

N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine의 직장주입에 의한 Sprague-Dawley 쥐에서의 발암효과

국립의료원 일반외과 및 병리과*

이 봉 화 · 김 형 덕 · 김 흥 무
김 세 호 · 우 제 홍 · 서 정 일*

= Abstracts =

The Carcinogenic Effect with the Instillation of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in Sprague-Dawley Rats in the Colon and Rectum

Bong Hwa Lee, M.D., Hyoung Duk Kim, M.D., Hong Moo Kim, M.D., Se Ho Kim, M.D.
Jung Il Suh, M.D.* and Ze Hong Woo, M.D.

Department of General Surgery and Pathology National Medical Center, Seoul 100-196, Korea*

Large bowel carcinomas were induced with the instillation of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) in Spargure-Dawley rats. Histologic examinations showed that malignant tumors such as adenocarcinoma, angiosarcoma, malignant lymphoma were developed and, that mucosal changes such as ischemic changes, submucosal lymphoid infiltration were notified and, that reactive lymphoid hyperplasia with plasma cell dominance and with occasional abscesses. There were no significant difference in the incidence of histopathology among the groups treated with MNNG only, MNNG and indomethacin, MNNG and metronidazole MNNG and both. But there was no malignant tumors in the group treated with MNNG and indomethacin.

Key Words: Carcinogenesis, Large bowel, Indomethacin, Metronidazole

서 론

국민의 식생활 습관중 육류 및 지방의 섭취가 많아지고 가공음식이 많아짐에 따라 암발생 경향도 달라지고 있다. 국내의 보고를 보면 1982년 7월부터 1987년 6월까지 보건사회부 암등록실에 등록된 암환자 123,044명을 분석한 결과 결장암이 3,117명(2.6%), 직장암이 4,204명(3.4%)로서 둘을 합하면 대장암은 7,381명으로 전체암의 6.0%를 차지하였다. 위암, 자궁암, 간암, 폐암에 이어 제 5위의 빈도이다. 1991년 서

울의대팀의 보고에 의하면 인구 10만명당 남자 9.8명, 여자 8.4명으로 1,977명, 여자 1,688명이 연간 신환으로 추정된다고 하였다. 남녀 모두 70~74세에서 가장 호발연령이라고 하였다. 미국에서는 1990년만하더라도 미국내의 암환자는 100만명으로 집계되었고 이 중 1/4인 25만정도가 소화기 암환자이며 대장암 환자는 15만 5천명이다. 매년 6만 2천 명이 대장암으로 사망하고 있다. 구미에 비해 대장암의 발생빈도가 낮은 이유는 환경적 요인, 식생활의 차이 및 전암성 질환이라고 생각되는 만성괴양성대장염 및 용종등의 발생빈도가 낮기 때문이 아닌가 생각되고 있다.

최근 국내에서 염증성 대장질환과 대장암 발생이 높아짐에 따라 기초적인 연구로서 발암물질에 대한 대장 점막의 변화를 관찰할 필요가 있다고 생각된다. 1,2 di-methyl hydrazine(DMH)를 비로소한 여러가지 발암물질이 실험적으로 사용되고 있으나 저자들은 비교적 위암발생의 연구로서 잘 알려진 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(이하 MNNG로 약함)을 직장점막에 주입함으로써 직장과 결장의 변화를 관찰하여 향후 대장암 발암연구에 기초를 얻고자 하였다¹⁾. 동시에 대장암의 발생과정을 조절할수 있는 기전을 규명하기 위하여 promotor작용이 있을 수 있다고 추정되는 metronidazole의 공동발암원 효과를 검토하고 prostaglandin길항제인 indomethacin으로서 metronidazole의 promotor작용을 억제할 수 있는지를 검토하고 동시에 암조직의 착상과정에 상기한 약제들이 어떠한 영향이 있는지를 검토하고자 하였다.

연구 방법

1) 대 상

생후 6주 내외의 Sprague-Dawley쥐 암컷 130마리를 분양받아 다음과 같이 각군으로 나누어 실험하였다. MNNG를 Sprague-Dawley쥐의 직장에 주입함과 동시에 metronidazole, indomethacin을 각각 혹은 동시에 투여하여 공동발암원 효과를 구명하고 제 2단계 실험으로서 MNNG에 의해 쥐에 발생된 대장암을 쥐의 subrenal capsule에 이식하여 착상과정에 metronidazole, indomethacin을 각각 혹은 동시에 투여하여 그 결과를 분석한다.

2) 각군의 처치

제 1 군은 MNNG 경직장투여군, 제 2 군은 MNNG 경직장투여+indomethacin 복막내 투여, 제 3 군은 MNNG 경직장투여+metronidazole 경구투여, 제 4 군은 MNNG 경직장투여+indomethacin 복막내 투여+metronidazole 경구투여하였다.

