Kor. J. Food Hygiene 6(1), 27-40(1991)

랫드에서 스트레스에 의한 위궤양이 위발암화과정에 미치는 영향에 관한 연구

이종권 · 김형진 · 이영순
서울대학교 수의과대학

Studies on the Effect of Stress-Induced Gastric Ulcer on Gastric Carcinogenesis in Rats treated with N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine

Jong-Kwon Lee, Hyoung-Chin Kim and Yong-Soon Lee
College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon, 441-744

ABSTRACT—The effects of gastric ulcer induced by restraint and water-immersion stress on gastric carcinogenesis in Wistar male rats treated with N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) were examined. Rats of group 1 were given stress for 8 hours before they were received MNNG (100 mg/*l*) in drinking water for 20 weeks. Rats of group 2 were received MNNG first for 2 weeks and then were given stress once a week from 3rd to 12th weeks, with simultaneous MNNG adminitration and followed by MNNG only until 20th weeks. Rats of group 3 were received MNNG only as a positive control and rats of group 4 were not treated with carcinogen. All groups were sacrificed in 20 weeks. Sections of the pyloric mucosa were stained by avidin-biotin peroxidase complex (ABC) immuno-histochemical method. PAPG (pepsinogen isozyme 1 altered pyloric gland), body weight change, gross lesions and histopathological changes were examined. The results obtained from these studies were summarized as follows: 1. The mean body weight gains of the rats fed with carcinogens (group 1, 2, 3) were significantly lower than that of group 4 (control group, without carcinogen. $p<0.05$). However, the differences of the mean body weight of rats treated with carcinogen were not significant. 2. Stress treatment (group 1 and 2) increased the appearance of the numbers of PAPG (Pepsinogen 1 Altered Pyloric Gland) induced by carcinogen significantly compared with that of group 3 (carcinogen only, $p<0.01$). 3. The incidence rate of mucosal hyperplasia in pylorus was significantly increased in group 2 compared with group 3 ($p<0.05$).

Keywords□Stress, Gastric ulcer, PAPG (Pepsinogen isozyme 1 altered pyloric gland), MNNG (N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine)

위암은 우리나라, 일본을 포함하는 몇몇 아시아 국가들과 콜롬비아, 칠레, 동유럽 국가들에서 가장 높은 빈도로 발생하는 악성 종양 중의 하나이다.[18,62] 보건사회부(Ministry of Health and Social Affairs of Korea, 1988)가 1982년부터 1987년까지 5년간의 암발생에 대하여 조사한 바, 위암이 한국사람에 있어서 발생하는 악성 종양 중에서 그 발생율이 가장 높은 것으로 나타났다(24.1%). 따라서 우리나라에서 위암 발병율이 높은 이유를 규명하고 이를 예방하기 위해서는 위암의 생화학적 · 생물학적 특성을 파악하고 위암의 발생에 영향을 주는 각종 인자를 분

Received for publication 15 January, 1991
Reprint request: Dr. Y.S. Lee at the above address

석하는 일 등은 매우 중요하다고 생각된다. 이와같은 위암 연구에 있어서는 모델동물의 작제가 필수적이며 모델동물을 이용한 실험결과는 임상적으로 응용할 수 있기 때문에 더욱 더 그 유용성이 크다고 생각된다.[13]

그러나 실험동물에 있어서의 자연발생 위암은 그 발생빈도가 매우 낮아서 화학물질을 이용하여 실험적으로 위암을 유발시켜 보려는 연구가 많이 이루어져 왔는데, 1952년 Hare 등이 3-methylcholanthrene을 랫드에 투여하여 최초로 선위에 종양을 발생시킨 이래, 1961년에 Stewart 등은 N, N'-2, 7-fluorenylenbisacetamide(2, 7-FAA)를 랫드에 투여하여 선위에 종양을 유발시켰다. 그러나 이 방법으로는 위암의 발생빈도가 낮고 간장과 소장 등에도 종양이 많이 발생하는 등의 결점이 있어서 실험적 위암모델로서는 적합하지 않다고 한다.[19] 1967년 Sugimura 등은 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)를 음수에 용해시켜서, Wistar계 랫드 수컷에 투여하여 선위에서 약 70%의 위암이 발생됨을 보고 하였는데 이 방법은 간단한 경구투여법으로 비교적 높은 비율의 위암을 발생시키며, 유발된 선암의 조직양상이 사람의 위암 양상과 비슷할 뿐만 아니라, 마우스·햄스타 및 개에서도 고율로 위암의 작제가 가능해짐에 따라 MNNG를 이용한 위암 연구가 널리 행해지고 있다.[30,38,45,64]

