

# BCG가 Ehrlich 암세포를 이식한 생쥐의 위점막 상피세포의 DNA합성 및 미세구조에 미치는 영향

고정식\*, 류인상, 박경호, 박대균  
순천향대학교 의과대학 해부학교실

## Effects of BCG on the DNA Synthesis and Ultrastructure of Mouse Gastric Mucosal Epithelial Cells Inoculated with Ehrlich Carcinoma Cells

Jeong-Sik Ko\*, In-Sang Ryoo, Kyung-Ho Park and Dae-Kyoon Park

Department of Anatomy, College of Medicine Soonchunhyang University,  
Cheonan 330-946, Korea

(Received June 5, 2009; Accepted September 24, 2009)

### ABSTRACT

This experiment was performed to evaluate the morphological responses of the gastric epithelial cells of the mouse, inoculated with Ehrlich carcinoma cells in the inguinal area, following administration of BCG.

Healthy adult ICR mice weighing 25 gm each were divided into normal and experimental groups (tumor control group and BCG-treated group). In the experimental groups, each mouse was inoculated with  $1 \times 10^7$  Ehrlich carcinoma cells subcutaneously in the inguinal area. From next day after inoculations, 0.2 mL of saline or BCG (0.5 mL/25 g B.W.:  $0.03 \times 10^8 \sim 0.32 \times 10^8$  CFU) were injected subcutaneously to the animals every other day, respectively. The day following the 7th injection of saline or BCG, each mouse was injected with a single dose of 0.7  $\mu$ Ci/g of methyl- $^3$ H-thymidine (25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) through tail vein. Seventy minutes after the thymidine injection, animals were sacrificed, and gastric tissues were taken and fixed in 10% neutral formalin. Deparaffinized sections were coated with autoradiographic emulsion EM-1 (Amersham Lab., England) in a dark room. The number of labeled epithelial cells in the gastric mucosae (mean number of labeled epithelial cells per 3.5 mm length of mucosa) were observed and calculated. And for electron microscopic observation, gastric tissues were prefixed with 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde solution, followed by post-fixation with 1% osmium tetroxide solution.

On the light microscopic study, gastric mucosae had no morphological changes following the injection of BCG. On the electron microscopic study, in the BCG-treated mice, myelin figures and multivesicular bodies within the gastric epithelial cells were observed more frequently than in those of the normal control ones. On the autoradiographic study, number of the labeled cells of normal control, tumor control and BCG-treated mice were 380.2 ( $\pm 31.35$ ), 426.1 ( $\pm 28.43$ ) and 301.8 ( $\pm 34.63$ ), respectively. In the BCG-treated mice, poorly-labeled cells containing only a few silver grains of  $^3$ H-thymidine were observed more frequently as compared in those of the normal control and tumor control ones.

From the above results, BCG may suppress the DNA synthesis of the gastric epithelial cells, but does not results severe

\* Correspondence should be addressed to Jeong-Sik Ko, Department of Anatomy, College of Medicine, Soonchunhyang University of Korea. Ph.: (041) 570-2472, Fax: (041) 574-1770, E-mail: jeongsik@sch.ac.kr

fine structural defect on the gastric epithelial cells. These results suggest that BCG is expected as one of the effective supplemental anticancer drugs.

**Keywords :** Gastric epithelial cell, BCG (Bacillus Calmette-Guerin), Ehrlich Carcinoma Cell, Ultrastructure, DNA synthesis

## 서 론

결핵예방백신으로 이용되는 BCG (Bacillus Calmette-Guerin)를 투여하면 세포독성 T세포를 억제하는 큰포식세포와 같은 억제세포(suppressor cell)가 지라내에 발달하기 때문(Klimpel & Henney, 1978)에 방광암환자의 방광에 투여하면 항암효과가 높으며 종양의 재발생율도 현저히 감소한다(El-Demiry et al., 1987). Ratliff et al. (1987)은 가슴샘이 없는 nude mouse를 이용한 실험에서 BCG를 방광 내에 투여하였을 때의 항암작용에는 BCG에 감염된 지라의 림프구가 필요한 것으로 보아 가슴샘의존면역반응이 필요하다고 하였다. 위암환자의 경우에도 화학요법(FAM: 5-Fluorouracil+Adriamycin+Mitomycin C)을 단독으로 시행한 경우에 비해 화학요법과 더불어 면역요법제로서 BCG를 함께 투여하면 항암성인 cytokine이 증가한다(Popiela et al., 1988; Zembala et al., 1993). 또한 면역요법으로서 BCG를 사용하면 alpha-interferon에 비하여 종양의 재발생률을 현저히 낮추었을 뿐만 아니라 BCG와 함께 비타민(A, B<sub>6</sub>, C, E)을 대량으로 투여하면 이들 비타민이 면역방어력을 향상시켜서 자연살해세포(natural killer cell)의 활성을 높여 주어 종양의 재발생률이 더욱 낮아진다(Lamm et al., 1994; Lamm, 1995).

BCG 접종이 사람과 실험동물의 일부 항원에 대한 allergy로서의 위험을 감소시킨다. BCG를 접종하였을 때 창자점막 내 상피내림프구(intraepithelial lymphocyte (IEL))가 증가하고 호산성백혈구의 침윤을 유도하여 고유관 내 mononuclear 감염세포가 증가하며 혈장 내 IgE 농도를 감소시킨다(Ryttonen et al., 2004). 또한 BCG를 투여하면 IgE 생산과 eosinophilia 및 술잔세포의 발생이 현저히 억제되며, ovalbumin으로 면역을 시키면 BCG를 투여한 생쥐가 BCG를 투여하지 않은 생쥐에 비해 IFN-gamma를 현저히 많이 생산하며, 이러한 결과는 세포 내 박테리아(BCG) 감염이 주위 환경의 항원에 의해 유도된 항원특이 IgE 생산을 억제하였으며 T 림프구의 cytokine 생산 패턴이 변화였기 때문이라 한다(Yang et al., 1999). BALB/c 생쥐에 lipid로 입힌 BCG를 구강으로 투여하면 투여된 BCG가 창자간막림프절에서 주로 관찰되나 목림프절과 Peyer 반점에서도 관찰되며, 체계적인 세포매개 면역반응이 일어나서 세균 감염으로부터 보호한다(Aldwell et al., 2005).

위점막을 덮고 있는 표면상피세포는 위의 표면과 위오목

(gastric pit)을 덮고 있는 긴 원주형 세포로서 위점막을 보호하는 점액질을 분비함으로써 흔히 표면점액세포(surface mucous cell)라 한다(Helander, 1981). 표면상피세포는 위샘의 잘록부분(isthmus)에서 증식 분화되어 표면쪽으로 이동하는데 수명이 다 된 세포들은 속공간으로 탈락된다. 마우스 위점막의 표면상피세포는 위오목에 분포하는 세포에 비하여 속공간쪽 점막표면에 분포하는 세포가 과립을 많이 포함하고 있다(Helander, 1981). <sup>3</sup>H-thymidine을 이용한 자기방사법적 연구를 통해서 위점막을 이루는 세포들 중에서도 표면상피는 세대교체시간이 매우 짧아 3일 정도밖에 걸리지 않는 것으로 알려져 있다(Cameron & Thrasher, 1971; Helander, 1981; Lee & Leblond, 1985; Magami et al., 2002). 생쥐의 위샘은 임신 14일에 형성되기 시작하고 상피세포의 분화는 15일에 시작하나, 표면점액세포, 초기 으뜸세포 및 벽세포는 임신 후반과 출생 후 2주일 사이에 발생하며 출생 6주일 되어야 점막의 두께가 완전하게 된다(Kataoka et al., 1984). 미성숙 표면점액세포를 비롯한 미분화세포들은 잘록부분(isthmus)의 아래부분 또는 목부위의 위쪽에 분포하는데 표면점액세포는 점막쪽으로, 목점액세포는 목아래쪽으로 갈수록 성숙된 모습을 보인다(Kataoka & Sakano, 1984).

