 형광현미경적 연구. 대한해부학회지 32 : 105-116, 1999.
- 박재갑 : 암의 원인과 특성. 인간생명과학. 서울대학교출판부, 서울, pp. 621-651, 1994.

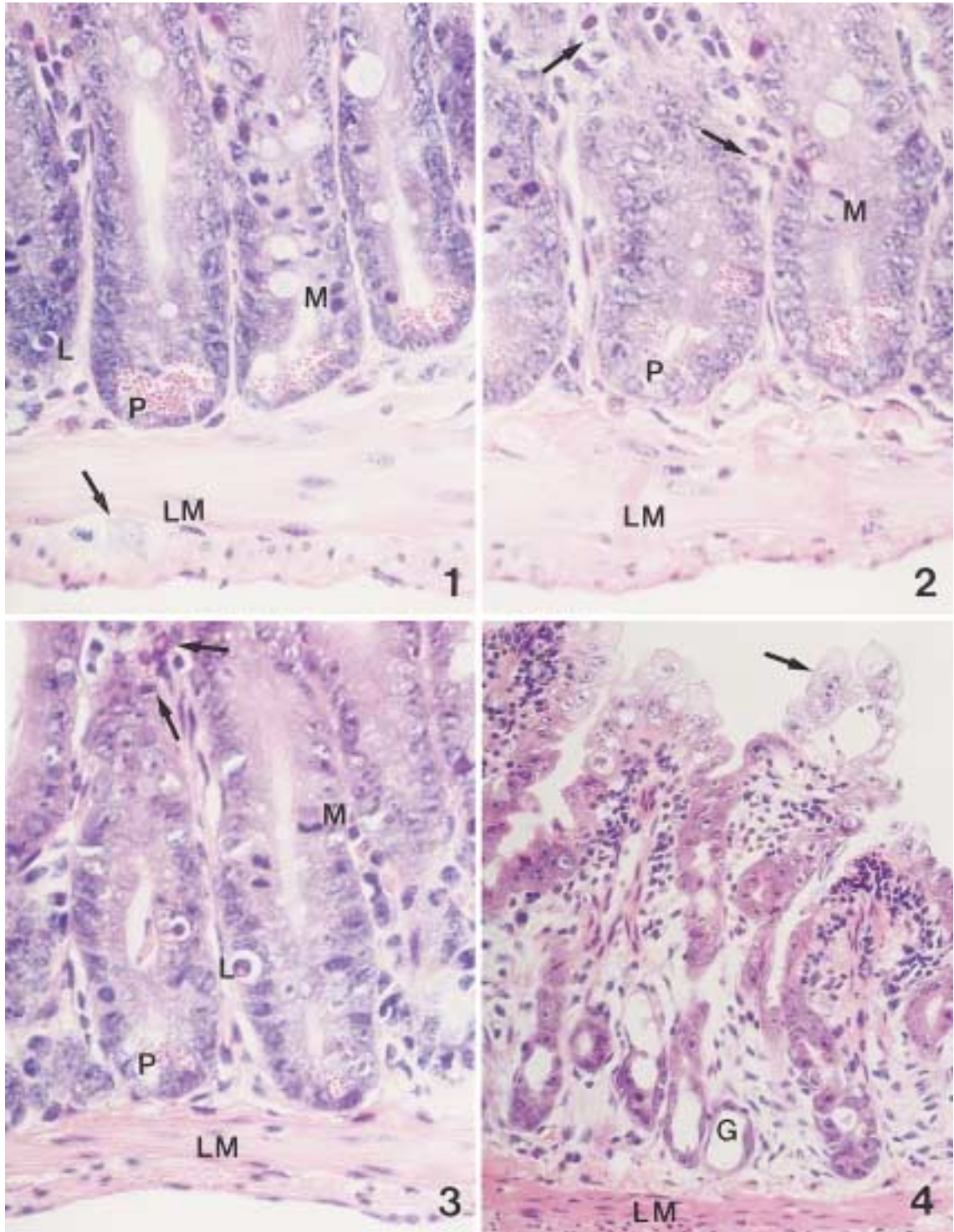
- 안의태, 박경호, 고정식, 정기수, 한영복, 홍은경, 정영신, 유보림, 김상건, 강종구, 이경영 : Acriflavine과 guanosine 복합투여가 생쥐가슴샘결질의 미세구조에 미치는 영향. 대한해부학회지 30 : 595-608, 1997.
- 홍은경, 김상건, 이경영, 정영신, 유보림, 김상건, 안의태, 한영복 : Acriflavine과 Guanosine 복합제 (AG60)의 항암효과. 대한암학회지 29(1) : 29-37, 1997.
- Agapito MT, Antolin Y, del Brio MT, Lopez-Burillo S, Pablos MI, Recio JM : Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res* 31(1) : 23-30, 2001.
- Barbeito CG, Albarenque SM, Reyna JC, Flamini MA, Laube PF, Badran AF : Mitotic activity of the duodenal crypt enterocytes in mice transplanted with EA21a mammary carcinoma. *Cell Biol Int* 26(1) : 123-125, 2002.
- Beaulieu JF, Calvert R : Hormonal regulation of epithelial cell proliferation in the fetal mouse duodenum in vitro. *Anat Rec* 217(3) : 250-255, 1987.
- Bose S, Gothoskar BP, Ranadive KJ : Studies of biological macromolecules: II. Effect of acriflavine exposure on the synthesis of macromolecules in liver cells in vitro. *Exp Cell Res* 42 : 89-98, 1966.
- Browning CH, Gulbransen R, Kennaway EL, Thornton LHD : Flavine and brilliant green powerful antiseptics with low toxicity to the tissues: their use in the treatment of infected wounds. *Br Med J* Jan 20 : 73-79, 1917.
- Cameron IL : Cell proliferation and renewal in the mammalian body. In: Cellular and molecular renewal in the mammalian body, eds Cameron IL, Thrasher JD. New York, Academic Press, pp. 45-79, 1971.
- Canellakis ES, Chen T-K : Relationship of biochemical drug effects to their antitumor activity-I. *Biochem Pharmacol* 28 : 1971-1976, 1979.
- Chakraborty NG, Bose SR : Protective immunity by chemically modified tumor cell antigens extracted by 3 M KCl. *Neoplasm* 34 : 427-430, 1987.
- Chakraborty NG, Bose SR, Joy Chowdhury JR : Acriflavine-induced surface changes in three tumor cell types and differential sensitivity to lectins. *Tumori* 70 : 127-130, 1984.
- Chakraborty NG, Bose SR, Joy Chowdhury JR : Enhancement of immunogenicity of tumor cells by modification of cell surface with acridine dyes. *Indian J Experi Biol* 18 : 927-930, 1980.
- Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Luinetti O, Rossi M, Cifone MG, Corazza GR : Small bowel enterocyte apoptosis and proliferation are increased in the elderly. *Gerontology* 48 (4) : 204-208, 2002.
- Clark WG, Brater CD, Johnson AR : *Goth's Medical Pharmacology*, 13th ed. St. Louis, Mosby Year Book, pp. 704-714, 1992.
- Craig CR, Stitzel RE : *Modern Pharmacology*. 4th ed. Boston, Little, Brown and Company, pp. 687-689, 1994.
- DiPiro JT, Talbert RL, Hayes PE, Yee GC, Matzke GR, Posey LM : *Pharmacotherapy. A pathophysiologic approach*, 2nd ed. Norwalk, Appleton and Lange, pp. 1906-1908, 1993.
- Farr RS, Samuelson JS, Stewart B : The suppression of anti-bovine serum albumin production in rabbits by acriflavine hydrochloride. *J Immunol* 94 : 682-691, 1965.
- Feldbush TL, Ballas ZK : Lymphokine-like activity of 8-mercaptoguanosine: induction of T and B cell differentiation. *J Immunol* 134 : 3204-3211, 1985.
- Gerlovich ESh, Iakhontova OI, Puzyrev AA, Shul'man VSh, Kazaev IS : Proliferative properties of the epithelium of the duodenal mucosa in chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Arkh Patol* 39(1) : 43-47, 1977.
- Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F : *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th ed. New York, Macmillan Pub Co, pp. 1240-1306, 1985.
- Goodman MG : Induction of interleukin I activity from macrophages by direct interaction with C8-substituted guanine ribonucleosides. *Int J Immunopharmacol* 10 : 579-586, 1988.
- Groza P, Bordeianu A, Cananau S, Ungureanu D, Dragomir CT : The gastrointestinal tract in hypokinetic rats. *Life Sci Space Res* 17 : 199-204, 1979.
- Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG : *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th ed. New York, McGraw-Hill, pp. 1225-1232, 1264-1265, 1996.
- Helpap B, Hattori T, Gedigk P : Repair of gastric ulcer. A cell kinetic study. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 392 : 159-170, 1981.
- Herman EH, Zhang J, Hasinoff BB, Clark JR Jr, Ferrans VJ : Comparison of the structural changes induced by doxorubicin and mitoxantrone in the heart, kidney and intestine and characterization of Fe (III)-mitoxantrone complex. *J Mol Cell Cardiol* 29(9) : 2415-2430, 1997.

