

흰쥐 대장루가 1,2-Dimethylhydrazine에 의한 대장암발생과 조직화학적 변화에 미치는 영향

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, 대림성모병원 외과*

유승진 · 최동환* · 김남일 · 김재성

= Abstract =

The Effect of Colostomy on Colonic Carcinogenesis and Histochemical Changes by 1,2-Dimethylhydrazine in Rats

Seung Jin Yoo, M.D., Dong Hwan Choi, M.D.*, Nam Il Kim, M.D.
and Jae Seong Kim, M.D.

*Department of Surgery, Catholic University Medical College,
Department of Surgery, Dailim St. Mary Hospital*, Seoul, Korea*

Chronic inflammation in human tissue is associated with malignant change in several organs, such as the skin, urinary bladder and the colon. 1,2-Dimethylhydrazine(DMH) is a powerful carcinogen in rat and is useful for the study of mechanism of colon carcinogenesis.

The purpose of this experiment is to evaluate the effect of colostomy in DMH-treated rats, the route of carcinogen to the target organ, and the histochemical change of mucosa by DMH insults. Sixty Sprague-Dawley rats, weighing 200~250 g, were divided into three groups, each consisting of 20 rats. Rats in group 1 were given saline solution and served as a control, and those in group 2 were given DMH alone after sham operation. Rats in Group 3 were subjected to single-barreled colostomy on mid-portion of the colon and were given consecutive subcutaneous injections of DMH 20 mg/kg once a week for five weeks. DMH injection was begun in a week after the operation. The experiment was terminated at 35th weeks after the last injection of DMH. All animals were sacrificed, and colons were fixed in 10% neutral formalin, stained with hematoxylin-eosin stain, periodic acid-Schiff, alcian blue pH2.5, alcian blue pH2.5-periodic acid-Schiff, aldehyde fuchsin pH1.7-alcian blue pH2.5.

The results were as follows:

1) The body weight of each group at 35th week after DMH injection was; group 1; 300.3 ± 25.2 gm, group 2; 259.7 ± 37.2 gm and group 3; 258.8 ± 38.1 gm respectively. The differences of weight between group 1 and group 2, and group 1 and group 3 were statistically significant($P < 0.05$).

2) Tumors developed at the colostomy site in 15 out of the 17 survived rats in group 3 (88.2%), and in 7 out of the 15 survived rats in group 2(46.6%). The difference of tumor incidence between group 2 and group 3 was significant($P < 0.05$). Five tumors occurred in the defunctionalized colon(descending colon) in colostomy group(group 3) and 3 tumors in the

same area of the colon in group 2, but the difference was not significant($P > 0.05$).

3) Thirty three DMH-induced colonic tumors were observed. The most frequent form of experimental tumor was ulcero-fungating tumor(14 cases; 42.4%), followed by fungating tumor(7 cases; 21.2%), polypoid tumor(6 cases; 18.2%), mucosal nodule(3 cases; 9.1%) and plaque(3 cases; 9.1%). Adenocarcinoma(27 cases; 81.8%) developed more frequently than adenoma(6 cases; 18.2%), and the majority of adenocarcinomas were well/moderately differentiated tumor(22 cases; 66.7%).

4) Changes in the type of mucous secretion with predominance of sialomucin and depletion of mucus were observed in the DMH-induced colon cancer. Similar findings were noted in colonic mucosa by DMH insults.

Above results suggest that most of the tumors appear at the colostomy site, where the mucosal cell proliferation is increased by chronic non-specific injury, carcinogen can reach the intestinal mucosa by vascular system as well as by gastrointestinal tract, and increased sialomucin in colonic mucosa reflects early malignant transformation.

Key Words: Colostomy, DMH, Colonic carcinogenesis, Sialomucin, Sulfomucin

서 론

최근 대장 발암제가 다수 발견된 이후¹⁴⁾ 인체 대장암 연구에 적합한 실험동물의 모형이 개발되어 이 분야에 많은 정보를 주고 있으며^{1,22)} 그 대표적인 대장 발암제인 1,2-dimethylhydrazine(이하 DMH라함)을 설치류에 투여하는 경우, 인체에서 발생하는 종양과 매우 유사한 양성 및 악성종양이 발생한다. 실험동물에서 DMH투여시 대장암 발생과 관련되는 식이 조건의 변화, 장내 세균의 다양화, 소장 및 대장의 치환등 여러 조건을 인위적으로 조작하여 암발생 원인을 추정할 수 있게 되었다. 임상적으로 인체에서는 대장암이 봉합부위나 요관대장문합부, 크론씨병 및 만성 궤양성 대장염에서 발생한다는 임상예가 보고되어 만성적인 손상이 대장 점막세포 증식의 원인이 된다는 가설도 제시되고 있다²⁷⁾.

실험동물에서도 비특이성 손상후 발암제 투여시 암 유발 빈도가 높아지며 이러한 효과는 손상 부위의 치유기간중 세포증식이 저명하여지기 때문이다²¹⁾. 일반적으로 실험적 발암제는 화학적 구조나 그 효과가 상이하더라도 조직학적으로는 세포증식을 일으키며 만성 손상과 유사한 소견을 보이고 있으므로 어떠한 기전이던 세포 증식의 현상은 대장이나 그외 조직의 종양발생과 관계가 있다고 추론할 수 있다.

또한 발암제 투여후 종양이 발생하기까지의 잠복기

간 동안 관찰되는 악성전구상태와 관련된 여러가지 생화학적 변화가 있는데 실험적대장암 유발과정중 대장점막세포의 점액 성분 변화는 그중 하나이다¹⁶⁾.

흰쥐를 이용한 실험동물에서 대장에 대장루를 만들거나 대장염등 인위적인 손상을 준후 DMH 및 그와 관련된 발암제 투여에 의한 대장의 종양 발생빈도와 발암경로에 대하여 여러 보고가 있으나 대장루의 종양 발생에 대하여는 보고자 마다 큰 차이가 있으며^{5,25,28)} 대장암 및 발암제의 영향을 받은 정상 대장점막 부위에 2가지 이상의 혼합염색을 이용한 점액 변화의 관찰은 드물다¹⁷⁾.

저자들은 흰쥐에 대장루를 만들어 발암제를 투여하였을 때 인위적인 만성 자극에 의한 종양 발생빈도와 표적기관에 도달하는 발암제의 경로를 구명하고 대장점막의 점액 변화를 혼합 염색법을 사용하여 관찰함으로써 임상적으로 대장암의 조기진단에 이용가능한지 알아보려고 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

1) 재 료

실험동물은 체중 200~250 gm의 Sprague-Dawley계의 흰쥐를 일정한 사료로 사육하였으며 건강한 암컷 60마리를 사용하였다.

2) 방법

(1) 실험 동물의 분류

제 1 군(수술대조군 n=20): 개복후 식염수 투여군

제 2 군(DMH-수술대조군 n=20): 개복후 DMH 투여군

제 3 군(DMH-대장루군 n=20): 횡행대장루 조성후 DMH 투여군

(2) 대장루 조성방법: 흰쥐를 에테르 전신마취하에 복부를 삭모, 소독후 정중선 절개로 개복하여 횡행대장 부위를 노출시켰다. 대장 장간막을 결찰 분리한 후 횡행대장의 중간부를 절제한 다음 원위부 대장을 5-0 prolene 봉합사로 봉합하여 복강내에 매몰시켰다. 근위부 대장은 위상복부에 별개의 수술창을 만들어 5-0 prolene 봉합사로 복벽에 봉합하여 개구시켜 대장루를 조성하여 발암제 투여의 영향을 관찰하고자 하였으며 발암제 DMH-수술대조군 및 수술대조군은 동일한 수술 조건을 위해 정중 개복후 봉합하였다.

