

INHIBITORY EFFECTS OF RED GINSENG EXTRACT ON DEVELOPMENT OF PEPSINOGEN 1 DECREASED PYLORIC GLANDS IN RAT STOMACH

Chang-Hyeong Lim, Gyeong-Haeng Hur and Yong-Soon Lee

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 440-744, Korea

(Received November 15, 1989)

(Accepted December 10, 1989)

ABSTRACT: This study was carried out to investigate the effect of red ginseng extract on development of pepsinogen 1 decreased pyloric glands in experimental stomach carcinogenesis in Sprague-Dawley male rats. Sequential quantitative analyses (by ABC immunohistochemical staining) were made of pepsinogen 1 decreased pyloric glands (PDPG) after treating rats first with a single dose (160 mg/kg) N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and then with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) (100 ug/ml of drinking water) as a second gastric carcinogen (or promoter). The animals were divided into four groups; Group 1: MNNG→ENNG+red ginseng extract 3% in diet, Group 2: MNNG→ENNG+red ginseng extract 1% in diet, Group 3: MNNG→ENNG, Group 4: DMSO (a single gastric intubation of 10% dimethylsulfoxide solution).

The results obtained were summarized as follows:

1. The mean body weight of the rats fed on carcinogen (group 1, 2, 3) was lower than that of group 4 (control group, without carcinogen, $p < 0.05$). But, the mean body weight of the rats (group 1,2) fed on ginseng extract was higher than that of group 3 (without ginseng extract). Especially, the mean body weight of group 1 (ginseng 3% diet) is not significantly different from group 4 (control, from 16 weeks).
2. Red ginseng extract 3% diet (group 1) inhibited appearance of the numbers of Pepsinogen 1 Decreased Pyloric Gland (PDPG) by gastric carcinogen significantly, compared with that of group 3 from 16 weeks ($p < 0.05$).
3. Incidences of neoplasms in the forestomach and duodenum of ginseng 3% diet group (0%, 19%) were lower than those of other groups (group 2: 6%, 31%, group 3: 16%, 34%).

Key words: Anticarcinogenic effect of red ginseng extract, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

서 론

위암은 우리나라와 일본을 포함하는 몇몇 아시아 국가들과 콜롬비아, 칠레, 필란드, 오스트리아 등의 남미와 북유럽 국가들에 있어서는 가장 높은 빈도로 발생하는 악성종양 중의 하나이다 (Correa, 1985; Fink 등, 1986). 1988년에 발표된 보건사회부의 보고에 의하면 위암은 한국사람에 있어서 발생하는 악성종양들 중에서 그 발병율이 가장 높을 뿐만 아니라(24.1%), 남자에서 발생하는 악성종양들 중에 있어서는 발생율이 가장 높으며(29.6%), 여자에 있어서는 자궁경부암(27.8%) 다음으로 높은(17.8%) 것으로 알려져 있다. 그러므로 위암의 발생과 예방 그리고 발생억제에 영향을 미치는 각종 인자를 분석하는 일 등은 위암의 연구를 하는데 있어서 매우 중요하다 생각되며, 특히 이러한 연구를 위해서는 실험동물을 이용한 위암모델 동물의 사색이 필수적이라고 할 수 있다.

그러나 실험동물에 있어서 자연발생 위암은 그 발생빈도가 매우 낮기 때문에 1952년 Hare 등이 방향족탄화수소 화합물(3-methylcholanthrene)을 수용성 methylcellulose 현탁액으로 랫드의 위벽에 주입함으로써 최초로 선위(glandular stomach)에 소수의 종양을 발생시키는데 성공하였다. 그러나 이 방법은 위암의 발생빈도도 낮고 간장과 소장 등에 종양이 많이 발생하는 등의 결점이 있어서 실험적 위암모델로서 널리 사용하기에는 적합하지 않았다(Stewart 등, 1961; Morris 등, 1962).

1967년 Sugimura 와 그의 공동연구자들은 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)를 음수에 용해시켜서, Wistar 계 랫드 수컷에 투여하여 선위에서 약 70% 정도라는 고율로 위암이 발생됨을 보고하였는데, 이 방법은 간단하면서도 자연스러운 경구투여법을 사용하여 높은 비율로 위암을 발생시킬 수 있다는 것이 장점이다.

MNNG를 중심으로 하는 Nitroso 화합물에 의해서 실험적으로 랫드, 마우스, 햄스터 및 개에서 비교적 고율로 위암의 작제가 가능해짐에 따라서 실험적 위암모델동물을 이용한 위암의 연구는 발전하기 시작하였다(Sugimura 등, 1967; Sugimura 등, 1978; Nagayo, 1973).

성숙 랫드에 있어서 pepsinogen isozymes 들은 정상적으로 분분부 점막에 있어서는 Pg 1~4의 4종류, 유분부 점막에서는 Pg 1, 3, 4의 3종류가 존재하며(Furihata 등, 1972; Furihata 등, 1980), 유분부 점막의 isozyme 들은 대부분 유분선세포들에서 검출되고(Zeitoun 등, 1972; Samloff 등, 1973), 분분부 점막에서는 chief cells 과 mucous neck cells 에서 검출된다(Yasuda 등, 1966; Samloff, 1971).

MNNG를 투여한지 약 1주일이 경과하면 생화학적 검사로서(전기영동법) 유문선점막(pyloric mucosa)에서 Pg 1의 저하가 확인되지지만, Pg 3 및 4의 변화는 확인되지 않는데 이러한 Pg 1의 변화는 MNNG에 의해 변이된 증식세포에서 분열증식한 변이유분선세포에 의한 것으로 생각된다(Tatematsu 등, 1980). 더구나, 선암(adenocarcinoma) 등에 있어서는 검색한 거의 전부의 병례에서 Pg 1의 저하 및 소실이 확인된다(Tatematsu 등, 1977).

그러나, 위저선점막(fundic mucosa)에서는 유문선 점막과는 달리 Pg 1의 변화가 거의 검색되지 않는다. 그러므로 이러한 Pg 1의 변화 양상은 병리조직학적 전암변화보다도 선행하여 출현할 뿐만 아니라, 병변의 초기에서부터 위암의 발생에 이르기까지 전 발암과정에 걸쳐서 출현하는 우수한 지표효소(marker enzyme)로 생각된다.

생화학적 검색에 의해서 명백히 밝혀진 위발암 과정의 지표효소인 Pg 1의 항체를 작성(Furihata 등, 1980)한 후 avidin-biotin peroxidase complex(ABC) 방법으로 면역조직화학적 검색을 행하면 그 결과는 생화학적 결과와 일치하며, 병리조직학적 변화에 선행하여 Pg 1 저

하유문선(PDPG : pepsinogen isozyme 1 decreased or disappeared pyloric gland)의 발생이 확인되어지고, 또한 이러한 Pg 1 지하유문선들은 경시적으로 증가되는 것이 확인되어졌다 (Tatematsu 등, 1986 ; Tatematsu 등, 1987a ; Tatematsu 등, 1987b).

