

## Rat mammary carcinoma 의 發育에 있어서 肥滿細胞의 影響에 관한 病理組織學的 研究

### 2. 腫瘍發育에 있어서 mast cell mediator의 영향

金 兌 煥 · 李 且 秀\*

韓國原子力研究所 附設 原子力病院 實驗動物管理室

慶北大學校 獸醫科大學\*

(1990. 8. 21 접수)

## Histopathological Studies on the Influence of Mast Cell in the Growth of Rat Mammary Carcinoma

### 2. Effect of Mast Cell Mediator on the Development of Rat Mammary Carcinoma

Tae-hwan Kim, Cha-soo Lee\*

*Laboratory of experiment animal, Korea Cancer Center Hospital,*

*Korea Atomic Energy Research Institute*

*College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University\**

(Received Aug 21, 1990)

**Abstract:** In order to know the influence of mast cells on the mammary tumor development, the growth of the mammary carcinoma, the numerical changes and the morphological findings of mast cells appeared in the tumor were microscopically observed in the rat treated with DMBA and each chemical of histamine, heparin, pyrilamine or cimetidine.

The results observed were summarized as follows:

The tumor induction time that represented the number of days elapsing between the 3rd DMBA administration until a first tumor became  $10 \times 10$ mm in diameter was  $42.5 \pm 4.7$  days, and the mean number of tumor mass per rat was  $3.4 \pm 1.2$  in the DMBA-treated group. No significant difference was apparent in the tumor induction time of the histamine-treated group, heparin-treated group or pyrilamine-treated group compared with the control group, but in the cimetidine-treated group the tumor induction time was  $61.8 \pm 10.6$  days ( $p < 0.005$ ). The mean number of tumors per rat was  $2.1 \pm 0.9$  in the cimetidine-treated group in contrast to  $3.4 \pm 1.3$  in the control group ( $p < 0.005$ ).

Numerical changes of mast cells were observed according to the development of DMBA-induced mammary tumors that were separated into three major classes of tumors. The numbers of mast cells in all the experimental group were inclined to increase significantly according to the mammary tumor development ( $p < 0.005$ ), and the histamine-treated group, heparin-treated group, or pyrilamine-treated group were nearly similar to the control group. But the mast cells in the each stage of tumor development were more numerous in the cimetidine-treated group

than in the control group ( $p < 0.005$ ). There were not significant in the numerical changes of mast cells among the experimental groups on each stage of carcinomas separated by early stage, middle stage and late stage.

In the morphological characteristics of mast cells, the degranulation was not detectable from the hyperplasia stages to the early stage of carcinoma, but its degranulation was observed at the middle stage of carcinoma. Most mast cells were nearly degranulated at the late stage of carcinoma. The histamine-treated group, pyrilamine-treated group and cimetidine-treated group did not differ from the control group in morphological changes of mast cells, but the degranulation was shown mild in the heparin-treated group. And the degranulation gave rise to the depletion of intercellular matrix via exocytosis all the experimental group.

From above results, it is supposed that mast cells inhibit the tumor development and that the inhibition is not caused by a single-factor, but by a complex activities of mast cell mediators.

## 緒 論

肥滿細胞는 自然發生癌과 實驗的으로 誘導된 惡性腫瘍內와 腫瘍의 周邊 및 腫瘍細胞의 浸潤部位等에 小集團으로 多數 分布하여 腫瘍發育을 비롯한 各種의 自然防禦機構에 重要한 役割을 하며 局所의 恒常性과 炎症反應을 調節한다고 기술한 바 있으며,<sup>1-10</sup> 또한 肥滿細胞의 mediator인 heparin<sup>10-16</sup>과 histamine<sup>17-20</sup>이 腫瘍의 發生과 發育에 미치는 영향에 관하여 報告된 바 있다.

肥滿細胞 mediator의 탈과립은 細胞表面에 위치한 receptor에 抗原이 附着하기 前에는 mediator의 放出이 抑制되나 탈과립인자에 의한 活性化로 1次 mediator가 細胞外로 分泌되고, 이어서 細胞膜의 變化로 인지질의 메틸화가 일어남과 동시에  $Ca^{++}$  流入과 2次 mediator가 유리되어진다고 하였다.<sup>1-3,21,22</sup> 특히 칼슘은 ATP와 함께 微細小管과 微細纖維의 收縮을 活性化시켜 나트륨이온과 肥滿細胞의 과립이 즉각적으로 交換되어 탈과립이 일어나고 동시에 탈과립을 調節한다고 하였다. 따라서 細胞의 代謝性 에너지와 칼슘이온은 肥滿細胞 mediator의 유리를 일으키는 必須的인 因子라고 하였다.<sup>22</sup>

비만세포탈과립의 誘發因子는 化學的 因子와 物理的 因子로 나누며, 그 중 化學的 因子로는 IgE, peptide, 有機鹽基類, 高分子化合物 및 ATP 등이 포함되며, 物理的 因子로는 細胞의 損傷, 溫度 및 放射線 등을 列擧하고 있다.<sup>23</sup> 한편 作用方法과 特性에 따라 3가지 因子로 구분하며 그중 物理的 因子로는 機械的 및 滲透壓에 의한 細胞損傷, 高溫, 紫外線과 放射線 등을, 化學的 因子로는 洗滌劑, polymeric amine, 多糖類, 抗生劑, cationic protein, 蛇毒, adenosine 誘導體, 칼슘 ionophore, 酵素, 寄生蟲, 植物性 抽出液, d-tubocur-

arine, chlorpromazine, phenothiazine, 香精神劑, morphine, aspirin, reserpin 등을, 그리고 免疫學的 因子로는 抗 IgE와 活性化된 免疫複合體 등으로 細分하고 있다.<sup>22,24-26</sup>