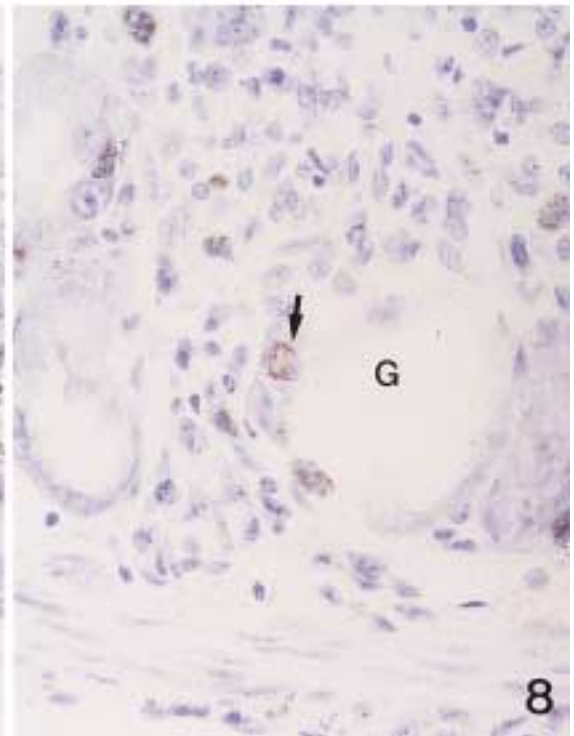
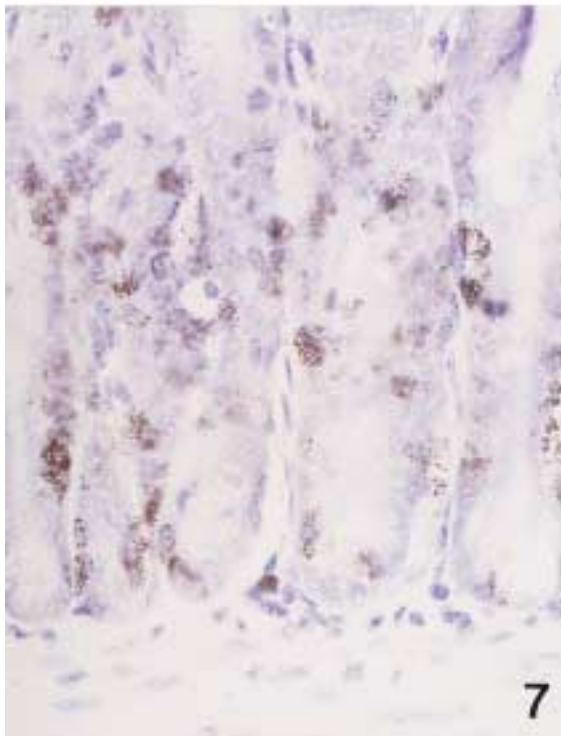
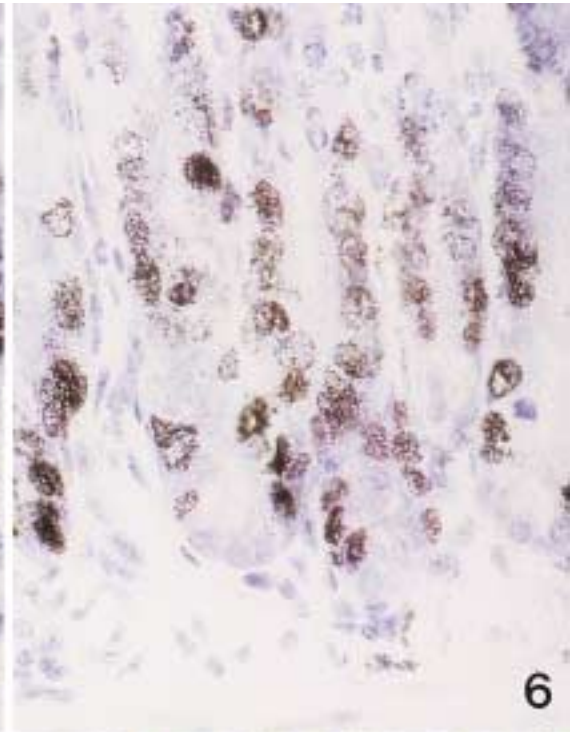
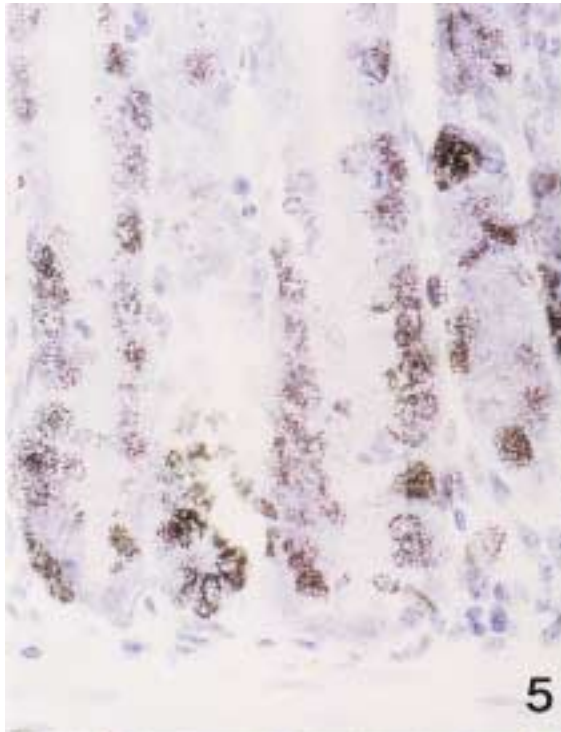
- Holt PR, Yeh KY : Small intestinal crypt cell proliferation rates are increased in senescent rats. *J Gerontol* 44(1) : B9-14, 1989.
- Iigo M, Hoshi A : Effect of guanosine on antitumor activity of fluorinated pyrimidines against P388 leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 13 : 86-90, 1984.
- Iigo M, Kuretani K, Hoshi A : Relationship between antitumor effect and metabolites of 5-fluorouracil in combination treatment with 5-fluorouracil and guanosine in ascites sarcoma 180 tumor system. *Cancer Res* 43 : 5687-5694, 1983.
- Iigo M, Miwa M, Ishitsuka H, Nitta K : Potentiation of the chemotherapeutic action of 5'-deoxy-5-fluorouridine in combination with guanosine and related compound. *Cancer Chemother Pharmacol* 19 : 61-64, 1987.
- Karam SM, Leblond CP : Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. I. Identification of proliferative cell types and pinpointing of the stem cell. *Anat Rec* 236 : 259-279, 1993.
- Kasten FH : Cytochemical studies with acridine orange and the influence of dye contaminants in the staining of nucleic acids. *Int Rev Cytol* 21 : 141-202, 1967.
- Killion JJ, Bucana CD, Radinsky R, Dong Z, O'Reilly T, Bilbe G, Tarcsay L, Fidler IJ : Maintenance of intestinal epithelium structural integrity and mucosal leukocytes during chemotherapy by oral administration of muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine. *Cancer Biother Radiopharm* 11(6) : 363-371, 1996.