3) 각 시약의 투여 및 각군의 처치

(1) MNNG: Aldrich(Winsconsin WSA)회사 제품으로 MNNG 250 mg/cc되게 증류수에 녹여 한

번에 1 cc씩 일주일에 3회 20주간, 항문을 통하여 직장으로 튜브를 삽입하여 주입하였다. 항문이나 직장에 손상을 방지하기 위하여 특별히 고안된 끝이 뭉툭한 튜브를 사용하였다.

(2) indomethacin i.p: 보령약품(서울)제품 「¹⁴lio-methacen, one vial=N-methyl-D-glucamine salt of 1-(p-choro-benzoil)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid(meglumine indomethacinate) 77.2 mg equivalent to 50 mg indomethacin」으로 역시 0.4 mg/cc되게 증류수에 녹여 0.5 cc 내의 물 복막내에 주사하여 체중 kg당 indomethacin 2.5 mg이 투여되게 하였다. 일주일에 3회, 20주간 주사하였다.

(3) metronidazole p.o.: 식수에 0.4 mg/cc되게 녹여 식수로서 쥐에 공급하고 섭취된 식수의 양을 기록하였다. 하루에 체중 kg당 50 mg 섭취되도록 배려하였다.

4) 실험 제 1 단계

24주동안 발암제 MNNG와 공동발암원 indomethacin, metronidazole을 투여한후 개복과 개흉을 실시하여 종양의 발생빈도와 진행정도를 분석함으로써 공동발암원의 효과를 판정한다. 육안적으로 종양이 있거나 병변이 있다고 판단되는 부위를 사진촬영한 다음 10% 포르말린 용액에 고정시키고 병리조직학적 검사를 시행하였다.

5) 실험 제 2 단계

실험 20주에 ketamine과 ether를 이용하여 전신 마취하에 개복하여 발견되는 종양의 일부를 채취하여 1 mm³의 작은 절편을 만들어 kidney capsule하에 이식한후 회복시키고 생존시킨 다음 4주후 개복과 개

Table 1. The groups of experiment

Group	No.	Effective no.	Treatment
1	70	60	MNNG and laparotomy
2	20	19	MMNG+indomethacin
3	20	18	MNNG+metronidazole
4	20	18	MNNG+indomethacin +metronidazole

용을 실시하여 종양의 착상여부를 분석하였다. 종양의 채취는 대장을 절개하고 종양의 일부를 채취한 후 vicryl suture로 봉합하였다.

6) MNNG의 직장주입에 의한 병리조직학적 병변을 다음과 같이 분류하였다.

- (1) 대장점막 및 점막하층의 변화
- (2) 대장벽의 림프구 침윤
- (3) 장간막 림프절 증식
- (4) 선암 발생
- (5) 기타 암 발생
- (6) 기관 농양형성
- (7) 간의 변화

성 적

1) 각군의 체중의 변화(Fig. 1)

실험 시작후 매주마다 20주간 체중을 측정하였으나 각군간의 체중의 변화는 뚜렷하지 않았다. MNNG만을 투여한 군에서 가장 체중증가가 적었으나 통계적의 의는 없었다.

2) 유효수 및 사망원인

실험 12주 이상 생존한 경우를 유효숫자로 정의하였고 실험종료 이전에 사망한 경우에는 부검을 시행하

여 사망원인을 분석하였다. 130마리 중 실험 12주전에 15마리가 사망하여 115마리가 분석대상이 되었다. 제 1군의 70마리 중 사망원인은 케럼 1, 직장 천공 2, 기타 7마리였다. 제 2군의 20마리에서는 복부천자 중 대동맥 파열로 1마리가 사망하였다. 제 3군에의 20마