성숙 랫드에서의 pepsinogen isozymes(Pg)은 정상적으로 분문부 점막에는 Pg 1, 2, 3, 4의 4종류 그리고 유문부 점막에는 Pg 1, 3, 4의 3종류가 존재한다.[3,4] Zeitoun 등(1972)과 Samloff와 Liebman(1973)은 유문부 점막의 isozyme들은 대부분 유문선세포들에서 검출된다고 하였고, Samloff(1971)는 분문부 점막에서의 주세포(chief cells)와 점액경 세포(mucous neck cells)에서 검출된다고 하였다. MNNG를 투여한지 약 1주일후부터 유문부 점막에서 Pg 1의 저하가 확인되며, 선암 등을 포함한 종양성 병변의 유문부 점막에서 거의 전부가 Pg 1의 저하 및 소실이 확인되지만, 위저선 점막의 Pg 1, 2, 3, 4와 유문선 점막의 Pg 3, 4의 변화는 확인 되지 않는다.[44, 47, 52] 그러므로 Pg1의 항체를 작성 한[4] 후 avidin-biotin peroxidase complex(ABC) 방법으로 Pg 1에 대한 면역조직의 화학적인 검색을 실시하면, 병리 조직학적 변화에 선행하여 Pg 1이 저하되거나 소실된 Pg 1 변이 유문선(Pg 1 Altered Pyloric Gland, PAPG)의 발생이 확인 되어지며,[5,44,51] 이런 변화들은 발암물질 투여 후 경시적으로 증가되므로 위전암 변화를 나타내는 좋은 자료로 사용될 수 있다고 한다.[13,47,51,52]

한편 위궤양은 사람의 소화기계 질병 중 흔히 발생하는 질병으로서, 위산과 펩신 등의 공격인자와 점막 방어 인자들 사이의 불균형에 의해 발생하는 것으로 알려져 있으며, 그 외에도 aspirin, steroids 등의 약물이나 흡연(smoking), 정신적인 스트레스 등이 발생원인으로 지적되고 있다.[61] Takagi 등(1964)과 Okabe 등(1977)은 랫드에 속박 및 침수 스트레스를 가하면 위궤양이 유발된다고 하였으며, Murakami 등(1985), Yabana와 Yachi(1988) 그리고 장 등(1989)은 그 기전으로서 위산 분비의 변화, 위점막 혈류 흐름의 감소, 위운동의 변화 등을 들고 있다.

일반적으로 위궤양으로부터 위암으로의 악성 변화는 드문 것으로 조사되어 있으나,[2,28,57] 위암의 상당부분이 위궤양으로부터 유발된다고 보는 견해도 있다.[14,15,22,26] 1962년 Stein-werblowsky는 랫드의 위를 절제하여 전위부에 궤양을 일으키면 위발암을 촉진시킨다고 하였으며, Takahashi 등(1976)과 Shirai 등(1978)은 랫드에서 iodoacetamide에 의해 유발된 위궤양은 위암을 촉진시킨다고 하였다. 1981년 Takahashi 등은 −78℃로 냉동된 Stainless-steel 막대를 이용하여 궤양을 유발시키고 MNNG를 투여하면 궤양이 랫드의 위저부와 근위십이지장부위에서 위암 발전을 촉진시킨다고 하였다. 또한 봉합이나 만성 상해 등에 의해서도 잘 발암화 과정을 촉진시킨다고 한다.[20,27] 그러나 아직 스트레스에 의한 위궤양이 위암 발전에 영향을 미치는지에 대해서는 밝혀져 있지 않다.