이상의 사실들을 종합하여 볼 때 간장의 중기항암성 검색법에서 전암성 병변의 지표효소로서 glutathione-S-transferase placental form(GST-P)가 사용되는 것처럼(Ogiso 등, 1985 ; Thamavit 등, 1985), PDPG는 랫드의 실험적 위암발생에 있어서 전암변화를 나타내는 새로운 지표로서 사용할 수 있다.

최근에는 사람의 위암발생 과정 중에 있어서도 pepsinogen I, II의 혈중농도가 위암발생과 매우 관련이 높은 것으로 알려져 있으며, 특히 PG I과 PG I/PG II의 비율은 초기 위암과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려짐으로서(Huang 등, 1988 ; Miki 등, 1989), PDPG는 랫드의 실험적 위암발생시에 나타나는 지표로서 뿐만 아니라 사람의 위암 연구에도 응용이 가능한 위암 발생 지표임을 알 수 있다.

인삼은 피로회복, 강장, 강정 및 예방약으로(Karzel, 1987) 사용되어 왔으며, 항스트레스(최, 1980 ; 황과 오, 1984), 항염증(Karzel, 1987), 말초혈행 촉진(최, 1980), 항산화 및 혈청 지질 감소(김 등, 1980 ; 김 등, 1981 ; 최 등, 1983 ; 한과 김, 1987), DNA 및 RNA 합성촉진(山本, 1979 ; 최, 1980), 지질 및 단백질합성촉진(山本, 1979 ; 최, 1980 ; 황과 오, 1984), 면역능 향진(고, 1984), 노화방지(최, 1980) 그리고 위기능 회복(Kisaki, 1987) 등등의 여러가지 작용과 함께, 근래에는 인삼 에탄올 추출물과 petroleum-ether 추출물에서 부분정제된 여러가지 성분들이 Ehrlich 복수암(Lazarev, 1962)과 Sarcoma-180 복수암(Lee와 Huemer, 1971), L1210, L1258, Hela와 같은 동물 암세포의 증식을 억제할 뿐만 아니라 인체의 장암세포(HRT-18 등등) 증식도 억제한다고 보고되었다. 이외에, MNNG를 투여하여 랫드에서 실험적으로 위암을 유발시킨 실험(Kim 등, 1985)에서도 인삼이 위암발생에 어느 정도 억제효과가 있음이 보고된 바 있다.

이러한 점에 착안하여 본 연구는 위암발생 유발물질로는 MNNG를, 촉진물질로는 ENNG를 사용하는 *in vivo* 중기 항암성 검색법을 이용하여, 홍삼추출물이 랫드의 실험적 위암발생 과정중에 나타나는 전암지표인 PDPG의 출현에 미치는 효과를 검색하여 봄으로서 랫드의 위암발생에 대하여 억제효과가 있는지를 알아 보았다.

재료 및 방법

실험동물

8주령 Sprague-Dawley(SD) 랫드 수컷을 사용하였는데 1주 동안 예바사육으로 분말사료와 실험실 환경에 적응시킨 후 9주령에 실험에 사용하였다. 사육 및 실험기간 동안의 사육실 환경은 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $60 \pm 10\%$ 를 유지하였고, 랫드용 케이지(polycarbonate, $26 \times 24 \times 18$ cm 명진기계제작)에 3-4마리씩 넣어서 사육하였다. 사료(제일제당사료)와 식수는 자유로이 공급하였다.

홍삼엑기스제조

홍삼추출물은(90% 에탄올추출) 인삼연조연구소(증평)로부터 공급받아 사용하였다.

발암물질

발암 유발물질로는 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) (Tokyo Kasei Co. Ltd.)를 촉진물질로는 N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) (Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였으며, 발암유발물질은 dimethyl-sulfoxide (DMSO) (Kokusan Chemical, Tokyo, Japan)에 희석하여 사용하였다.

실험기간 중, ENNG는 0.5g/l 가 되게 차광된 용기 내에서 2차증류수에 녹인 후 4°C 건냉압소에 저장하여 사용했으며, 이를 물에 100 µg/ml 의 농도가 되게 희석한 후 차광된 음료수 병에 담아서 자유롭게 먹게 하였고 희석용액은 매일 교환하여 역가의 감소를 방지하였다.

실험설계 및 시험물질 투여

실험동물은 각각 1, 2, 3군은 36마리씩, 4군은 15마리로 나누어 배치하였으며 (Fig.1), 4군을 제외한 모든 실험군에 실험개시일에 위암유발물질인 MNNG (Tokyo Kasei Co. Ltd., Japan)를 10% DMSO에 용해시켜서 체중 kg 당 160 mg 씩 1회 경구투여하였다 (Tatematsu 등, 1986; Tatematsu 등, 1987a, b).

제 1군에는 시험개시 후 제 2주부터 위암발생 촉진물질인 ENNG (Sigma Chemical Co., USA)를 음료수에 100 µg/ml 의 농도로 용해시켜 실험종료시까지 18주간 투여하면서, 홍삼추출물을 사료에 3% 함유되도록 조제하여 같은 기간 동안 공급하였으며, 제 2군에는 시험개시 후 제 2주

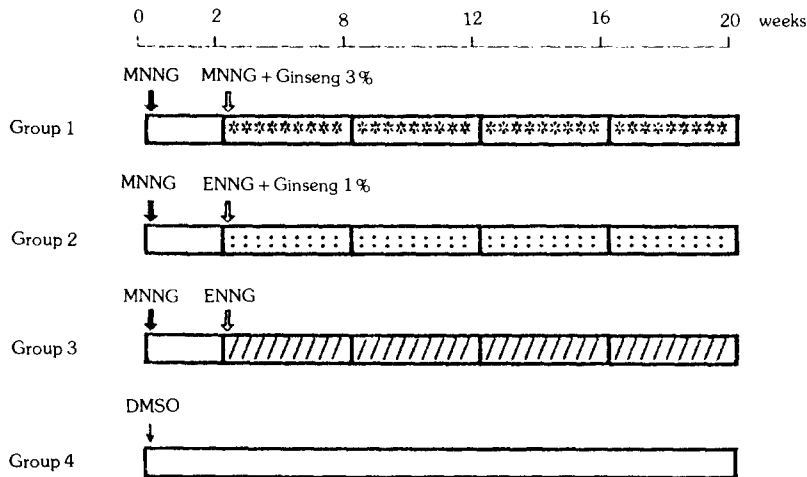


Fig. 1. Design of experiment.