(3) 발암제 및 투여방법: 발암제로는 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride(Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo., U.S.A.)를 사용하였다. DMH를 1.5% EDTA(ethylenediamine tetraacetic acid)가 포함된 0.9% 생리적 식염수 용액에 ml당 15 mg 씩 용해시킨후 2M NaOH를 사용하여 pH 6.5가 되도록 하였다.

대장루 조성 1주 후 실험동물의 체중을 측정하고 DMH를 주당 1회 20 mg/kg씩 5주간 외측 대퇴부에 좌우 교대로 피하 주사하였다. 수술대조군에는 상기 용액중 DMH를 제외한 혼합 용액 동량을 같은 방법으로 주사하였다.

(4) 실험동물 및 대장의 육안적 관찰: 발암제 투여 전 및 발암제 투여가 끝난후 매 8주마다 체중을 측정하였으며 실험동물의 외양 변화 및 사망률을 관찰하였다. 5주간의 발암제 투여후 35주 경과시 DMH 대장루군의 대장루 생검에서 악성종양 발생을 조직학적으로 확인하거나 DMH-수술대조군에서 혈변출혈을 관찰하거나, 복부종양을 촉진하였으며, 모든 실험동물을 경추 분리로 희생시켜 정중 개복하고 전대장을 적출후 생리식염수로 세척하여 점막면을 노출하였다.

육안적인 조직 형태를 관찰하기 위하여 코르크판에 부착하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정된뒤 24시

간 경과후 병변 부위를 확인하였으며, 육안적으로 의심스러운 부위는 파라핀 포매후 6 μ m 두께의 절편을 HE 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(5) 대장 점막세포의 조직화학적 관찰: 점막세포의 조직화학적 성분 변화를 관찰하기 위한 조직절편의 채취는 수술 대조군에서는 횡행대장부위에서, DMH-대장루군과 DMH-수술대조군에서는 악성 종양 발생부위 및 대장루와 동일 위치로 추정되는 횡행 대장에서 하였다.

점막세포의 점액질 성분을 감별하기 위하여 periodic acid-Schiff 반응(PAS), alcian blue pH 2.5 염색(AB 2.5), alcian blue pH 2.5-PAS 혼합염색(AB 2.5-PAS) 및 aldehyde fuchsin pH 1.7-alcian blue pH 2.5 혼합염색(AF 1.7-AB 2.5)을 시행하였다. Neutral mucin, sulfomucin 및 sialomucin의 화학적 성분 판독은 Spicer와 Sun³²⁾, 임과 권²⁴⁾이 사용한 방법에 따라 적색(R), 적자색(RP), 자주색(P), 청자색(BP) 및 청색(B)으로 나누어 색조의 농도에 따라 3등분하여 강한 것(+++), 중등도(++) 및 약한 것(+)으로 표시하였다.

(6) 통계: 모든 측정치는 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 표시하고 각군 사이의 차이에 따른 유의성은 Student's t-test 로 검정하였다.

성 적

1) 육안변화

DMH 투여후 35주간의 실험 종료시까지 DMH-대장루군 및 DMH-수술대조군에서 각각 3마리와 5마리가 발암제 투여후 1개월내 사망하였고 수술대조군에서는 2마리가 실험 종료전 사망하여 사망률은 각각 15%, 25% 및 10%이었다. DMH-대장루군 사망예중 1마리는 대장루 조성후 변이 건조하여 장폐색으로 사망하였으나 나머지는 사망원인을 알 수 없었으며 사망 예들은 성적에서 제외하였다. 발암제 투여군들은 모두 발암제의 급만성 독성으로 인하여 털이 불결하고 식욕부진, 운동부진 등 수술대조군에 비해 외형이 쉽게 식별되었다. 대장루로 인하여 설사를 계속한 DMH-대장루군의 체중은 258.8 \pm 38.1 gm, DMH-수술대조군은 259.7 \pm 37.2 gm으로 수술대조군의 300.3 \pm 25.2 gm에 비교하여는 유의한 차이가 있었다(P<

Table 1. Changes of body weight in DMH-treated rats(gm)

Groups/Weeks	0	8	16	24	32	40
Group 1	219.3±66.6*	219.8±20.0	265.6±18.7	276.1±18.9	286.3±21.7	300.3±25.2
Group 2	201.0±28.6	205.3±25.4	233.4±26.6	247.4±29.2	249.1±35.2	259.7±37.2**
Group 3	213.7±25.8	206.0±23.0	240.0±24.4	250.6±24.5	253.6±27.0	258.8±38.1**

*mean±SD

**P<0.05, vs Group 1

Table 2. Incidence of colon tumor in DMH-treated rats

Groups	Rats with tumor/ Survival No. of rats	Total No. of tumors	Incidence of tumors						
			R. col	T. col	L. col	Rec	Duo	Liv	
Group 1	0/18								
Group 2	27/15	13	6	0	3	1	1	1	2
Group 3	15/17	26*	3	15	5	0	1	1	2

R. col: right colon, T. col: transverse colon(colostomy site)

L. col: left colon, Rec: rectum, Duo: duodenum, Liv: liver

*P<0.05, vs Group 2

Table 3. Macroscopic type of colon tumor in DMH-treated rats

Group	MN	PQ	PP	FT	UF	Total
Group 2	1	2	3	3	1	10
Group 3	2	1	3	4	13	23*
Total	3	3	6	7	14	33

MN: mucosal nodule, PQ: plaque, PP: polypoid

FT: fungating, UF: ulcero-fungating

*P<0.05 vs Group 2

0.05, Table 1).

2) 대장루군의 발암빈도

발암제 투여군 모두에게 발암제 투여 부위인 대퇴부에는 종양발생이 없었으며 발암제를 5주간 투여한 후 30주째부터 DMH-대장루군의 대장루부위에 케양을 동반한 불규칙한 표면의 육아성 조직이 자라거나, DMH-수술 대조군의 경우, 혈변이 보이거나 복부 종양 촉진, 팽만 등의 소견을 볼 수 있었다. DMH-대장루군의 대장루 발암은 17마리중 15마리(88.2%)에서 발생하였고 15마리 모두 대장루에서 종양 발생되었으

나 DMH-수술대조군에서는 15마리 중 7마리(46.6%)에서 횡행대장을 제외한 좌우측 대장에서 종양이 발생하였으며 두군사이의 종양 발생 빈도 차이는 통계학적으로 유의하였다(P<0.05, Table 2).