생쥐 위점막의 미성숙 표면점액세포는 미세과립을 포함한 Golgi 소포를 갖고 있으며 잘록부분에서 위오목 쪽으로 이동함에 따라 전자밀도가 높은 점액과립을 포함하는 표면점액세포가 되며 점차 점막표면 쪽으로 이동한 후 속공간으로 탈락되어 사라진다(Karam & Leblond, 1995). 생쥐의 위오목을 이루는 표면점액세포에 대한 전자현미경적 및 자기방사법적 연구에서 전자밀도가 높은 점액과립은 세포표면 가까이에서 세포소기관이 적은 부위에 밀집되어 있으며, 미분화표면점액세포는 점액과립의 양이 적고 세포질에 분산되어 있으나 점차로 분화됨에 따라 표면 쪽으로 이동하여 성숙한 표면점액세포가 된다. 또한 위오목을 이루는 표면점액세포의 87%는 미분화점액세포에서 기원하고 13%는 유사분열에 의해 생기는데 미분화점액세포에서 성숙한 표면점액세포로 분화하는 데는 3.1일이 소요된다. 위오목의 바닥쪽에 있는 세포도 미분화점액세포에 비해 점액과립이 많고 크며, 점막표면 쪽으로 올라갈수록 핵소체와 미토콘드리아의 크기가 감소하고 자유리보소체(free ribosome)의 양이 감소한다. 그러나 점액세포가 점막의 표면에 당도하면 위오목의 중간이나 위쪽에 있는 세포에 비해 분비과립의 양과 크기가 감소한다(Karam & Leblond, 1993).

생쥐 위점막의 표면점액세포의 분비활성에 대한 연구에서 일정시간 단식을 시킨 후 음식을 주면 위오목의 바닥부위에 위치하는 세포에 비해 중간부위와 표면부위에 위치하는 표면점액세포의 분비활성이 높았으며, 퇴행하는 세포는 식이와 상관없이 점액분비가 활발했다(Kantani-Matsmoto & Kataoka, 1987). 임신 생쥐는 임신하지 않은 생쥐에 비해 위점막표면의 점액양이 적었으며(Ozogul et al., 2003), *Helicobacter pylori*에 감염된 환자의 경우 *H. pylori*에서 분비된 암모니아가 cytochrome c에 작용하여 위점막상피세포의 세포사멸(apoptosis)을 유도하며, 이와 같은 현상은 위속공간의 pH가 높을 때 더 심하다(Suzuki et al., 2002).

위는 소화기계통에서 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 연령, 식이, 스트레스 및 종양 등의 질병상태에 따라서도 민감하게 반응한다. 그러므로 결핵균에 대한 면역기능을 항진시켜서 결핵을 예방하는 목적으로 이용될 뿐만 아니라 근래에는 방광암 치료 시에 보조제로도 이용되고 있는 BCG를 생체에 투여하였을 때 위점막을 이루는 세포들은 그 기능이나 형태에 변화가 있으리라고 예상된다. 위점막에서 생산되는 위액의 대부분을 이루는 성분인 HCl과 pepsinogen 중 HCl을 분비하는 벽세포의 변화에 대한 연구는 비교적 많이 있으나(Miyauchi et al., 1999; Murayama et al., 2000; Ogata et al., 2000; Ko et al., 2002a, b; Kim et al., 2005; Ryoo et al., 2005), 위점막을 보호하기 위해 점액을 분비하는 점액상피세포에 대한 형태학적 연구는 드물다. 특히 우리나라 사람에서 가장 많이 발병하는 종양 중의 하나로 알려져 있는 위암의 치료과정 중에 위점막 점액상피세포의 변화에 대한 연구는 찾아보기 힘들다. 한편 위암환자에게 화학요법(FAM: 5-Fluorouracil+Adriamycin+Mitomycin)을 단독으로 시행한 경우에 비해 화학요법과 더불어 면역요법제로서 BCG를 함께 투여하면 항암성인 cytokine이 증가한다(Popiela et al., 1988; Zembala et al., 1993)는 보고 등으로 보아 종양세포를 이식한 후 BCG만을 투여하였을 경우에도 위점막 점액상피세포의 기능적 및 형태학적 변화가 예상된다. 따라서 Ehrlich 종양세포를 살부위에 이식한 후 고농도의 BCG를 피부밑조직에 반복 투여하였을 때 위점막 점액상피세포에 미치는 영향을 형태학적 변화뿐 아니라 DNA 합성능을 비교 관찰하여 종양치료과정에 따른 위점막의 변화를 확인하고자 이 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

실험동물로는 체중 25 g 내외의 ICR 생쥐를 사용하였으며 이들을 정상대조군, 종양세포이식대조군(종양대조군) 및 종양세포이식후 BCG투여군(BCG투여군)으로 나누었다. 정상대조군 이외의 종양대조군과 BCG투여군의 동물들은 살부

위 피하에 각각  $1 \times 10^7$ 의 Ehrlich 종양세포를 이식하였다. BCG투여군은 종양세포이식 다음날부터 방광암 치료용으로 제조된 농축 건조된 BCG ( $0.6 \times 10^8 \sim 6.4 \times 10^8$  CFU, 27 mg/vial, Connaught Lab., Canada)를 10 mL의 생리식염수에 용해시킨 다음, 일정량(0.5 mL/25 g B.W.:  $0.03 \times 10^8 \sim 0.32 \times 10^8$  CFU)을 하루건너 한 번씩 피부밑조직에 주사하였다. 종양대조군은 종양세포이식 후에 0.2 mL의 생리식염수를 하루건너 한 번씩 피부밑조직에 주사하였고 정상대조군은 종양세포를 이식하지 않은 동물을 사용하였으며 각 군당 5마리씩 사용하였다. 이 실험에 사용된 동물들은 모두 희생시키기 전날 저녁부터 사료는 주지 않고 물만 공급하였으며, 다음날 오전 10~11시 사이에 희생시켰다. 종양대조군과 BCG투여군은 각각 7회씩 생리식염수 또는 BCG를 투여한 다음날 ether마취하에 앞배벽을 열어 위조직을 절취하였다. 자기방사법적 관찰을 위해서는 BCG를 마지막으로 주사한 다음날  $^3\text{H}$ -thymidine (methyl- $^3\text{H}$ -thymidine: specific activity 25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) 0.7  $\mu\text{Ci/gm}$ 를 꼬리에 정맥주사하고, 70분 후 도살하여 위조직을 떼내어 10% formalin에 고정하였다. 자기방사법적 관찰은 위점막 조직이 세로로 잘 절단된 부위를 택하여 점막근육판을 따라 점막 길이 3.5 mm의 위점막 조직에 분포하는  $^3\text{H}$ -thymidine 표지 세포의 수를 계수하였으며, 통계분석은 SPSS (Ver 13.0)을 이용하여 일원배치분산분석(One-way ANOVA)을 시행하였고 일반조직 관찰을 위해서는 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 시행하였다.