- Kim SG, Cho JY, Chung YS, Ahn ET, Lee KY, Han YB : Suppression of xenobiotic-metabolizing enzyme expression in rats by acriflavine, a protein kinase inhibitor. Effects on epoxide hydrolase, glutathione S-transferases, and cytochrome p450. *Drug Metab Dispos* 26 : 66-72, 1998.
- Kim SG, Kim CW, Ahn ET, Lee KY, Hong EK, Yoo BI, Han YB : Enhanced anti-tumour effects of acriflavine in combination with guanosine in mice. *J Pharm Pharmacol* 49 : 216-222, 1997.
- Kimura Y, Sawai N, Okuda H : Antitumour activity and adverse reactions of combined treatment with chitosan and doxorubicin in tumour-bearing mice. *J Pharm Pharmacol* 53(10) : 1373-1378, 2001.
- King RJB : Principles of cancer treatment. In *Cancer biology*, Essex, Longman, pp. 183-211, 1996.
- Koo GC, Jewell ME, Manyak CL, Sigal NH, Wicker LS : Activation of murine natural killer cells and macrophages by 8-bromoguanosine. *J Immunol* 140 : 3249-3252, 1988.
- Labejof LP, Galle P, Mangabeira PA, de Oliveira AH, Severo MI : Histological changes in rat duodenum mucosa after whole-body gamma irradiation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 48(5) : 537-645, 2002.
- Macadam RF, Williamson J : Drug effects on the fine structure of Trypanosome rhodesienses: acriflavine, ethidium and antrycide. *Ann Trop Med Parasit* 68 : 291-299, 1974.
- Malpas JS : Chemotherapy. In: *Introduction to the cellular and molecular biology of cancer*, eds Frank LM, Teich NM, 2nd ed. Oxford, Oxford Univ Press, pp. 451-467, 1991.
- Martins MJ, Hipolito-Reis C, Azevedo I : Effect of fasting on rat duodenal and jejunal microvilli. *Clin Nutr* 20(4) : 325-331, 2001.