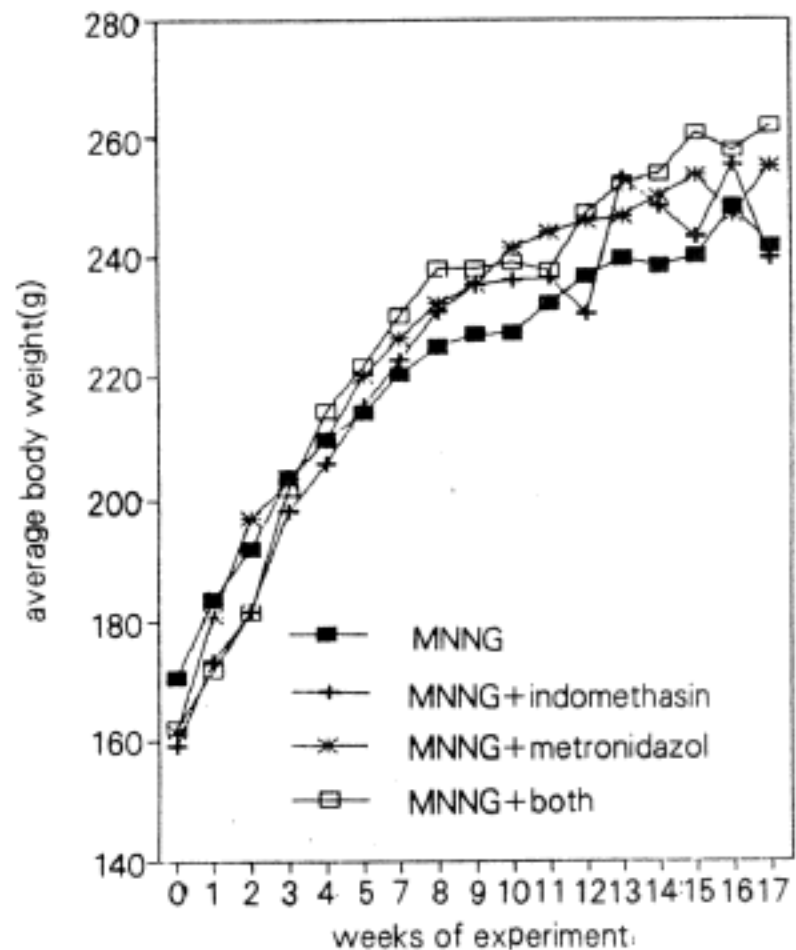


Fig. 1. The weight gain of rain of rats treated with the instillation of MNNG.

Table 2. The histopathologic changes of colorectum by intrarectal instillation of MNNG

Group	Histopathology							
	no.	m & sm	lym inf	mes LNH	adenoca	other ca	abscess	liver
1	60	7	5	9	0	4	5	2
2	19	2	1	4	0	0	0	0
3	18	2	1	0	1	0	0	0
4	18	2	0	1	1	0	3	1
total	115	13(11%)	7(6%)	14(12%)	2(1%)	4(3%)	8(6%)	3(2%)

*m & sm: changes in mucosa and submucosa
 lym inf: lymphocyte infiltration in colonic wall
 mes LNH: mesenteric lymph node hypertrophy
 adenoca: adenocarcinoma
 other ca: other malignancy
 abscess: abscess formation in organs
 liver: the chagnes of liver

