

1,2-dimethylhydrazine을 투여한 rat 장관의 증식세포 분포와 종양발생에 대한 면역조직화학적 연구

강 원 화 · 광 수 동*

경상대학교 수의과대학
경상대학교 동물의학연구소*
(1996년 6월 17일 접수)

Immunohistochemical study on distribution of proliferating cells and tumor formations in intestinal tracts of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats

Won-hwa Kang, Soo-dong Kwak*

*College of Veterinary Medicine Gyeongsang National University
Institute of Animal Medicine, Gyeongsang National University**

(Received Jun 17, 1996)

Abstract : The present investigation was focussed mainly on the development of the tumors and proliferating cells on the intestinal tracts of 1, 2-dimethyl-hydrazine(DMH)-treated young or adult rats. 26 rats(Wistar, 14 young rats weighting approximately 130~180gm and 12 adult rats weighing approximately 500~550gm) were given subcutaneously once weekly with 20mg of DMH/kg body weight(BW)/week for 8~22 weeks.

Individual body weight were recorded weekly at the same day and time.

The rats were killed at 8, 13, 15, 17, 19, 21 and 22 weeks. The intestinal tracts were opened longitudinally and carefully examined for tumors.

The localization, number, and size of tumors were noted. Tumor-bearing areas were dissected out and fixed on neutral buffered 10% formalin and normal-looking mucosa from 8~22 weeks rats were also taken for fixation. Paraffin sections were stained by H-E for histopathological examination or with immunohistochemical stain for bromodeoxyuridine(Brdur) positive cells.

1. The growth proportion of body weight appeared to be decreased in the DMH-treated young rats than in control young rats and body weight of DMH-treated adult rats appeared to be 13.4% or less lower than weighted on 0 week.

2. Macroscopically, the developed tumors in the intestinal tracts were not observed as early as the 13 weeks after DMH treatment. The number of developed tumors per rat was found to be 14,

3, 18.8, 22.3 in 15, 17 and 22 weeks. The numbers of tumors in intestinal regions per rat were

2.1, 4.3, 5.4, 2.5 in duodenum, jejunum, ilium and colon on 15 weeks, 2.3, 6.4, 7.8, 2.3, on 17 weeks, and 2.7, 9.3, 9.0, 1.3 on 22 weeks, respectively and the ileum and jejunum were higher in appearance rate of tumors and tumor types are dome shapes and diameter of largest tumor were 6.3mm.

3. Histopathologically, intestinal mucosa were thickened by the irregular distorted and distended crypts following hyperplasia. The tumors developed on the mucosa and submucosa and were recognized to be adenocarcinoma.

4. Immunohistochemically, the labeling index(LI) was calculated as the ratio of the number of Brdur-labeled cells to the total number of column cells of the crypts with longitudinal axis. LI of Brdur positive cells per crypt were 5.6%, 8.0% on small intestine of control and 22 week group, respectively and 3.7%, 12.7% on large intestine of control and 22 week group, respectively and were appeared to be increase in 22 week group than in control group and to be more number of proliferating cells in 22 week group than in control group.

5. LI of Brdur positive cells in 1, 2, 3, 4, 5 segments of crypt column were 11.7%, 10.7%, 3.8%, 0.6%, 0% in small intestine of control group and 23.5%, 11.8%, 2.3%, 2.4%, 0.8% in small intestine of 22 week group, and 5.4%, 7.4%, 3.8%, 1.0%, 0.4% in large intestine of control group and 29.5%, 20.3%, 5.9%, 6.3%, 1.3% in large intestine of 22 week group respectively.

So results indicate that the number of proliferating cells by DMH treatment increase and were concentrated on the 1, 2 segments of crypt columns.

Key words : 1, 2-dimethylhydrazine, tumor, proliferating cells, Brdur, rats.

서 론

실험동물에서 종양을 인위적으로 발생시키는 실험은 사람에게서 병적으로 발생된 종양의 발생기원과 기전, 진행과정, 예방과 치료, 식품과 환경위생 등의 다양한 연구의 중요한 자료가 된다¹⁻¹⁸.

발암성 약제를 실험동물에 응용할 경우에는 특징적 부위에 집중적으로 발생시키는 약제를 많이 응용한다. 그중에 diethylnitrosamine은 간장에^{4,14,18}, 1,2-dimethylhydrazine (DMH)^{1,2,4,5-14,19}, azoxymethane^{13,17}은 장관에 특징적으로 종양을 많이 발생시키므로 종양발생과 치료연구에 응용되고 있다.