- ↓ MNNG : A single 160 mg/kg body weight dose of MNNG as a solution of 10% dimethylsulfoxide (DMSO) by gastric intubation.
- ↓ [*****] : 100 ug/ml of ENNG by drinking water and red ginseng extract 3% by diet.
- ↓ [:::~::~] : 100 ug/ml of ENNG by drinking water and red ginseng extract 1% by diet.
- ↓ [//////] : 100 ug/ml of ENNG only by drinking water.
- ↓ [] : A single gastric intubation of 10% dimethylsulfoxide (DMSO)

부터 위암발생 촉진물질인 ENNG 를 음료수에 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 용해시켜 실험종료시까지 18주간 투여하면서, 홍삼추출물을 사료에 1% 함유되도록 조제하여 같은 기간 동안 급여하였다.

제 3군에는 시험개시 후 제 2주부터 위암발생 촉진물질인 ENNG 만을 음료수에 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 용해시켜 실험 종료시까지 18주간 투여하였으며, 홍삼추출물은 투여하지 않음으로서 발암물질을 투여하고 홍삼추출물을 투여한 1군과 2군에 대한 양성 대조군으로 하였다.

제 4군에는 시험개시일부터 시험종료일까지 전기간 동안 basal diet 만을 급여하여 음성 대조군으로 하였다.

4군을 제외한 1, 2, 3군은 시험개시 8, 12, 16, 20주에 각 군당 9마리씩 부검하여, 육안적 병변을 관찰한 후 조직표본을 제작하였으며, 4군은 20주 최종 부검시에 함께 부검하였다.

광학현미경 관찰

위는 전위와 선위로 구분하였으며 선위는 다시 분문부와 유문부로 나누었고, 십이지장, 간, 비장, 신장 등은 2-3 mm 두께로 조직을 채취하여 10% buffered-formalin 에 고정한 후 파라핀 절편을 만들고 hematoxylin 및 eosin 염색을 하여 병변을 관찰하였다. 위조직 중 유문부 부위는 약 8개의 strips 으로 만들어서 승홍포르말린 (sublimate formaldehyde)에 고정한 후 (Meuwissen 등, 1984), 포매하여 3~6 μm 두께의 파라핀절편을 만든 후 전암지표로 사용되는 PDPG 에 대한 면역조직화학적 염색 (Tatematsu 등, 1986 ; Tatematsu 등, 1987a, b)을 실시하였다. 유문선세포는 각 군당 500개 이상씩을 세어서 유문선 100개당 PDPG 수의 평균과 분산을 계산하였다.

면역조직화학적 염색

유문부 조직내의 PDPG 출현여부를 확인하기 위해서 ABC 법을 이용하여 염색을 하였다 (Ogiso 등, 1985). Rabbit-anti-rat Pg 1 IgG(1차 항체)는 나고야시립대학 의학부로부터 공급 받았으며, 0.01 M Phosphate Buffered Saline(PBS)에 bovine serum albumin 이 0.1% 첨가되도록 희석하여 보관용기에 0.1 ml 씩 분주한 다음 초저온 냉동기에 보관하면서 사용하였다. Biotin-labeled goat anti-rabbit IgG(2차 항체)와 ABC 는 Vectastain Elite ABC kit, (PK-6101, Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA)를 사용하였다. 파라핀 조직절편은 xylene 에서 녹여내고 알콜에서 농도별로 처리하여 세척한 후, Iodo 알콜(80% 알콜에 lugol solution 을 몇 방울 떨어뜨린 것)과 5% sodium thiosulfate solution 에서 승홍을 제거한 다음 moist chamber 에서 diluted normal goat serum(1 : 5 희석 ; 0.01 M PBS, pH 7.4), rabbit anti-rat-Pg 1 IgG(1 : 6000 희석), biotin-labeled goat anti-rabbit IgG(1 : 400), avidin biotin peroxidase complex (ABC) 의 처리과정을 거쳐, H_2O_2 0.02%가 첨가된 diaminobenzidine(DAB ; 0.2 M Tris buffer, pH 7.6)에 incubation 시켜 정색반응을 일으킨 후 hematoxylin 으로 핵을 대조염색하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

통계처리

1. 평균 체중의 변화

다변량분산분석 (Multivariate Analysis of Variance, MANOVA) 과 공분산분석 (Analysis of

Covariance, ANCOVA)을 시행한 후 다중평균비교를 위하여 Tukey's HSD(Honestly Significant Difference) test 를 실시하였다.

2. Pg 1 저하 유분선(PDPG)의 분석

다변량분산분석을 시행한 후 다중평균비교를 위하여 Tukey's HSD test 를 실시하였다.

본 통계학적 분석은 SAS(Statistical Analysis System)을 이용하여 검증하였다.

결 과

체중변화 및 사료섭취량

모든 군에서 실험개시 후 2주까지는 각 군간의 체중증가에 있어서 특별한 변화가 나타나지 않았으나 ENNG 를 투여하기 시작하고 부터는 발암물질을 투여하지 않은 4군에 비해서, 발암물질을 투여한 1, 2, 3군에서 체중의 감소가 나타나기 시작하였다.

4주 이후부터 8주전까지는 위발암물질을 투여한 1, 2, 3군의 평균 체중이 대조군의 평균체중에 비하여 현저히 낮아졌으나 유의성은 인정되지 않았다. 그러나, 8주부터는 위발암 물질을 투여한 1, 2, 3군의 평균 체중이 발암물질을 투여하지 않은 4군에 비하여 현저하게 체중의 감소가 나타나기 시작하였으며($p < 0.05$), 이러한 양상은 실험종료시까지 계속되었다.

한편, 홍삼추출물을 급여한 1, 2군(각각 red ginseng 3% 및 1% 투여군)의 평균 체중은 홍삼추출물을 투여하지 않고 발암물질만을 투여한 3군의 평균 체중에 비해서는 비교적 높은 양상을 보였는데, 특히 사료에 홍삼추출물을 3% 함유하게 하여 투여한 1군은 실험시작 16주 이후부터는 위발암물질을 투여하지 않은 4군과 비교하여 평균 체중감소에 있어서 유의성을 보이지 않았다(Fig.2).

PDPG 의 염색상과 경시적 변화

발암물질을 투여하지 않은 4군에 있어서는 모든 유분선들이 진한 갈색으로 염색되었으며, Pg 1 이 저하된 유분선은 발견할 수 없었다(Photo.4).

