

1, 2-dimethylhydrazine 투여로 유발된 백서 대장점막병변에 vitamin A(retinol)가 미치는 영향에 대한 형태학적 연구

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

홍 기 숙

= Abstract =

The Morphologic Study of Vitamin A(Retinol) on 1, 2-Dimethylhydrazine Induced Colon Carcinogenesis in the Rats

Ki Sook Hong

Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

Induction of intestinal tumor by subcutaneous injection of 1, 2-dimethylhydrazine(DMH), 20 mg/kg/week, during 20 weeks was studied in rats fed by vitamin A(retinol) 50 μ g, 500 μ g/day.

Mucosal epithelial cell hyperplasia and mitosis in one crypt was not significantly inhibited by vitamin A administration($P>0.05$). In electron microscopic findings, the cytoplasmic vacuoles were decreased in DMH+vitamin A-treated rats than DMH only. Dysplasia of the colonic mucosa in DMH+vitamin A-treated group were more slowly developed than DMH-treated rats. In DMH-treated rats the tumors were early detected after 14 weeks, but in DMH+vitamin A-treated groups were seen after 20 weeks.

All these findings suggest that vitamin A can effectively prevent cytotoxicity of carcinogen in early phase, but can not prevent carcinogenesis in late phase.

서 론

대장암은 비교적 흔하게 발생하는 암종으로 암으로 인한 사망원인중 2위를 차지하는 매우 중요한 암종이다. 대장암에 대해서는 조기발견 조기치료가 가장 효과적으로 생명을 구할수 있으며, 대장암에 대한 유발요인 및 저해요인에 대한 연구는 암을 예방 할수 있다는 견지에서 또한 중요하다고 생각된다. 1, 2-dimethylhydrazine(DMH)는 백서와 마우스에서 대장종양발생기전에 대한 연구¹⁻⁴⁾에 많이 이용되고 있으며, 대장점막 상피세포에 대한 영향은 초기에는 상피세포의 핵산복

제기에 핵산합성을 억제하다가 점차 핵산합성이 증가되며⁵⁻⁶⁾, 증식되는 대장점막 소낭선에서 핵의 변이를 초래하며 상피세포핵에 급성 독손상을 일으킨다.

Vitamin A가 암발생저해에 대한 연구는 논란이 많지만⁷⁻⁹⁾, 최근 vitamin A가 선암의 발생과 역비례한다는 보고가 있다¹⁰⁾. 이에 저자는 DMH와 동시에 vitamin A(retinol)을 투여하여 백서 대장점막의 세포증식, 세포분열, 세포이형성(dysplasia) 및 암발생에 대한 변화를 광학 및 전자 현미경을 이용하여 관찰하므로써 vitamin A가 대장암발생에 미치는 영향을 연구하고자 본실험을 시도하였다.

연구재료 및 방법

A. 연구재료

연구재료로서 체중이 100g내외되는 웅성백서(Sprague Dawley) 55마리를 실험전 1주동안 시판표준사료(Table 1)로 기초 사육한후 다음과 같은 실험군으로 분류하였다.

- 1군 : salin투여군.....4마리
- 2군 : sesame oil, 0.1ml/day투여군.....4마리
- 3군 : vitamin A(retinol), 50µg/day투여군...4마리
- 4군 : vitamin A(retinol), 500µg/day투여군...4마리
- 5군 : DMH, 20mg/kg/week투여군.....13마리
- 6군 : DMH, 20mg/kg/week + sesame oil, 0.1ml/kg/day.....6마리
- 7군 : DMH, 20mg/kg/week + vitamin A, 50µg/day.....10마리
- 8군 : DMH, 20mg/kg/week + vitamin A, 500µg/day.....10마리

이상의 실험군의 DMH투여방법은 1, 2-dimethyl hydrazin · 2 Hcl(sigma chemical Co.)를 1.5% EDTA를 함유한 0.9% NaCl에 넣어 2% DMH 용액을 만들고, 1% NaOH를 첨가하여 pH 6.5로 맞춘다음 주 1회씩 대퇴부에 피하주사 하였다.

Vitamin A(retinol, sigma Co.) 투여방법은 seame oil(sigma Co.)에 vitamin A(retinol)을 녹여서 0.05% 및 0.5% 용액을 만들어서 각각 0.1ml씩 즉 50µg 및 500µg씩을 경구용 주사기를 이용하여 매일 경구투여 하였다. 이들 실험동물들은 최초 DMH투여후 12, 14, 17, 20주에 도살하고 즉시 직장을 포함한 대장전부위를 적출하여 10% 중성포르마린에 고정하였다.

Table 1. Composition of the rat diet used in this study

protein	22.1%
fat	3.5%
fibrin	5.0%
calcium	0.6%
phosphate	0.4%
material : corn, wheat, soy bean, soy bean oil, fish meal, calcium phosphate, NaCl, vitamin	

B. 연구방법

1. Hematoxylin-eosin염색

대장조직을 10% 중성 포르마린에 고정한후 전길이를 "swiss roll" 모양으로 말아서 파라핀에 포매한후 다음에 열거한 방법으로 관찰 하였다.

1) 대장점막 상피세포 증식

마리당 대장점막에서 10개의 소낭선을 선택하여 분석하였으며, 표층부터 기저층까지 잘 나타난 소낭선에서 상피세포의 수를 세어서 평균과 표준편차를 내고 각실험군간의 변화를 T검정으로 통계적 유의성을 검토하였다.