3) 대장부위에 따른 발암빈도

식염수를 투여한 수술대조군에서는 종양이 발생되지 않았으며 DMH-대장루군과 DMH-수술대조군의 대장에 발생한 종양의 총수는 각각 23 및 10개로 그 차이는 통계적으로 유의하였으나(P<0.05, Table 3), 좌측대장에 발생한 발암 빈도수는 각각 5 및 3개로

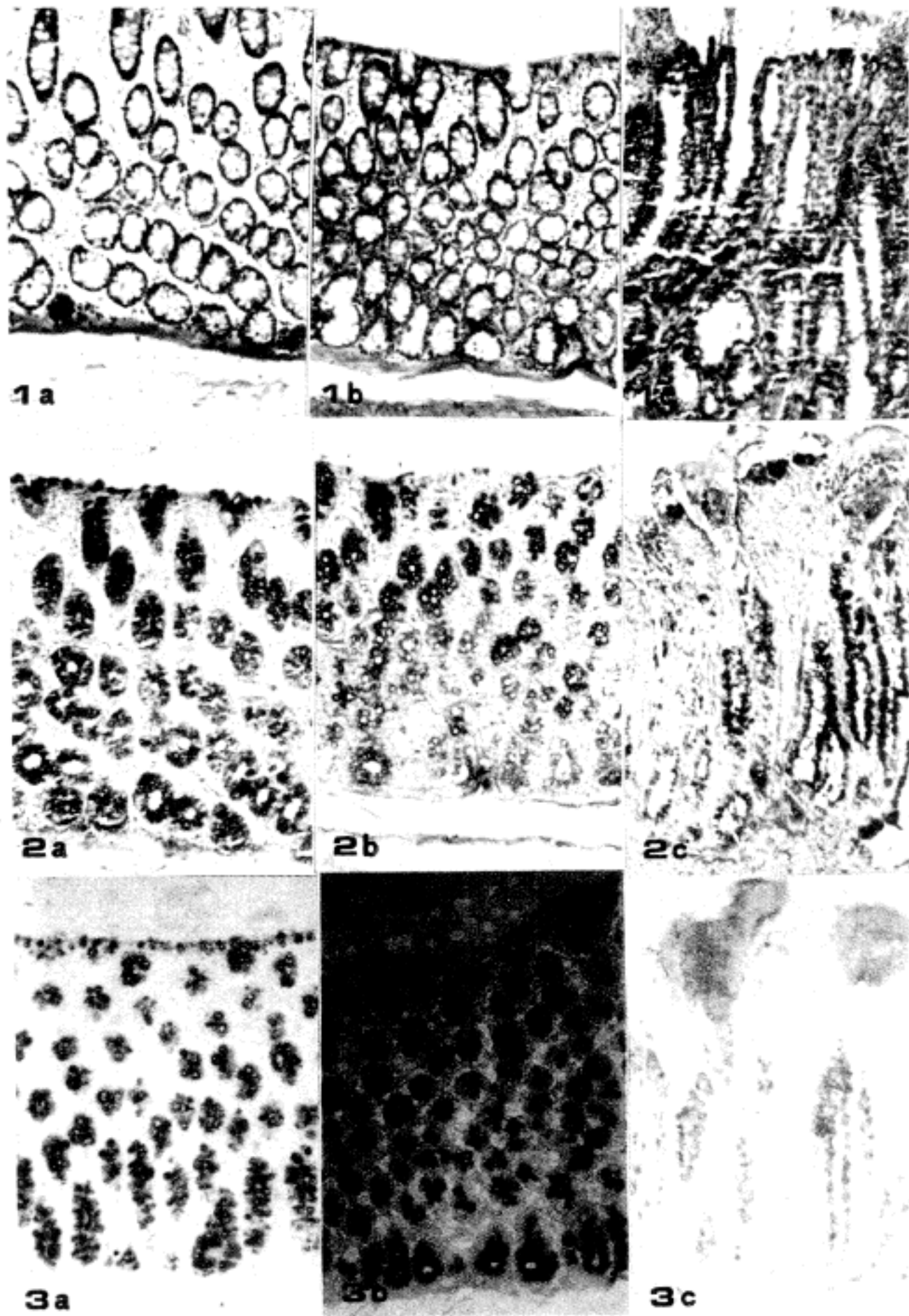


Fig. 1. H & E stain ($\times 100$): Glands show regular pattern and no evidence of neoplastic changes is seen in control group(1a). Infiltrative neoplastic cells are absent in normal mucosa with DMH insults (1b). An atypical proliferation of gland is seen in DMH-induced colon cancer(1c).
 Fig. 2. PAS stain ($\times 100$): Strong PAS positivity(2a) shows abundant neutral mucin in glandular epithelium. Moderate PAS positivity(2b & 2c) suggested moderate amount of neutral mucin.
 Fig. 3. AB 2.5 stain ($\times 100$): The surface epithelium shows very strong alcianophilicity (3a) suggesting rich amount of sulfomucin, but moderate and weak alcianophilicity (3b & 3c) suggesting moderate and minimal amount of sulfomucin.

그 차이는 유의하지 않은 것 같았다. 대장의 종양 발생은 DMH-대장루군과 DMH-수술대조군에서 십이지장 종양이 각각 1예씩, 그리고 간 종양이 각각 2예씩 있었다(Table 2).

4) 대장점막세포의 조직화학적 변화

HE 염색시 DMH-대장루군의 악성화 소견외에 조직화학적 변화는 판별할 수가 없었다(Fig. 1). 수술대조군의 점막세포는 PAS 염색에 강한 적색으로 나타나(R+++) 풍부한 중성 점액질을 함유하고 있었으며, AB2.5 염색에서는 청색을 주로 나타내어(B+++) 산성 점액질도 다량 존재하였고 AB2.5-PAS

혼합염색에서는 청자색을 나타내어(BP++) 중등도의 중성 및 산성 점액질의 혼합을 볼 수 있었다. 또한 AF1.7-AB2.5 혼합염색에서는 강한 자색을 나타내어(P+++) 산성 점액질 중 sialomucin보다 sulfomucin이 현저하였다(Table 4, Fig. 2a~5a).

그러나 DMH를 투여한 수술대조군의 대장 점막세포는 PAS 반응에 중등도의 적색을 나타냈고(R++), AB 2.5염색에서 중등도의 청색(B++), AB2.5-PAS와 AF1.7-AB2.5 혼합염색에서는 각각 중등도의 청자색과 약한 적색(BP+ ~ R+) 및 약한 청색과 중등도의 자색을 나타내어(B+ ~ P++) 소량의 sialomucin이 존재하였다(Table 4, Fig. 2b~5b).