DMH에 의한 종양발생이나 또는 DMH와 다른 사료와의 혼합섭취시 종양발생의 관계 등에 대한 조사는 주로 육안적 또는 병리조직학적^{1,4,6-9,11,16}으로 조사하였거나 ³H-thymidine(³H-TdR)을 이용한 방사선자기법^{7,8,12,20}으로

조사한 바가 많다. 방사선자기법은 세포핵 내에서 복제되는 DNA 성분인 thymidine에 동위원소를 결합시킨 ³H-TdR를 동물에 투여하여 복제되는 DNA와 결합된 분열세포를 검색하는 방법^{7,8,12,20-23}이나, 방사선 물질의 취급을 위한 주의, 시설, 조직의 장기간(4~6주간) 냉장실에서 감작, 조직표본의 fog 현상 등 여러가지 문제점을 가지고 있다. 근래에는 면역조직화학적 방법의 발달로 세포핵 nucleotide의 구성성분인 bromodeoxyuridine(Brdur)를 투여하여 분열세포와 결합하게 한후 Brdur 항체를 이용하여 양성반응세포를 검색하여 종양의 발생기원과 발전, 치유속도, 악성·양성종양의 구별 등을 조사하는데 많이 응용되고 있다²⁴⁻²⁹.

본 실험은 DMH를 rat에 장기간 투여하여 소화기 계통에서 종양의 발생과 세포분열상 등을 육안적 및 병리조직학적으로 조사하고 Brdur를 응용한 면역조직화학적 결과를 토대로 rat 장관의 세포증식과 종양발생에 관해 검토한 바를 보고코자 한다.

재료 및 방법

공시동물의 처리 : 130~180gm의 육성기 rat(Wistar)와 500~550gm의 성숙기 rat(Wistar)에 0.001M EDTA를 pH 6.5로 조정후, 10ml당 DMH 50mg을 희석하여 rat 체중 kg당 4ml(20mg)씩 일주 간격으로 피하주사하여 증상을 관찰하고 체중증감을 조사하였다. Table 1과 같이 DMH 투여후 8주, 13주, 15주, 17주, 21주, 22주째에 부검하였다. 부검 당일 오전 8~9시경에 Brdur(Sigma)를 체중 gm당 0.2mg씩 복강내 주입하고 1~2시간 경과후 ether로 마취한 후 개복하여 4% neutral buffer paraformaldehyde로 관류고정하고 각 장기를 채취하여 소화기 부위별로 점막에 발생한 종양의 크기와 발생수를 조사하였다. 이후 10% neutral formalin에 재고정한 후 통상적인 방법으로 paraffin 조직을 만들어 일부는 H-E 염색을 실시하여 장벽의 변화상을 관찰하고 일부는 면역조직화학적 방법에 의하여 분열세포의 양상을 조사하였다.

면역조직화학적 염색 : 투약후 8~22주째의 rat 장조직의 paraffin절편을 1차 항체는 1:50~1:100으로 희석한 mouse anti-Brdur IgG(Oncogene science)를, 2차 항체는 1:50~1:100으로 희석한 goat anti-mouse IgG(Sigma)를, 3차 항체는 mouse PAP(Sigma)를 1:50~1:100으로 희석하여 사용하거나 또는 2차 항체부터는 Vectastain ABC kit(Vector Lab)를 사용하였는 등 PAP법 또는 ABC법을 이용하였고 발색제는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)를 사용하여 발색토록한 후 hematoxylin으로 대조염색하여 황갈색으로 발색되는 세포를 분열세포로 간주하고 종양의 부위에 따른 분열세포의 분포와 그 비율을 micro-reticle이 장착된 광학현미경으로 관찰하였다.

Table 1. Experimental design for 1,2-dimethylhydrazine treated-rats

	Control	Weeks on test						Total
		8	13	15	17	21	22	
Adult rats	2*	2	2	2	2	2	12	
Young rats	2	2	2	2	2	2	14	

* : Number of rats

결 과

육성중의 rat와 성숙한 rat에 DMH를 매주당 체중 kg당 20mg씩 일정한 간격으로 투여하고 매주 체중을 측정하여 투여전의 0주째 체중을 100으로 하여 1주에서 부터 21주까지의 체중변화를 %로 계산한 바, 그림 1에서 500~550gm의 성숙 rat의 체중은 처음보다 체중비율이 최하 13.4% 감소된 범위내에서 증감이 반복되었으며, 130~180gm의 육성중의 rat는 증간에 증감이 있으면서 전체적으로 계속 증체되었으나 Barbolt 와 Abraham¹⁾의 표준 성장치에는 미치지 못하여 성장이 지연되었음을 보였다. 이로 보아 rat에 DMH의 투여는 체중감소에 영향을 있음을 알 수 있었다.