2) 핵분열수

대장점막 소낭선 10개를 선택하여 핵분열수를 세어서 평균 및 표준편차를 구하고 실험군간의 변화를 T검증을 이용하여 검토하였다.

3) 세포이형성

세포이형성은 조직학적 역분화정도의 분류¹¹⁾를 참고로 하여 경도, 중등도, 고도의 이형성으로 나누고, 상피내암과 침습암으로 분류하였다.

2. 전자현미경 소견

전자현미경 검색을 위해 원위부대장 및 병소부위를 1mm²크기로 세절한 다음 2.5% glutalaldehyde용액에 고정시켰다. 일차 고정된 조직을 4°C에서 1% O₂O₄(phosphate buffer, pH 7.4) 용액에 2시간 재고정한 후 무수알코올로 탈수하고 epon 812에 포매하여 유리칼을 사용 400~500°A 두께로 세편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 복염색한후 Hitachi-600형 전자현미경으로 관찰하였다.

연구 성적

A. 광학현미경적 소견

1. 대장점막의 상피세포 증식소견(Table 2, Photo 2, 3)

1군부터 4군까지의 한개의 소낭서의 상피세포수는 12주부터 20주까지 비교적 일정한 세포수를 보였다. DMH투여군들인 5군부터 8군까지에서는 17주까지 점차 증가를 보이다가 20주에는 더이상 증가되지 않았다.

Table 2. The average number of glandular epithelial cells in one tubular gland of colonic mucosa in each experimental group

Group	weeks							
	treated by		12	14	17	20		
Group I (saline)	53.2±	3.54*	39.0±	5.21	61.2±	8.44	53.2±	6.01
Group II (sesame oil)	48.8±	7.75	52.4±	6.34	73.2±	3.48	64.0±	11.66
Group III (vitamin A, 50µg/day)	55.2±	8.35	58.4±	5.85	58.4±	4.07	63.2±	5.87
Group IV (vitamin A, 500µg/day)	64.4±	7.52	53.2±	4.30	60.8±	7.33	66.4±	3.66
Group V (DMH 20mg/kg)	73.3±	15.94	73.2±	17.18	98.0±	13.53	78.1±	12.71
Group VI (DMH 20mg/kg+sesame oil)	82.4±	6.11	59.6±	9.58	99.0±	9.34	86.0±	8.76
Group VII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 50µg/day)	64.1±	12.47	71.0±	13.89	92.9±	9.82	85.7±	14.49
Group VIII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 500µg/day)	65.8±	15.86	65.6±	10.76	82.1±	15.67	90.9±	20.71

DMH ; 1, 2-dimethylhydrazine

*Mean± SD

Group I-II, I-III, I-IV, I-V, I-VI, I-VII, I-VIII ; p<0.05

Group III-VII, IV-VIII ; p<0.05

Group VII-VIII, V-VII, VIII ; p>0.05

Table 3. The average mitotic number in one crypt of colonic mucosal gland in each experimental group

Group	weeks				
	treated by		12	14	17
Group I (saline)	0		0.4±0.48*	1.2±0.40	1.0±0.89
Group II (sesame oil)	0.4±0.48	0.8±0.40	0	0.8±0.74	
Group III (vitamin A, 50µg/day)	0.2±0.40	0.4±0.48	1.0±0.63	1.2±0.40	
Group IV (vitamin A, 500µg/day)	1.4±1.01	0.8±0.74	0.4±0.48	1.0±1.09	
Group V (DMH 20mg/kg)	2.9±1.97	1.1±0.83	2.3±2.19	1.1±1.04	
Group VI (DMH 20mg/kg+sesame oil)	2.2±0.97	2.0±1.26	2.4±1.42	0.9±0.83	
Group VII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 50µg/day)	1.5±1.28	1.0±1.0	1.1±1.49	2.4±1.92	
Group VIII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 500µg/day)	1.6±1.49	1.8±1.72	2.0±1.41	1.8±1.64	

*Mean± SD

Group I-V, VI, VII, VIII, III-VII, IV-VIII ; p<0.05

Group I-II, III, IV, V-VII, V-VIII, VII-VIII ; p>0.05

실험기간중 투여물질에 따른 차이를 보면 1군과 2군부터 8군까지의 사이에는 유의있는(p<0.05) 상피세포 증식조건을 보여서 DMH에 의한 강력한 독작용을 시사하고 있다. 그러나 5군과 7, 8군사이에 유의한 차이가 없었으나(p>0.05) 상피세포수가 vitamin A투여군들에서 감소된 소견을 보였다. 또한 7군과 8군사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없어서(p>0.05) vitamin A의 용량차이는 상피세포증식에 영향을 미치지 못하였다.

2. 대장점막의 세포분열변화(Table 3)

비교적 이형성변화가 없는 소낭선을 골라서 소낭선 1개당 세포분열수를 검토하였다. 1군부터 4군까지는 12주부터 20주까지 뚜렷한 변화를 보이지 않아서 vitamin A와 sesame oil은 세포분열에 영향을 미치지 못함을 알수 있었다. 5군부터 8군까지에서는 12주부터 17주까지는 비교적 세포분열의 증가를 보였으나 20주에는 더이상의 증가를 나타내지 않았다.