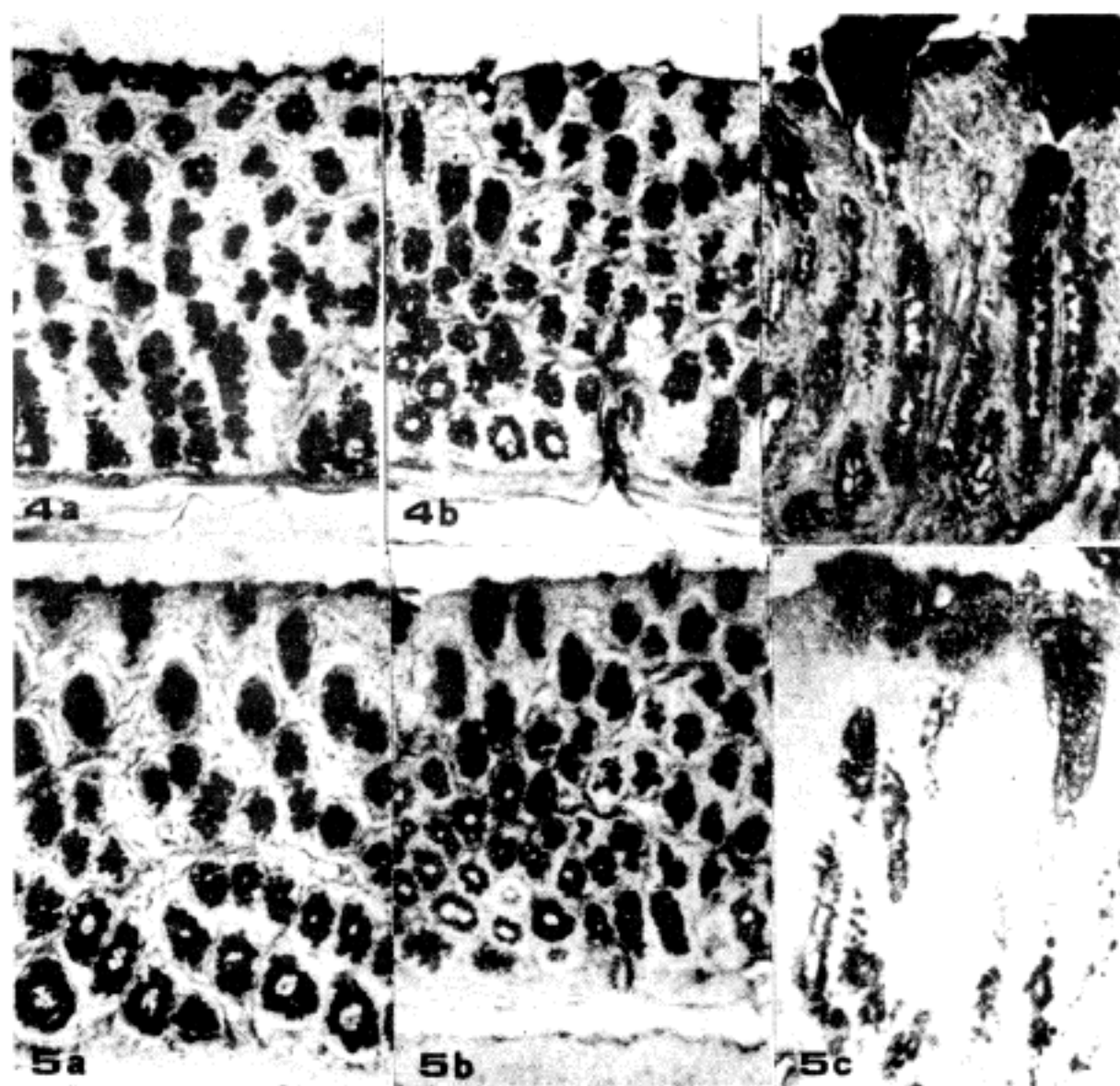


Fig. 4. AB 2.5-PAS stain ($\times 100$): The glandular epithelium shows moderate blue purple (4a & 4b) and red purple tint(4c), suggesting the presence of neutral and acid mucin.

Fig. 5. AF 1.7-AB 2.5 stain ($\times 100$): The mucosa cells in surface epithelium show strong fuchsinophilia, suggesting predominance of sulfomucin(5a). The glandular epithelium shows moderate fuchsinophilia and weak alcianophilia, suggesting minimal production of sialomucin(5b). The cells in glandular epithelium show mainly alcianophilia, suggesting the predominance of sialomucin(5c).

DMH-대장루군의 악성 종양 부분은 PAS 반응에 약한 적색으로(R+) 중성 점액질의 감소가 보였고 AB 2.5 염색에서는 약한 청색으로(B+) DMH-수술대조군보다 산성점액질의 현저한 감소를 나타냈다(Table 4, Fig. 2c & 3c). AB2.5-PAS 및 AF1.7-AB2.5 혼합염색에서는 각각 중등도의 적자색(RP++)과 강한 청색(B+++)을 보여 sulfomucin 보다 sialomucin이 현저하게 증가함을 관찰하였다(Table 4, Fig. 4c & 5c).

5) 종양의 조직조건

발암제를 5주간 투여후 30주째부터 육안적으로 식별할 수 있는 직경 1 mm 이상의 종양이 대장루부위

에서 발생하기 시작하였으며 35주 경과시 회생시킨 실험동물의 대장 종양은 형태가 육안적으로 분류가 가능하여 결절형이 3예, 용기형이 3예, 용종형이 6예, 돌출형이 7예 및 케양 돌출형이 14예가 발생하였으며 이중 케양 돌출형이 가장 많았다(Table 3). 다발성 대장 종양은 DMH-대장루군에서 6예, DMH-수술대조군에서 4예가 있었다. 대장내 발생한 총 종양 33예 중 양성선종은 6예였으며 선암종 27예중 분화도가 좋은 형(well/moderately differentiated)이 가장 많았다(Table 5).

고 안

Virchow가 "자극유발에 의한 발암설"을 제창한 이래 실험적 발암과정에 있어서 조직과 기관의 만성적 손상이 발암의 원인이 될 수 있다는 이론이 병리학적으로 알려져 조직의 비특이적 손상 및 동반된 염증은 종양축진의 원인이 될 수 있다고 하나 이러한 연구는 주로 피부 발암에 국한되어 있었고 내장기관에는 드물었다^{15, 28, 30}.

Pozharisski¹⁵⁾는 실험적 대장암발생은 대장융합부위에 처음 나타나며 다른 대장부위에 비하여 발생빈도가 높은 것을 관찰하고 만성적인 손상이 실험적 대장 발암이 원인의 한 가지 원인이 된다고 보고 하였다. 또 다른 실험에서 실험동물의 맹장을 합성 봉합사로 purse-string 한 후 계실을 만들어 인위적으로 광범위한 괴사조직 및 육아조직을 형성하고 봉합사를 이물질로 사용하여 점막에 대하여 지속적인 손상의 원인이 되게 한 다음 발암제 DMH를 투여하면 맹장부위의 발암빈도가 대조군에 비하여 유의하게 증

Table 4. Histochemical change of colonic mucosa in each groups

	Group 1	Group 2	Group 3
HE	-	-	-
PAS	R+++	R++	R+
AB 2.5	B+++	B++	B+
AB 2.5-PAS	BP++	BP+~R+	RP++
AF 1.7-AB 2.5	P+++	B+~P++	B+++

HE: hematoxylin eosin, PAS: periodic acid-Schiff

AB 2.5: alcian blue pH 2.5

AB 2.5-PAS: alcian blue pH 2.5-periodic acid-Schiff

AF 1.7-AB 2.5: aldehyde fuchsin pH 1.7-alcian blue pH 2.5

Degree of staining: +++; intense, ++; moderate, +; weak

Color: R: red, B: blue, P: purple, BP: blue-purple, RP: red-purple

Table 5. Microscopic type of colon tumor in DMH-treated rats

Group	Adenoma	Adenocarcinoma					Total
		W/D	M/D	P/D	SR	MU	
Group 2	2	4	1	0	1	2	10
Group 3	4	9	8	0	1	1	23
Total	6	13	9	0	2	3	33

W/D: well differentiated, M/D: moderately differentiated

P/D: poorly differentiated, SR: signet ring cell carcinoma

M/U: mucinous adenocarcinoma

가하였다는 사실을 관찰하였는데 만성 손상후 발생하는 이러한 발암빈도의 증가는 분열기에 들어가는 간세포(stem cell)수가 증가하기 때문이며 이러한 간세포들은 발암제의 영향에 극히 예민하다고 하였다. 또 소화관 여러부분의 종양 발생율은 그곳의 장점막세포의 역동학적 특성과 관계가 깊다는 사실을 주장하였는데 하행결장과 같이 종양발생이 많은 곳은 소장 에 비하여 장점막내의 간세포(stem cell)수가 많고 증식부분이 넓으며 점막세포들의 수명이 단축되어 있기 때문이라고 하였다.