腫瘍細胞의 發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 영향에 관해서는 肥滿細胞 mediator인 chondroitin sulphate와 heparin 그리고 polyamine이 惡性腫瘍의 成長과 浸潤性을 促進시킨다고 하였으나<sup>10-12,27-35</sup> 한편 肥滿細胞는 腫瘍細胞를 죽인다고 하였으며,<sup>36,37</sup> heparin은 腫瘍과 正常組織의 成長을 抑制시킨다고 하였다.<sup>13-16</sup> 그리고 histamine은 腫瘍의 發生頻度와 發生率을 減少시킨다고 하였으며,<sup>19</sup> 肥滿細胞는 腫瘍發育에 대한 宿主의 防禦機構에 重要한 役割을 한다고 示唆한 바 있다.<sup>16,19,38-41</sup>

이와 같이 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 작용기전에 관하여 많이 研究하고 있지만 이들 mediator의 作用에 대한 病理學的 研究는 거의 報告된 바 없으며, 특히 腫瘍의 發育過程에 다른 肥滿細胞의 數의 變動과 形態學的인 所見에 대한 구체적인 研究는 거의 찾아 볼 수 없는 實情에 있다.

著者 등은 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 影響을 알아보기 위하여 發癌物質을 投與한 rat에 肥滿細胞의 mediator인 histamine과 heparin, 그리고 histamine에 대한 receptor의 길항작용이 있는 pyrilamine과 cimetidine를 各各 投與한 後 mammary carcinoma 發生과 發育에 따른 乳腺組織內 肥滿細胞의 數의 變動을 光學顯微鏡的으로 觀察하였던 바 그 結果를 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

供試動物: 韓國 化學研究所의 動物實驗室에서 繁殖 飼育된 生後 50日令의 雌性非近交系 Wistar系 rat 120

다리를 공시하였으며, 給與飼料로는 미국 NIH-7-open-formula에 따라 製造된 固形飼料과 飲水는 자유롭게 給여시켰다.

發癌物質 및 投與藥劑: 發癌物質로는 DMBA(Sigma Chemical Co.)를 olive oil 1 ml당 15 mg의 농도로 攪拌하여 Vortex mixer에 3~4시간동안 混合한 後 그 乳劑를 사용하였으며, 投與藥劑로 histamine dihydrochloride (Sigma Chemical Co.), heparin (Sigma Chemical Co.), pyrilamine (Sigma Chemical Co.) 및 cimetidine (Sigma Chemical Co.)을 生理的 食鹽水에 溶解하여 各各 投與하였다.

投與用量 및 方法: 發癌物質의 投與方法은 Ionov<sup>42</sup>의 方法을 참고로 하여 rat를 麻醉시킨 後 DMBA 乳劑 1ml를 모든 rat에 1回 投與後 各各 2주 간격으로 2回 胃內 投與하였다. DMBA를 投與하지 않은 正常對照群과 DMBA를 投與한 後 生理的 食鹽水 0.1 ml/day을 腹腔內 投與한 群, 그리고 DMBA의 胃內 投與와 동시에 腹腔內에 各各의 藥劑를 投與하였으며, 各 實驗群은 histamine dihydrochloride를 50mg/kg/day을 投與한 群, heparin을 100 units/day를 投與한 群, pyrilamine을 10mg/kg/day을 投與한 群과, cimetidine을 5mg/kg/day을 投與한 群 등으로 分類하여 各 實驗群에 各各 20마리씩 供試하였다.

腫瘍發生에 대한 肉眼的 觀察: 各 實驗群의 rat mammary carcinoma의 誘導時間과 發生率을 觀察하기 위하여 發癌物質을 3回 投與한 직후부터 부검할때까지 37일에서 62일에 걸쳐서 매일 乳腺組織을 촉진하여 rat 當 發生된 腫瘍塊의 數와 各 實驗群當 腫瘍의 發生期間을 算定한 後 T-test로 統計處理하여 實驗群間에 比較觀察하였다. 그리고 發生된 腫瘍塊의 크기는 caliper를 이용하여 測定하였으며, 그 크기가 rat당 한 개의 腫瘍塊가 10×10mm로 成長하였을때 病理組織學的 觀察을 위해 屠殺한 後 發生된 腫瘍塊의 數를 肉眼的으로 算定하였다.

光學顯微鏡의 觀察: 上記와 같이 실시한 供試動物을 屠殺解體하여 肉眼的으로 觀察 한 後 皮膚 및 乳腺組織을 切取하여 10% 中性 formalin液, Lillie<sup>43</sup>'s alcoholic lead nitrate formalin液 및 alcohol 固定劑에 各各 固定하여 paraffin 포매 절편을 만들어 alcian blue, toluidine blue, Bismark brown, PAS 및 H-E 染色 등을 실시한 後 光學顯微鏡으로 觀察하였다. 그리고 腫瘍發生에 따른 乳腺組織內 肥滿細胞의 數的 變動을 Fisher 및 Fisher<sup>41</sup>의 方法에 따라 光學顯微鏡下에 200배의 10시야에서 肥滿細胞의 數를 算定하여 平均値와 標準偏差를 구한 後 모든 統計는 T-test로 처리하여 實驗群

間에 比較觀察하였다.