각군당 세포분열수의 변화를 보면 1군과 5, 6, 7, 8군사이, 3군과 7군사이, 4군과 8군사이에는 통계적으로

Table 4. The degree of dysplasia and carcinoma of colonic mucosal gland in each experimental group

Group	weeks			
	12	14	17	20
Group I (saline)	-	-	-	-
Group II (sesame oil)	-	-	-	-
Group III (vitamin A, 50µg/day)	-	-	-	-
Group IV (vitamin A, 500µg/day)	-	-	-	-
Group V (DMH 20mg/kg)	3-/+	-/2+/CI	2+/++	+ /++
Group VI (DMH 20mg/kg+sesame oil)	+	+	+ /+++	- /+
Group VII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 50µg/day)	- /-	- /+	2- /+	+ /2CV
Group VIII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 500µg/day)	+ /++	- /-	2+ /++	+ /2CI

Dysplasia : - ; absence, + mild, ++ ; moderate, +++ ; severe
 CI ; carcinoma in situ, CV ; invasive carcinoma

Table 5. Effects of retinol on DMH-Induced tumors in the rats

Group	No. of animals tested	No. of animals with dysplasia (%)	No. of animals with colon carcinoma (%)
Group I (saline)	4	0	0
Group II (sesame oil)	4	0	0
Group III (vitamin A, 50µg/day)	4	0	0
Group IV (vitamin A, 500µg/day)	4	0	0
Group V (DMH 20mg/kg)	13	8 (61.5)	1 (7.7)
Group VI (DMH 20mg/kg+sesame oil)	6	5 (83.3)	0 (0)
Group VII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 50µg/day)	10	3 (30)	2 (20)
Group VIII (DMH 20mg/kg+vitamin A, 500µg/day)	10	6 (60)	2 (20)

유의한(p<0.05) 차이를 보여서 DMH에 의한 세포분열의 증가를 관찰할 수 있었다. 5군과 7, 8군사이에는 약간 감소되는 듯 하였지만 유의한 변화가 없어서(p>0.05) vitamin A가 세포분열에 영향을 미치지 못함을 알수 있었다.

3. 대장점막의 이형성 및 암발생변화(Table 4, 5) (Photo 4, 5, 6)

1군부터 4군까지에는 12주부터 20주까지 이형성변화를 관찰할수 없었다. 5군에서는 13마리중 8마리(61.5%)가 12주부터 경도 및 중등도의 이형성변화를 보였고, 1마리(7.7%)에서 14주에 signet-ring 세포형의 상피내암이 발생하였다. 6군에서는 6마리중 5마리(83.3%)

에서 12주부터 경도 내지 고도의 이형성변화를 보였으나 암발생은 관찰되지 않았다. 7군에서는 10마리중 3마리(30%)에서 14주부터 경도의 이형성을 보였으나 20주에 2마리(20%)에서 침습성선암이 발생하였다. 8군에서는 10마리중 6마리(60%)에서 12주부터 경도 및 중등도의 이형성을 나타냈고, 20주에는 2마리(20%)에서 상피내암이 발생하였다. 이로서 DMH 단독투여군보다 DMH+vitamin A투여군에서 이형성변화율이 낮게 나타났으며 암발생도 늦게 관찰되었다.

Vitamin A의 용량사이에는 50µg 투여군에서 500µg 투여군보다 이형성변화가 적었으나 암발생의 정도는 비슷하였다.

B. 전자현미경적소견(Photo 7, 8, 9, 10)

상피세포의 증식소견을 보면 DMH투여군들에서 세포층이 6층이상으로 증식상을 보였으며 선내강으로 돌출상을 보이기도 하였다. 배상세포는 5군부터 8군에서 그수가 현저히 감소되었다. 소용모는 대조군에서는 수가 많고 규칙적으로 배열되었으나, 5군에서 8군까지 소용모의 수도 적어지고 길이가 불규칙 해졌으며 때로는 소용모의 소실도 관찰되었다. 공포형성이 DMH투여군들의 세포질내에서 다수 관찰 되었고 DMH+ vitamin A 투여군들에서는 그수가 약간 감소되었다. 이외에 DMH+ vitamin A 투여군들에서 DMH 단독투여군보다 좀더 자주 교소체가 관찰되었다.

고 찰

화학적 발암물질인 1, 2-dimethyl hydrazine(DMH)에 의한 백서 대장점막의 육안 및 조직학적 병소는 사람의 대장암과 유사해서 대장암 발생의 여러면을 연구하는데 좋은 모형이 되고 있다⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁶⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾. 실험동물에 DMH를 투여하면 15주 내지 20주정도에 대장암이 발생하며⁽¹³⁻¹⁵⁾. 그 이전에 여러 단계의 이형성변화를 볼수 있다. 대장암의 발생율은 발암물질의 투여양과 투여기간에 따라 다르며 과량투여시에 소량투여시보다 핵내 핵산량의 변화를 좀더 뚜렷하게 볼수 있다고 하였다⁽¹⁶⁾.

본연구에서는 백서대장점막에 20주이내에 이형성 및 종양을 발생시키기 위해서 DMH를 20mg/kg/week 용량⁽¹⁾⁽⁷⁾⁽¹⁸⁾을 사용하였다. Vitamin A와 암발생과의 관계에 대한 연구로서 최근 Fontaman등의 보고에 의하면 vitamin A의 섭취량과 선암사이에는 유의하게 반비례 관계가 있다고 하였고⁽¹⁰⁾, 암환자의 혈청에서 vitamin A의 농도가 의의있게 낮다고 하였다⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾. 또한 Newbern등⁽²²⁾은 vitamin A결핍상태에서 DMH를 투여받은 백서에서는 100%에서 대장암이 발생하지만, vitamin A를 보충 받을때는 60%에서 대장암이 생겼다고 하였다. 그러나 Rogers등⁽⁹⁾은 음식내에 다량의 vitamin A를 주었을때 대장암의 발생율은 변화가 없었다고 하였다.