리에서는 폐렴으로 2마리가 사망하였으며 제 4 군에서는 각각 폐렴 1, 복강내 농양 1마리가 사망하였다. 따

라서 실험 12주 전에 사망한 15마리의 사망원인은 폐렴 5, 직장천공 2, 복강내 농양 1, 기타원인 7마리였

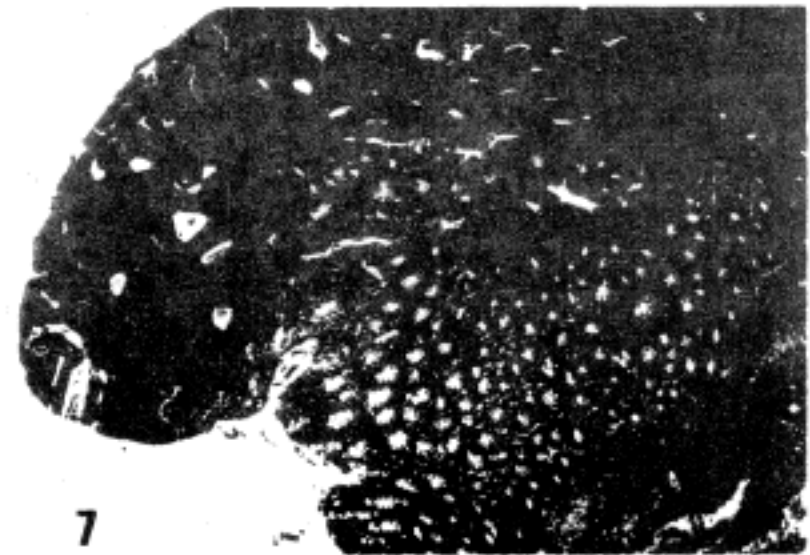
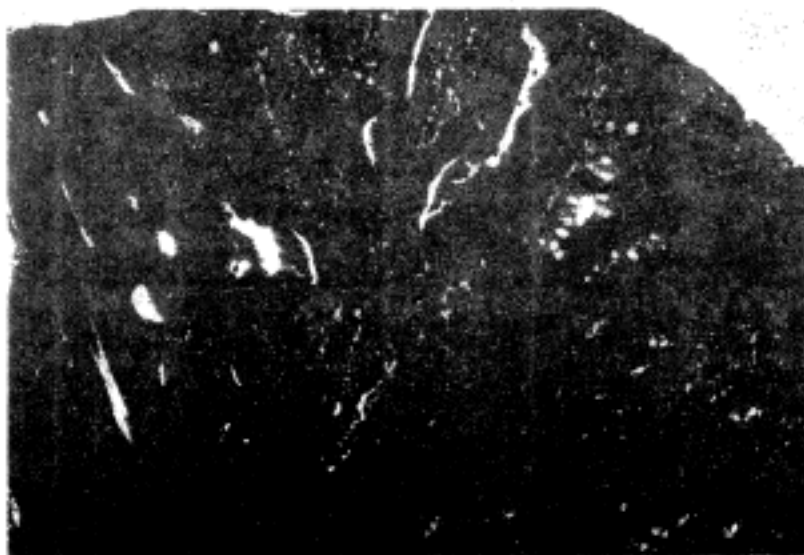
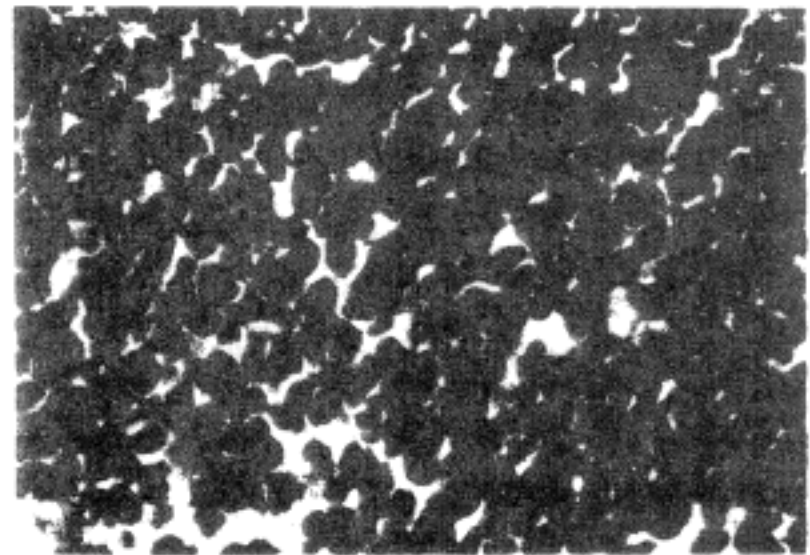
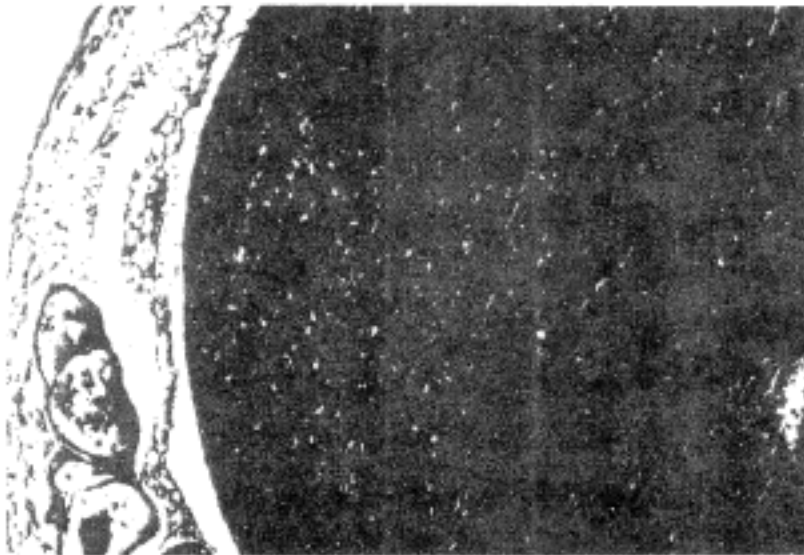
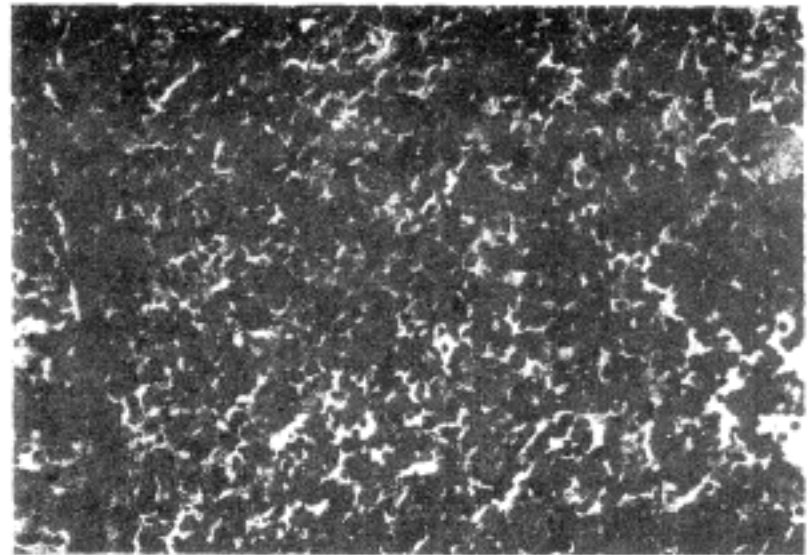
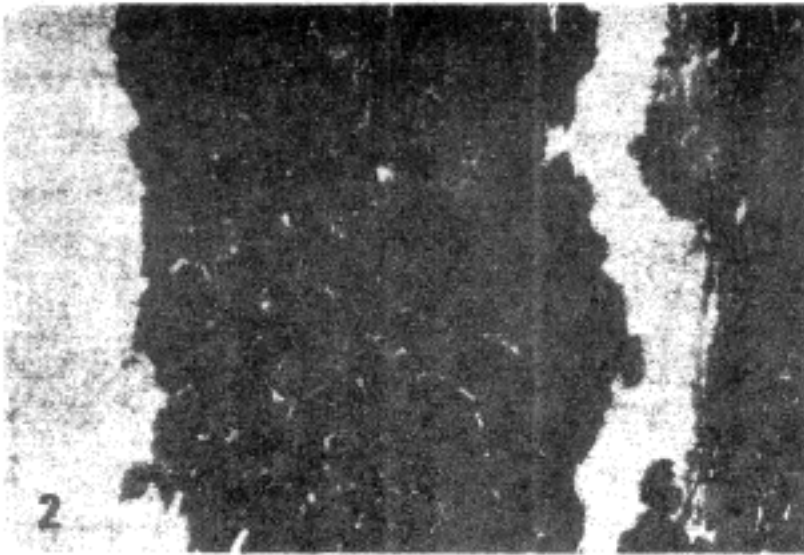