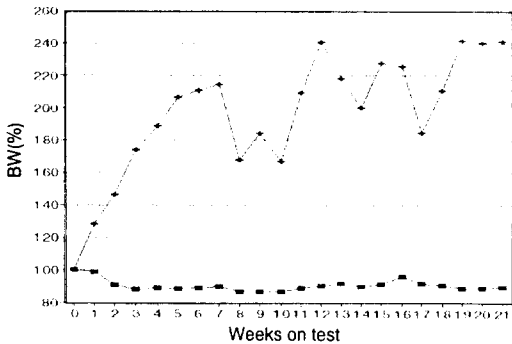
소화기관의 변화를 8주에서 22주 사이에 관류고정한 후 복강내 위장관을 절개하여 관찰한 바, 점막면에서는 충출혈 소견은 관찰되지 않았으며 종양의 발생은 13주째까지는 관찰되지 않았지만 15주째 부터는 전 두수에서 관찰되었다.

경과 주별 개체별 평균 종양의 발생수는 시일이 경과하고 DMH 투여회수가 증가할수록 증가하였는데 15주째에는 14.3개 였고, 17주째에는 18.8개였으며 22주째에는 22.3개가 관찰되었고, 부위별로는 대장보다 소장, 소장 중에서도 회장과 공장에 더 많이 관찰되었고 맹장에서는 관찰되지 않았다. 종양의 크기는 육안적으로는 확인할 수 있는 정도의 작은 크기에서 부터 가장 큰 것은 지름이 6.5mm 였고 주로 dome 상의 원형을 이루었으며 시일이 경과하고 투여 회수가 증가할 수록 크기가 증가하였다(Fig 1, 2).

병리조직학적으로는 선의 기저부 기간세포의 증식으로 점막이 두터워지고 crypt(장은와)가 길어졌고 또 확장되고 확대되어 선구조가 불규칙하게 변형되었다. 또 결합조직세포들이 증식하여 용모들이 다양한 형태를 하였고 종양세포의 집단은 주로 점막의 상피에서 발생되어 선구조양으로 증식하며 adenocarcinoma 형을 하고 있었다(Fig 3~6).

면역조직화학적으로 Brdur 양성반응세포비율의 조사는 대조군과 22주간 투여한 군(22주군)에서 소장은 주로 회장을 대장은 주로 결장을 대상으로 하였는데 소장에서 대조군은 crypt 당 1~23개의 범위로 평균은 7.7개 였고 22주군은 3~34개의 범위로 평균은 13.9개 였다 (Fig 7, 8). 대조군은 2~23개의 범위로 평균은 6.9개 였고 22주군은 7~37개의 범위로 평균은 22.5개로 22주군에서 양성반응세포수가 현저히 증가되었다 (Fig 9~12). Crypt당 평균 LI는 소장은 대조군 5.6%, 22주군 8.0%였고 대장은 대조군

3.7%, 22주군 12.7% 였다. 전길이가 나타난 Crypt를 기저부에서부터 점막표면으로 micro-reticle로서 제1부에서 제5부까지로 5등분하여 전체세포수 중에 Brdur 양성반응세포의 비율을 조사한 바 그림 2와 같이 대조군의 소장에서는 제1부 11.7%, 제2부 10.7%, 제3부 3.8%, 제4부 0.6%, 제5부 0% 순이었고, 22주군에서는 제1부 23.5%, 제2부 11.8%, 제4부 2.4%, 제3부 2.3%, 제5부 0.8% 순이었다. 대장에서는 대조군 제2부 7.4%, 제1부 5.4%, 제3부 3.8%, 제4부 1.0%, 제5부 0.4% 순이었고, 22주군에서는 제1부 29.5%, 제2부 20.3%, 제4부 6.3%, 제3부 5.9%, 제5부 1.3% 순이었다. 이상에서 DMH는 소장보다 대장에 crypt 세포를 더 증식시켰고 Crypt부위별로는 제1, 2부에 양성반응세포가 집중적으로 분포하고 있었다. 그래서 DMH는 장 crypt 세포의 증식을 증가시킴을 알 수 있었다.