## 成 績

腫瘍組織內 肥滿細胞의 分布狀況과 腫瘍發育에 있어서 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 影響을 알아 보기 위하여 DMBA를 投與한 供試動物의 發癌過程에 따른 供試藥劑의 效果를 調査하였던 바, DMBA單獨投與群에서는 腫瘍發生의 平均 所要期間은 42.5±4.7일이었으며, rat당 發生된 腫瘍塊의 數는 平均 3.4±1.2個이었다(Table 1). 그리고 肥滿細胞의 mediator인 histamine投與群과 heparin投與群에서는 腫瘍發生의 所要期間이 DMBA單獨投與群에 비해 有意한 差異가 없었으며, 腫瘍의 發生部位도 對照群과 동일하게 發生되었다(Table 2,3). 그러나 histamine 投與群에 있어서 腫瘍發生의 平均 所要期間이 個體間에 差異가 있었지만 DMBA單獨投與群에 비해 다소 遲延된 傾向이었고, 腫瘍發生에 대한 histamine의 作用을 究明하기 위해 H<sub>1</sub>-receptor의 拮抗제인 pyrilamine과 H<sub>2</sub>-receptor의 拮抗제인 cimetidine을 投與하여 各各 그 效果를 觀察하였던 바 Table 4에 나타난 바와 같이 pyrilamine 投與群은 腫瘍發生의 平均 所要期間과 發生된 腫瘍塊의 數가 DMBA單獨投與群과 有意한 差異가 없었지만, cimetidine 投與群에서는 腫瘍發生의 平均期間이 매우 遲延되었으며(p<0.005), 發生된 腫瘍塊의 數도 DMBA單獨投與群에 비해 有意하게 減少하였다(p<0.005).

腫瘍組織의 發育過程에 따른 肥滿細胞의 數的 變動에 대한 供試藥劑의 效果는 腫瘍組織의 形態學的 所見에 따라 肥滿細胞의 數를 算定하였던 바 DMBA單獨投與群의 肥滿細胞의 數的 變動은 腫瘍發育에 따라 增加하는 傾向 이었으며(p<0.005), histamine投與群, heparin 投與群 및 pyrilamine 投與群에서는 DMBA單獨投與群과 거의 類似하게 나타났으나 cimetidine 投與群에서는 DMBA單獨投與群에 비해 肥滿細胞의 數가 有意하게 增加하였다(Table 5)(p<0.005). Carcinoma의 發育에 따른 肥滿細胞의 數的 變化는 初期, 中期, 그리고 後기로 나누어 觀察하였던 바 DMBA單獨投與群의 carcinoma 中期에는 肥滿細胞의 數가 매우 增加하였으나 carcinoma 後期에는 상당히 減少된 것으로 觀察되었으며, 모든 藥劑投與群은 DMBA單獨投與群과 거의 類似한 傾向으로 나타났다(Table 6).

腫瘍發育에 따른 肥滿細胞의 形態學的 所見으로는 DMBA單獨投與群에서 hyperplasia期로부터 carcinoma 初期까지는 肥滿細胞의 탈과립 소견이 거의 觀察되지 않았으나 carcinoma 中期에서는 많은 肥滿細胞가 탈과립이 일어났으며, carcinoma 後期에는 거의 모든 肥滿

**Table 1.** Effects of histamine, pyrilamine, cimetidine and heparin on rat mammary carcinoma appearance

No.	Induction Time(days)* / Tumor No.				
	G1	G2	G3	G4	G5
1	36/4	45/2	44/1	60/3	42/3
2	38/2	39/3	42/3	73/1	35/4
3	43/1	43/1	39/4	43/1	45/1
4	32/4	49/7	45/2	50/2	40/5
5	38/4	43/3	40/1	65/2	35/1
6	44/5	28/3	42/3	65/2	42/4
7	43/3	35/5	40/3	50/1	57/3
8	52/4	50/4	43/1	45/4	31/3
9	38/3	43/3	51/4	80/3	50/2
10	45/2	40/2	40/2	73/2	45/1
11	44/4	39/1	43/3	65/1	40/6
12	38/5	45/3	45/2	60/1	60/4
13	43/3	69/3	42/1	50/2	42/3
14	45/4	39/2	40/3	65/3	35/2
15	52/1	43/4	43/4	78/1	31/5
16	44/3	45/7	45/2	73/2	50/3
17	45/5	49/5	40/3	50/3	42/4
18	43/4	74/5	60/1	65/2	57/3
19	43/4	43/4	45/3	60/2	45/2
20	44/3	43/3	42/3	65/3	42/3
Mean±S.D.	42.5±4.7 (3.4±1.2)	45.2±10.0 (3.6±1.5)	43.6±4.6 (2.5±1.0)	61.8±10.6 (2.1±0.9)	43.3±8.0 (3.1±1.3)

G1; DMBA-Only group, G2; DMBA+Histamine, G3; DMBA+Pyrilamine, G4; DMBA+Cimetidine, G5; DMBA+Heparin.

\* The induction time of mammary carcinoma was considered as the time when the mass of tumor was at least 1cm in diameter.

**Table 2.** Regional distribution(%) of mammary carcinoma in rats treated with DMBA and each chemical of saline, histamine, pyrilamine, cimetidine or heparin

	Cervical	Thoracic	Abdominal	Inguinal
DMBA+Saline	13.7	55.7	9.4	21.7
DMBA+Histamine	8.3	66.7	16.7	8.3
DMBA+Pyrilamine	50.0	16.7	33.3	16.7
DMBA+Cimetidine	9.1	36.4	18.2	36.4
DMBA+Heparin	18.2	45.4	9.1	27.3

**Table 3.** Effect of histamine and heparin on the growth of mammary carcinoma

	Control	Histamine	Heparin
Induction time (days)*	42.5±4.7	45.2±10.0	43.3±8.0
Tumor number	3.4±1.2	3.6± 1.5	3.1±1.3

\* The induction time of mammary carcinoma was considered as the time when the mass was at least 1 cm in diameter.