발암과정은 다단계 과정(multiple staging)을 거치며 Berenble⁸⁾에 의해 알려진 2단계 과정 즉 개시(initiation)와 촉진(promotion)은 피부발암과정 뿐 아니라 폐, 방광, 간 및 위장관의 발암과정에서도 동일하다고 알려져 있다. 즉 효과적인 양의 발암제 투여시 대장점막은 독성손상을 받게되고 발암개시 초기 작용을 나타내게 된다. 계속하여 방사선조사, 약물독성, 췌양, 바이러스, 세균 및 기생충성 감염, 이 물질에 의한 계속적인 자극, 장의 절제 및 봉합, 대장루 조성시는 비특이성 내지는 만성적자극에 의한 점막증식을 초래하게 되며 종양 발생의 촉진과정이 된다¹⁵⁾.

실험적 위장관종양은 전구적인 형태변화 없이 발생한다고 알려져 있으나(de novo) 대장의 암전구상태를 연구하기 위하여는 종양의 발생시기를 구명하고 만성적인 비특이성 병소가 발암의 원인이 되는 기전도 중점적으로 연구되어야 한다. 예를들어 만성 췌양성 대장염³⁾과 크론씨병 환자¹⁶⁾에서 대장암의 빈도가 높다는 사실은 이를 뒷받침 하고 있고 그외 위장관에 장기 간 존재하는 비흡수성 봉합사를 사용한 봉합부위나, 누공부위¹⁷⁾, 계실증⁴⁾, 결핵⁵⁾, 아메바성 장질환⁹⁾, 요로 대장문합부¹⁸⁾의 점막에 대장암이 발생한다는 보고가 있다. 또 실험적으로는 직장점막에 만성손상이 지속되는 직장탈출(rectalprolapse)을 보이는 실험군에 DMH 투여시 대조군에 비하여 종양발생율이 높았으며 발암제 1회 투여시도 직장탈출이 있는 실험군에서는 종양이 발생하였다²⁾. 이러한 사실은 양성 위질환 수술후 암이 발생한다는 임상적인 증례를 설명할 수 있으며, 예방의학적 측면에서 위장관의 만성질환을 일차적으로 치료함으로써 이 부위의 암발생 방지도 가능케 할 수 있다고 본다.

Druckrey¹⁴⁾에 의하여 발견된 DMH는 실험동물에

서 선택적으로 소화관 종양을 다수 유발시키며 연관 화합물인 AOM(Azoxymethane)과 함께 실험적 발암제로 널리 사용되고 있다.

설치류는 대장암이 거의 발생하지 않기 때문에 대장암 연구에 우수한 실험동물로 채택되고 있으며 DMH를 10~20 mg/kg/wk를 피하 투여하면 거의 전 실험동물에서 대장암이 유발되며 급성독성은 적기 때문에 이로 인한 실험동물의 손실을 막을 수 있는 잇점이 있다¹⁷⁾. 상기의 용량을 투여한후 약 6개월 경과시 종양발생을 관찰할 수 있었으며 7 mg/kg로 감량하여 투여시는 약 1년 정도로 잠복기가 길어질뿐 아니라 암의 발생빈도도 감소한다고 하며 발암력이 강력하여 단 1회 투여시도 약 15개월 경과시 대장암이 유발된다고 한다.

DMH 유발 대장종양의 임상 및 병리조직 소견을 인체의 대장종양 소견과 매우 흡사하다. 즉 발암제 투여후 3내지 4개월 경과시 식욕부진, 체중감소 및 혈변이 나타나며 종양이 커짐에 따라 항문탈수, 장색 및 장중첩증의 증세를 보이기도 한다. 단 20~40%의 실험동물에서 대장암 입과절 및 폐에 전이를 일으키나 간전이 는 드물어 간전이가 동반되는 인체 대장암의 연구에는 다소 미흡한점이 있다고 보겠다.

쥐에서 DMH 유발 대장암은 하행결장에 주로 발생하는 인체 대장암과 해부학적으로 유사하게 보이며 DMH 연관 물질인 AOM의 경우 고용량 사용시(15 mg/kg/wk) 좌측 대장에 종양이 주로 발생하나 저용량 사용시는 우측 대장에 많이 발생하여 발암부위가 발암제의 용량에 따라 달라진다고 알려져 있으며 이는 대장암의 고빈도 지역에서는 우측 대장에, 저빈도 지역에서는 좌측 대장에 많이 발생한다는 역학조사와 유사하여 인체 대장암의 발생 연구에 적당하다고 사료된다^{13,19)}.

저자들은 DMH를 20 mg/kg씩 5주 투여하여 누적량이 25 mg이었으며 다른 실험에 비하여 비교적 소량이었고 투여기간도 짧았기 때문에 총누적량을 532 mg을 투여한 타실험^{11,20)}에 비하여 35주의 충분한 잠복기간이 지난뒤 대장루 부위의 발암빈도를 관찰하여 비특이적 손상이 발암제 투여후 대장암 유발에 미치는 효과를 관찰하였다. 또한 발암제의 고용량 투여시 발생하는 대장외의 전신성 종양을 가능한 억제하기 위하여 소량씩 자주 투여하였다. 대장루 조성군은 수술에서

회복후 발암제 투여시부터 정상 대조군에 비하여 완만한 체중증가를 보여 이는 초기에 발암제의 급성 독성으로부터 회복되었다 하더라도 대장루로 소실되는 체액으로 인한 탈수, 간헐적인 장폐색 등이 원인이 된 것으로 생각된다. 또 발암제를 투여한 DMH-수술 대조군과 비교하여 좌측 및 우측 대장의 종양 발생빈도의 차이는 유의하지 않아 이는 단기간의 소량 투여 및 비교적 짧은 잠복기 때문이라고 사료된다.

DMH는 생체내에서 발암제로 활성화되려면 여러단계의 대사 활성화과정을 거쳐야 하는 전구 발암제(procarcinogen)이다. 즉 투여후 초기에 산화되어 azomethane으로 되는데 이것은 기체로써 쥐의 호기(expired air)내에 존재한다음 다시 산화되어 azoxymethane으로 변화되며 N-hydroxylation 되어 methylazoxymethanol(MAM)로 된다. 이러한 초기 변환과정은 간에서 일어나며 간내 MAM은 혈류를 따라서 표적기관으로 이동한 후 표적기관에서 대사된다. 이 MAM은 체온에서 화학적으로 불안정하여 자연적으로 formaldehyde, 물과 질소로 분해되며 이 분해과정에서 alkylating agent인 methyldiazonium이 형성된후 RNA, DNA 혹은 단백질을 methyl화 하는 carbonium 이온이 발생한다(Matsumoto & Higa, 1966).

DMH의 발암효과는 대장 점막세포의 DNA의 methylation에 있는듯 하다. DMH투여후 수시간내 쥐의 점막세포에서 핵산의 여러 위치에 methyl화 되는 것을 관찰할 수 있다. 즉 guanine의 G-oxygen 위치가 alkylate되어 형성된 o⁶-alkylguanine이 종양발생에 밀접한 연관이 있다고 하며 이러한 구조적 변화로 인하여 guanine은 정상적인 동반자인 cytosine대신 thymidine과 짝을 이루게 되어 결과적으로 복제과정에서 유전적 돌연변이를 일으키게 된다. 실험적으로 쥐에서 DMH 투여후 대장 점막에 o⁶-methylguanine이 상당량 형성되어 있는 것을 증명할 수 있는데 표적기관외 간이나 신장에서도 동일하게 상당량 발견됨으로 DNA의 alkyl화 외에 다른 요소가 대장암 유발에 관련이 있는 것으로 보인다. 즉 대장점막이 다른 기관의 점막보다 세포의 교체(turn over)가 신속하다거나 손상된 대장점막의 복구가 지연 또는 불완전하다는 사실이 대장암 유발기전이 될 수도 있다고 본다²¹⁾.