- McIlwain H : A nutritional investigation of the antibacterial action of acriflavine. *Biochem J* 35 : 1311-1319, 1941.
- Ninomiya Y, Miwa M, Eda H, Sahara H, Fujimoto K, Ishida M, Umeda I, Yokose K and Ishitsuka H : Comparative antitumor activity and intestinal toxicity of 5'-deoxy-5-fluorouridine and its prodrug trimethoxybenzoyl-5'-deoxy-5-fluorocytidine. *Jpn J Cancer Res* 81 : 188-195, 1990.
- Osswald H, Yusef M : Potentiation of the chemotherapeutic action of 5-fluorouracil by combination with cytidine or guanosine on HRS-sarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 93 : 241-244, 1979.
- Pope BL, Chourmouzis E, Victorino L, MacIntyre JP, Capetola RJ, Lau CY : Loxorivine (7-allyl-8-oxoguanosine) activates natural killer cells primes cytolytic precursor cells for activation by IL-2. *J Immunol* 151 : 3007-3017, 1993.
- Pope BL, MacIntyre JP, Kimball E, Lee S, Zhou L, Taylor GR, Goodman MG : The immunostimulatory compound 7-allyl-8-oxoguanosine (Loxorbine) induces a distinct subset of murine cytokines. *Cellular Immunol* 162 : 333-339, 1995.
- Roth D, London M, Manjon M : Binding specificity and affinity of acriflavine for nucleic acids. *Stain Technol* 42 : 125-132, 1967.
- Rubio CA, Sveander M, Tornling G, Uribe A : DNA synthesis in the gastroduodenal mucosa during acute and chronic stress in the rat. *In Vivo* 2(2) : 143-146, 1988.
- Ryberg B, Tielemans Y, Axelson J, Carlsson E, Hakanson R, Mattsson H, Sundler F, Willems G : Gastrin stimulates the self replication rate of the enterochromaffin-like cells in