미세구조 관찰을 위해서는 절취한 위조직을 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde 혼합액 (Millonig's phosphate buffer, pH 7.3)에 고정한 후, 1% osmium tetroxide액 (Millonig's phosphate buffer, pH 7.3)에 다시 고정하였으며 고정이 끝난 조직은 탈수과정을 거쳐 araldite 혼합액에 포매하였다. 포매된 조직은 1  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 만든 후 toluidine blue로 염색하여 위점막이 잘 절단된 부위를 택하여 60~70 nm 두께의 얇은 절편을 만들었다. 각 절편은 uranyl acetate 액과 lead citrate 액으로 대조염색한 후, JEM 100CX-II 전자현미경으로 비교 관찰하였다.

## 결 과

종양대조군과 BCG투여군은 Ehrlich 종양세포를 이식한 살부위에서 종양으로 생각되는 덩어리가 만져졌는데, 이식 후 5일에 지름 2~3 mm, 10일에 3~4 mm, 14일에 6~8 mm 크기의 종양덩어리가 촉진되었다. 그러나 종양대조군과 BCG투여군 사이에서는 종양덩어리의 크기 변화를 뚜렷이 구별할 수 없었으며 실험 과정에서 사망한 동물은 없었다.

**Table 1.** Relative number of labeled cells in the area of 3.5 mm width (6  $\mu$ m thickness) of mouse gastric mucosae, after injection of  $^3\text{H}$ -thymidine in different groups

Group	Number	Ratio	
		Experiment/ normal	Experiment/ tumor control
Normal control	380.2 ( $\pm$ 31.35)	1.00	0.89*
Tumor control	426.1 ( $\pm$ 28.43)	1.12*	1.00
BCG	301.8 ( $\pm$ 34.63)	0.79*	0.71*

Numbers in parenthesis denote standard deviation of means.

\* Difference between normal control and BCG-treated groups is significant at  $p < 0.05$  from the results of One-way ANOVA.

### 1. 광학현미경 관찰

정상대조군 위점막의 표면과 위오목(gastric pit)은 단층원 주상피인 표면점액세포(surface mucous cell)로 구성되어 있었으며, 위몸통 부위의 점막은 거의 위샘(gastric gland)으로 채워져 있었고 위샘 사이에 소량의 고유판이 존재하였다. 위샘의 길이는 위오목에 비하여 현저히 길고, 위샘은 위오목에 열려 있었다. 위오목의 바로 아래부분은 잘록부분(isthmus)으로서 벽세포(parietal cell)가 나타나기 시작하였다. 그 아래의 목부분(neck)은 잘록부분보다 벽세포가 많고 점액목세포(mucous neck cell)들이 있어 비교적 밝게 보였으며, 위샘의 가장 아래부분인 바닥부분에는 으뜸세포(chief cell)가 많이 나타나고 벽세포는 드문드문 관찰되었다(Fig. 1).

종양대조군과 BCG투여군 위점막의 조직학적 구조는 정상대조군에 비하여 큰 차이를 관찰할 수 없었다(Figs. 2, 3).

### 2. 자기방사표본의 관찰

점막상피세포의 DNA합성정도를 관찰하기 위하여 상피세포에 은입자가 표지된 세포의 수를 헤아렸다. 정상대조군을 포함한 실험군의 위점막 상피세포는 은입자들이 세포핵 위에서 관찰되었으며, 표지세포들은 대부분 잘록부분과 목부분에서만 관찰되었고 표면점액세포로 이루어진 위오목에서는 거의 관찰되지 않았다. 그러나 드물게 바닥부분에서도 표지세포들이 관찰되었는데 상피세포의 형태를 보이는 세포도 있었지만 대부분 비교적 가늘고 긴 세포들이 관찰되었다. 이들은 그 모양이 상피세포와 다를 뿐만 아니라 고유판에서 관찰된 것으로 보아 섬유모세포와 같은 결합조직성분의 세포인 것 같다.

정상대조군의 경우 위점막상피에 출현하는 표지세포는 점막길이 3.5 mm당 380.2개가 관찰되었는데, 은입자가 밀집되어 있어 은입자의 수를 헤아리기가 어려운 세포도 많았으며 같은 표본 내에서도 점막 내에 표지세포가 많이 관찰되는 부위와 적게 관찰되는 부위가 혼재되어 있었다(Table 1, Fig. 4). 종양대조군은 점막길이 3.5 mm 당 426.1개로 정상

대조군에 비하여 112%가 관찰되어 통계적으로 유의하게 증가하였으며(Table 1), 은입자를 헤아리기 힘들 정도로 밀집되어 있는 세포가 많았으며 표지세포의 분포양상은 정상대조군과 유사하였다(Fig. 5). 한편 BCG투여군은 표지세포수가 점막길이 3.5 mm 당 301.8개로 정상대조군의 79%로 유의하게 감소하였을 뿐만 아니라 은입자의 수도 적은 세포가 많았으며(Table 1, Fig. 6), 정상대조군에서와 같이 같은 표본 내에서도 점막 내에 표지세포가 많이 관찰되는 부위와 적게 관찰되는 부위가 혼재되어 있었다.

### 3. 전자현미경 관찰

#### 1) 정상대조군

위점막의 점액상피세포들은 잘록부분(isthmus)에서 기원한 세포들이 속공간쪽으로 이동하여 탈락한다. 그러므로 점액상피세포는 있는 위치에 따라 다소 모습이 달라 점막표면이나 위오목의 위쪽부분에 위치하는 세포는 자유면 가까이에는 폐쇄띠(zonula occludens)와 부착띠(zonula adherens)로 이루어진 연접복합체(junctional complex)가 발달되어 있으나 부착반점(macula adherens, desmosome) 이하 부위는 이웃세포사이의 세포사이간극이 넓고 불규칙한 세포질돌기들이 돌출되어 있다. 그러나 위오목의 아래쪽부분에 위치하는 세포들은 서로 밀접하게 배열되어 있어 세포사이간극이 거의 없고 세포질돌기들이 손가락을 낀 모양으로 배열되어 있었다. 위점막을 이루는 상피세포들은 세대교체기간이 빠르기 때문에 점막 표면에 위치하는 세포들은 수명이 거의 다한 탈락 직전의 세포로 볼 수 있다. 그러므로 이 실험에서는 점막 내의 위치에 따른 세포형태의 차이를 없애기 위해 벽세포가 위치하는 위오목의 바닥부위에 위치하는 점액상피세포들을 대상으로 관찰하였다. 일반적으로 표면점액세포는 원주형으로서 높이가 20~40  $\mu$ m이며 자유면에는 짧은 미세융모가 성글게 나 있고 그 표면은 당질층(glycocalyx)으로 덮여 있다. 세포의 가쪽에는 불규칙한 세포질돌기가 짧게 형성되어 있으며 자유면 쪽 가까이에는 연접복합체가 잘 이루어져 있다. 핵은 난원형으로 바닥 쪽에 치우쳐 위치하고 많은 몽친염색질을 가지고 있다. 세포질에는 긴 난원형 미토콘드리아와 납작한 수조의 과립세포질세망, 소수의 용해소체, 미세섬유 및 약간의 리보소체가 널리 분포하며, 골지복합체는 핵상부에 위치하였다. 특히 자유면 쪽 세포질에는 미세융모 속의 액틴미세섬유들이 뚜렷이 관찰되었으며 미토콘드리아와 과립세포질세망과 같은 세포소기관들이 거의 분포하지 않고 미세섬유가 많은 종말그물(terminal web)부분이 뚜렷이 구별되었으며, 점액원과립(mucigen granule)은 이 부위에 많이 모여 있었다. 이 분비과립들은 구형, 난원형, 원반형 등 다양한 모습으로 단위막에 싸여 있으며 그 바탕질은 비교적 전자밀도가 높았다(Figs. 7,8).