DMH는 대장 점막세포에 대하여 이상성 효과(biphasic effect)를 나타낸다. 즉 초기에는 수일간 계속되는 급성 DNA 합성저하를 보이나 그후 세포증식으로 인하여 표면점막이 부분적으로 돌출되는데 이러한 현상은 주사 전자현미경으로 관찰할 수 있으며 선와(crypt)의 연장과 현저한 세포증식에 의한 이차적 현상이다^{5,35)}. DMH를 20 mg/kg/wk 투여후 5내지 12주 경과시에는 국소적 이형성(focal atypia)이 나타나며 심한 이형증(atypism)과 잠재암(carcinoma-in-situ)은 14내지 16주 경과시에 나타난다. 현미경적으로 선암종은 12내지 18주에서 관찰할수 있으며 그후 대부분의 실험동물에서 나타나고 동일한 실험동물에서도 여러시기의 양성 및 악성종양이 발생하지만 인체의 대장암발생과는 달리 실험동물에서는 양성 선종이 악성종양으로 이행된다는 사실이 증명되지 않고 있다. 즉 암종은 초기부터 부분적으로 침습하나 선종은 악성의 양성을 보이지 않고 선종으로 크게 성장한다.

저자들의 실험에서도 총 39예의 종양조직전편을 검토한 결과 선종의 악성화(adenoma-cancer sequence)는 관찰할수 없었다. 또한 DMH를 투여한 실험동물에서 비교적 발암빈도가 낮았던 것은 소량의 발암제를 비교적 단기간 투여하였을뿐만 아니라 유발암의 수를 줄여 집계를 동일하게 하기 위하여 발암의 감수성이 덜 예민한 암쥐를 사용하였으며 암촉진인자로 생각되는 대장루의 만성손상이 국소적인 효과만 보였기 때문이라고 생각된다. 발암빈도가 높더라도 종양의 집계 및 경비를 고려하여야 하기 때문에 일차 발암증세 발현시 즉시 희생시켜 발암빈도를 비교하였다.

암유발 실험에서 종양의 집계는 중요하며 저자들은 육안적 집계방법을 사용하였다. 왜냐하면 광학현미경 내지는 전자현미경으로 관찰시 변화부분을 관찰하려면 전대장조직을 모두 절단하여야 집계가 가능하며 이러한 집계방법을 사용시 현미경 시야에서 판단 가능한 개개선와암성변화도 개별적으로 몇개로 집계해야 하는지의 문제로 집계방법에 따라 정확한 발암빈도 집계에는 혼선이 있다.

DMH의 대사과정에서 대부분의 배설경로는 호흡과 뇨이며 투여 전량의 50%가 이 과정을 거친다. 초기의 주대사물은 이산화탄소와 azomethane이며 뇨에는 변화 안된 DMH, azoxymethane과 MAM 등이 배

설된다. 투여된 DMH는 간내에서 methylazoxy-methanol로 전환된후 glucuronic acid와 결합하여 담즙으로 배설되는데 이 glucuronide는 대장내에서 세균-glucuronidase에 의해 가수분해되고 결국 활성화 발암제인 MAM으로 대사되는데 이러한 담도계 대사는 대장암 발생에 필수적인 과정은 아니다. 대장루(diverting colostomy)를 만들어 원위부 대장에 대변의 통과를 봉쇄 하였으나 발암제 투여시 실험군의 대장암 발생은 대조군에 비하여 대장암발생 빈도의 유의한 차는 없이 원위부 대장에서도 암이 발생하여 발암제가 혈관계를 통하여 이동한다고 하며, 담루조성후 발암제를 투여하여 담즙을 우회시킨 실험에서도 십이지장 뿐 아니라 대장에서도 DNA 생성 저하를 관찰할 수 있어 발암제인 DMH가 암을 발생하기 위해서는 담도계를 반드시 경유하지 않고 혈관계를 통하여 대장점막에 이행할 수 있다고 한다. 또 실험동물에서 하행 대장부분과 소장부분을 치환시킨후 발암제를 투여시 소화관의 위치에 무관하게 대장부분에 종양이 발생하여 발암제 형태로 변화되는 최종적인 대사과정은 대장점막에서만 고유하게 일어난다고 하며 DMH 투여 대장에 종양이 다발하는 이러한 기관특이적(organospecific)인 현상은 발암제가 자연적인 분해과정만을 거쳐 일어난다고 설명될 수 없다. DMH에서 대사된 MAM은 aldehyde-dehydrogenase에 의해 중간 생성물인 methylazoxy-formaldehyde를 거쳐 methylecarbonium이 유리되기도 하는데 이 효소는 공장이나 회장의 농도에 비하여 DMH의 표적기관이 되는 간이나 대장의 농도가 높다고 한다³⁵⁾.

저자들의 실험에서도 대변통과가 완전히 차단된 원위부 대장에서도 종양이 발생한 것을 볼 수 있었으며 이러한 사실은 혈관계를 통하여 장점막으로 발암제가 이행 도달한다는 사실을 증명한다. 또 대장종양발생빈도는 대장루 원위부가 대조군보다 낮았는데 담즙을 포함한 대변 통과가 없어 이로 인한 장점막의 위축(disuse atrophy)이 그 원인으로 생각되며 향후 대장루 조성시 원위부 대장의 발암에 대한 실험은 대장내 세균총의 변화와 같은 요소와도 연관시켜 시행해 보아야 하겠다. 그러나 DMH가 혈관계를 통하여 종양 발생을 유발할 수 있다 하더라도 대장루의 원위부대장에서 종양 발생이 대조군의 하행대장 보다 적다는 보고가 많다^{5,25)} 담즙을 포함한 대변 통과가 발암에 주요 인자

로 작용하며 그의 혈관계, 국소적 자극 그리고 대장내 세균총의 변화등 여러가지 복합적으로 작용하는 것으로 추정된다.

발암제 투여후 대장루의 종양발생은 Matsubara 등²⁵⁾이 실험동물의 84.0%에서 저자들은 100%에서 관찰되어 종양발생빈도는 유사하였으나 대장루를 조성하지 않고 발암제만 투여한 대조군의 대장종양발생은 100%로 저자들의 46.6%와 큰 차이를 보였는데 이는 실험동물의 감수성, 발암제의 투여량 및 투여기간 등에 의한다고 볼 수 있겠다. 그러나 Barkla와 Tutton⁵⁾은 대장루 부위에서 종양 발생이 적다고 하여 저자들과 상반된 실험 결과를 나타내 추후 종양 발생빈도의 차이에 대한 분석이 필요할 것으로 생각된다.

저자들의 실험에서 유발된 대장루 및 대장의 악성종양은 모두 선암종으로 다른 보고들과 유사하였으나 편평세포암³⁴⁾이나 외이(外耳)등에 동시에 발생하는 양측성 발암 소견은 볼 수 없었다. 대장루 부위의 점막세포는 심한 염증성 비후를 나타내면서 모두 암성 변화를 초래하였는데, 이는 대장루가 외부자극에 노출되고 짧아진 대장으로 인한 점막세포의 대상성 증식으로 추정되며 이러한 자극이 대장 점막세포에서 발암인자로 작용하여 담도계나 혈관계를 통한 발암제효과에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

인체 대장암과 인접해 있는 점막부위는 육안적으로는 정상으로 보이나 조직화학적 변화와 미세구조의 관찰시 정상과는 다른 변화를 보인다. 즉 H-E 염색으로 선와는 비교적 깊어지며 가지를 치계(branching)되고 배세포들은 점액으로 팽창되어 정상으로 보이나 점액성분은 정상 점막에서는 sulfomucin이 주성분인데 비하여 sialomucin이 증가하며^{16,36)} 인체 배아 장 점막에 존재하는 neuramidase sensitive sialic acid가 동시에 증가된다²³⁾.