DMH투여후 백서 및 마우스에서 소낭선의 상피세포 증식이 암종보다 선행된다는 것이 여러 관찰자들에 의해 보고되고 있으며⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾ 이와는 반대로 소낭선의 증식이 암종발생보다 선행되어 나타나지 않는다는 주

장도 있다⁽¹⁾. 그러한 차이는 실험동물의 종류와 개체에 따라 다르지만 소낭선의 세포증식이 대장암 발생 과정동안 필수적으로 일어나는 것은 아니라는 것을 지적하고 있다. 본 연구에서도 sesame oil, vitamin A 등의 물질에서도 생리수투여군에 비해 유의한 증식을 보이고 있다($p < 0.05$). DMH단독 투여군과 DMH+ vitamin A 투여군과의 사이에서는 약간 감소되는 듯한 경향은 보였으나 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$). 따라서 상피세포증식은 암종보다 선행되는 소견이기는 하지만 필수적으로 암종이 생긴다는 것을 예고하는 것은 아니며, vitamin A를 같이 투여한 실험군에서 상피세포 증식이 약간 감소된 듯한 소견으로 보아서($p > 0.05$) vitamin A가 DMH에 의한 세포독성을 감소시키는 역할을 한 것으로 추측된다. 이는 retinoid가 홀몬이나 발암물질 투여에 의해 발생된 세포증대소견과 squamous metaplasia 변화를 막을수 있다는 보고와 일치하였다⁽²³⁾. DMH투여후 대장점막 상피세포의 핵분열수 및 세포분열증가의 속도가 대장암 발생과정에 나타나는 이형성변화 정도에 따라 다르다⁽¹³⁾. 즉 상피세포의 이형성 정도가 증가 할수록 한개 소낭선의 핵분열수는 증가한다고 하였다. 본연구에서도 DMH투여군들에서 정상 대조군들보다 유의하게 핵분열수가 증가하였다. 그러나 DMH 단독투여군과 DMH+ vitamin A 혼합 투여군의 변화는 숫자적으로 다소 감소된 듯 하였으나 의의는 없었다($p > 0.05$). DMH투여에 따른 대장점막 상피세포의 이형성변화는 DMH투여후 3주⁽²⁾부터 16주⁽¹³⁾까지 다양하게 보고 되고있다. 본연구에서는 실험기간동안 DMH 단독투여군에서는 61.5%, DMH+ vitamin A, 50 μ g/day 투여군에서는 30%, DMH+ vitamin A, 500 μ g/day 투여군에서는 60%의 이형성변화를 보여서 DMH단독군에서 보다 vitamin A를 같이 투여시 이형성변화가 감소됨을 관찰할 수 있었으며, vitamin A의 용량에는 별차이가 없었다. 암발생변화를 보면 DMH 단독투여군에서는 DMH 14주에 signet-ring형의 상피내암 암이 발생하였으나 DMH+ vitamin A, 투여군에서는 20주에 비로소 암이 발생하였다. 이로서 초기에는 암발생을 저해시키지만 만성적으로 발암물질을 투여시 암발생을 낮출수는 없었다. Sporn등⁽²⁴⁾의 보고에서도 retinoid는 화학적 발암물질에 의해 생긴 병적 과정에서 세포학적 방어를 해서 여러가지 상피세포암을 막는데 중요하지만, 발암물질의 자극이 너무 크다면 효과가 없을수도 있다고 하였다.

전자현미경적 변화를 보면 백서 대장점막 상피세포는 정상 대조군에서는 3~5층으로 구성되어 있으며 세포 표면이 일정하였으나 DMH 투여군들에서는 세포층이 6층이상으로 증식상을 보였으며 선내강으로 돌출상을 보이기도 하였다. 배상세포는 정상대조군에서는 많이 관찰되지만 암종이 있는 조직에서는 그수가 현저히 감소됨을 관찰하였으며 이는 상피세포가 태생형으로 전환하는것으로 해석할수 있으며 암종전환으로의 초기단계를 나타낸다고 할수있다^{25,26}. 본연구에서 대장 점막상피세포의 소용모는 정상 대조군과 세포증식성변화를 보인 경우에서는 소용모의 수도 많고 일정한 모양을 지니며 잘 발달되어 변연부를 이루었는데 반해 상피암종이 발생된 부위에서는 그 수가 적어지고 짧아지며 불규칙하게 나타났고 소용모가 소실된 소견도 관찰되었다. 이는 사람의 대장점막에 생긴 유두상 선종에서 관찰되는 소용모의 수적감소 및 길이의 축소소견과 일치하였다²⁷. 그러나 Barkla등²⁸의 보고에 의하면 대장암조직에서 좀더 많은 소용모를 관찰했다는 보고도 있다. DMH투여군에서 대장점막상피세포의 세포질내에서 소포형성이 자주 관찰되었으며, DMH 단독투여군에서 DMH+Vitamin A 혼합투여군보다 심하였다. 이러한 소포형성은 초기 세포변성의 소견으로서 설명되고 있다²⁸. 또한 실험군에서 소낭선 세포질내에 붕입체가 관찰되었으며, 이 붕입체는 핵과 세포질의 변성이라고 하였다²⁶. 대장점막의 기저층은 정상 대조군에서 연속적으로 선명하게 존재 하였으나, 실험군에서는 불연속적이고 선명치 않게 관찰되었으며 상피세포의 일부가 이런 불연속적인 기저층을 통해 간질내로 돌출되기도 하였다. 이러한 현상은 Barkla등²⁸에 의해 백서 대장점막에서 발생된 암종의 소견과 일치하며 분명치는 않지만 종양의 국소확산을 가능하게 한다고 하였다. Christensen등²⁹에 의하면 사람 대장암세포에 DMF(N, N-dimethyl formamide)를 첨가시 교소체와 tonofilament가 증가하는 소견을 분화의 증거로 간주하였다. 본 연구에서도 DMH+vitamin A 첨가군에서 약물 투여후 20주까지도 교소체가 잘 유지된 상태를 보여 주었다.