## 2) 실험군

종양대조군의 점액상피세포는 그 모습이 정상대조군의 소견과 유사하였으나 골지복합체의 구조는 정상군의 것에 비해 다소 더 납작한 모습을 보이는 경우가 자주 관찰되었으며, 골지복합체의 자유면 쪽에는 전자밀도가 다소 다른 구형 또는 난원형의 분비과립들이 모여 있었다. 또한 정상대조군에 비해 세포질 또는 과립 속에서 수초구조가 자주 관찰되었다. 이웃하는 세포의 전자밀도가 달라 밝은 세포와 어두운 세포가 구별되었으며 미세융모속의 액틴미세섬유가 뚜렷이 구별되지 않는 세포들이 자주 관찰되었다(Figs. 9, 10).

BCG투여군의 점액상피세포는 전체적인 모습이 종양대조군의 소견과 유사하였으나 종양대조군에 비해 용해소체와 수초구조가 더 자주 관찰되었으며, 특히 못소포체(multivesicular body)가 자주 관찰되었다. 또한 미토콘드리아 속에 전자밀도가 높은 과립모양의 구조가 정상대조군과 종양대조군에 비해 자주 관찰되었는데 세포에 따라서는 미토콘드리아 속의 과립의 크기가 미토콘드리아 지름의 절반이 넘을 정도로 큰 것도 관찰되었다(Figs. 11, 12).

## 고 찰

위점막의 표면과 위오목을 덮고 있는 점액상피세포는 PAS 반응에 강한 양성반응을 보이는 중성점액질(neutral mucin)을 합성 분비하며, 이 점액질은 상피의 표면으로 방출되어 얇은 점액막(mucous coat)를 형성함으로써 섭취한 음식물, 위에서 분비된 산(acid)이나 각종 분해효소에 의한 물리적 및 화학적 자극으로부터 점막을 보호한다. 이 세포는 위오목의 바닥과 고위위샘의 목부분에 위치하는 미분화 세포로부터 분화해 나오며, 분화된 세포는 위오목의 벽을 따라 표면 쪽으로 이주하여 속공간면에 이르고 수명이 다한 세포는 속공간으로 탈락하여 없어진다(Fawcett, 1994; Chung, 2006). 위점막표면과 위오목의 상부에 위치하는 점액상피세포는 연접복합체로 연결되어 있으나 세포사이공간이 넓고 불규칙하며, 위오목의 아래쪽부분에 위치하는 세포는 연접복합체 아래의 세포사이공간이 좁고 세포질돌기들이 손가락을 낀 듯이 밀접하게 배열되어 있다(Helander, 1981). 또한 위점막의 잘록부분(isthmus)에는 미성숙 점액상피세포가 위치하는데 점액과립의 수가 적을 뿐 아니라 과립의 크기도 작다. 그러나 속공간쪽에 위치하는 점액상피세포는 성숙함에 따라 분비과립, 과립세포질세망, 미세섬유가 증가한다. 그러나 전반적으로 점액상피세포는 과립세포질세망이 빈약하고 자유리보소체가 많고, 1~2개의 골지복합체가 핵상부에 위치하고 비교적 긴 미토콘드리아를 포함하고 있다(Helander, 1981).

이 실험에서도 점액상피세포는 있는 위치에 따라 다소 모

습이 달라 점막표면이나 위오목의 위쪽부분에 위치하는 세포는 세포사이공간이 넓고 불규칙하였으나, 위오목의 아래쪽부분에 위치하는 세포들은 밀접하게 배열되어 있어 세포사이공간이 거의 없고 세포질돌기들이 손가락을 낀 모양으로 배열되어 있었다. 그러므로 이 실험에서는 가급적 점막내의 위치에 따른 세포형태의 차이를 줄이기 위해 벽세포가 관찰되는 위오목의 바닥쪽부위에 위치하는 점액상피세포들을 대상으로 관찰하였다. 생쥐 위점막의 표면점액세포는 원주형으로서 높이 20~40 $\mu$ m, 폭 6 $\mu$ m 정도이며 자유면에는 짧은 미세융모가 성글게 나 있고 그 표면은 당질층(glycocalyx)으로 덮여 있었으며, 세포의 가쪽에는 불규칙한 세포질 돌기가 짧게 형성되어 있었고 자유면 쪽 가까이에 연접복합체가 잘 이루어져 있었다. 핵은 난원형으로 바닥 쪽에 치우쳐 위치하였고 많은 이질염색체를 가지고 있었다. 세포질에는 긴 난원형 미토콘드리아와 납작한 수초의 과립세포질세망, 소수의 용해소체, 약간의 리보소체가 널리 분포하며, 골지복합체는 핵상부에 위치하였으며, 자유면 쪽 세포질에는 단위막으로 싸여 있으며 비교적 전자밀도가 높은 구형, 난원형, 원반형 등 다양한 모습의 점액원과립(mucigen granule)이 모여 있었다.

BCG는 mycobacterium bovis의 독성을 약화시킨 것으로서 Mathe et al. (1974)이 암과 백혈병환자에게 면역자극물질로서 처음 이용하였으며, 근래에는 표면방광암치료 시에 보조제로 사용되고 있다. 방광 내에서 BCG는 비특이적 감염 반응을 보여 종양조직은 물론 정상조직이 부분적으로 떨어져 나가는 현상을 유발시킬 뿐만 아니라 자연살해세포의 활성을 증가시키고, 여러 가지 cytokine들(IFN-gamma, IL-2, TNF-alpha)을 분비하도록 하여 종양조직의 성장을 억제한다(Chirigos, 1992). 그러나 BCG의 항암효과는 BCG와 접하는 부위에 한정되며 신체 전체에는 영향을 미치지 않는다는 보고가 있다(Bartlett et al., 1972). 그러나 BALB/c 생쥐에 lipid로 입힌 BCG를 구강으로 투여하면 창자관벽 접종에서 보여 온 체계적인 세포매개 면역반응을 증진시켜 공기 중 세균감염으로부터 생체를 보호하는 작용을 한다는 보고도 있다(Aldwell et al., 2005). 한편 이 실험에서 종양세포와 BCG를 살부위에 투여한 경우 종양대조군은 DNA합성지수가 정상대조군에 비해 유의하게 증가하였으나 BCG 투여군은 DNA합성지수가 정상대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 이와 같은 결과는 종양세포와 BCG를 위조직에 직접 이식하지 않고 살부위에 이식하였으나, 종양세포의 이식으로 인한 자극으로 위점막 상피세포의 DNA합성능이 다소 활성화되나 BCG를 반복 투여하면 위점막 상피세포의 DNA합성능이 억제되었기 때문이라고 생각된다. 그러나 이와 같은 결과가 위점막상피세포에만 한정하는 것인지 또는 다른 장기들에도 영향을 주는지에 대해서는 좀 더 광범위한 연구가 뒤따라야 된다고 생각된다.