Fig. 2. Photomicrograph of the angiosarcoma in the group treated with MNGG and laparotomy which shows atypical spindle cell proliferation dissecting the fibrous tissue. HE x 40.

Fig. 3. Photomicrograph of the angiosarcoma in the case of Fig 2. HE x 100

Fig. 4. Photomicrograph of the malignant lymphoma, diffuse large cell type in the group treated with MNGG and laparotomy which extends to submucosa of the colon. HE x 40

Fig. 5. Photomicrograph of the malignant lymphoma in the case of Fig. 4 HE x 100

Fig. 6. Photomicrograph of the adenocarcinoma in the group treated with MNGG and metronidazole which was polypoid and well differentiated, tubular. HE x 40

Fig. 7. Photomicrograph of the adenocarcinoma in the case of Fig. 6. HE x 100

다. 기타원인에는 개복 수술도중 혹은 수술 후 수일에 사망한 경우를 포함하였다.

3) 대장 및 기타의 병리소견

(1) 대장에 발생한 병리조직학적 변화(Table 2): 실험후 대장 점막 및 점막하층에 발생한 병리학적 변화는 13예(11%)에서 발견할 수 있었다. 그 양상으로서 는 배세포의 감소, 국소적 미란, 점막선(mucosal gland)의 증식과 소낭선(crypt)가 근점막과 고유층을 통과하는 현상이 관찰되었고, 림프구가 국소적으로 응집된 예들이 있었다. 대장벽에 림프구의 침윤이 두드러진 예가 7예(6%)에서 관찰되었으며 이러한 현상은 고유층과 점막하층에 있는 경우가 많았다.

장간막 림프절 비대가 14예(12%)에서 관찰되었다. 4예에서는 림프절의 일부 혹은 많은 부분이 소실되고 형질세포로 림프조직이 거의 모두 대체되는 현상이 있었다. 2예에서는 림프절이 중앙괴사가 심하게 보였다.

악성종양이 전부 6예(4%)에서 관찰되었는데 2예의 선암과 1예의 혈관육종 1예의 림프종, 1예의 평활근육종, 기타 1예가 발생하였다. 혈관육종은 제1군의 대망섬유조직에서 발생되었다(Fig. 1). 이 육종은 섬유성조직 가운데에 비정형적인 방추형세포 증식으로 이루어졌다. 혈관종 주위의 림프절은 형질세포증식을 보였다. 악성림프종은 제1군에서 관찰되었다(Fig. 3, 4). 장간막림프절에서 발생되고 미만성 대 세포형(diffuse large cell)이며 결장의 점막하층까지 침윤이 있었다. 제3군에서 발생한 선암은 폴립모양의 고분화의 선암으로서 직경이 0.8 cm이었다. 선암주위의 점막은 이형성을 보였다(Fig. 4, 5).

8예(6%)에서 폐, 신, 림프절에 큰 농양이 발견되었다. 간의 소견은 1예에서 기생충, 2예에서 농양을 형성하였다.