결 론

1, 2-dimethylhydrazine(DMH)투여로 백서에서 유발된 대장점막의 병변에 vitamin A(retinol)가 미치는

영향을 연구 하고자, 체중이 100g 정도의 웅성백서(Sprague Dawley)에 DMH를 매주 20mg/kg 투여하고, sesame oil에 용해시킨 vitamin A(retinol)를 매일 50 μ g, 500 μ g을 경구투여한후 12, 14, 17, 20주에 각기 도살하여 대장점막에 나타나는 변화를 광학 및 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 대장점막 상피세포의 증식은 1군에 비해 모든 실험군에서 유의있는 증식소견을 보였으며($p<0.05$), DMH 단독투여군에 비해 DMH+vitamin A 혼합투여군에서 세포수가 약간 감소되는 경향은 있으나 유의한 차이는 없었고, 또한 vitamin A의 용량에 따른 차이도 관찰되지 않았다.

2) 세포분열소견은 대조군에 비해 DMH 투여군들에서 세포분열의 증가를 보였으나($p<0.05$), DMH+vitamin A 혼합 투여군들에서 뚜렷한 감소는 없었다($p>0.05$).

3) 대장점막의 이형성 및 암발생을 변화를 보면 DMH 단독투여군에서는 이형성 61.5%, 암발생 7.7%로서 실험 14주에 상피내암이 발생되었으나, DMH+vitamin A 투여군들에서는 50 및 500 μ g/day 투여군 각각에서 30% 및 60%의 이형성을, 암발생은 모두 20%로서 실험 20주에 침습성 선암이 관찰 되었다.

4) 전자현미경소견은 DMH 단독투여군에서 좀더 많은 세포질내 공포형성을 관찰할 수 있었다.

이로서 vitamin A를 발암물질에 첨가 투여시 초기에는 세포독성 및 이형성 변화를 어느정도 감소시켰으나, 20주정도 투여시 암발생을 저해시키지는 못하였다.

References

- 1) Pozhariscki KM : *Morphogenesis and Morphology of Experimental Epithelial Tumors of the Intestine*. *J Natl Cancer Inst* 1975 : 54 : 1115-1135
- 2) Chang WWL : *Histogenesis of Symmetrical 1, 2-dimethylhydrazine-Induced Neoplasms of the Colon in the Mouse*. *J Natl Cancer Inst* 1978 : 60 : 1405-1418
- 3) Kimura O, Laibona N, Miyano Y, Okamoto T, Tamura H, Yurugi E, Koga S : *Nuclear DNA Content in Dimethylhydrazine-Induced Colonic Carcinoma and Mucosal Dysplasia in Rats*. *Cancer* 1984 : 53 : 1918-1922
- 4) Wargovich MJ, Medline A, Bruce WR : *Early Histo-*