방광암을 유발시킨 가슴샘이 없는 nude마우스(BALB/c mice)에서 BCG를 방광 내에 단독 투여하였을 경우에는 항암작용이 미약하거나 없었으나, BCG를 방광 내에 주입하기 1시간 전에 BCG로 감염된 다른 동물의 비장세포를 정맥 주사하였을 경우에는 암조직의 성장이 현저히 억제되는 것으로 보아 BCG의 항암작용에는 가슴샘의존성 면역반응이 필요하다고 하였다(Ratliff et al., 1987). 또 Kudo et al. (1993)은 방광암환자에 BCG를 투여하기 전의 방광암조직의 사이질에서는 림프구와 형질세포는 관찰되었으나 조직구, 호중성 백혈구 또는 호산성백혈구는 거의 관찰할 수 없었다. 그러나 BCG를 투여한 후 종양조직이 줄어들지 않은 경우에는 종양조직의 사이질에 이들 세포들의 침윤이 많아졌으며, 특히 종양조직의 사이질과 점막밑조직에 조직구가 현저히 증가하였다. 그러나 BCG를 투여한 후 종양조직이 줄어들지 않은 경우에는 종양조직의 사이질부위에만 림프구가 증가되었다.

이 실험에서 종양대조군과 BCG투여군의 경우 위점막의 광학현미경적 구조가 정상대조군에 비해 별다른 차이가 없었음은 종양세포와 BCG를 위조직으로부터 떨어진 살부위에 투여하였기 때문에 종양부위에 BCG를 직접 투여한 결과(Kudo et al., 1993)와는 달랐다고 추측된다. 그러나 이 실험에서 BCG투여부위와 떨어져 있는 위점막상피세포의 DNA합성지수가 유의하게 감소하였는데, 이와 같은 결과는 이 실험에서 사용한 양 정도의 BCG를 반복투여하면 위점막상피세포의 DNA합성능에는 영향을 주나 점막고유판에 분포하는 림프구나 호산성백혈구의 분포 등 광학현미경적 구조에 영향을 미칠 정도는 아닌 것으로 추측된다.

한편 위암환자들에게 면역화학요법 (BCG+5-FU 또는 BCG+FAM)을 시행하면 화학요법만 단독으로 시행한 경우에 비하여, 단핵구와 암세포 사이의 상호관계를 증가시키도록 유도하여 항암성 사이토카인의 생산을 증가시키는 효과가 있으나, 많은 양의 BCG를 생체에 투여하면 치명적인 영향을 주기도 한다(Popiela et al., 1988; Zembala et al., 1993). 즉 100 mg ( $9.6 \times 10^8$  CFU)의 BCG를 생쥐의 복강 내에 주사하였을 때 실험동물들이 5일 안에 모두 사망하였으나, 50 mg ( $4.8 \times 10^8$  CFU) 이하를 투여한 동물은 체중은 감소했으나 모두 생존하였으며, 주사 후 15일 정도 지나면 체중도 정상으로 회복되었다. 그러나 같은 동물에 2회 반복하여 50 mg의 BCG를 주사하였을 때는 모두 사망하였으며, 이와 같은 예는 피부혹색소암 부위에 BCG를 반복 투여하였을 경우에도 보고된 바 있다(McKhann et al., 1975). 이 때 BCG를 반복 주사한 동물들의 사망은 과민반응에 의한 것 같으며, 반복주사 시의 BCG의 LD<sub>50</sub>는 약 10 mg ( $0.96 \times 10^8$  CFU)이었다(DeHaven et al., 1992).

이 실험에서는 BCG를 하루간격으로 7회 계속 주사하였으나 사망한 동물이 한 마리도 없었는데, 그 이유는 매회 투여량(0.5 mL/25 g B.W.:  $0.03 \times 10^8 \sim 0.32 \times 10^8$  CFU)이 매

우 적었기 때문인 것 같다. 그러나 비록 투여량은 적었을지라도 하루 걸러 7회 반복 주사하였기 때문에 미약하나마 지연성과민반응이 유발되었으리라고 생각된다. 과민반응은 T림프구가 자극되어 림포카인을 생산하여 일련의 염증반응을 매개한다는 사실(Roitt et al., 1993)에 비추어 볼 때, 이 실험에서 위점막 점액상피세포에 용해소체와 수초구조가 골지복합체 주위와 과립주위에서 자주 관찰된 결과는 BCG를 반복 투여함으로 유발된 과민반응으로 위점막 점액상피세포의 기능이 억제되었기 때문이 아닌가 추측된다. 그러나 이와 같은 결과가 과민반응에 의한 결과인지 또는 BCG 자체의 독성에 의한 것인지를 밝히기 위해서는 좀 더 자세한 연구가 필요하다고 생각된다.

위점막에서 상피세포의 증식은 위샘의 목부위에서만 일어나는데(Lee & Leblond, 1985; Fawcett, 1994; Chung, 2006), 세포갱신이 왕성하여 생쥐의 경우 표면상피세포와 목점액세포는 세대교체시간이 3일 정도밖에 안될 정도로 빠르나, 위샘을 구성하는 세포들은 세대교체시간이 느리다(Cameron & Thrasher, 1971; Helander, 1981; Lee & Leblond, 1985). 이와 같이 위의 점막상피는 세포갱신이 왕성하기 때문에 위창자관은 항암제 투여 시에 부작용이 많이 나타나는 조직으로 알려져 있다. 실제로 항암제가 아닌 BCG를 투여하였을 때에도 위점막벽세포는 미세구조에 손상을 받아 분비기능이 억제된다는 보고가 있다(Ko et al., 2002b). 그러나 위점막 으뜸세포는 미세구조에 별다른 큰 손상을 주지 않았으며, 이와 같은 차이는 BCG가 세포의 DNA합성에 영향을 미쳤기 때문에 세대교체시간이 짧은 벽세포에 비해 세대교체시간이 긴 으뜸세포의 손상정도가 가벼웠다고 했다(Ryoo et al., 2005). 또한 위점막세포가 ammonia와 같이 세포에 유해한 환경에 노출되었을 때 벽세포가 먼저 샘에서 분리되어 파괴된 후 으뜸세포는 세포질이 농축되고 큰 수포(bleb)가 생기고 핵이 농축된 후 작게 나누어지는 세포사멸(apoptosis)이 일어난다는 보고(Hagen et al., 1997)에 비추어 볼 때 각 세포의 세대교체기간과는 별도로 같은 조건에서도 위점막을 이루는 세포들의 반응이 각각 다르다고 추측된다.