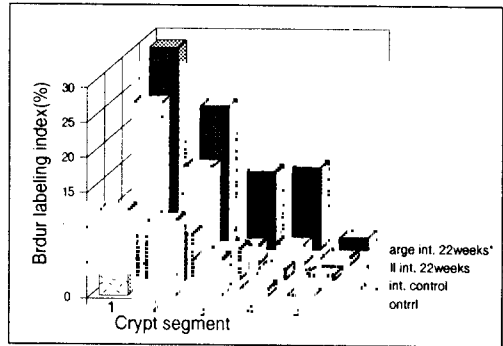
Graph 1. Growth proportion of body weight for 21 weeks after DMH treatment.
 ■ : adult rat
 + : young rat

Table 2. Number of tumors per rat by 1,2-dimethylhydrazine treatment for 15, 17 and 22 weeks

Regions	No. of tumors			Diameter(mm)		
	15 weeks	17 weeks	22 weeks	15 weeks	17 weeks	22 weeks
D u odenum	2.1	2.3	2.7	2.5 (1.0-3.0)	2.6 (1.5-3.7)	3.7 (1.0-4.3)
Jejunum	4.3	6.4	9.3	2.2 (2.0-3.0)	2.8 (1.3-4.3)	3.3 (0.7-6.5)
Ileum	5.4	7.8	9.0	3.4 (2.0-4.0)	3.4 (2.0-4.8)	3.9 (2.0-6.0)
Colon	2.5	2.3	1.3	3.0 (2.0-4.0)	3.5 (2.5-4.5)	3.8 (2.5-5.0)
Total	14.3	18.8	22.3			

Table 3. Labeling index(%) of Brdur-positive cells per crypt by 1,2-dimethylhydrazine treatment for 22 weeks

Group	Small intestine		Large intestine	
	Control	22-weeks	Control	22-weeks
LI	5.6	8.0	3.7	12.7



Graph 2. Labeling index(%) of Brdur positive cells per segment of crypt column in the small and the large intestinal walls of DMH.
 Large int. 22 weeks : large intestine of the 22 weeks

고 찰

DMH를 장기간 투여할 때 체중에 미치는 영향에 대하여 Barbolt와 Abraham¹은 정상적인 192gm의 육성기 대조군 rat가 20주째는 304.7%까지 증체하였으나 DMH 투여군은 292.6% 증체로 대조군과 12.1%의 체중차이를 보임을 들어 증체에 영향이 거의 없다고 하였다. 본 조사에서는 20주째에 체중 증가비율이 240.3%여서 위의 보고보다 성장이 더욱 지연되었음을 알 수 있었으며 성숙한 rat에서는 체중이 최하 13.4% 범위내로 감소된 상태에서 증감이 반복되었다.

Rat에서 DMH에 의해 종양이 처음 발견되는 시기에 관하여 Maskens⁷는 15주째는 현미경적 암종이, 24주째는 육안적 선암종이 관찰되었다고 하였고 McGarity *et al*⁸는 16주째에 관찰된다고 하였으며 Richards¹¹는 mouse에서 16주째까지는 종양이 없는 군이 많았다고 하였다.

본 조사에서는 15주째 처음 육안적으로 관찰되어 위 보고와 유사하였다. 개체별 종양의 발생수에 관하여는 Maskens⁷은 24주째에 결장에서 50.2%, 맹장에서 5.5%의 두수가 관찰되었다고 하였고, McGarrity *et al*⁸은 30주째 21두의 결장에서 106개가, Barbolt와 Abraham¹은 21주째 두당 평균 6.4개가 관찰된다고 하였고, Richards¹¹는 마우스에서 12주째 두당 4개, 20주째는 두당 5.1개가 관찰되었다고 하였다.

본 조사에서는 15주째 4두에서 두당 평균 14.3개가 관찰되었고 17주째에는 두당 평균 18.8개가 관찰되었으며, 22주째 두당 평균 22.3개가 관찰되어 위 보고보다는 많은 종양수가 발생된 편이었다.

종양의 발생부위에 관하여는 주로 결장에서 발생된다고 하였고^{1,5,7,8,29-33} Jacobs⁶는 소장과 대장의 발생두수 비율이 14 : 27, 24 : 22 등 다양하다고 하였고, Nelson⁹는 결장대 위와 소장의 발생비율이 10 : 37이었다고 하여 여러 부위에서 발생되고 있음을 보고하였다.

본 조사에서는 소장과 대장의 종양발생 비율이 2.1 : 1로 소장에서 더 많이 발생한 편으로 결장에 많이 발생된다는 보고와는 상이하였다.

DMH 투여에 의한 crypt 길이의 증가에 관하여는 War-govich와 Newmark¹⁶는 증가되었다고 한 바 있고 더 구체적으로 McGarrity *et al*⁸는 lining cells의 수가 50% 증가하였다고 하였고, Richards¹¹는 mouse에서 16주째에 47% 증가되었다고 한 바 있다.

본 조사에서는 시기별, 연령별, 개체별, 장의 부위별 기준의 차이가 없어 개별측정은 하지 않았으나 병리조직학적 소견에서 crypt의 변형과 확대로 점막의 비후를 인정할 수 있었고, 대조군과 22주군의 분열세포 비율이 소장은 5.6%에서 8.6%로, 대장은 3.7%에서 12.7%로 증가되었음을 확인할 수 있어 crypt세포증식이 증가되어 길이가 길어지는 것을 확인할 수 있었다.