**Table 4.** Effect of pyrilamine and cimetidine on the growth of mammary carcinoma

	Control	Pyrilamine	Cimetidine
Induction time(days)*	42.5±4.7	43.6±4.6	61.8±10.6**
Tumor number	3.4±1.2	2.5±1.0	2.1± 0.9**

\* The induction time of mammary carcinoma was considered as the time when the mass was at least 1 cm in diameter.

\*\* Significantly different from control group at  $p < 0.005$ .

**Table 5.** Number of the mast cell on the stages of mammary tumor development in rats treated with DMBA and each chemical of saline, histamine, heparin, pyrilamine or cimetidine

	Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma
DMBA+Saline	50.2±4.9	126.7±10.5*	340.3±19.2
DMBA+Histamine	51.0±4.5	127.8± 8.3	334.6±38.5
DMBA+Heparin	47.3±6.4	128.0± 9.9	340.9±17.6
DMBA+Pyrilamine	48.2±9.9	129.3±13.3	292.0±18.6
MBA+Cimetidine	53.7±1.2**	176.3±13.0**	382.7±28.6**

\* Significantly different from hyperplasia stages at  $p < 0.005$ .

\*\* Significantly different from control group at  $p < 0.005$ .

**Table 6.** Number of the mast cell on the stages of mammary carcinoma growth in rats treated with DMBA and each chemical of saline, histamine, heparin, pyrilamine or cimetidine

	Early stage	Middle stage	Late stage
DMBA+saline	78.7± 8.2	350.7±21.0	76.3±8.9
DMBA+histamine	63.3±11.0	345.6±33.4	85.5±6.2
DMBA+heparin	73.7± 9.6	357.7±19.0	53.3±3.4
DMBA+pyrilamine	69.0± 7.8	339.0±28.6	63.2±9.6
DMBA+cimetidine	68.0±10.9	442.7±28.6	63.8±7.6

細胞가 완전히 탈과립된 소견으로 나타났다(Fig. 1). Histamine投與群, pyrilamine投與群과 cimetidine投與群의 肥滿細胞所見은 DMBA單獨投與群과 거의 差異가 없었으며(Fig. 2-4), heparin 投與群에서는 肥滿細胞의 탈과립이 약하게 일어난 것이 관찰되었다(Fig. 5, 6). 그리고 모든 약제투여군에서는 細胞外 分泌에 의한 탈과립 소견이었다.

## 考 察

腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 影響은 肥滿細胞 protease가 纖維芽細胞와 腫瘍細胞의 collagenase 產生 및 活性化 그리고 單球와 大食細胞의 IL-1 產生을 刺戟한다고 하였으며, 이 IL-1은 많은 mesenchymal cell과 纖維芽細胞의 collagenase 產生을 刺戟하여 腫瘍의 浸潤과 轉移를 惹起시킨다고 하였다.<sup>10,11,28,30</sup> 그러나 肥滿細胞는 腫瘍發育을 억제하여 宿主의 防禦作用

에 關여한다고 하였으며<sup>3,19,36,38-41,44</sup>, 또한 肥滿細胞의 serotonin, protease와 peroxidase가 腫瘍細胞를 죽인다고 하였으며<sup>36,37,45</sup>, 한편 肥滿細胞의 數와 腫瘍發育과는 關係가 있다고 하였다.<sup>19,38</sup> 그리고 肥滿細胞가 缺乏한 W/WV 系마우스가 정상 마우스보다 腫瘍發生率이 높고<sup>19,38</sup>, 肥滿細胞가 없는 마우스에서는 肺臟內로 전이된 B16 melanoma가 成長을 하였으나 정상 마우스에선 成長하지 않았다고 하였으며<sup>20</sup>, 肥滿細胞의 數가 많은 動物이 적은 動物 보다 腫瘍에 대한 抵抗力이 크다고 하였다.<sup>46</sup>

本 研究에서 觀察된 DMBA 單獨投與群에서는 腫瘍發生의 平均 所要期間은 42.5±4.7日이었으며, rat당 發生된 腫瘍塊의 數는 平均 3.4±1.2個이었다. 그리고 肥滿細胞의 mediator인 histamine 投與群과 heparin 投與群 그리고 pyrilamine投與群에서는 腫瘍發生의 所要期間이 DMBA 單獨投與群에 비해 有意한 차이가 없었

으나 cimetidine 投與群에서는 매우 遲延되었으며, 發生된 腫瘍塊의 數도 有意하게 減少되었다. 이것으로 볼때 本 研究에서 나타난 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 單獨物質의 效果는 Plaut 등<sup>18</sup>은 histamine 이, Azizkhan 등<sup>32</sup>은 heparin이 腫瘍의 發育을 促進 또는 Swarz 및 Austen<sup>1</sup>은 腫瘍에 대한 自然防禦機構에 重要な 役割을 한다는 것과 다소의 差異가 인지되었다.