(2) 각군간의 병변의 빈도: 각군에서 발생한 병변의 빈도의 차이는 통계적으로 유의성이 없었다(Chi-square=22.03, df=18, p=0.23063). 암의 발생만을 고려하면 MNNG만을 투여한 군이나 MNNG와 metronidazole을 투여한 군에서 암의 발생이 있었으나 MNNG와 indomethacin을 투여한 군에서 발생이 없었다. 그러나 MNNG와 indomethacin, metronidazole을 동시에 투여한 군에서도 암이 발생되었다.

3) 자가이식의 결과

제1군의 60예를 개복하여 종리라고 판단되는 부위를 채취하여 10예에서 신피막하에 이식하였으나 조직 검사 및 부검결과 종양이 아닌 것으로 판단되었다.

고 찰

경구로 투여하거나 비경구적으로 투여하여 장관에 암을 발생시킬 수 있는 여러가지 복합물이 암발생의 연구에 이용되고 있다. 1941년 Lorenz와 Stuart가 dibenzanthrene 혹은 methylcholanthrene을 경구투여하여 장관암을 처음으로 실험적으로 발생시켰다¹⁾. Homberger는 햄스터 숫컷에서 결장암을 유발시켰고 이러한 현상은 성별 특이성이 있음을 관찰하였다²⁾. 4-aminodiphenyl과 3:2-dimethyl-4-aminodiphenyl을 비경구적으로 주사하면 담즙으로 분비되어 대변의 흐름에 도달하게 되어 장관암을 유발시키며 결장을 미리 제거함으로써 이러한 발암작용을 예방할 수 있음이 밝혀졌다^{3,4)}. 그러나 이러한 담즙으로 분비되는 사실은 후에 결장암의 발생에 필수적인 아님이 밝혀졌다. 1963년 다량의 소철류(cycad)를 섭취한 쥐에서 결장암이 발생됨을 관찰하고 hydrazine이 결암에서의 발암물질임을 밝혀냈다⁵⁾. 1967년 Druckrey는 1,2-dimethylhydrazine으로 됨을 밝혔다⁶⁾. Dimethylhydrazine은 10~20 mg/kg or body weight의 용량으로 매주 주사하면 쥐에서 양성 그리고 악성 종양을 유발시킨다. 결장뿐만 아니라 십이지장공장 경계부에도 종양이 발생한다. 한가지 단점은 종양을 발생시키기 위하여서는 적어도 6개월 이상의 잠복기를 가져야 한다는 것이다. 용량을 감소시키면 잠복기가 더 길어지고 한번만 주사할 경우는 15~20개월이 걸린다⁷⁾. 1,2-dimethylhydrazine나 대사물인 azoxymethane은 최종 대사산물인 methylazoxymethanol로 되고 이 물질이 DNA나 RNA 혹은 단백질을 methylation시킬 수 있게 된다⁸⁾. 즉 dimethylhydrazine이 혈액을 통하여 장상피세포에 도달되어 발암작용을 일으킨다⁹⁾. 발암물질의 생성에는 산화작용이 필요하므로 disulfiram같은 antioxidants를 경구적으로 투여하여도 효과적으로 대장암 발생을 억제한다¹⁰⁾. dimethylhydrazine를 매주 동물에 주사할

경우에 15~20주에 형태학적 변화를 발견할 수 있다. 배세포가 감소하고 선종식이 되며 14~16주에 이형성과 함께 carcinoma in situ가 시작되고 18주가 되면 선암이 관찰된다. 대부분의 경우에 24주이면 암 발생을 볼 수 있다. 그 양상은 선종성 폴립에서 전이가 있는 악성종양까지 발견된다¹¹.

그러나 이러한 동물에서의 발암작용의 관찰은 면역학 등에 이용될 수 있으나 식이와 암발생의 증가를 설명하는 데는 제한점이 많다. 즉 고 지방식이와 담즙산염과 sterols의 증가를 가져오고 결장암 발생의 원인을 제공할 수 있다는 현상을 설명하는 경우 등이다. Reddy 등은 고지방식과 dimethylhydrazine, methylnitrosourea를 투여한 결과 methylnitrosourea를 직장을 통하여 주입한 군에서 대장암의 발생이 촉진됨을 발견하였다. 이러한 사실을 식이에 의한 암발생 촉진작용이 발암물질에 의한 간혹은 세균학적 기전에 기초를 두지 않은 수 있음을 나타낸 것이라 할 수 있다¹². 따라서 dimethylhydrazine과는 달리 저자들은 항문을 통하여 직장에 직접 주입하여 직장점막과 접촉후 암을 발생시킬 수 있는 발암물질로서 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine를 선택하여 암을 발생시키고자 하였다. MNNG 국내에서도 위암의 발생연구에 많이 쓰여 위에서의 병리소견이 상세하게 알려져 있으나 대장에서는 시도된 바가 드물다. 본 연구에서는 특별히 고안된 스텐레스 튜브를 통하여 직장에 주입하였다. 그 결과 24주후 4%에서 악성종양을 발생시켰다. 동물실험으로서는 비교적 낮은 암 발생율을 얻었는데 추측할 수 있는 원인으로서는 저자들이 사용한 MNNG의 농도 혹은 용량이 부족하였거나 기간이 충분하지 못한 것이 원인이 될 수 있겠다. 저자들의 성적은 선암 보다도 육종의 발생이 더 많았으며 대장점막의 변화나 림프절의 변화도 형질세포의 침윤의 경우가 많고, 농양의 형성이 다소 있었던 점으로 미루어 실험방법의 개선이 필요하다고 본다.