수초구조(myelin figures)는 glutaraldehyde 고정을 오래한 표본이나 또는 지방성분이 용해소체와 결합할 때 형성되는데 노화세포와 질병상태의 세포에서 자주 관찰된다(Ghadially, 1997). 이 실험에서 정상대조군과 종양대조군에 비하여 BCG투여군에서 수초구조가 더 자주 많이 관찰된 것으로 보아 고정에 의한 영향보다는 세포 자체의 활성도와 관계가 있다고 생각된다. 즉 이물질(BCG)의 반복투여로 형성된 과민반응이 위점막 점액상피세포의 활성에 영향을 주었기 때문이라고 추측된다.

세포의 미세구조 가운데 뭇소포체(multivesicular body)는 단위막으로 둘러싸인 액포상의 바탕질 속에 여러 개의 작은 소포들이 들어있는 독특한 형태로서 간세포, 태아원취의 샘

창자상피세포, 신경세포, 부고환관 상피세포, 융합영양막, 큰 허파파리세포 등에서 종종 관찰된다. 못소포체는 기원, 운명 및 기능에 대해서는 아직 확실히 밝혀져 있지 않으나 그 바탕질에 산성포스파타제(acid phosphatase)와 같은 가수분해 효소들이 포함되어 있음이 확인되었다. 못소포체는 세포막에서 포음작용으로 생겨난 섭취소체(endosome)가 세포 속으로 이동하여 트랜스골지망에서 기원한 일차용해소체와 융합함으로써 형성되고, 그 과정에 바탕질 속의 작은 소포들은 섭취소체 막의 합입에 의해 생긴 것으로 알려졌다. 못소포체는 이차용해소체의 한 형태로 간주하고 있다. 또한 기능으로는 낡은 세포막이 미세포음소포가 되면 못소포체에 포음되어 소화 처리됨으로써, 골지복합체에서 생산된 분비과립의 경계막이나 소포막에 의해 생산된 막이 새로운 세포막으로 대체하게 하는 세포막의 순환에도 기여한다. 또한 일부 세포에서는 생산된 분비과립을 자가포식함으로써 분비과정에도 관여하는 것으로 알려졌다(Ghadially, 1997; Chung, 2006).

이 실험에서 BCG투여군의 경우 비교적 큰 못소포체가 정상대조군과 중앙대조군에 비해 자주 관찰되었는데, 이와 같은 결과는 확인하기는 어려우나 못소포체가 세포막의 순환에 관여하고, 일부 세포에서는 생산된 분비과립을 자가포식함으로써 분비과정에도 관여한다는 주장(Ghadially, 1997; Chung, 2006)에 비추어 볼 때 BCG의 반복적 투여가 점액상피세포의 점액 분비기능 등에 다소 억제적으로 작용한 것으로 추측된다.

미토콘드리아 속을 채우는 미토콘드리아바탕질 속에는 미토콘드리아DNA, 미토콘드리아과립(mitochondrial granule), 리보솜체(ribosome), 각종 효소, 지방방울, 당원과립 등이 존재하며 수명이 다한 미토콘드리아는 세포질의 용해소체에 의해 파괴 처리된다(Ghadially, 1997; Chung, 2006). 한편 미토콘드리아 속에서 관찰되는 둥근 모습의 전자밀도가 높은 큰 과립은 지방성분 또는 지질단백질성분으로 정상세포에서도 가끔 관찰되나, 암세포 또는 변성 거대미토콘드리아에서 자주 관찰된다. 그러나 정상세포에서 관찰되는 경우에는 미토콘드리아능선이 온전하나 질병상태에서 관찰되는 경우에는 미토콘드리아능선이 파괴되어 있다(Ghadially, 1997).

이 실험에서 BCG투여군의 경우 정상대조군과 중앙대조군에 비해 큰 미토콘드리아속과립이 자주 관찰되었는데 이와 같은 결과는 큰 미토콘드리아속과립이 암세포 또는 변성 거대미토콘드리아에서 자주 관찰된다는 주장(Ghadially, 1997)에 비추어 볼 때 확인하기는 어려우나 BCG의 반복적 투여가 점액상피세포의 활성 등에 영향을 주어 지방성분의 큰 미토콘드리아속과립이 자주 출현한 것으로 추측된다.

이상의 결과를 종합해보면 Ehrlich 중앙세포를 이식한 동물에 BCG를 반복 투여하면 위점막 점액상피세포의 DNA 합성을 유의하게 억제하면서도 형태적인 변화가 매우 경미

하였으며, 이러한 결과는 BCG가 항암치료 시 보조제로 사용할 수 있는 좋은 약제라고 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Aldwell FE, Baird MA, Fitzpatrick CE, McLellan AD, Cross ML, Lambeth MR, Buchan GS: Oral vaccination of mice with lipid-encapsulated Mycobacterium bovis BCG: Anatomical sites of bacterial replication and immune activity. *Immunol Cell Biol* 83(5) : 549-553, 2005.
- Bartlett GL, Zbar B, Rapp HJ: Suppression of murine tumor growth by immune reaction to the Bacillus Calmette-Guern strain of Mycobacterium bovis. *J Natl Cancer Inst* 48 : 245-257, 1972.
- Cameron IL: Cell proliferation and renewal in the mammalian body. In: Cameron IL, Thrasher JD, eds, *Cellular and Molecular Renewal in the Mammalian Body*, pp. 45-85, Academic Press, New York, 1971.
- Chirigos MA: Immunomodulators: Current and future development and application. *Thymus* 19(suppl 1) : S7-S20, 1992.
- Chung JW: *Human Tissue Biology*. 2nd ed. Soononsa Publishing, Seoul, pp. 41-43, 51, 510-523, 2006. (Korean)
- DeHaven JI, Traynellis C, Rigg DR, Ting E, Lamm DL: Antibiotic and steroid therapy of massive systemic Bacillus Calmette-Guerrin toxicity. *J Urol* 147 : 738-742, 1992.
- El-Demiry MIM, Smith G, Ritchie AWS, James K, Cumming JA, Hargreave TB, Chisholm GD: Local immune responses after intravesical BCG treatment for carcinoma in situ. *Brit J Urol* 60 : 543-548, 1987.
- Fawcett DW: *A textbook of histology*. 12th ed. Chapman and Hall, New York, pp. 460-472, 1994.
- Ghadially FN: *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. 3rd ed. Butterworths, London, pp. 310-313, 632-639, 646-659, 1997.
- Hagen SJ, Takahashi S, Jansons R: Role of vacuolation in the death of gastric epithelial cells. *Am J Physiol* 272(1 pt 1) : C48-58, 1997.
- Helander HF: The cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol* 70 : 217-289, 1981.
- Kantani-Matsumoto A, Kataoka K: Mucus release of surface mucous cells of the mouse stomach with special reference to cell maturation stages and dietary conditions. *Arch Histol Jpn* 50(3) : 273-282, 1987.
- Karam SM, Leblond CP: Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. II. Outward migration of pit cells. *Anat Rec* 236(2) : 280-296, 1993.
- Karam SM, Leblond CP: Origin and migratory pathways of the eleven epithelial cell types present in the body of the mouse stomach. *Microsc Res Tech* 31(3) : 193-214, 1995.
- Kataoka K, Sakano Y: Panoramic observation of the mouse gastric mucosa by superwide-field electron microscopy. *Arch Histol Jpn* 47(2) : 209-221, 1984.
- Kataoka K, Sakano Y, Miura J: Histogenesis of the mouse gastric