동시에 이러한 점액성분의 변화는 악성종양의 인접부위의 정상 점막외에도 종양과는 상당히 떨어진 점막부위에서도 나타난다. 이와같은 점액의 변화는 신생물 성장 자체에 의한 결과이거나 혹은 발암제와 같은 어떠한 자극에 의한 점막세포반응이라고 추측되며 이러한 점액분비의 변화들은 조기 악성변화의 지표가 될 수도 있다¹⁷⁾.

발암제 투여후 쥐의 대장점막의 조기변화는 4주째부터 나타나는데, 부분적인 세포증식이 보이며 sulfo-

mucin이 주성분으로 나타나나 15주째부터는 잠재암 (carcinoma in situ)의 소견을 보이다 19주째부터는 침습성 암의 형태를 나타내며 정도에서 중등도의 이형성(dysplasia)과 함께 선의 점액 성분변화가 나타나고 sialomucin이 그 주성분으로 바뀌면서 sulfated material은 급속하게 감소하다 소실되게 된다²⁴⁾. 실험적으로 방사선 동위원소 ³⁵S를 DMH를 투여한 쥐의 정상 점막 및 인체의 대장암에 인접한 정상 점막에 투여시 방사능 흡수가 감소한다고 한다. 또 다른 점액성분인 glycoprotein의 양적 변화도 인체 대장에서도 비슷하게 나타나는데 인체대장암 조직주위의 정상점막뿐 아니라 암조직과 상당히 떨어진 정상 점막에서도 glycoprotein의 양은 감소한다¹⁶⁾.

인체 대장암주위의 정상대장점막이나 용종 혹은 familial polyposis에서 나타나는 핵산(nucleic acid) 대사 및 세포증식과의 변화를 DMH로 처리한 쥐의 대장점막에서도 관찰할수 있는데, 이러한 변화는 suppressor gene의 소실과 배아 상피세포로의 퇴행을 반영하며 악성종양에서 태아이항원(embryonic specific antigen)이 발현한다는 가설을 강력히 뒷받침하고 있다²⁴⁾.

대장점막의 sialomucin의 증가가 비성숙 세포의 산물인지 glycoprotein합성의 기전에 대한 발암제의 직접적인 결과인지 확실히 알려져 있지 않으나 악성으로 전환된 세포에서 탄수화물 대사가 현저히 변화하여 sialic acid는 중요한 역할을 하는 것으로 추정되는데 세포막의 glycoprotein에 존재하는 sialic acid는 세포막의 세포접착(adhesion), 세포 상호간의 접촉(intercellular contact), antigen making 등의 특성을 줄뿐 아니라 정상세포와 악성세포가 나타내는 성장의 차이에 관련된 어떤 내용물생성의 변화와 관계 있다고 한다. 악성세포에서는 sialic acid의 증가와 함께 sialyl-transferase가 증가하는 현상은 악성세포에서 관찰되는 세포접착과 세포성장 및 분화를 조절하는 기전이 된다고 알려져 있다. Neuramidase sensitive sialic acid로 회복된 종양세포는 숙주로부터 그 항원을 숨길뿐 아니라 면역세포로부터 그 자신을 보호한다고 알려져 있는데 이것은 종양성장 조절에 있어 종양 특이항원에 대한 면역반응에 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다. 실제로 인체에 있어서 종양 인접부위 점막에 다량의 neuramidase sensitive

sialic acid를 발견할수 있고 침습성이 강한 종양에서는 더 많이 관찰된다고 한다. DMH를 투여한 쥐에서는 상피이행이 있는 국소부위의 sialomucin의 양이 실험이 진행됨에 따라 변하는데 이는 숙주의 면역상태를 반영하고 종양 성장능력에 영향을 준다고 본다^{7,10)}.

따라서 DMH를 투여한 쥐의 대장 배세포가 분비한 glycoprotein변화 관찰시 악성종양 환자의 조직표본에서 육안적으로 정상인 부분에 sialomucin의 증가할 경우 악성화의 초기형태로 간주할 수 있고, 현재 대장 악성종양을 조기 진단하고 고위험군 환자의 선별절차 및 수술후 경과추적에 적절하고 정확한 방법이 없으므로 향후 glycoprotein에 대한 좀더 자세한 연구는 이러한 방법을 보완 개선하는데 일고의 가치가 있다^{12,29)}.

저자들은 대장점막점액의 조직화학적 변화를 관찰하기 위하여 DMH를 투여하였으나 육안적으로 정상인 대장점막 및 DMH 유발 대장암을 PAS와 AB 2.5 염색, 그리고 AB 2.5-PAS 및 AF 1.7-AB 2.5 혼합 염색을 한 결과, 정상 대장점막은 PAS와 AB 2.5 염색시 중성 및 산성 점액질이 다량 존재하였고 AF 1.7-AB 2.5 혼합염색시 강한 자색을 나타내어 sulfomucin이 우세하였다. 그러나 DMH의 영향을 받은 AF 1.7-AB 2.5 혼합염색시 sulfomucin의 sialomucin이 점차 나타나기 시작하여 악성화로의 변이를 추정케 하였으며 악성 종양 부분은 PAS와 AB 2.5 염색시 중성 및 산성 점액질의 감소를 보였고 AF 1.7-AB 2.5 혼합염색시 현저한 sialomucin 증가를 관찰할 수 있었다.

결론적으로 실험동물에서 발암제인 DMH투여시 대장루는 지속적이고 비특이적인 자극이 촉진인자가 되어 대장암 발생이 증가하며, 정상 대장점막에서 sialomucin의 증가시 악성화의 초기 형태로 간주하거나 대장암절제후 재발로 진단할 수 있으며 발암제에 의한 대장점막에서 점액성분 변화와 임상적 연관성에 대하여 연구가 더 필요한 것으로 사료된다.

결 론

실험적으로 대장루를 조성한 흰쥐에 5주간 발암제 DMH투여후 암 유발에 충분한 35주의 실험 기간이 지난뒤 비특이성 손상이 발암제 투여후 대장암 유발에

미치는 효과와 대장점막의 조직화학적 변화를 대조군과 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) DMH-대장루군의 체중은 258.8 ± 38.1 gm, DMH-수술대조군이 259.7 ± 37.2 gm으로 수술 대조군의 300.3 ± 25.2 gm과 비교하여 유의한 차이를 보였다($P < 0.05$).

2) DMH-대장루군의 발암율은 생존한 17예중 15예(88.2%)에서 발생하여 DMH-수술대조군 15예중 7예(46.6%)보다 유의한 차이가 있었다($P < 0.05$). 좌측 대장에 발생한 종양 빈도수는 DMH-대장루군과 DMH-수술대조군에서 각각 5예 및 3예로 유의한 차이는 없었다($P > 0.05$).

3) 대장에 유발된 총종양 33예중 육안적으로 케양 돌출형이 14예(42.4%)로 가장 많이 발생하였고 종양 중 양성 6예(18.2%), 악성은 27예(81.8%)로 모두 선암종이었으며 분화도가 좋은 형이 22예(66.7%)였다.