- pathologic Events to Evolution of Colon Cancer in C 57B/6 and CFI Mice Treated in 1, 2-dimethylhydrazine. J Natl Cancer Inst 1983 : 71 : 125-131*
- 5) Zedeck MS, Sternberg SS, Poynter RW, McGowan J : *Biochemical and Pathological Effects of Methyloxy Methanol Acetate, a Potent Carcinogen. Cancer Res 1970 : 30 : 801-812*
 - 6) Sunter JP, Watson AJ, Appleton DR : *Kinetics of the Nonneoplastic Mucosa of the Large Bowel of Dimethylhydrazine-Treated Rats. Br J Cancer 1981 : 44 : 35-44*
 - 7) Chu EW, Malmgren RA : *An Inhibitory Effect of Vitamin A on the Induction of Tumors of Forestomach and Cervix in the Syrian Hamster by Carcinogenic Polycyclic Hydrocarbons. Cancer Research 1965 : 25 : 884-895*
 - 8) Newberne PM, Rogers AE : *Rat Colon Carcinomas Associated with Aflatoxin and Marginal Vitamin A. J Natl Cancer Inst 1973 : 50 : 439-448*
 - 9) Rogers AE, Herndon BJ, Newberne PM : *Induction by Dimethylhydrazine of Intestinal Carcinoma in Normal Rats and Fed High or Low Levels of Vitamin A. Cancer Research 1973 : 33 : 1003-1009*
 - 10) Fontham ET, Pickle LW, Haenszel W, Correa P, Lin Y, Falk RT : *Dietary Vitamins A and C and Lung Cancer Risk in Louisiana. Cancer 1988 : 62 : 2267-2273*
 - 11) Muto T, Morson BC : *Evolution of the Cancer of the Colon and Rectum. Cancer NY, quoted in Filipe MI, op. cit., 1975*
 - 12) Thurnherr N, Deschner EE, Stonehill EH, Lipkin M : *Induction of Adenocarcinomas of the Colon in Mice by Weekly Injections of 1, 2-dimethylhydrazine. Cancer Res 1973 : 33 : 940-945*
 - 13) Richards TC : *Early Changes in the Dynamics of Cryptic Cell Populations in Mouse Colon Following Administration of 1, 2-dimethylhydrazine, Cancer Res 1977 : 37 : 1680-1685*
 - 14) Filipe MI : *Mucous Secretion in Rat Colonic Mucosa during Carcinogenesis Induced by Dimethylhydrazine ; A Morphological and Histochemical Study. Br J Cancer 1975 : 32 : 60-76*
 - 15) Maskens AP : *Histogenesis and Growth Pattern of 1, 2-dimethylhydrazine-Induced Rat Colon Adenocarcinoma. Cancer Res 1976 : 36 : 1585-1592*
 - 16) Chan PC, Cohen LA, Narisawa T, Weisburger JH : *Early Effects of a Single Intrarectal Dose of 1, 2-dimethylhydrazine in Mice. Cancer Res 1976 : 36 : 13-17*
 - 17) Ward JM : *Morphogenesis of Chemically Induced Neoplasms of the Colon and Small Intestine in Rats. Lab Invest 1974 : 30 : 505-513*
 - 18) 홍기숙 · 한운섭 · 김옥경 : 1, 2-dimethylhydrazine 투여후 백서 대장점막변화에 대한 광학 및 전자현미경적 연구. 이화의학지 1987 : 10 : 5-19
 - 19) Tomkin GH, Scott L, Ogbuah C, O'Shaughnessy M : *Carcinoma of the Colon-Association with Low Dietary Vitamin A in Females : Preliminary Communication. J of the Royal Society of Medicine 1986 : 79 : 462-464*
 - 20) Willett WC, Polk BF, Underwood BA, Stampffer MJ, Pressel S, Rosner B, Taylor JD, Schneider K, Hames CG : *Relation of Serum Vitamins A and E and Carotenoids to the Risk of Cancer. NEJM 1984 : 310 : 430-434*
 - 21) Kark JD, Smith AH, Switzer BR, Hames CG : *Serum Vitamin A(Retinol) and Cancer Incidence in Evans County, Georgia. JNCI 1981 : 66 : 7-16*
 - 22) Newberne PM, Suphakarn V : *Preventive Role of Vitamin A in Colon Carcinogenesis in Rats. Cancer 1977 : 40 : 1553-1556*
 - 23) Schroder EW, Black PH : *Retinoids : Tumor Preventers or Tumor Enhancers ? . JNCI 1980 : 65 : 671-674*
 - 24) Sporn MB, Dunlop NM, Newton DL, Smith JM : *Prevention of Chemical Carcinogenesis by Vitamin A and Its Synthetic analogs(Retinoids). Federation Proc 1976 : 35 : 1332-1338*
 - 25) Kaye GI, Fenoglio CM, Pascal RR, Lane N : *Comparative Electron Microscopic Features of Normal, Hyperplastic and Adenomatous Human Colonic Epithelium. Gastroenterology 1973 : 64 : 926-945*
 - 26) Johannessen JV : *Electron Microscopy in Human Medicine. Vol 7. Digestive System. McGraw-Hill Interna-*

tional Book Co, 1980 : p175

- 27) Ioachim N, Delaney WE, Madrazo A : *Villous Adenoma of the Colon and Rectum ; Ultrastructural Study. Cancer 1974 : 34 : 586-596*
- 28) Barkla DH, Tutton PJM : *Ultrastructure of 1, 2-dimethylhydrazine-Induced Adenocarcinomas in Rat Colon.*

J Natl Cancer Inst 1978 : 61 : 1291-1299

- 29) Cristensen TG, Burke B, Dexter DL, Zamcheck N : *Ultrastructural Evidence of Dimethylformamide-Induced Differentiation of Cultured Human Colon Carcinoma Cells : Increased Expression of Desmosomes. Cancer 1985 : 56 : 1559-1565*

□ 흥기숙 논문 사진 부도 ① □

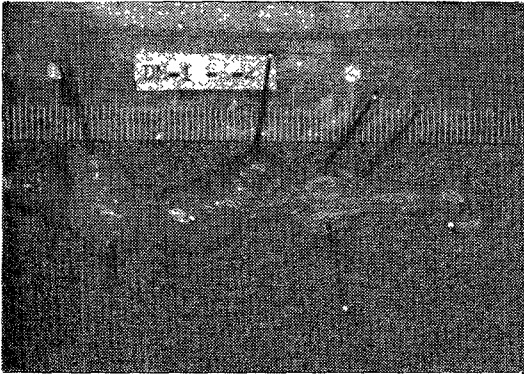


Photo 1. Tumor in ascending colon treated with DMH

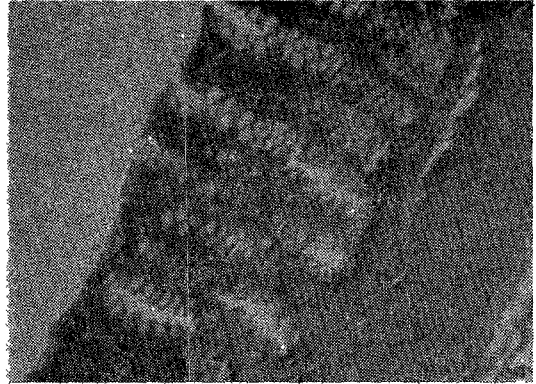


Photo 2. Normal colonic mucosa of control group(H & E stain, $\times 200$)