그러나 발암물질을 투여한 1, 2, 3군에 있어서는 PDPG 의 발생빈도가 경시적으로 증가하였는데(Photo.5) 특히 홍삼추출물을 투여하지 않고 위발암물질만을 투여한 3군에 비해서, 홍삼추출물을 사료에 3% 함유되게 하여 급여한 1군에서는 PDPG 수의 평균과 분산이 실험시작 후 16주에서부터 유의성있는($p < 0.05$) 감소를 보임으로서, 랫드의 실험적 위발암에 있어서 홍삼추출물은 용량의존적인 억제효과를 보였다(Table 1).

육안 및 광학현미경 소견

1. 육안적 소견

랫드에 MNNG 를 투여하고, 2주 후에 ENNG 를 투여하면서 실험개시일로부터 8주에 부검하였을 때는 1, 2, 3군에 공히 전위에서 드물게 육안적으로 잘 식별이 안될 정도의 작고 약간 움푹한 흰점 모양의 병변이 나타나기 시작하였는데, 어느 것은 육안적으로 뚜렷이 구분이 되는 것도 있었다.

선위 부위는 전반적으로 별다른 병변은 없었으며, 1, 2, 3군의 일부에서 십이지장에 1~3mm

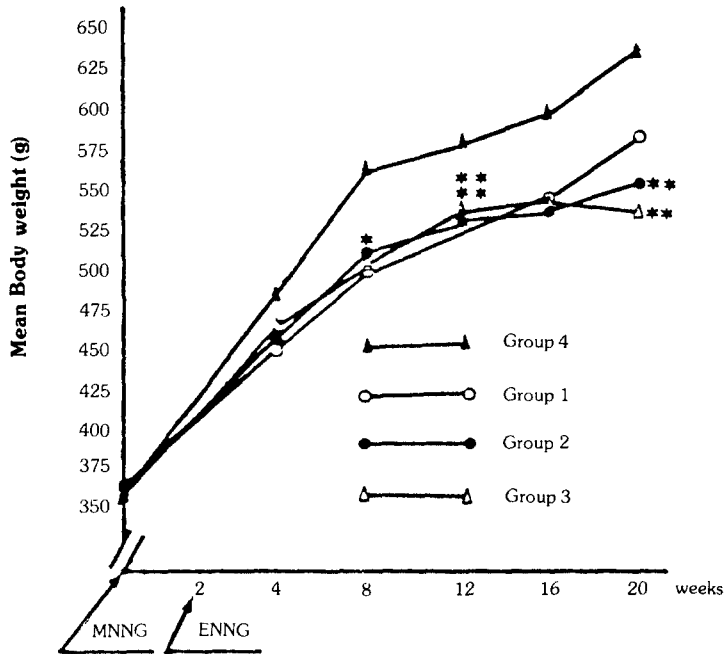


Fig. 2. Effect of Ginseng extract on body weight change of rats treated with carcinogen, and DMSO (control).

Table 1. Sequential changes in numbers of pepsinogen isozyme 1 decreased or disappeared glands (PDPG) in pyloric mucosa

Group Treatment	Weeks after MNNG administration							
	8		12		16		20	
	No. of rats	No. of PDPG ^{a)}	No. of rats	No. of PDPG	No. of rats	No. of PDPG	No. of rats	No. of PDPG
1 MNNG - ENNG + Ginseng 3%	9	1.6 ± 0.6 ^{b)}	9	2.2 ± 0.3	9	2.8 ± 0.2*	9	3.2 ± 0.4**
2 MNNG + ENNG + Ginseng %	9	2.0 ± 1.0	8	3.4 ± 0.5	8	3.8 ± 0.5	8	4.2 ± 0.7
3 ENNG - ENNG	9	1.8 ± 0.8	8	3.4 ± 1.1	8	4.4 ± 0.9	8	6.2 ± 1.3
4 Non-treated (DMSO)	0	—	0	—	0	—	15	—

* Significantly different ($p < 0.05$) from group 3.

** Significantly different ($p < 0.01$) from group 3.

^{a)}PDPG: Pg 1 decreased or disappeared pyloric glands.

^{b)}Number of PDPG per 100 pyloric glands: data represents mean ± SD.

크기의 용종 (polyp) 형의 용기가 보이기도 하였다. 12, 16주, 20주에 부검하였을 때는 전위의 많은 예에서 다양한 크기의 유두종이 보였는데 그 크기는 1 mm 에서 크게는 7 mm 정도 (Photo.1)에 달하는 것들도 있었으며, 선위에는 다양한 형태와 크기의 궤양소견과 작지만 여러 부위에서 다소 용기한 병변을 발견할 수 있었는데 그 부위는 주로 소만부 (lesser curvature) 쪽이 많았다.

십이지장에서는 1, 2, 3군에서 모두 다양한 크기와 형태의 용기물들을 볼 수 있었는데 그 크기는 0.5 cm 정도의 크기에서부터 3 cm 정도에 이르기까지 다양하게 나타났는데, 어느 것은 십이



Photo. 1. Macroscopic feature of the squamous cell papillomas and squamous cell carcinoma (arrow).

The forestomach was affected by numerous and variable sized papillomas.

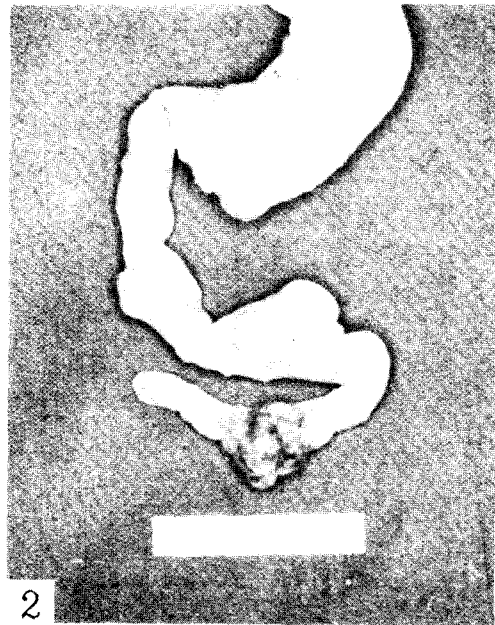


Photo. 2. Macroscopic feature of the masses in duodenum and jejunum. Occasionally, gastric dilatation was occurred due to obstruction of duodenal masses.



Photo. 3. Macroscopic feature of duodenal mass and renal cystic lesion.