Mammary carcinoma의 發育過程에 따른 肥滿細胞의 數的 變動에 대한 供試藥劑의 效果는 Carter 및 Carter<sup>47</sup>의 분류에 따라 肥滿細胞의 數를 상경하였던 마 肥滿細胞 mediator인 histamine投與群과 heparin投與群은 DMBA單獨投與群과 同一하게 肥滿細胞의 數가 增加하였으며, 또한 pyrilamine投與群에서도 DMBA 單獨投與群과 거의 類似한 數的 變動이 觀察되었다. 그러나 cimetidine 投與群에서는 DMBA 單獨投與群에 비해 肥滿細胞의 數가 有意하게 增加하였다. 이와 같은 사실로 미루어 볼때 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 單獨 物質의 效果는 거의 없는 것으로 思料되었다. 그리고 carcinoma의 發育에 따른 肥滿細胞의 數的 變化에 미치는 比만제로 mediator의 영향에 關於하여 구체적으로 研究된 바는 없으나 初期, 中期 그리고 後期로 나누어 조사하였던 마 DMBA 單獨投與群에서는 carcinoma 中期에는 肥滿細胞의 數가 매우 增加하였으나 carcinoma 後期에는 상당히 減少된 것으로 觀察되었으며, 모든 藥劑投與群에서도 DMBA 單獨投與群과 거의 類似한 所見으로 나타났다. Carcinoma 後期에서의 肥滿細胞의 數的 減少는 Tanooka 등<sup>38</sup>이 報告한 마와 같이 腫瘍發育의 抑制作用이 한계가 있는 것으로 思料되었다.

또한 腫瘍에 대한 肥滿細胞의 mediator인 histamine 은 T cell의 細胞溶解作用을 抑制, effector T cell의 抑制, H<sub>2</sub>-receptor가 있는 淋巴球의 增殖과 lymphokine 產生을 抑制, 그리고 suppressor T cell의 活性化 등으로 細胞性 免疫을 抑制시키므로 腫瘍의 發育을 促進시킨다고 하나<sup>17, 18</sup> Burtins 등<sup>19</sup>과 Schittek 등<sup>20</sup>은 histamine 이 腫瘍의 發生과 發育을 有意하게 抑制시켰다고 하였다. 또한 Tatsuta 등<sup>48</sup>은 histamine이 choline을 活性化시켜 腫瘍의 發育을 抑制한다고 示唆한 바 있다. 이와 같은 histamine의 作用에 대해서는 잘 알 수 없지만 본 연구에서는 腫瘍發育을 다소 抑制시킨 것으로 나타났다. 또한 heparin의 作用에 대해서는 研究者에 따라 腫瘍組織의 發育을 促進<sup>10-12, 28-30, 32</sup> 또는 抑制<sup>13-16</sup>시키는 것으로 報告하고 있으나 本 研究에서는 對照群에 비해 유의할 만한 差異가 認定되지 않았다. 한편 H<sub>1</sub>-receptor 길항제인 pyrilamine이 腫瘍發育에 미치는 영

향에 대해서는 찾아 볼 수 없으나 heparin 投與群과 類似한 所見으로 腫瘍發育에 아무런 效果가 없었다. 그리고 H<sub>2</sub>-receptor의 길항제로 알려진 cimetidine의 腫瘍에 대한 作用은 cimetidine이 suppressor T cell을 抑制하여 細胞毒性和 淋巴球의 數를 增加시켜 腫瘍의 發育을 抑制하는 것으로 報告한 바 있다.<sup>49-51</sup> 本 研究에서도 cimetidine은 腫瘍의 發育을 강하게 抑制시킨 것으로 나타났다. 그 작용기전에 대해서는 앞으로 더 追究해 볼 문제라고 생각된다.

腫瘍發育에 따른 肥滿細胞의 形態學的인 變化에 關해서는 報告된 바 없지만 本 研究에서 調査한 바에 의하면 DMBA 單獨投與群은 hyperplasia 期로부터 carcinoma 初期까지 肥滿細胞의 탈과립 소견이 거의 觀察되지 않았으나 carcinoma 中期에서는 많은 肥滿細胞가 탈과립이 일어났으며, carcinoma 後期에는 거의 모든 肥滿細胞가 완전히 탈과립된 소견으로 나타났다. Heparin 投與群에서는 肥滿細胞의 탈과립이 細胞外分泌에 의해 일어나는 것으로 觀察되었고, histamine, pyrilamine과 cimetidine投與群의 肥滿細胞所見은 DMBA 單獨投與群과 同一한 所見으로 나타났다.

以上の 結果에 비추어 볼때 肥滿細胞는 腫瘍發育을 抑制하며 그 mediator의 單獨物質에 의한 것보다는 全 mediator의 複合的인 作用에 의해 일어나는 것으로 思料되었다.

## 結 論

腫瘍組織內 肥滿細胞의 分布狀況과 腫瘍發育에 있어서 腫瘍發育에 대한 肥滿細胞 mediator의 影響을 알아 보기 위하여 DMBA를 投與한 Wistar系 rat에 histamine, heparin, pyrilamine 및 cimetidine을 各各 投與하여 腫瘍의 發育과 腫瘍組織內에 出現하는 肥滿細胞의 數的 變動과 形態學的 所見 등을 光學顯微鏡으로 觀察하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

DMBA 單獨投與群에서는 腫瘍發生의 平均 所要期間이 42.5±4.7일이었으며, rat당 發生된 腫瘍塊는 平均 3.4±1.2개이었다. 그리고 histamine投與群, heparin 投與群과 pyrilamine投與群에서는 腫瘍發生의 所要期間이 DMBA 單獨投與群에 비해 有意한 差異는 없었으나 cimetidine投與群에서는 腫瘍發生期間이 매우 遲延되었으며(p<0.005), 發生된 腫瘍塊의 數도 有意하게 減少되었다(p<0.005).