- mucosa, with special reference to type and distribution of proliferative cells. *Arch Histol Jpn* 47(5) : 459-474, 1984.
- Kim MS, Ahn ET, Ko JS: Ultrastructural alteration in the gastric chief cells of mouse, induced by 5-fluorouracil or mitomycin C. *The Korean J Anat* 38(5) : 421-431, 2005. (Korean)
- Klimpel GK, Henney CS: BCG-induced suppressor cells I. Demonstration of a macrophage-like suppressor cell that inhibits cytotoxic T cell generation in vitro. *J Immunol* 120 : 563-569, 1978.
- Ko JS, Jeong IG, Park KH, Ahn ET: Effects of BCG or AG60 on gastric parietal cells of the mouse implanted with Ehrlich carcinoma cells. *The Korean J Anat* 35(6) : 529-542, 2002b. (Korean)
- Ko JS, Shin BS, Ahn ET, Park KH, Kim JG: Ultrastructural alteration induced 5-fluorouracil or mitomycin C on the gastric parietal cells of mouse. *The Korean J Anat* 35(5) : 363-375, 2002a. (Korean)
- Kudo S, Suzuki T, Inazumi H: The role of lymphocytes and histiocytes as mechanism of action of BCG of bladder cancer. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 84 : 303-312, 1993.
- Lamm DL: BCG in perspective: Advances in the treatment of superficial bladder cancer. *Eur Urol* 27(suppl 2) : 2-8, 1995.
- Lamm DL, Riggs DR, DeHaven JI: Enhanced natural killer(NK) cell activity with BCG and vitamin treatment (abstract 991). *J Urol* 151 : 475A, 1994.
- Lee ER, Leblond CP: Dynamic histology of the antral epithelium in the mouse stomach; IV. Ultrastructure and renewal of gland cells. *Am J Anat* 172 : 241-259, 1985.
- Magami Y, Azuma T, Inokuchi H, Moriyasu F, Kawai K, Hattori T: Cell kinetics of slow renewing cell populations in mice stomach. *J Gastroenterol Hepatol* 17 : 262-269, 2002.
- Mathe G, Halle-Pannenko O, Bourut C: Immune manipulation by BCG administered before or after cyclophosphamide for chemioimmunotherapy of L1210 leukemia. *Eur J Cancer* 10 : 661-670, 1974.
- McKhann CF, Hendrickson CG, Spittler LE, Gunnarsson A, Banerjee D, Nelson WR: Immunotherapy of melanoma with BCG: Two fatalities following intralesional injection. *Cancer* 35 : 514-520, 1975.
- Miyauchi M, Tsuyama S, Yang DH, Ohmori J, Kato K, Nakayama J, Katsuyama T, Murata F: Ontogeny of the rat parietal cell; Analysis using anti-parietal cell antibody and transmission electron microscopy. *Kaibogaku Zasshi* 74(2) : 197-207, 1999.
- Murayama Y, Miyagawa J, Shinomura Y, Kanayama S, Yasunaga Y, Nishibayashi H, Yamamori K, Higashimoto Y, Matsuzawa Y: Morphological and functional restoration of parietal cells in helicobacter pylori associated enlarged fold gastritis after eradication. *Gut* 47(2) : 313-314, 2000.
- Ogata T, Yamasaki Y: Morphological studies on the translocation of tubulovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell. *Microsc Res Tech* 48(5) : 282-292, 2000.
- Ozogul C, Lakse E, Elmas C, Erdogan D: An ultrastructural investigation in stomach epithelial cells of mice during pregnancy and early lactation. *Acta Gastroenterol Belg* 66(2) : 137-143, 2003.
- Popiela T, Zembala M, Kulig J, Czupryna A, Uracz W: Postoperative immunochemotherapy (BCG+5-FU) in advanced gastric cancer. *Anticancer Res* 8 : 1423-1428, 1988.
- Ratliff TL, Gillen D, Catalona WJ: Requirement of a thymus dependent immune response for BCG-mediated antitumor activity. *J Urol* 137 : 155-158, 1987.
- Roitt I, Brostoff J, Male D: *Immunology*. 3rd ed. Mosby-Year Book, London, pp. 33-44, 1993.
- Ryoo IS, Ahn ET, Park KH, Park DK, Kim MS, Ko JS: Effects of BCG on gastric chief cells of the mouse implanted with Ehrlich carcinoma cells. *Korean J Electron Microscopy* 35(3) : 153-163, 2005. (Korean)
- Ryttonen J, Karttunen TJ, Karttunen R, Valkonen KH, Bjorksten B, Kokkonen J: BCG vaccine modulates intestinal and systemic response to beta-lactoglobulin. *Pediatr Allergy Immunol* 15(5) : 408-414, 2004.
- Suzuki H, Yanaka A, Shibahara T, Matsui H, Nakahara A, Tanaka N, Muto H, Momoi T, Uchiyama Y: Ammonia-induced apoptosis is accelerated at higher pH in gastric surface mucous cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 283(4) : G986-995, 2002.
- Yang X, Wang S, Fan Y, Zhu L: Systemic mycobacterial infection inhibits antigen-specific immunoglobulin E production, bronchial mucus production and eosinophilic inflammation induced by allergen. *Immunology* 98(3) : 329-337, 1999.
- Zembala M, Czupryna A, Wieckiewicz J, Jasinski M, Pryjma J, Ruggiero I, Siedlar M, Popiela T: Tumour-cell-induced production of tumour necrosis factor by monocytes of gastric cancer patient receiving BCG immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 36 : 127-132, 1993.

#### < 국문초록 >

이 실험은 Ehrlich 종양세포를 이식한 후 BCG를 투여하였을 때, 위점막 상피세포의 형태학적 변화와 DNA 합성능의 변화를 연구하고자 시행하였다.

실험동물로는 체중 25g 내외의 성숙한 생쥐(ICR계통)를 정상대조군, 종양세포이식대조군(종양대조군), 종양세포이식후 BCG투여군(BCG투여군)으로 구분하였다. 종양대조군과 BCG투여군 동물들은 살부위 피하에 각각  $1 \times 10^7$ 의 Ehrlich 종양세포를 이식한 후, 다음날부터 BCG( $0.6 \times 10^8 \sim 6.4 \times 10^8$  CFU, 27 mg/vial, Connaught Lab., Canada)를 하루건너 한 번씩 피부밑조직에 주사하였으며, 종양대조군은 종양세포이식 후에 BCG 대신 0.2 mL의 생리식염수를 피부밑조직에 주사하였다. 자기방사법적 관찰을 위해서는 BCG를 마지막으로 주사한 다음날  $^3\text{H}$ -thymidine (methyl- $^3\text{H}$ -thymidine: specific activity 25 Ci/mmol, Amersham Lab., England) 0.7  $\mu\text{Ci/gm}$ 를 꼬리정맥에 주사하고, 70분 후 도살하여 위조직을 떼어내어 10% formalin에 고정하였다. 자기방사표본관찰은 위점막 조직이 세로로 잘 절단된 부위를 택하여 점막근육관을 따라 점막길이 3.5 mm의 위점막 조직에 분포하는  $^3\text{H}$ -thymidine 표지세포의 수를 계수하였



으며, 일반조직 관찰을 위해서는 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 시행하였다. 전자현미경 관찰을 위해서는 떼어낸 위조직을 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde 혼합액에 고정한 후, 1% osmium tetroxide 액에 다시 고정하였으며, 고정이 끝난 조직은 탈수과정을 거쳐 araldite 혼합액에 포매하였다.