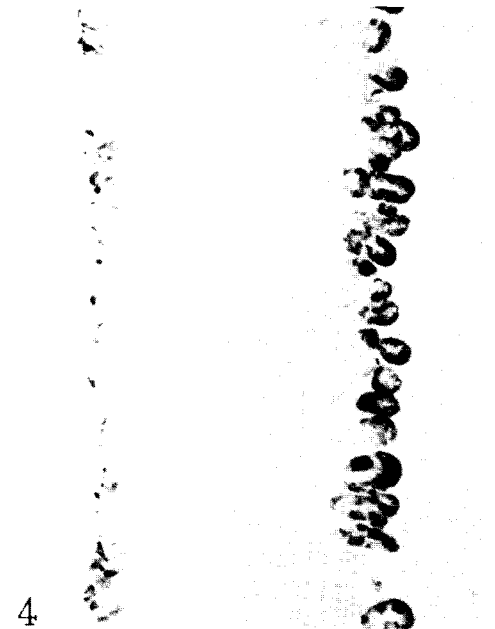
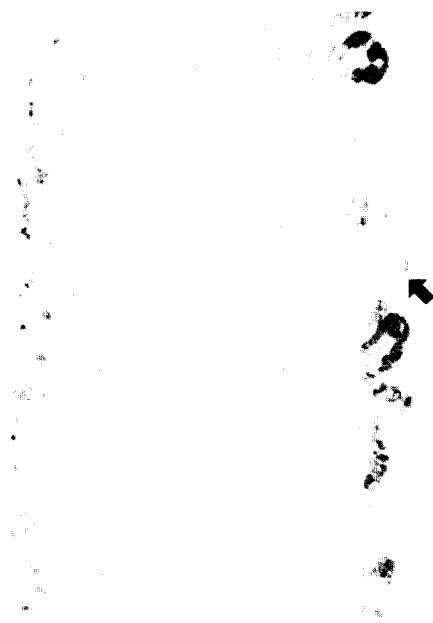


Photo. 4. Immunohistochemical demonstration of pepsinogen isozyme 1 (Pg 1) in normal pyloric mucosa of SD rat. $\times 200$.



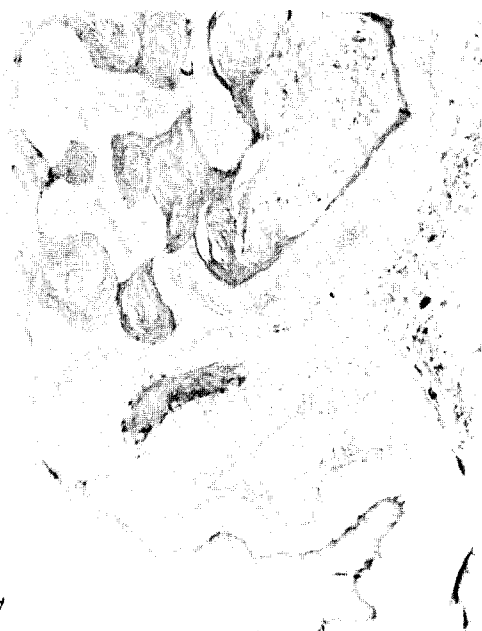
5

Photo. 5. Immunohistochemical demonstration of PDPG in normal-appearing pyloric mucosa of SD rat treated with MNNG and ENNG. $\times 200$.



6

Photo. 6. Nodular hyperplasia of squamous epithelium in forestomach treated with MNNG and ENNG. H&E. $\times 100$.



7

Photo. 7. Papillary hyperplasia of squamous epithelium in forestomach treated with MNNG and ENNG. H&E. $\times 100$.



8

Photo. 8. Squamous cell carcinoma with invasion into submucosa and muscle layer in SD rat forestomach treated with MNNG and ENNG. Marked keratinization and pearls are seen. H&E. $\times 100$.



Photo. 9. Squamous cell carcinoma in rat stomach treated with MNNG and ENNG only. The neoplastic cells were pleomorphic and partly spindle shape. Keratin pearls are seen. H&E, $\times 200$.

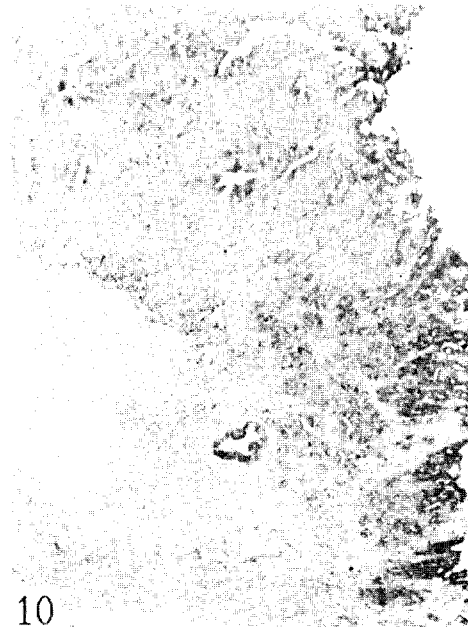


Photo. 10. Moderately differentiated tubular adenocarcinoma of duodenum in rat treated with MNNG and ENNG only. Disarrangement of tubular structure and invasion of muscle layer was seen. H&E, $\times 100$.

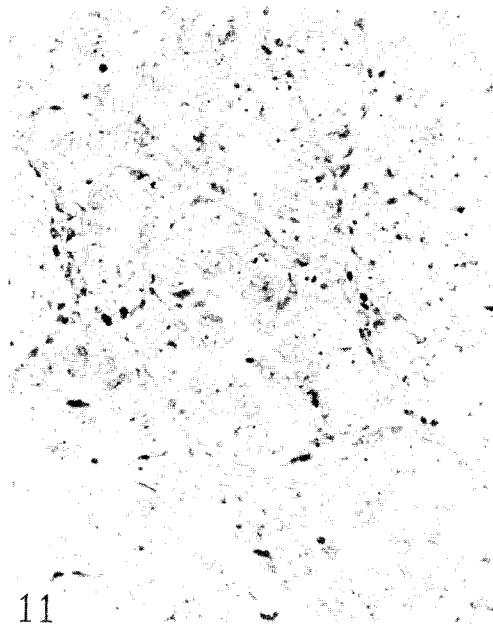


Photo. 11. Well differentiated adenocarcinoma of duodenum in rat treated with MNNG and ENNG. H&E, $\times 200$.



Photo. 12. Moderately differentiated adenocarcinoma of duodenum in rat treated with MNNG and ENNG. H&E, $\times 200$.

지장의 mass로 인하여 십이지장폐색이 일어나서 위가 매우 크게 확장된 경우도 있었다(Photo. 2).

각각 12, 16, 20주에 부검한 비장과 신장의 예에서 1~2 mm 크기의 수포성 병변이 나타나는 경우도 관찰할 수 있었다(Photo.3).