腫瘍組織의 發育過程에 따른 肥滿細胞의 數的 變動에 대한 供試藥劑의 效果는 腫瘍組織의 形態學的 所見에 따라 肥滿細胞의 數를 상경하였던 마 DMBA 單獨投與群의 肥滿細胞의 數的 變動은 腫瘍發育에 따라 增加하

는 傾向이었으며( $p < 0.005$ ), histamine 投與群, heparin 投與群 및 pyrillamine 投與群에서는 DMBA 單獨投與群과 거의 類似하게 나타났으나 cimetidine 投與群에서는 DMBA 單獨投與群에 비해 肥滿細胞의 數가 有意하게 增加하였다( $p < 0.005$ ). Carcinoma의 發育에 따른 肥滿細胞의 數의 變化에 미치는 肥滿細胞 mediator의 영향을 初期, 中期, 그리고 後期로 나누어 觀察하였던 마 DMBA 單獨投與群에서는 carcinoma 中期에는 肥滿細胞의 數가 매우 增加하였으나 carcinoma 後期에는 상당히 減少된 것으로 觀察되었으며, 모든 藥劑投與群은 DMBA 單獨投與群과 거의 類似한 傾向으로 나타났다.

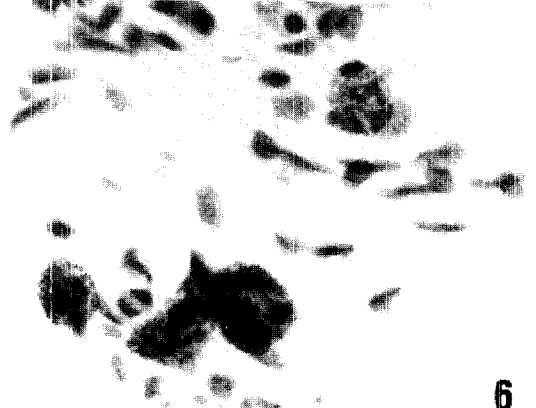
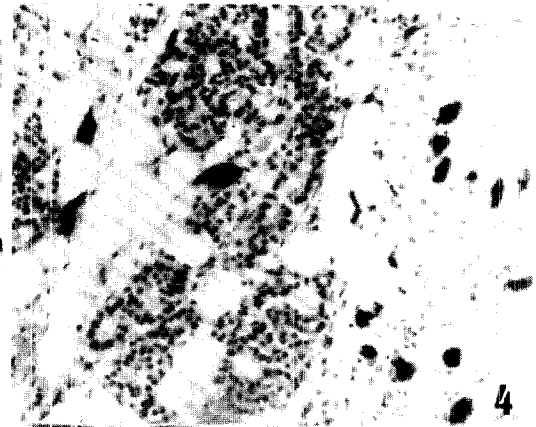
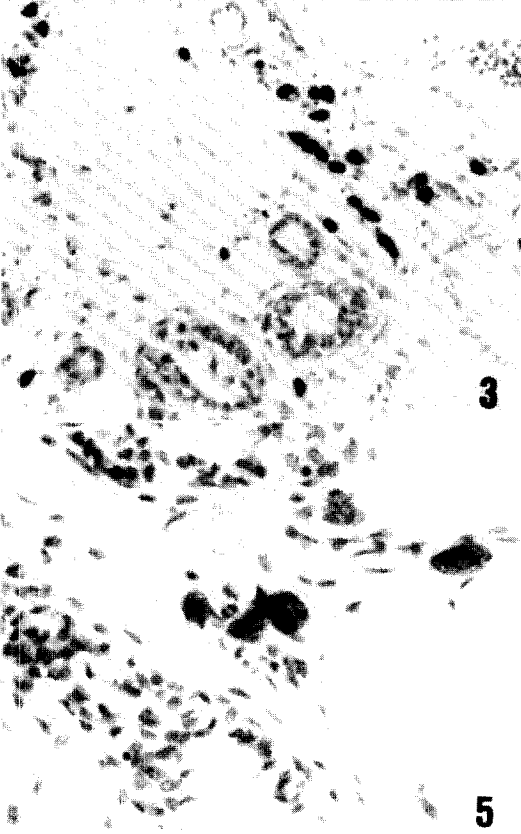
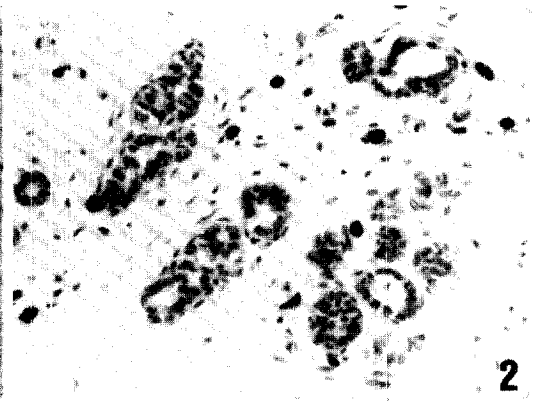
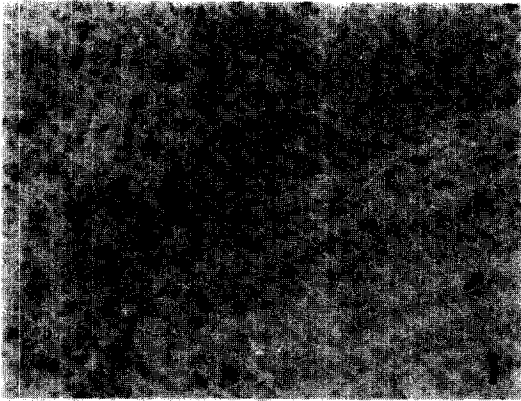
腫瘍發育에 따른 肥滿細胞의 形態學的 所見으로는 DMBA 單獨投與群에서 hyperplasia 期로부터 carcinoma