³H-Tdr를 이용한 방사선 자기법으로 전체세포 중에 분열세포의 비율을 조사한 바, Maskens⁷는 DMH 투여시 대조군은 9.6%, 병변부 crypt세포는 10.7% 였다고 하였고, Richards¹¹는 mouse에서 16주째 두 예로 5.9±2%와 21.2% 였다고 하였고, McGarrity *et al*⁸는 crypt의 여러 부위 중에 명확한 부위 규정의 설명없이 증식대에는 53.2~64.3%로 높다고 하였다.

본 조사에서는 22주째의 rat를 Brdur를 이용한 면역조직화학적 방법으로 분열세포의 비율을 조사한 바 소장

은 8.0%, 대장은 12.7%로서 위의 보고와 유사한 편이었고 crypt의 5개 segment별로는 소장 제1부 23.5%, 대장 제1부 29.5%로 위의 증식대의 보고 보다는 월등히 낮은 편이었다.

결 론

육성중의 rat와 성숙한 rat에 매주 1,2-dimethylhydrazine (DMH)를 투여하여 체중을 측정하고 8주부터 주별로 소장과 대장에 종양의 발생사항을 조사하고 종양의 발생 부위에 대하여 병리조직학적 및 면역조직화학적으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. DMH 투여는 육성기 rat의 성장을 지연시켰고 성숙한 rat는 체중이 최하 13.4% 감소된 범위에서 증감이 반복되었다.

2. 육안적으로 개체별로는 13주째까지는 소화기관에 종양이 관찰되지 않았다. 15주째 부터는 전두수에서 관찰되었는데 두당 평균 14.3개가 관찰되었으며 각 개체 부위별 평균 발생수는 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장에서 각각 2.1, 4.3, 5.4, 0, 2.5개로 회장에 많이 발생되었고, 17주째는 두당 평균 18.8개가 관찰되었고 부위별로는 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장에서 각각 2.3, 6.4, 7.8, 0, 2.3개가 발생되었다. 22주째는 두당평균 22.3개가 관찰되었고 부위별로는 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장에서 각각 2.7, 9.3, 9.0, 0, 1.3개로 공장과 회장에서 많이 발생되었다. 종양의 형태는 점막면의 dome상의 원형을 하였고 가장 큰 종양의 지름이 6.5mm였다.