Peto 등에 의하면 N-Nitrosodiethylamine 혹은 N-Nitrosodimethylamine으로서 4,800마리의 쥐에게 투여하여 용량-반응 곡선(dose response curve)을 종양생성을 검토한 결과 발암효과에는 역치(threshold)는 없으며 아주 낮은 농도에서도 장기 투여를 하면 암이 발생되는 것으로 보고하였다¹³.

공동발암원으로 이용한 Indometacin에 관한 성적

은 prostaglandin 억제제로서의 역할로 설명되는 암 발생의 감소의 보고가 있었다¹⁴. 역시 MNNG의 직장 주입에 의하여 결장암을 발생시키고 조직내의 prostaglandin을 측정 한 결과 PGE2 조직내 농도가 대조군에 비하여 암조직에서 뿐만 아니라 암이 발생된 개체의 정상점막에서도 의미있게 높아져 있다고 하였다¹⁵. 저자들의 예에서도 암발생등의 병리소견으로 보아 이러한 현상을 유추할 수 있었다. metronidazole은 크론씨병등의 합병증에 사용되는 등 대장질환의 감염예방제로서 이용이 빈번하므로써 공동발암원 효과의 연구는 중요하다고 하겠다. 장기간 투여하여 발암과정을 촉진시킨다는 보고도 있었으나 저자들의 예에서는 확인할 수 없었고 indomethacin과 같이 투여한 군에서도 metronidazole을 공동발암원으로 투여한 군과 유사한 결과를 얻었다¹¹.

총 관

대장암의 발암과정을 연구하기 위하여 생후 6주 내외의 Sprague-Dawley 쥐 암컷 130마리에 대하여 발암물질로서 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine를 Sprague-Dawley 쥐의 직장에 주입함과 동시에 metronidazole, indomethacin을 각각 혹은 동시에 투여하여 공동발암원 효과를 분석하였다. MNNG 250 mg/cc되게 증류수에 녹여 한번에 1 cc씩 일주일에 3회 20주간, 항문을 통하여 직장으로 튜브를 삽입하여 주입하였다. indomethacin 0.4 mg/cc되게 증류수에 녹여 0.5 cc 내외를 복막내에 주사하여 체중 kg당 indomethacin 2.5 mg이 투여되게 하였다. 일주일에 3회, 20주간 주사하였다. metronidazole 0.4 mg/cc되게 녹여 식수로서 쥐에 공급하고 섭취된 식수의 양을 기록하였다. 하루에 체중 kg당 50 mg 섭취되도록 배려하였다. 24주 후 개복과 개흉을 실시하여 병리조직학적 검사를 시행하였다. 대장에 발생한 병리조직학적 변화로서 대장 점막 및 점막하층에 발생한 병리학적 변화는 13예(11%)에서 발견할 수 있었다. 그 양상으로는 배세포의 감소, 국소적 미란, 점막선(mucosal gland)의 증식과 소낭선(crypt)이 근점막과 고유층을 통과하는 현상이 관찰되었고, 림프구가 국소적으로 응집된 예들이 있었다. 대장벽에 림프