Photo 3. Colonic mucosal hyperplasia treated with 14 weeks of DMH+vitamin A 500 μ g/day(H & E stain, $\times 200$)

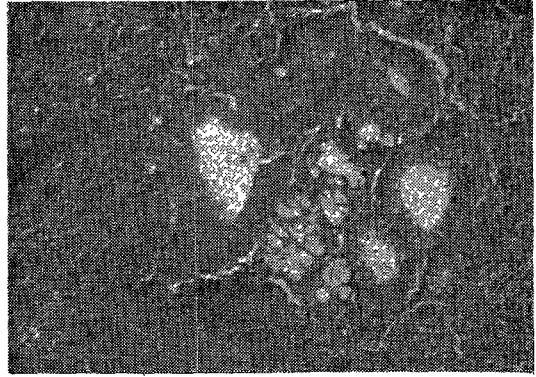


Photo 4. Moderate dysplasia treated with 20 weeks of DMH+vitamin A 500 μ g/day(H & E stain, $\times 200$)

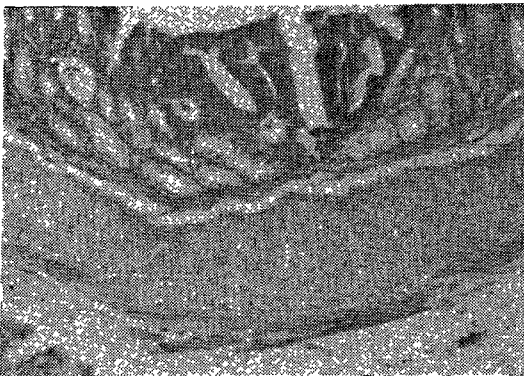


Photo 5. Severe dysplasia treated with 17 weeks of DMH+sesame oil(H & E stain, $\times 100$)

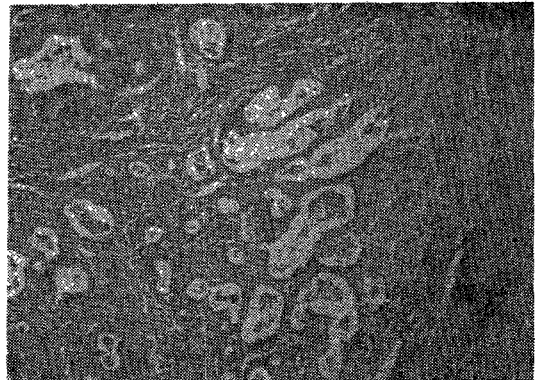


Photo 6. Adenocarcinoma treated with 20 weeks of DMH+vitamin A 50 μ g/day(H & E stain, $\times 200$)

□ 흥기숙 논문 사진 부도 ② □

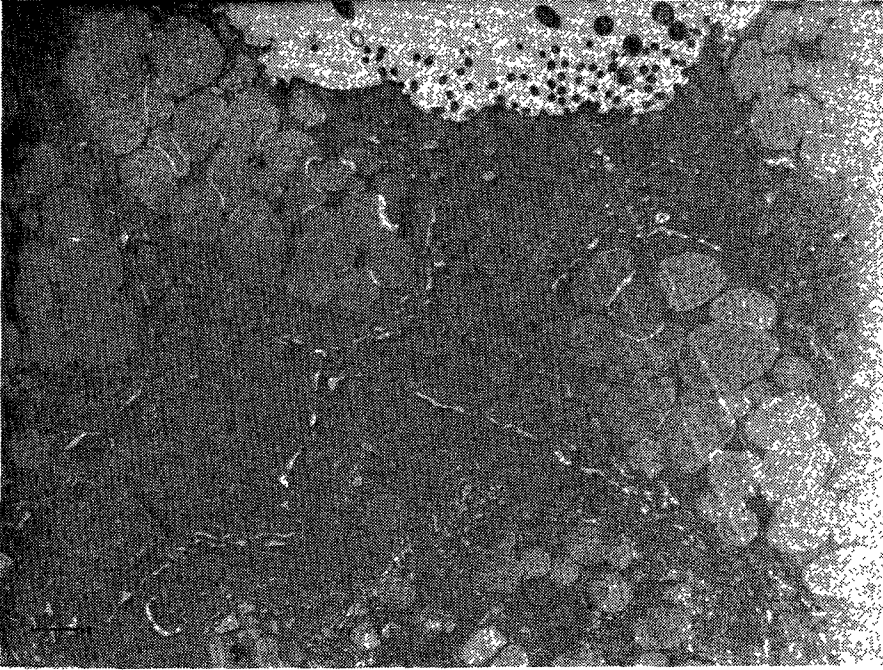


Photo 7. Numerous goblet cells with microvilli of normal control rat(EM, $\times 10,000$).