2. 조직소견

1) 전위

8주에 부검한 예에서는 거의가 정상인 소견을 보였으며, 일부에서 전위점막기저층의 상피세포는 미만성 또는 다발성으로 단순과형성(simple hyperplasia) 소견을 보였으며, 증식성세포의 이형성은 보이지 않았다. 12, 16, 20주에 부검한 예에서는 중층편평상피의 심한 각화증을 보이면서, 중층편평상피층의 기저층은 불규칙적이고 심한 비후를 보이는 결절상과형성(nodular hyperplasia) 소견을 나타내는 것(Photo.6)도 있었으며, 수지상증식이 심하고 비교적 침윤은 나타나지 않은 유두종(Photo.7)도 다수 관찰되었고, 더욱 불규칙하고 변화가 심한 것들은 상피내암과(carcinoma *in situ*)과 편평상피암(Photo.8) 등으로 이행된 경우도 볼 수 있었는데, 세포의 이형성이 심하고 세포의 크기 및 형태가 다양하고 세포질에 비해 핵의 크기가 큰 것도 있었으며, 세포의 분열상도 쉽게 관찰되었다(Photo.8, 9).

2) 선위

8주에 부검한 예에서는 주로 유문부 점막에서 미만성으로 점막의 천층에서 미란성 병변이 나타나며, 일부에서 gastric pit의 팽창과 염증세포의 침윤이 관찰되었다.

12, 16주에 부검한 일부의 예에서 간질 세포의 증식이 현저하였으며 유문부 점막과 기저부에 섬유조직의 증식이 현저하였고, 위선관의 배열이 불규칙해져서 선의 구조적 변형, 위선관의 소실 및 위축을 보였다. 특히 16주와 20주에 부검한 예에서 선암의 초기단계로 보이는 점막의 과형성 소견도 볼 수 있었다(Table 2).

3) 십이지장

십이지장에 있어서는 8, 12주 등의 비교적 초기에 부검한 예에서는 선관배열의 혼란, 수지상의 증식, 선구조의 이형성 등이 주로 나타났으며, 16, 20주에는 관상구조의 증식이 심하며 고원주상피가 아주 불규칙하게 선관을 형성하고 있는 것이 관찰되었다(Photo.10).

십이지장에 있어서는 종양은 대부분이 선이 아주 밀집배열되어 있는 고분화형 관상선암(Photo.11)과 중분화형 관상선암(Photo.12)을 주로 볼 수 있었다(Table 3).

고 찰

사람에 있어서 암을 발생시키는 여러가지 유발물질들과 촉진물질들의 대부분은(60~90%) 대기오염물질, 흡연, 공업용 폐수, 방사선, 식품, 약품, 바이러스 등의 주위환경에 존재하고 있는 요인들로 알려져 있으며, 특히 위암의 원인물질로 생각되는 대부분은 우리가 항상 생활하면서 접하고 있는 음료수와 식품 등에 함유되어 직접 또는 간접적으로 위암을 유발시키게 된다(Mirvish, 1983).

위암의 연구에 있어서 중요한 것은 주위환경과 식생활 등에 의해서 몸안으로 섭취될 수 있는 위암촉진물질들을 검색하고, 위암의 발생을 예방 또는 억제할 수 있는 물질들을 찾아내는 일이라 할 것이다(Tsuda 등, 1984).

이러한 검색을 수행하기 위해서는 비교적 단기간에 위발암유발능과 촉진능의 유무를 알 수 있으면서, 장기발암성 시험과도 좋은 상관관계를 보여줄 수 있는 실험적 위발암모델의 개발이

Table 2. Histopathological changes in the pyloric mucosa of rats.

Weeks	No. of rats	Erosion	No. of rats with: (%)		
			Atrophic changes	Irregular arrangement of glands	Hyperplastic changes
8	25	3(12)	4(16)	1(4)	0(0)
12	25	5(20)	15(60)	9(36)	1(4)
16	25	4(16)	16(64)	11(44)	4(16)
20)	25	4(16)	14(56)	15(60)	5(20)

Table 3. Incidence of neoplasms in the stomach and duodenum

Group	No. of rats	Forestomach	Duodenum
		Squamous cell carcinoma	Adenocarcinoma
1	36 ^{a)}	0(0) ^{b)}	7(19) ^{c)}
2	32	2(6)	10(31)
3	32	5(16)	11(34)
4	15	0(0)	0(0)

^{a)}Number of effective rat, ^{b)}Number of rats with tumors, ^{c)}Ratio of incidence (%)

필수적인데, 랫드에서 MNNG 를 발암유발물질로 사용하여 약 20주 내외라는 비교적 단기간에 조직병리학적 전암변화보다도 선행하여 나타나는 전암지표인 PDPG 를 이용하여 간단하게 위암촉진물질과 또는 항암성 물질을 스크리닝할 수 있는 방법이 제안되었다(Tatematsu 등, 1986 ; Tatematsu 등, 1987a, b).

이 방법으로 점막위축 및 점막과형성을 구성하는 유문선세포형의 약 30%는 명확히 Pg 1 의 저하가 확인되어지며, 선종양과형성 및 선암의 유문선세포형 세포의 100~95% 정도가 Pg 1 의 저하가 확인됨으로써 면역조직화학적 Pg 1 의 변화가 실제적인 병리형태학적 변화와도 잘 일치하는 것이 확인되었다(Tatematsu 등, 1986). 이러한 랫드 위발암에 있어서 위발암유발물질로 사용된 MNNG 는 Mandell 과 Greenberg(1960) 등이 MNNG 가 세균을 이용한 돌연변이 실험에서 강력한 돌연변이 물질임을 보고하였으며, MNNG 에 의한 돌연변이는 간장의 약물대사효소(S-9 mix)에 의한 활성화를 필요로 하지 않는다고 하였다.

일반적으로 경구투여한 MNNG 는 직접 위점막세포로 이동하는데, 세포로 들어간 MNNG 는 곧바로 MNG 로 대사되고 약 90%는 뇨중으로 배설된다. MNNG 및 ENNG 가 발암성을 나타내는 주요작용 기전은 DNA(또는 RNA)의 알킬화 등의 DNA 염기배열에 이상을 일으키는 유전적인 작용과 단백질 아미노기의 나이트로 아미노화 등의 DNA 의 정보발현에 이상을 일으키는 epigenetic 인 작용의 양자가 관련되어 있다고 할 수 있다. 실제로 펩시노젠들은 유문선점막의 유문선세포에서 생성되며, 이들 유문선세포들은 수명이 다하면 germ cells 에서 생성되어 계속 치환된다. MNNG(또는 ENNG)를 음료수로 투여하면, MNNG 는 유문선세포들의 germ cells 의 단백질과 DNA 를 공격하여 DNA 의 이중나선구조를 파괴하고, 이 때 DNA 의 수복(DNA repair)이 비정상적인 것들이 생길 경우 이러한 germ cells 은 DNA 의 돌연변이(DNA

mutation)로 인하여 Pg 1 유전자의 표현에 있어서의 변이가 생겨서 결과적으로 PDPG가 출현하게 되는 것으로 알려져 있다.