初期까지는 肥滿細胞의 탈과립 소견이 거의 觀察되지 않았으나 carcinoma 中期에서는 많은 肥滿細胞가 탈과립이 일어났으며, carcinoma 後期에는 거의 모든 肥滿細胞가 완전히 탈과립된 소견으로 나타났다. Histamine 投與群, pyrillamine 投與群과 cimetidine 投與群의 肥滿細胞所見은 DMBA 單獨投與群과 거의 差異가 없었으나 heparin 投與群에서는 肥滿細胞의 탈과립이 약하게 일어난 것이 관찰되었다. 그리고 모든 藥劑投與群에서는 細胞外 分泌에 의한 탈과립 소견이었다.

以上の 結果에 비추어 볼때 肥滿細胞는 腫瘍發育을 抑制하며 그 mediator의 單獨物質에 의한 것보다는 全 mediator의 複合的인 作用에 의해 일어나는 것으로 思料되었다.

### Legends of Figures

- Fig 1.** Light micrograph showing mast cells among the tumor cells in the DMBA treated rat. Toluidine blue.  $\times 50$ .
- Fig 2.** Light micrograph showing the mast cells on the hyperplasia of the mammary tumor development in the histamine treated rat. Toluidine blue.  $\times 50$ .
- Fig 3.** Light micrograph showing the mast cells on the hyperplasia of mammary tumor development in the cimetidine treated rat. Toluidine blue.  $\times 20$ .
- Fig 4.** Light micrograph showing the mast cells in the atypical hyperplasia of the tumor development in the pyrillamine treated rat. Toluidine blue.  $\times 50$ .
- Fig 5.** Light micrograph showing the degranulated mast cells on the hyperplasia of mammary tumor development in the heparin treated rat. Toluidine blue.  $\times 50$ .
- Fig 6.** Higher magnification of the degranulated mast cell in Figure 5.  $\times 500$ .



2

3

4

5

6



## 参 考 文 献

1. Schwartz LB, Austen KF, Structure and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog Allerg* 1984;34:271-321.
2. Galli SJ, Dvorak AM, Dvorak HF. Basophils and mast cells: Morphologic insights into their biology, secretory patterns and function. *Prog Allerg* 1984;34:1-141.
3. Michels NA. The mast cells. In: Downey. Handbook of hematology, PB Hoeber Inc, *New York Ann N Y Acad Sci* 1963;103:235-372.
4. Ehrlich P. Beitrage zur kenntniss der grannlierten bindegewabzellen und der eosinophilen leucozyten. *Arch Anat Physiol* 1879;166-169.
5. Cawley EP, Hoch-Ligeti C. Association of tissue mast cells and skin tumors. *Arch Dermatol* 1961; 83:146-150.
6. Westaphal E. Über mastzellen: In *farbenanalytische untersuchungen*. EP(ed), Hirschwald 1891; 17-41.
7. Sylvén B. Ester sulphuric acids of high molecular weight and mast cells in mesenchymal tumors. *Acta Radiol* (suppl) 1945;59:93-99.
8. Hartveit F. Mast cells and metachromasia in human breast cancer: Their occurrence, significance and consequences: A preliminary report. *J Path* 1981;134:7-11.
9. Farnoush A, McKenzie IC. Sequential histological changes and mast cell response in skin during chemically-induced carcinogenesis. *J Oral path* 1983;12:300-306.
10. Dabbous MKh, Woolley DE, Haney L, et al. Host mediated effectors of tumor invasion: Role of mast cells in matrix degradation. *Clin Exp Metast* 1986;4:141-152.
11. Dabbous MKh, Walker R, Haney L, et al. Mast cells and matrix degradation at sites of tumors invasion in rat mammary adenocarcinoma. *Br J cancer* 1986;54:459-465.
12. Roche WR. Mast cells and tumors: The specific enhancement of tumor proliferation in vitro. *Am J Path* 1985;119:57-64.
13. Zakrzewski Z. Untersuchungen über den ein-fluss von heparin auf das wachstum der sarkomzellen in vitro. *Ztschr Krebsforsch* 1932;36:513-528.
14. Fisher A. Über die wirkung des heparins auf das wachstum von gewebezellen in vitro. *Proto-plasma* 1936;29:344-350.
15. Goerner A, Island D. The influence of anticlotting agents on transplantation and growth of tumor tissue. *J Lab Med Clin Med* 1931;16:369-372.
16. Csaba G, Acs T, Horvath C, et al. Genesis and function of mast cells: Mast cell and plasmacyte reaction to induced, homologous and heterologous tumors. *Br J Cancer* 1961;15:327-335.
17. Rocklin RE. Histamine-induced suppressor factors (HSF): Effect of migration inhibitory factor (MIF) production and proliferation. *J Immunol* 1977;118:1734-1738.
18. Plaut M, Lichtenstein LM, Cillespie E, et al. Studies on the mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity: IV. Specificity of the histamine receptor on effector T cell. *J Immunol* 1973;111:389-394.
19. Burtin C, Ponvert C, Fray A, et al. Inverse correlation between tumor incidence and tissue histamine levels in W/W<sup>v</sup>, W<sup>v</sup>/+, and +/+ mice. *J N C I* 1985;74:671-674.
20. Schitteck A, Issa HA, Stafford JH, et al. Growth of pulmonary metastasis of B16 melanoma in mast cell-free mice. *J Surg Res* 1985;38:24-28.
21. Ishizaka T, Conrad DH, Schulman ES, et al. Biochemical analysis of triggering events of IgE-mediated histamine release from human lung mast cells. *J Immunol* 1983;78:2357-2362.
22. Kazimierzczak W, Diamant B. Mechanisms of histamine release in anaphylactic and anaphyl-actoid reactions. *Prog Allerg* 1978;24:295-365.
23. 佐伯清美, 肥満細胞 脱顆粒: 細胞運動と細胞骨格, 蛋白質核酸酵素(臨時増刊) 1983;28:543-554.
24. Lowman MA, Rees PH, Benyon RC, et al. Human mast cell heterogeneity: Histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils and intestinal mucosa in response to IgE-dependent and non-immunological stimuli. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:590-596.
25. Grosman N. Histamine from isolated rat mast cells: Effect of morphine and related drugs and their interaction with compound 48/80. *Agent Actions*. 1981;11:196-213.