광학현미경적 관찰에서 종양대조군과 BCG투여군은 위점막 조직에서 형태적으로 큰 변화를 볼 수 없었다. 전자현미경적 관찰에서 BCG투여군의 점액상피세포는 전체적인 모습이 정상대조군과 종양대조군의 소견과 유사하였으나 정상대조군과 종양대조군에 비해 수초구조와 못소포체 (multivesicular body) 및 전자밀도가 높은 큰 미토콘드리아속과립이 자주 관찰되었다. 자기방사법적 관찰에

서 정상대조군, 종양대조군, BCG투여군은 점막길이 3.5 mm 당 출현하는 표지세포수가 각각 380.2 ( $\pm 31.35$ ), 426.1 ( $\pm 28.43$ ) 및 301.8 ( $\pm 34.63$ )개이었으며, BCG투여군은 정상대조군과 종양대조군에 비하여 표지된 은입자의 수가 매우 적어서 표지과립이 겨우 구별될 정도의 세포가 많이 관찰되었다.

이상의 결과를 종합해보면 Ehrlich 종양세포를 이식한 동물에 BCG를 반복 투여하면 위점막 상피세포의 DNA 합성을 효과적으로 억제하면서도 형태적인 변화가 매우 경미하였으며, 이러한 결과는 BCG가 항암치료 시 보조제로 사용할 수 있는 좋은 약제라고 생각된다.

## FIGURE LEGENDS

**Fig. 1.** Upper portion of the Gastric mucosa of a normal mouse stained with hematoxylin and eosin ( $\times 400$ ). Numerous eosinophilic parietal cells (P) and mucous epithelial cells (EC) are seen in the gastric mucosa. A few erythrocytes (arrow) within the capillaries are seen in the lamina propria.

**Fig. 2.** Upper portion of the gastric mucosa of a tumor control mouse stained with hematoxylin-eosin ( $\times 400$ ). Morphological changes of the gastric mucosa are hardly observed as compared with those of normal control ones. Numerous mucous epithelial cells (EC) and parietal cells (P) are seen in the gastric mucosa. A few erythrocytes (arrow) within the capillaries are seen in the lamina propria.

**Fig. 3.** Hematoxylin-eosin stained upper portion of the gastric mucosa of a mouse treated with BCG ( $\times 400$ ). Structure of gastric mucosae did not show any difference in comparison with those of normal control and tumor control ones. A few erythrocytes (arrow) within the capillaries are seen in the lamina propria. EC, mucous epithelial cells; P, parietal cells.

**Fig. 4.** An autoradiogram of the gastric mucosa of a normal mouse ( $\times 400$ ). Most of the labeled cells (arrow) containing massive or moderate amount of silver grains are seen in the neck or isthmus portion of the gastric mucosa.

**Fig. 5.** An autoradiogram of the gastric mucosa of a tumor control mouse ( $\times 400$ ). The labeled cells (arrow) containing massive or moderate amount of silver grains are seen over the nuclei of the epithelial cells. Most of the labeled cells are located in the neck or isthmus portion of the gastric mucosa.

**Fig. 6.** An autoradiogram of the gastric mucosa of a mouse treated with BCG ( $\times 400$ ). Number of the labeled cells (arrow) containing silver grains are significantly decreased as compared with those of normal control and tumor control ones. Most of the labeled cells are located in the neck or isthmus portion of the gastric mucosa.

**In the electron micrographs of figs. 7~12, each scale bar indicates 1  $\mu\text{m}$ .**

**Fig. 7.** The mucous epithelial cell of a normal mouse stomach. An ovoid heterochromatic nucleus (N), scanty granular endoplasmic reticulum (er), Golgi complex (G), numerous mucous granules (g), and some mitochondria (m), a few bundle of the microfilaments (mf) are seen in the cytoplasm. Bundle of the actin filaments (vacant arrow) in the root of microvilli (mv) are seen. A large number of the mucous granules (g) are aggregated in the terminal web portion of the cytoplasm.

**Fig. 8.** The mucous epithelial cell of a normal mouse stomach. A mucous epithelial cell contains a few mucous granules (g), slightly dilated cisternae of the Golgi complexes (G), scanty granular endoplasmic reticulum (er), and a few mitochondria (m) a few bundle of the microfilaments (mf). Intercellular junctions (JC) between the neighbor cells are seen. Bundles of the actin filaments (vacant arrow) in the root of microvilli (mv) and an ovoid heterochromatic nucleus (N) are seen in the cytoplasm. The other mucous epithelial cell (EC) is seen right upper corner of the figure.

**Fig. 9.** The mucous epithelial cell of a tumor control mouse. A few myelin figures (arrows) are seen near the Golgi complex (G) and the endoplasmic reticulum. A few mitochondria (m), a large amount of the microfilaments (mf), slightly flattened cisternae of the Golgi complex (G) and granular endoplasmic reticulum (er) are seen in the cytoplasm. Intercellular junction (JC) between the neighbor cells is seen. Bundles of the actin filaments (vacant arrow) in the root of microvilli (mv) are seen. The other mucous epithelial cell (EC) is seen right upper corner of the figure.

**Fig. 10.** The mucous epithelial cell of a tumor control mouse. A myelin figure (arrow) within a mucous granule is seen in the upper part of the figure. Granular endoplasmic reticulum (er), a few mucous granules (g) and some mitochondria (m) are seen in the cytoplasm. Intercellular junction (JC) between the neighbor cells is seen. Note an indented nucleus (N), a few mucous granules (g), and slightly flattened cisternae of the Golgi complex (G) in the cytoplasm. mv, microvilli.

**Fig. 11.** The mucous epithelial cell of a mouse, treated with BCG. Note a large electron dense intramitochondrial granules (vacant arrows) within the mitochondria (m), a large myelin figure (arrow) and a few large multivesicular bodies (mb) in the cytoplasm. Granular endoplasmic reticulum (er), some mucous granules (g) and bundles of the microfilaments (mf) are seen in the cytoplasm. Intercellular junctions (JC) between the neighbor cells is seen. A parietal cell (P) is seen in the left lower corner of the figure. mv, microvilli; N, nucleus.

**Fig. 12.** The mucous epithelial cell of a mouse, treated with BCG. Note a large number of the intramitochondrial granules (vacant arrows) within the mitochondria (m), small myelin figure (arrow) within a vacuole and some large multivesicular bodies (mb) in the cytoplasm. Some mucous granules (g), bundles of the microfilaments (mf), and an intercellular junction (JC) between the neighbor cells are seen in the cytoplasm. mv, microvilli.