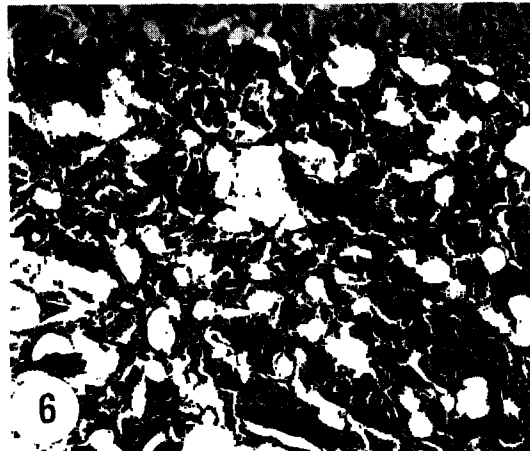
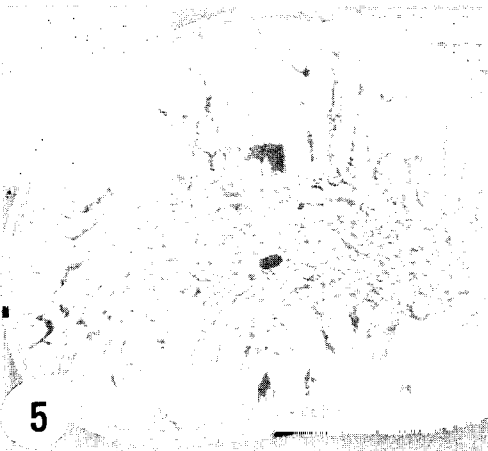
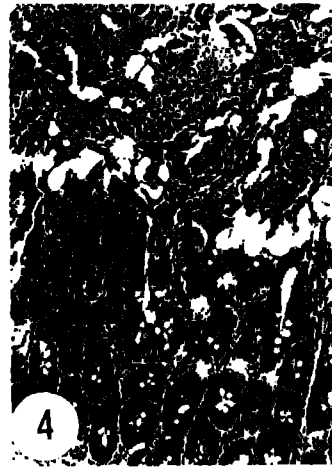
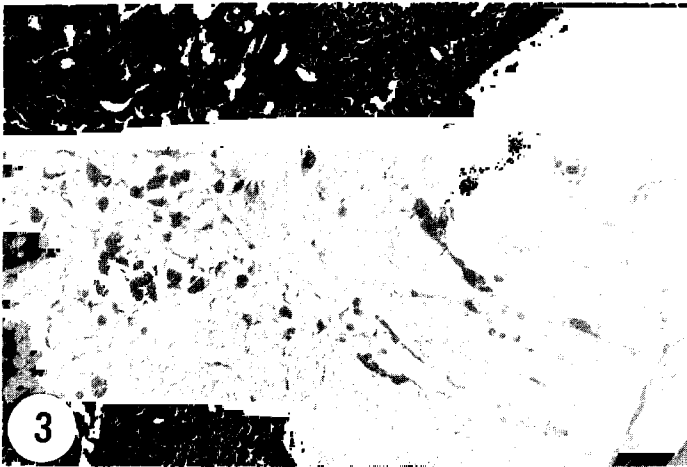
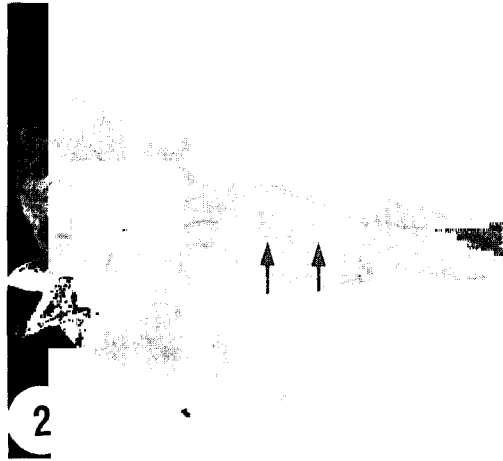
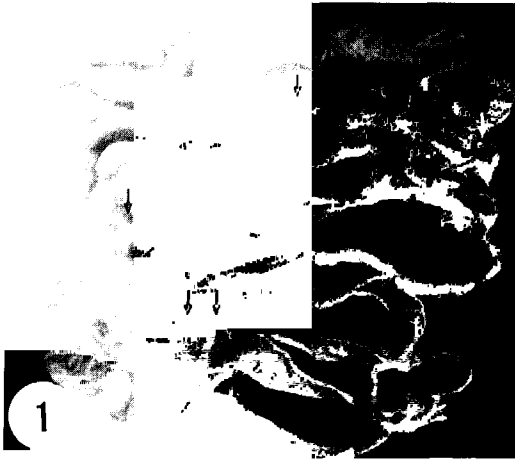
3. 병리조직학적으로는 점막면에 crypt의 변형, 확대 등으로 점막이 두터워졌고, 종양은 점막과 점막하직에 발생되었고 adenocarcinoma가 인정되었다.

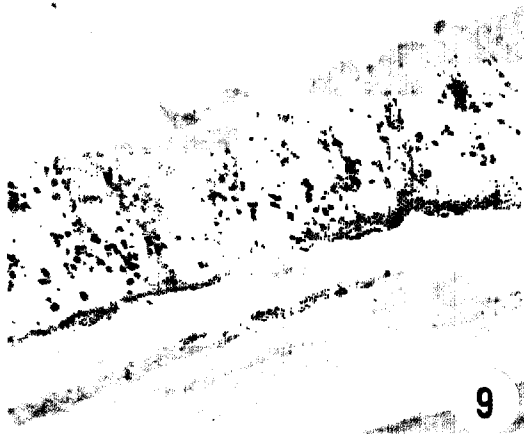
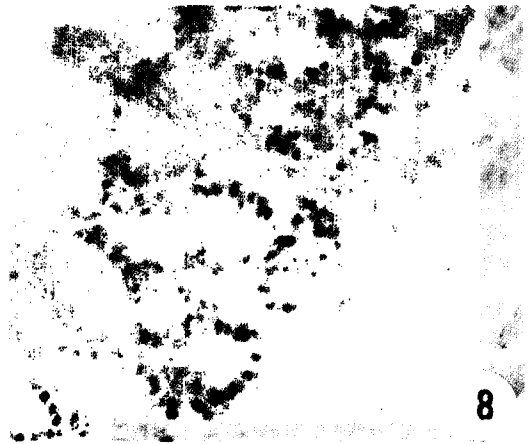
4. 면역조직화학적으로는 crypt당 Brdur 양성반응 세포의 비율은 소장의 대조군은 5.6%, 22주군은 8.0% 였고 대장의 대조군 3.7%, 22주군은 12.7%로 대조군보다 22주군에, 소장보다 대장에 세포분열을 많이 일으켰다.