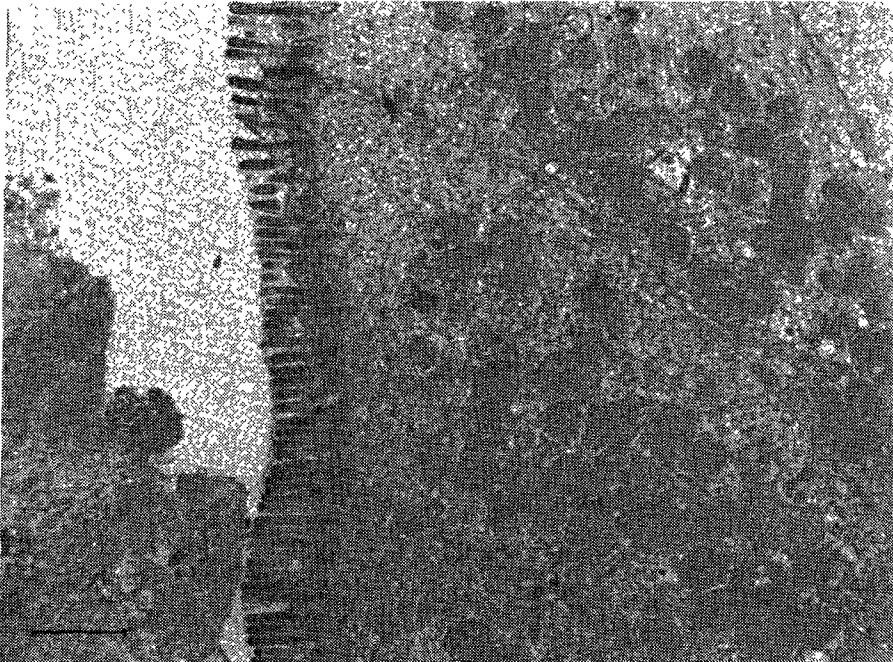


Photo 8. Regular microvilli treated with 20 weeks of sesame oil(EM, $\times 16,000$)

□ 흥기숙 논문 사진 부도 ③ □

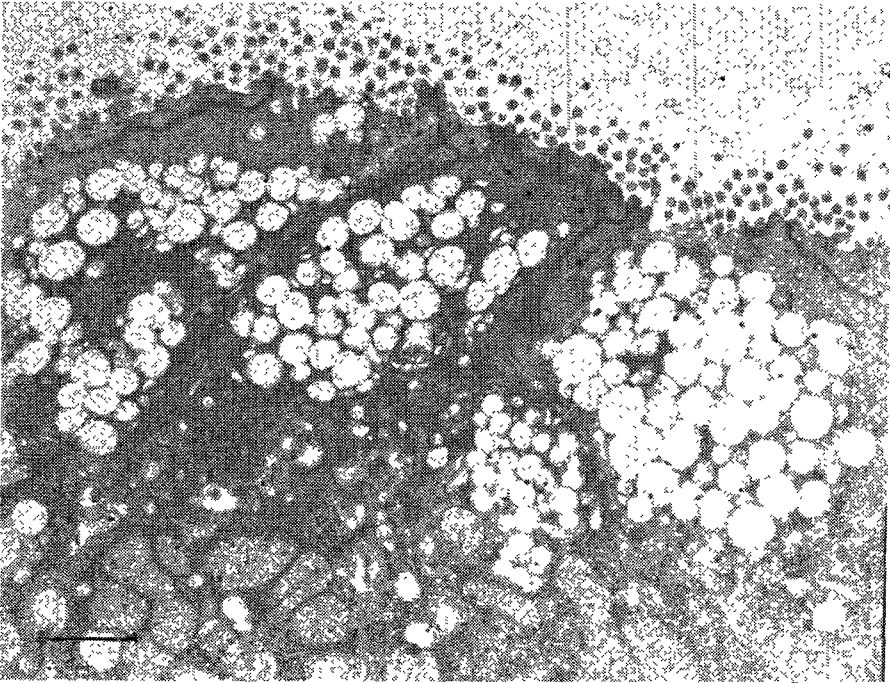


Photo 9. Many vacuoles in the cytoplasm treated with 12 weeks of DMH(EM, $\times 16,000$).

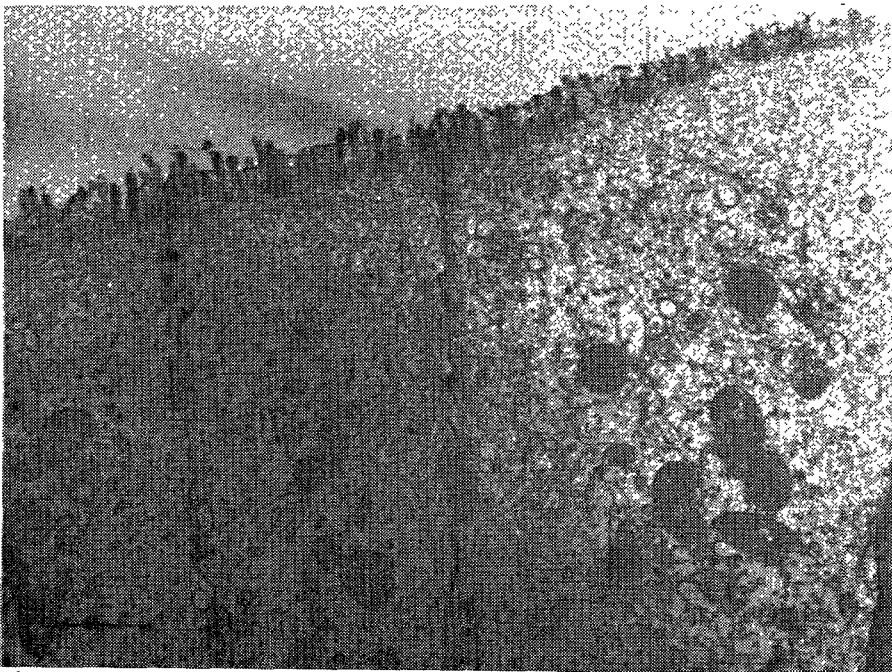


Photo 10. Irregular shortening of microvilli & prominent desmosome treated with 20 weeks of DMH+ vitamin A $50\mu\text{g/day}$ (EM, $\times 16,000$).