- the rat stomach. *Gastroenterology* 99 : 935-942, 1990.
- Santelli G, Valeriote F : In vivo enhancement of 5-fluorouracil cytotoxicity to AKR leukemia cells by thymidine in mice. *J Natl Cancer Inst* 61 : 843-847, 1978.
- Stevens CE, Leblond CP : Renewal of the mucous cell in the gastric mucosa of the rat. *Anat Rec* 115 : 231-243, 1953.
- Thompson FM, Catto-Smith AG, Moore D, Davidson G, Cummins AG : Epithelial growth of the small intestine in human infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 26(5) : 506-512, 1998.
- Tielemans Y, Hakanson R, Sundler F, Willems G : Proliferation of enterochromaffin like cells in omeprazole-treated hypergastrinemic rats. *Gastroenterology* 96 : 723-729, 1989.
- Varedi M, Greeley GH Jr, Herdon DN, Englander EW : A thermal injury-induced circulating factor(s) compromises intestinal cell morphology, proliferation, and migration. *Am J Physiol* 277(1 pt 1) : G175-182, 1999.

Legends for Figures

- Fig. 1.** Hematoxylin-eosin stained duodenal crypts of a normal mouse ($\times 400$). Some Paneth cells (P) with eosinophilic granules are seen in the bottom of the intestinal crypts, and intraepithelial lymphocyte (L) and mitotic figures (M) are seen in the duodenal epithelial cells. A ganglion cell is seen between longitudinal and circular muscular layer (LM).
- Fig. 2.** Hematoxylin-eosin stained duodenal crypts of a tumor control mouse ($\times 400$). Some Paneth cells (P) containing eosinophilic granules are seen in the bottom of the intestinal crypts, and mitotic figures (M) are seen in the duodenal epithelial cells. Eosinophile leucocytes (arrows) are increased as compared with those seen in the normal control ones. LM, muscular layer.
- Fig. 3.** Hematoxylin-eosin stained duodenal crypts of a mouse, treated with AG60 (30 mg/kg) ($\times 400$). Some intraepithelial lymphocytes (L), mitotic figures (M) and Paneth cells (P) are seen in the intestinal crypts, and some eosinophile leucocytes (arrows) are seen in the lamina propria. LM, muscular layer.
- Fig. 4.** Hematoxylin-eosin stained duodenal crypts of a mouse, treated with adriamycin ($\times 400$). Note vesiculated epithelial cells of the intestinal villi (arrow), expanded lumen of the intestinal gland (G), and loosely arranged lamina propria. LM, muscular layer
- Fig. 5.** An autoradiogram of the duodenal crypts of a normal mouse ($\times 400$). The labeled cells containing massive or moderate amount of silver grains are seen over the nuclei of the epithelial cells.
- Fig. 6.** An autoradiogram of the duodenal crypts of a tumor control mouse ($\times 400$). Number of the labeled cells with massive silver grains are increased as compared with those of normal control ones.
- Fig. 7.** An autoradiogram of the duodenal crypts of a mouse, treated with AG60 (30 mg/kg) ($\times 400$). Number of the labeled cells containing silver grains are decreased as compared with those of normal control ones.
- Fig. 8.** An autoradiogram of the duodenal crypts of a mouse, treated with adriamycin ($\times 400$). Amount of the silver grains are significantly decreased as compared with those of normal control ones, and some labeled cells (arrow) with a few silver grains are seen in the glandular epithelial cells (G).





Abstract

Effects of Adriamycin or AG60 to the DNA Synthesis of Duodenal Epithelium of Mice Implanted with Ehrlich Carcinoma Cells: An Autoradiographic Study

Byung-June Ahn, E-Tay Ahn, Kyung-Ho Park, Jin-Gook Kim, Jeong-Sik Ko

Department of Anatomy, College of Medicine, Soonchunhyang University, Cheonan, Korea

This experiment was performed to evaluate the morphological responses of the intestinal gland of the mouse, duodenum inoculated with Ehrlich carcinoma cells, following administration of adriamycin or acriflavine-guanosine composition (AG60, Taerim Pharm. Co. Seoul, Korea).

Healthy adult ICR mice weighing 25 g each were divided into normal and experimental groups (experimental control group, adriamycin treated group, and AG60 treated group). In the experimental groups, each mouse was inoculated with 1×10^7 Ehrlich carcinoma cells subcutaneously in the inguinal area. From next day, 0.2 ml of saline, adriamycin (2 mg/kg), AG60 (5 mg/kg) or AG60 (30 mg/kg) were injected subcutaneously to the animals every other day, respectively. The day following the 7th injection of anticancer drugs, each mouse was injected with a single dose of $0.7 \mu\text{Ci/gm}$ of methyl- ^3H -thymidine (25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) through tail vein. Seventy minutes after the thymidine injection, animals were sacrificed. The number of the labeled epithelial cells of the duodenal crypts (mean number of labeled epithelial cells per 3.5 mm length of mucosa) were observed and calculated.

On histological study, in the duodenum of adriamycin treated groups, vesiculated epithelial cells of the intestinal villi, expanded lumen of the intestinal gland (G) and loosely arranged lamina propria were observed. But in the AG60 treated group, morphological changes of the duodenum were not observed. On autoradiographic study, number of the labeled cells of normal control, experimental control, adriamycin-treated, AG60 (5 mg/kg)-, and AG60 (30 mg/kg)- treated groups were 595.3 ± 48.96 , $715. \pm 89.11$, 96.0 ± 15.62 , 632.0 ± 83.16 and 370.3 ± 49.65 , respectively. In the adriamycin and AG60 30mg/kg-treated group, poorly-labeled cells containing only a few silver grains of ^3H -thymidine were observed more frequently than in those of the normal control group. But in the experimental control group, number of the heavy labeled cells were observed more frequently than in those of the normal control group.

From the above results, adriamycin and AG60 (30 mg/kg) may suppress the DNA synthesis of the cells of the duodenal crypts. But AG60 does not result any histological defect on the duodenal mucosa. These results suggest that AG60 is expected as one of most effective anticancer drugs.

Key words : Duodenal crypt, DNA synthesis, Autoradiographic study, Acriflavine-guanosine complex (AG60), Adriamycin