본 연구에 있어서 위발암유발물질인 MNNG와 위발암촉진물질인 ENNG를 투여하고 각각 홍삼추출물을 3%와 1%로 투여한 1, 2군과 홍삼추출물을 투여하지 않은 3군의 평균 체중이 위발암물질을 투여하지 않은 4군보다 낮은 것은 발암물질 투여에 의한 독성발현에 의한 식욕감퇴와 쇠약이 원인으로 생각되나, 위발암유발물질인 MNNG와 ENNG를 투여하고 각각 홍삼추출물을 3%로 투여한 1군은 실험시작 후 16주경에서부터는 위발암물질을 투여하지 않은 4군과 체중감소효과에 있어서 유의성을 보이지 않음(Fig.2)으로서 체중감소 억제효과를 보였다.

Okuda 등(1987)은 실제 암환자의 체중감소는 혈청내 유리지방산의 증가와 밀접한 관련이 있으며, 인삼의 인슐린양물질(insulin-like substance)이 에피네프린에 의한 지방분해대사(lipolysis)를 억제하고, 글리코겐으로부터 지방합성대사(lipogenesis)를 자극하여 체중감소에 대한 억제효과를 나타낸다고 보고하였는데 이는 본 실험에서 나타난 체중감소 억제효과와 일치한다.

랫드의 실험적 위발암과정 중에 나타나는 발암지표로서 사용된 PDPG의 출현 양상은 본 연구결과에 있어서도 위발암물질 투여 후 시간이 경과함에 따라서 증가하였으며, 조직병리학적 인 소견과 관련하여 본 PDPG의 출현빈도는 정상유문선보다는 변화된 유문선에서 높았으며 점막의 미란, 위축성 변화, 선관배열의 혼란, 점막과형성 등의 병변이 있는 유문부에서 높은 발생을 보임으로서 Tatematsu 등(1986, 1987a, 1987b)의 보고와 일치하였다. 경시적으로 본 PDPG의 출현에 있어서도 홍삼 3% 추출물을 사료에 함유하여 급여한 1군이 발암물질만을 투여한 3군에 비해서 대체적으로 그 발생비율이 낮을 뿐만 아니라 실험시작 후 16주와 20주에서는 PDPG 발생이 유의성있는 감소를 보임으로서, 사료에 홍삼추출물을 3% 용량으로 투여하는 것이 화학발암제에 의한 실험적 위발암 실험에 있어서 억제작용이 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 홍삼추출물이 화학적 위발암물질(MNNG, ENNG)에 대하여 항발암성 효과가 있음을 알 수 있었는데, 앞으로는 이러한 작용을 나타내는 명확한 기전에 대한 연구와 함께 인삼의 다양한 추출물들이 기타 다른 장기의 화학적 발암작용도 억제할 수 있는가에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되며, 이와 함께 우리의 주변환경에 산재해 있는 위발암물질과 위발암을 예방, 억제할 수 있는 물질들에 대한 스크리닝이 함께 이루어져야 할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국학술진흥재단(1988)의 연구비에 의하여 수행되었음.

한국인삼연초연구소 증평지소 홍순근 박사님의 협조에 감사 드립니다.

참고문헌

- Correa, P. (1985): Clinical implacation of recent development in gastric cancer pathology and epidemiology, *Semin. Oncol.*, 12, 2.
- Fink, A.S. and Longmire, W.P. (1986): Carcinoma of stomach, *In: Text Book of Surgery*, (13th ed.), Vol. 1, p. 881.
- Furihata, C., Kawachi, T. and Sugimura, T. (1972): Premature induction of pepsinogen in developining rat gastric mucosa by hormones, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 47, 705-711.

- Furihata, C., Saito, D. and Fujiki, H. (1980): Purification and characterization of pepsinogens and a unique pepsin from rat stomach, *Eur. J. Biochem.*, **105**, 43-50.
- Hare, W.V., Stewart, H.L., Bennet, J.G. and Lorenz, E. (1952): Tumors of the glandular stomach induced in rat by intramural injection of 20-methylcholanthren, *J. Natl. Cancer. Inst.*, **12**, 1019-1058.
- Huang, S.C., Miki, K. Sano, J. et al. (1988): Pepsinogen I and II in gastric cancer: an immunohistochemical study using monoclonal antibodies, *Gann.*, **79**, 1139-1146.
- Kim, J.P. Park, J.G., Lee, M.D., Han, M.D., Park, S.T., Lee, B.H. and Jung, S.E. (1985): Co-carcinogenic effects of several Korean foods on gastric cancer induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats, *Jpn. J. Surg.*, **15**(6), 427-437.
- Kim, Y.B. and Lee, Y.S. (1988): Inhibitory effects of red ginseng extract on preneoplastic nodule formation in the rat liver observed by rapid bioassay of carcinogenesis, *Korean J. Toxicol.*, **4**: pp. 159-179.
- Lazarev, N.V. (1962): The nonspecific resistance of the body and neoplastic process, VII, Mezhdman Protivorakovy: *Kongress, Medgiz: Moscow-Leningrad*.
- Lee, N.D. and Huemer, R.P. (1971): Antitumoral activity of panax ginseng extracts, *Jap. J. Pharmacol.*, **21**, 299-301.
- Mandell, J.D. and Greenberg, T. (1960): A new chemical mutagen for bacteria, 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **3**, 575-577.
- Meuwissen, S.G.M., Mullink, H., Bosma, A., Gals, G., Defize, J., Flipse, M., Westerveld, B.D., Tas, M., Brakke, J., Kreuning, J., Eriksson, A.W. and Meyer, C.J.L.M. (1984): Immunocytochemical localization of pepsinogen I and II in the human stomach. In "pepsinogens in man; clinical and genetic advances," Kreuning, J., Samloff, I.M., Rotter J.I. and Eriksson, A.W. (ed), Aalsmeer, Mur-Kostveroren, pp. 123-130.
- Miki, K., Ichinose, M., Kawamura, N. et al., (1989): The significance of low serum pepsinogen levels to detect stomach cancer associated with extensive chronic gastritis in Japanese subjects, *Gann.*, **80**, 111-114.
- Ministry of Health and Social affairs of Korea (1988): Five years report for cancer register programme in the ROK, *J. Korean Cancer Res. Asso*, **21**(1).
- Mirvish, S.S. (1983): The etiology of gastric cancer; intragastric nitrosamide formation and other theories, *J. Natl. Cancer Inst.*, **71**(3), 631-647.
- Morris, H.P., Wagner, B.P., Ray, F.E., Stewart, H.L. and Snell, K.C. (1962): Comparative carcinogenic effects of N,N'-2,7-fluorenylenebisacetamide by intraperitoneal and oral routes of administration to rats with particular reference to gastric carcinoma, *J. Natl. Cancer Inst.*, **29**, 977-1012.
- Nagayo, T. (1973): Tumours of the stomach, in *Pathology of Tumors in Laboratory Animals*, Vol. I, Part I, Tumors of the rat (Turusov, V.S., (ed.), IARC Sci. Publ. (Lyon), No. 5, p. 101.
- Ogiso, T., Tatematsu, M., Tamamo, S., Tsuda, H. and Ito, N. (1985): Comparative