26. Pearce FL, Befus AD, Gauldie J, et al. Mucosal mast cell: II. Effects of anti-allergic compounds on histamine secretion by isolated intestinal mast cells. *J Immunol* 1982;128:2481-2490.
27. Takeuchi J. Growth-promoting effect of chondroitin sulphate on solid Ehrlich ascites tumor. *Nature* 1965;137:537-538.
28. Yoffe JR, Taylor DJ, Woolley DE. Mast cell products and heparin stimulate the production of mononuclear cell factor by cultured human oncocyte/macrophage. *Biochem J* 1985;230:83-88.
29. Starkey JR, Crowle PK, Taubenberger S. Mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice exhibit a decreased rate of tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 1988;42:48-52.
30. Yoffe JR, Taylor DJ, Woolley DE. Mast cell products stimulate collagenase and prostaglandin E production by cultures of adherent rheumatoid synovial cells. *Biochem Biophys Res Communication* 1984;115:270-276.
31. Roche WR. Mast cells and tumor angiogenesis: The tumor-mediated release of an endothelial growth factor from mast cells. *Int J Cancer* 1985;36:721-728.
32. Azizkhan RG, Azizkhan JC, Zetter BR, et al. Mast cell heparin stimulates migration of capillary endothelial cells in vitro. *J Exp Med* 1980;152:931-944.
33. Marks RM, Rouche WR, Czerniecki M, et al. Mast cell granules cause proliferation of human microvascular endothelial cells. *Lab Invest* 1986;55:289-294.
34. Terranova VP, Diflorio R, Lyall RM, et al. Human endothelial cells are chemotactic to endothelial cell growth factor and heparin. *J Cell Biol* 1985;103:2330-2334.
35. Castellot JJR, Kambe AM, Dobson DE, et al. Heparin potentiation of 3T3-adipocyte stimulated angiogenesis: Mechanisms of action on endothelial cells. *J Cell Physiol* 1986;127:323-329.
36. Henderson WR, Chi EY, Jong EC, et al. Mast cell-mediated tumor cell cytotoxicity: Role of the peroxidase system. *J Exp Med* 1981;153:520-533.
37. Ghia P, Boraschi D, Villa L, et al. In vitro generated mast cells express natural cytotoxicity against tumor cells. *Immunology* 1985;55:317-324.
38. Tanooka H, Kitamura Y, Sado T, et al. Evidence for involvement of mast cells in tumor suppression in mice. *J N C I* 1982;69:1305-1309.
39. Murad TM, Von Haam E. Studies of mammary carcinoma induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene administration. *Cancer Res* 1972;32:1404-1415.
40. Holmgren H, Wohlfart G. Mast cells in experimental rat sarcomas. *Cancer Res* 1949;7:686-691.
41. Fisher ER, Fisher B. Role of mast cells in tumor growth. *Arch Path* 1965;79:185-191.
42. Ionov ID. Influence of inhibitor of mast-cell activity on carcinogenesis in rats. *Int J Cancer* 1988;41:777-778.
43. Lillie RD. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed, McGraw-Hill Book Company, New York Toronto Sydney London 1965;44-45.
44. Cramer W, Simpson WL. Mast cells in experimental skin carcinogenesis. *Cancer* 1944;4:601-616.
45. Farram E, Nelson DS. Mouse mast cell as antitumor effector cell. *Cell Immunol* 1980;55:294-301.
46. Smith CJ. Effects of carcinogen and cortisone on mast cell in the hamster cheek pouch. *Br J Cancer* 1967;21:190-197.
47. Carter JH, Carter HW. Adrenal regulation of mammary tumorigenesis in female Sprague-Dawley rats: Histopathology of mammary tumor. *Cancer Res* 1988;48:3808-3815.
48. Tatsuta M, Yamamura H, Ichii M, et al. Promotion by histamine of carcinogenesis in the forestomach and protection by histamine against carcinogenesis induced by N-nitro-N-methylnitroguanidine in the glandular stomach in W rats. *J N C I* 1983;71:361-365.
49. Gifford RM, Ferguson RM, Voss, BV. Cimetidine reduction of tumor formation in mice. *Lancet* 1981;i:638-639.
50. Osband ME, Hamiltin D, Shen YJ, et al. Successful tumor immunotherapy with cimetidine in

mice. *Lancet* 1981;i:636-638.

51. Gifford RRM, Vallera DA. Cimetidine induced augmentation of murine cell mediated cytotoxicity

after in vitro and in vivo treatment. *Fed Proc* 1980;39:924.