4) periodic acid-schiff, alcian blue pH 2.5 염색, alcian blue pH 2.5-periodic acid-Schiff 혼합염색, aldehyde fuchsin pH 1.7-alcian blue pH 2.5 혼합염색을 이용하여 대장점막점액의 조직학적 변화를 관찰시 정상대조군의 점막에는 풍부한 양의 중성 점액을 보유하며 sialomucin보다 sulfomucin이 우세하게 존재하였으나 발암제의 영향을 받은 DMH-수술대조군에서는 소량의 sialomucin이 존재하였고 발암제 유발 종양부위의 점막은 중성 점액성분이 현저하게 감소하고 동시에 sialomucin이 sulfomucin보다 현저하게 다량 존재하였다.

이상의 결과로 대장루와 같은 만성자극이 대장점막에 존재시 DMH에 의한 발암효과는 상승하였으며 발암제는 반드시 담도계를 거치지 않고 혈관계를 통하여서도 표적기관에 도달하였고, 대장암의 고위험군에서 대장 점막세포의 점액변화에 따른 조직화학적연구는 암조기발견, 치료예후 및 경과추적에 도움이 될 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) Ahnen DJ: *The animal models of colon cancer relevant to human disease. Dig Dis Sci* 30; S103, 1985
- 2) Artrup H, Williams GM: *Experimental colon carcinogenesis. CRC. Press, Inc. p.186. Boca Raton Florida., 1983*
- 3) Aylett S: *Cancer and ulcerative colitis. Brit Med J* 5755: 203, 1971
- 4) Bacon HE, Tse GN, Herabat T: *Coexisting carcinoma with peridiverticulitis of the colon. Dis Col Rec* 16: 500, 1973
- 5) Barkla DH, Tutton PJM: *Changes in cell proliferation and morphology in the large intestine of normal DMH-treated rats following colostomy. Dis Col Rec* 30: 278, 1987
- 6) Barson AJ, Kirk RS: *Colonic tuberculosis with carcinoma. J Pathol* 101: 282, 1970
- 7) Bresalier RS, Ho SB, Schoeppner HL, et al: *Enhanced sialylation of mucin-associated carbohydrate structures in human colon cancer metastasis. Gastroenterology* 110; 1354, 1996
- 8) Berenblem I: *The cocarcinogenic action of croton resin. Cancer Res* 1: 44, 1941
- 9) Camacho C: *Amebic granuloma and its relationship to cancer of the cecum. Dis Col Rec* 14: 12, 1971
- 10) Carraway KL, Fregien N, Carraway KL III, et al: *Tumor sial complexes as tumor antigens and modulators of cellular interactions and proliferation. J Cell Science* 103; 299, 1992
- 11) Chester JF, Caissert HA, Ross JS: *Augmentation of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer by experimental colitis in mice: Role of vitamin E. J Natl Cancer Inst* 76: 939, 1986
- 12) Dawson PM, Habib NA, Fan S, et al: *Association between extent of colonic mucosal sialomucin change and subsequent local recurrence after curative excision of primary colorectal cancer. BR J Surg* 77; 1279, 1990
- 13) DeJong UW, Day NE, Muir CS: *The distribution of cancer within the large bowel. Int J Cancer* 10: 463, 1972
- 14) Druckrey H, Preussmann R, Matzkies F: *Selective erzeugung von darmkrebs bei ratten durch 1,2-dimethyl-hydrazin. Naturwissenschaften.* 54: 285, 1967
- 15) Dunham IJ: *Cancer in man at site or prior benign lesion of skin or mucous membrane: A review. Cancer Res* 32: 1359, 1972
- 16) Filipe MI, Branfoot AC: *Abnormal patterns of mucus secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. Cancer* 34: 282, 1974

- 17) Filipe MI: *Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. Br J Cancer* 32: 60, 1975
- 18) Frank JD, Shorey BA: *Adenocarcinoma of the small bowel as a complication of Crohn's disease. Gut* 14: 120, 1973
- 19) Haenszel W, Correa P: *Cancer of the colon and rectum and adenomatous polyps. Cancer* 28: 14, 1971
- 20) Hagihara PF, Yoneda K, Sachatello CR: *Colonic tumorigenesis in rats with 1,2-dimethylhydrazine. Dis Col Rec* 23: 137, 1980
- 21) Kanagalingam K, Balis EM: *In vivo repair of rat intestinal DNA damage by alkylating agents. Cancer* 36: 2364, 1975
- 22) LaMont LT, O'Gorman TA: *Experimental colon cancer. Gastroenterology* 75, 1157, 1978
- 23) Lev R, Orlic D: *Histochemical and autoradiographic studies of normal human fetal colon. Histochemistry* 39: 301, 1971
- 24) 임문식, 권홍식: 경골어 식도 점액분비세포의 점액질에 대한 조직화학적 연구. 가톨릭大學 醫學部 論文集 36: 803, 1983
- 25) Matsubara N, Mori H, Hiron I: *Effect of colostomy on intestinal carcinogenesis by methylazoxymethanol acetate in rats. J Natl Cancer Inst* 64, 1161, 1978
- 26) Matsumoto H, Higa HH: *Studies on methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin: methylation of nucleic acids in vitro. Biochem J* 98: 20, 1966
- 27) Mueller CE, Thornbury JR: *Adenocarcinoma of the colon complicating ureterosigmoidostomy: A case report and review of the literature. J Urol* 109: 225, 1973
- 28) Pozhariski KM: *The significance of nonspecific injury for colon carcinogenesis in rats. Cancer Res* 35: 3824, 1975
- 29) Qiang W, Fumin W, Han G, et al: *Sialomucin at the resection margins and likelihood of local recurrence of carcinoma of the rectum after anterior resection. Ann Med* 22: 31, 1990
- 30) Reddy DG, Reddy DB, Rao PR: *Experimental production of cancer with tobacco tar and heat. Cancer* 13: 263, 1960
- 31) Skir I: *Mucinous carcinoma associated with fistulas of long-standing. Am J Surg* 75: 285, 1948
- 32) Spicer SS, Sun DCH: *Carbohydrate histochemistry of gastric epithelial secretions in dog. Ann N. Y. Acad Sci* 140: 762, 1967
- 33) Tank ES, Karsch DN, Lapidus J: *Adenocarcinoma of the colon associated with ureterosigmoidostomy: Report of a case. Dis Col Rec* 16: 300, 1973
- 34) Thurnherr N, Deschner E, Stonehill E: *Induction of adenocarcinoma of the colon in mice by weekly injections of 1,2-dimethylhydrazine. Cancer Res* 33: 940, 1973
- 35) Toth B, Malick L: *Production of intestinal and other tumors by 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride in mice. II. scanning electron microscopic and cytochemical study of colonic neoplasm. Br J Exp Pathol* 57: 696, 1976
- 36) Turani H, Kessler E, Luvie B: *The value of tissue mucin changes and CEA content in evaluation of benign colonic adenoma. Dis Col Rec* 31: 123, 1988
- 37) Winneker RC, Tompkins M, Westenberger P: *Morphological studies of chemically induced colon tumors in hamster. Exp Mol Pathol* 27: 19, 1977
- 38) Zedeck MS, Grab DJ, Sternberg SS: *Differences in the acute response of the various segments of rat intestine to treatment with the intestinal carcinogen, methylazoxymethanol acetate. Cancer Res* 37: 32, 1977