구의 침윤이 두드러진 예가 7예(6%)에서 관찰되었으며 이러한 현상은 고유층과 점막하층에 있는 경우가 많았다. 장간막 림프절 비대가 14예(12%)에서 관찰되었다. 4예에서는 림프절의 일부 혹은 많은 부분이 소실되고 형질세포로 림프조직이 거의 모두 대체되는 현상이 있었다. 2예에서는 림프절이 중앙괴사가 심하게 보였다. 악성종양의 전부 6예(4%)에서 관찰되었는데 2예의 선암과 1예의 혈관육종 1예의 림프종, 1예의 평활근 육종, 기타 1예가 발생하였다. 혈관육종은 제1군의 대망섬유조직에서 발생되었다. 이 육종은 섬유성 조직 가운데에 비정형적인 방추형세포 증식으로 이루어졌다. 혈관종 주위의 림프절은 형질세포증식을 보였다. 악성림프종은 장간막 림프절에서 발생되고 미만성 대세포형(diffuse large cell)이며 결장의 점막하층까지 침윤이 있었다. 선암은 폴립모양의 고분화의 선암으로서 직경이 0.8 cm이었다. 선암주위의 점막은 이형성을 보였다. 8예(6%)에서 폐, 신, 림프절에 큰 농양이 발견되었다. 간의 소견은 1예에서 기생충, 2예에서 농양을 형성하였다. 각군에서 발생한 병변의 빈도의 차이는 통계적으로 유의성이 없었다. 암의 발생만을 고려하면 MNNG만을 투여한 군이나 MNNG와 metronidazole을 투여한 군에서 암의 발생이 있었으나 MNNG와 indomethacin을 투여한 군에서 발생이 없었다. 그러나 MNNG와 indomethacin, metronidazole을 동시에 투여한 군에서도 암이 발생되었다.

이상의 결과로 보아 MNNG의 직장주입에 의한 대장암 발암실험은 향후 MNNG의 농도를 높이거나 용량을 증가시키는 등의 실험방법을 검토해 볼 필요가 있다고 사료된다.

REFERENCES

- 1) A-Kareem, Fleischer D, Richards G, et al: *Effects of long-term metronidazole therapy on experimental colon cancer in rats. J Surg Res* 36: 547, 1984
- 2) Cleveland JC, Litvak SF, Cole JW: *Identification of the route of action of carcinogen 3: 2-dimethyl-4aminobiphenyl in the induction of intestinal neoplasia. Cancer Res* 27: 708, 1967
- 3) Filia ES, Bobotas G, Kalakis C, et al: *Effect of disulfiram and related compounds on the metabolism in vivo of the colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine. Biochem Pharmacol* 26: 1763, 1977
- 4) Greene FG, Lamb LS, Barwick BS: *Colorectal Cancer in animals-a review. J Surg Res* 43: 476, 1987
- 5) Homberger F, Hsuek SS, Kerr CS, et al: *Inherited susceptibility of indirect strains of syrian hamsters to induction of subcutaneous sarcomas and mammary and gastrointestinal carcinomas of polynuclear hydrocarbons. Cancer Res* 32: 360, 1972
- 6) Laquer GL, Mickelson O, Whithing MG, et al: *Carcinogenic properties of nuts from Cycas circinalis indigenous to Guam, J Natl Cancer Inst* 31: 919, 1963
- 7) Lee BH, Kim JP, Kim YI: *The effect of high NaCl diet on gastroduodenal carcinogenesis in Sprague-Dawley rats induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. Seoul J Medicine* 26: 229, 1985
- 8) Lorenz E, Stewart HL: *Intestinal carcinoma and other lesions in mice following oral administration of 1, 2, 5, 6-dibenzanthracene and 20-methyl-cholanthrene. J Natl Cancer Inst* 1: 17, 1941
- 9) Martin MS, Martin F, Justrabo E, et al: *Induction de Cancers Coliques Chez le rat Par Injection Unique de 1,2-dimethylhydrazine. Biol Gastroenterol* 7: 37, 1974
- 10) Maskens A, Dujardin-Loits R-M: *Experimental adenomas and carcinomas of the large intestine behave as distinct entities. Cancer* 47: 82, 1981
- 11) Morgenstern, L, Amedeo P, Vimadal S: *Effects of cholecholejejunostomy and roux-en-Y exclusion dimethylhydrazine-induced neoplasms in rats. J Surg Res* 36: 55, 1984
- 12) Narisawa T, Sato M, Tani M, et al: *Inhibition of development of methylnitroso-urea induced rat colon tumors by indomethacin treatment. Cancer Res* 41: 1954, 1981
- 13) Peto R, Gray R, Brantom P, Grasso P: *Effect on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-Nitrosodimethylamine: A detailed dose-response study. Cancer Res* 51: 6415-6451
- 14) Reddy B, Watanabe K, Weisburger J: *Effect of high-fat diet on colon carcinogenesis in F344 rats with 1,2-dimethylhydrazine, methylazoxymethanol acetate, or methylnitrosourea. Cancer Res* 37: 4156, 1974
- 15) Walpole A, Williams M, Roberts DC: *The carcinogenicity of 1,2-dimethylhydrazine in rats. J Natl Cancer Inst* 31: 1019, 1963

- genic action of 4-aminodiphenyl and 3:2-dimethyl-4aminodiphenyl. Brit J Int Med 9: 255, 1952*
- 16) Yamaguchi A, Tetsuya Ishida, Nishimura G, et al: *Investigation of colonic prostaglandins in carcinogenesis in rat colon. Dis Colon Rectum 34: 572, 1991*
-