- Effects of glutathione S-transferase-positive liver nodules in a short-term assay and of hepatocellular carcinomas in a long-term assay, *Toxicol. Pathol.*, **13**, 257-262.
- Okuda, H., Sekiya, K., Masuno, H., Takaku, T. and Kameda, K. (1987): Studies on selective modulators and anti-anorexigenic agents in Korean red ginseng, *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**(2), 145-153.
- Samloff, I.M. and Liebman, W.M. (1973): Cellular localization of the group II pepsinogens in human stomach and duodenum by immunofluorescence, *Gastroenterology*, **65**, 36-42.
- Samloff, I.M. (1971): Cellular localization of group I pepsinogens in human gastric mucosa by immunofluorescence, *Gastroenterology*, **61**, 185-188.
- Stewart, H.L., Snell, K.C., Morris, H.P., Wagner, B.P. and Ray, F.E. (1961): Carcinoma of the glandular stomach of rats ingesting N,N'-2,7-fluorenylenbisacetamide, *J. Natl. Cancer Inst., Monogr.*, **5**, 105-139.
- Sugimura, T. and Kawachi, T. (1978): Experimental stomach carcinogenesis, in *Gastro-Intestinal Tract Cancer* (Lipkin, M. and Good, R.A., eds), p. 13.
- Sugimura, T. and Fujimura, S. (1967): Tumor production in glandular stomach of rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, *Nature*, (London), **216**, 943-944.
- Tatematsu, M., Aoki, T., Asamoto, M., Furihata, C. and Ito, N. (1987a): Enhancing effects of N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium taurocholate on development of pepsinogen 1 decreased pyloric glands in rats initiated with N-methyl-N'-nitrosoguanidine, *Gann*, **78**, 312-316.
- Tatematsu, M., Furihata, C. and Hirose, M. (1977): Changes in pepsinogen isozymes in stomach cancers induced in wistar rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and in transplantable gastric carcinoma (SG2B), *J. Natl. Cancer Inst.*, **58**, 1709-1716.
- Tatematsu, M., Furihata, C., Katsuyama, T., Mera, Y., Inoue, T., Matsushima, T. and Ito, N. (1987b): Immunohistochemical demonstration of pyloric gland type cells with low pepsinogen isozyme 1 (Pg 1) in preneoplastic and neoplastic tissues of the stomach of rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 771-777.
- Tatematsu, M., Katsuyama, T., Fukushima, S. *et al.*, (1980a): Mucin histochemistry by paradoxical concanavalin A staining in experimental gastric cancers induced in Wistar rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinolin 1-oxide, *JUCI*, **64**, 835-843.
- Tatematsu, M., Saito, D., Furihata, C., Miyata, Y., Nakatsuka, T., Ito, N. and Sugimura, T. (1980b): Initial DNA damage and heritable permanent change in pepsinogen isoenzyme pattern in the pyloric mucosae of rats after short-term administration of N-methyl-N'-nitrosoguanidine, *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 775-781.
- Tatematsu, M., Furihata, C., Mera, Y., Shirai, T., Matsushima, T. and Ito, N. (1986): Induction of immunohistochemically demonstrated pyloric glands with low pepsinogen 1 (Pg 1) content in rat stomach treated with N-methyl-N' nitro-N-nitrosoguanidine, *Gann*, **77**, 238-243.
- Thamavit, W., Tatematsu, M., Ogiso, T., Mera, Y., Tsuda, H. and Ito, N. (1985):

Dose-dependent effects of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene and ethoxyquin in induction of foci of rat liver cells containing the placental form of glutathione S-transferase, *Cancer Letters*, **27**, 295-303.

Tsuda, H., Masui, T., Jamida, K., Fukushima, S. and Ito, N. (1984): Promotive effect of primary and secondary bile acids on the induction of alpha-glutamyl transpeptidase positive liver cell foci as a possible endogenous factor for hepatocarcinogenesis in rats, *Gann*, **75**, 871-875.

Yasuda, K., Suzuki, T. and Takano, K. (1966): Localization of pepsinogen in the stomach, revealed by fluorescent antibody technique, *Okajimas Folia Anat. (Jpn.)*, **42**, 355-367.

Zeitoun, P., Duclert, N. and Liautaud, F. (1972): Intracellular localization of pepsinogen in guinea pig pyloric mucosa by immunohistochemistry, *Lab. Invest.*, **27**, 218-225.

Karzel, K.(1987) : Pharmacological aspects of ginseng. A Review. 월간 한국인삼 87년 1월호, 74-77.

Kisaki, K.(1987) : Medicinal effects of Korean ginseng. 월간 한국인삼 87년 2월호, 72-77 ; 87년 3월호, 86-93 ; 87년 4월호, 86-95.

고병희(1984) : 녹용, 숙지황, 인삼, 오가피가 면역반응 및 NK 세포 활성도에 미치는 영향. 월간 한국인삼 84년 4월호, 62-63.

김만옥, 최강주, 조영현, 홍순근(1980) : 인삼의 항산화성분에 관한 연구, 인삼연구 논문집 제 1집(1979-1980), 251-255.

김상달, 도재호, 오훈일(1981) : 고려인삼 갈색물질의 항산화효과, 인삼연구논문집 제 2집(1981), 61-62.

山本昌弘(1979) : 간장을 강화하는 고려인삼의 작용(최진호 역). 인삼연구, **1**(2), 33-55.

최강주(1980) : 홍삼의 항산화특성 연구. 인삼연구, **2**(2), 34-42.

최강주, 김만옥, 홍순근, 김동훈(1983) : 홍삼 및 백삼의 용매별 추출물의 회수, 갈색도, 자외선 흡수특성, 환원성 및 항산화작용. 인삼연구논문집 제 3집(1982-1983), 330-340.

한덕룡, 김창종(1987) : 인삼성분 및 제제의 생체막보호효과에 대한 연구. 고려인삼학회지, **11**(1), 1-9.

황우익, 오수경(1984) : 인삼의 지용성 성분과 사포닌 유도체의 항암작용 연구. 고려인삼학회지, **8**(2), 153-166.