5. Crypt column의 1, 2, 3, 4, 5 부위별 양성반응 세포의 분포는 소장에서는 대조군이 11.7%, 10.7%, 3.8%, 0.6%, 0% 였고, 22주군이 23.5%, 11.8%, 2.3%, 2.4%, 0.8% 였으며, 대장에서는 대조군이 5.4%, 7.4%, 3.8%, 1.0%, 0.4% 였고, 22주군이 29.5%, 20.3%, 5.9%, 6.3%, 1.3%로써 DMH는 음와의 증식세포 비율을 증가시켰고, 증식세포는 제1, 2부에 집중적으로 존재하였다.

Legends for figures

- Fig 1. Macroscopically, the developed tumors(arrows) in the intestinal tracts are seen at the 15 weeks after DMH treatment.
- Fig 2. Higher magnification of lower arrow area in Fig 1. Some tumors on the colon are seen.
- Fig 3, 4. The disorganized villi and the developed carcinomas on the mucosa and the lymphatic nodule-like structures in the submucosa of small intestine of a rat treated with DMH for 22 weeks are seen. H-E. X 100.
- Fig 5. The small intestinal lumen occluded by the proliferated connective tissue and numerous adenocarcinoma cells mass on the mucosa of a rat treated with DMH for 22 weeks is seen. H-E. X 12.5.
- Fig 6. Higher magnification of the adenocarcinoma with gland-like structures on the mucosa in Fig 5 are seen. H-E. X 200.
- Fig 7. Numerous Brdud positive cells are seen on the crypts and in the lamina propria of the ileum of a rat treated with DMH for 22 weeks. Histochemistry stain. X 50.
- Fig 8. Higher magnification of Fig 7. Many Brdud-positive cells on the lamina propria and crypt, and the blunted villi are seen. H-E. X100.
- Fig 9. Numerous Brdud positive cells are seen on the crypts of the colon of a rat treated with DMH for 22 weeks. Many Brdud positive cells tended to be on higher regions of crypts. Histochemistry stain. X 50.
- Fig 10. Higher magnification of Fig 9. Numerous Brdud positive cells are seen in the carcinoma developing in the mucosa of a rat treated with DMH for 22 weeks. Histochemistry stain. X 100.
- Fig 11. Numerous Brdud positive cells are seen at crypts of the mucosa and at carcinoma developed in the submucosa of the colon of a rat treated with DMH for 22 weeks. Histochemistry stain. X 20.
- Fig 12. Higher magnification of Fig 11. Numerous Brdud positive cells tended to be extended to the higher segments of the crypts of the colon of a rat treated with DMH for 22 weeks. Histochemistry stain. X 100.





참 고 문 헌

1. Barbolt TA, Abraham R. The effect of bran on dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in the rat. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 157: 656-659, 1978.
2. Caderni G, Mancina A, Bianchini F, et al. Effect of dietary carbohydrates on the growth of dysplastic crypt foci on the colon of rats terated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Research*, 51: 3721-3725, 1991.
3. Dunsford HA, Karnasuta C, Hunt JM, et al. Different lineage of chemically induced hepatocellular carcinoma in rats defined by monoclonal antibodies. *Cancer Research*, 49: 4894-4900, 1989.
4. Glauert HP, Weeks JA. Dose-and time-response in Fischer-344 rats after a single dose of 1,2-dimethylhydrazine. *Toxicology Letters*, 48: 283-287, 1989.
5. Griffioen G, Bosman FT, Verspaget HW, et al. Mucin profiles and potential for malignancy of human colorectal adenomatous polyps. *Cancer*, 63: 1587-1591, 1989.
6. Jacobs LR. Enhancement of rat colon carcinogenesis by wheat bran consumption during the stage of 1,2-dimethylhydrazine administration. *Cancer Research*, 43: 4057-4061, 1983.
7. Maskens AP. Histogenesis and growth pattern of 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon adenocarcinoma. *Cancer Research*, 36 : 1585-1592, 1976.
8. MCGarrity TJ, Peiffer LP, Colony C. Cellular proliferation in proximal and distal rat colon during 1,2-dimethylhydrazine-induced carcinogenesis. *Gastroenterology*, 95: 343-348, 1988.
9. Nelson RL. Chlorophyllin, an antimutagen, acts as a tumor promoter in the rat-dimethylhydrazine colon carcinogenesis model. *Anticancer Research*, 12: 737-740, 1992.
10. Richards TC. Early changes in the dynamic of crypt cell population in mouse colon following administration of 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Research*, 37: 1680-1685, 1977.
11. Richards TC. Changes in crypt cell populations of mouse colon during recovery from treatment with 1,2-dimethylhydrazine. *JNCI*, 66: 907-911, 1981.
12. Richards TH. The Effects of the carcinogen, 1,2-dimethyl-hydrazine, of turnover of 3H-thymidine labeled cells from mucosal glands of mouse colon. *Anat Rec*, 200: 299-308, 1981.
13. Shamsuddin AKM, Trump BF. Colon epithelium. II. *In vivo* studies of colon carcinogenesis. Light microscopic, histochemical, and ultrastructural studies of histogenesis of azoxymethane-induced colon carcinomas in fischer 344 rats. *JNCI*, 66: 389-401, 1981.
14. Sunter JP, Appleton DR, Watson AJ. Acute changes occurring in the intestinal mucosa of rats given a single injection of 1,2-dimethylhydrazine. *Virchows Arch (Cell Pathol)*, 36: 47-57, 1981.
15. Tamano S, Merlino GT, Ward JM. Rapid development of hepatic tumors in transforming growth factor α transgene mice associated with increased cell proliferation in precancerous hepatocellular lesions initiated by N-nitrosodiethylamine and promoted by phenobarbital. *Carcinogenesis*, 15(9): 1791-1798, 1994.
16. Wargovich MJ, Newmark HL. Inability of several mutagen-blocking agents to inhibit 1,2-dimethylhydrazine-induced DNA-damaging activity in colonic epithelium. *Mutation Research*, 121: 77-80, 1983.
17. Watanabe K, Reddy BS, Welsburger JH, et al. Effect of dietary alfalfa, pectin, and wheat bran on azoxymethane or methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *JNCI*, 63 : 141-145, 1979.
18. 이혜영. Diethylnitrosamine에 의한 흰쥐 간세포의 유전적 변화에 관한 연구. 인하대학교 대학원 박사학위 논문, 1991.
19. Maskens AP. Significance of the karyorrhectic index in 1,2-dimethylhydrazine carcinogenesis. *Cancer Lett*, 8: 77-86, 1979.
20. Sato M, Ahnen DJ. Regional variability of colonocyte growth and differentiation in the rat. *Anat Rec*, 233: 409-414, 1992.
21. Terpstra OT, Blankenstein MV, Dees J, et al. Abnormal pattern of cell proliferation in the entire colon-

- ic mucosa of patients with colon adenoma or cancer. *Gastroenterology*, 92: 704-708, 1987.
22. 광수동, 김종섭, 안동원. 성장 hormone이 마우스 소장상피세포 재생주기에 미치는 영향에 대하여. 대한수의학회지, 33(1): 37-42, 1994.
 23. 광수동. 뇌 신경교세포 집단의 발생과 이동에 대한 放射線 自記法的 관찰. II. 뇌 외배엽성 신경교세포의 分裂과 移動에 대하여. 대한수의학회지, 32: 489-496, 1991.
 24. Allegranza A, Girlando S, Arrigoni GL, et al. Proliferating cell nuclear antigen expression in central nervous system neoplasm. *Verchows Arch Pathol Anat Histopathol*, 419(5): 413-417, 1991.
 25. Risio M, et al. Immunohistochemical study of epithelial cell proliferation in hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas of the large bowel. *Gastroenterology*, 94: 899-906, 1988.
 26. 광수동, 김종섭, 강정부. 닭의 대퇴부 골단조직의 세포증식에 대한 면역조직화학적 관찰. 대한수의학회지, 34: 237-242, 1994.
 27. 광수동, 김종섭. Rat의 자궁벽에서 발생된 stromal sarcoma의 관찰. 대한수의학회지, 34(3): 435-439, 1993.
 28. 광수동, 박성식, 강원화. Anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody 를 이용한 Rat 胃와 腸의 分葉 상피세포의 분포에 대하여. 대한수의학회지, 33(4): 597-603, 1993.
 29. 박성식, 광수동. Progesterone이 rat 자궁과 난소의 증식세포 분포에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구. 대한수의학회지, 35: 217-228, 1995.
 30. Deschner EE, Long FC, Hakissian M, et al. Differential susceptibility of AKR, C57B/6J and CF1 mice to 1,2-dimethylhydrazine induced colonic tumor formation predicted by proliferative characteristics of colonic epithelial cells. *JNCI*, 70: 379-382, 1983.
 31. Green FL. Distribution of colorectal neoplasm. *Ann Surg*, 49: 62-65, 1983.
 32. Tempero MA, Zetterman RK. Long term changes in colon crypt cell proliferation following single-dose dimethylhydrazine(abstr). *Gastroenterology*, 90: 1660, 1986.
 33. Wargovich MJ, Medline A, Bruce WR. Early histopathologic event to evolution of colon cancer in C57BL/6 and CF1 mice treated with 1,2-dimethylhydrazine. *JNCI*, 71: 125-131, 1983.