따라서 본 실험에서는 랫드에서 속박 및 침수 스트레스에 의한 위궤양이 MNNG의 위발암화 과정에 어떠한 영향이 있는지 알아 보고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물—한국화학 연구소에서 분양받은 3주령 Wistar 랫드 수컷 53마리를 사용하였다. 2주일 동안 실험실환경에 적응시킨 후 5주령에 실험에 사용

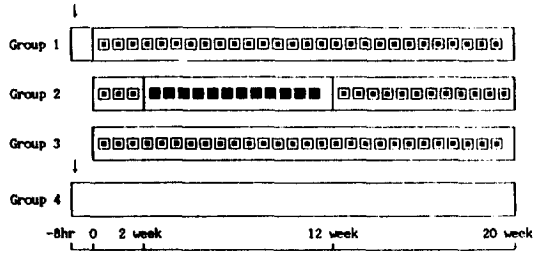

Fig. 1. Design of Experiment.
↓: Ulcer induction by restraint and water-immersion stress for 8 hrs.
■■■■: MNNG 100 μg/ml in drinking water *ad libitum* with ulcer induction by restraint and water-immersion stress every week until 12th week.
▣▣▣▣: MNNG 100 μg/ml in drinking water, *ad libitum*

하였다. 사육 및 실험기간 동안의 사육실 환경은 23±2℃, 상대습도 60±10%를 유지하였고, 자연채광하에서 랫드용 케이지(polycarbonate, 26×24×18 cm, 명진기계제작)에 3~4마리씩 넣어서 사육하였다. 사료(제일제당 실험동물사료)와 식수는 자유로이 급여 하였다.

발암물질—발암 유발물질로는 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, Fluka Chemical Co. Ltd)를 사용하였다. MNNG는 0.5 g/l가 되게 차광된 용기내에서 2차 증류수에 녹인 후 4℃ 냉암소에 저장하면서, 사용 직전 수돗물에 100 μg/ml 농도가 되게 희석한 후 차광된 음료수병에 담아서 자유롭게 먹게하였고, 희석용액은 매일 교환하여 역가의 감소를 방지하였다.

위궤양의 유도—속박 및 침수 스트레스에 의한 위궤양의 유도는 Takagi 등(1964)이 실시한 방법을 응용한 것으로 랫드를 일정한 크기의 속박틀(restraint cage)에 넣어 20℃로 유지된 항온수조(water bath)에 물이 검상 돌기까지 차도록 하여 8시간동안 침수시켰다. 예비실험으로 이 방법을 통해 위궤양이 100% 유발된 것을 확인한 후 본 실험에 착수하였다.

실험설계 및 시험물질 투여—실험동물은 1, 2, 3군에는 각각 15마리씩, 4군은 8마리로 나누어 배치하였다(Fig. 1). 4군을 제외한 모든 실험군에 실험개시일부터 종료일까지 MNNG를 100 μg/ml의 농도로 음수에 미치는 지를 알아보기 위해서 MNNG 투여 8시간 전에 속박 및 침수 스트레스에 의해 위궤양을 일으키고 MNNG를 시험 종료시까지 투여하였다. 제 2군은 위궤양이 위발암의 촉진과정(Promotion)에 영향을 미치는 지를 알아보기 위해서, 일반적으로 MNNG에 의해 위발암이 유발(Initiation) 되었다고 인정되어지는 시기인 2주[52] 후부터 12주까지(MNNG에 의해 위발암이 확립되는 시기[34,41]) 매주 1회 스트레스를 가하여 위궤양을 유도하였다. 제 3군은 제 1군과 제 2군의 양성 대조군(Positive control)으로서 MNNG만을 시험종료시 까지 투여 하였으며, 제 4군은 음성 대조군(Negative control)으로서 시험개시 8시간전에 1회 스트레스만을 가해 위궤양을 유발시키고 발암제는 투여하지 않았다. 스트레스에 의해 위궤양을 유발시킬 때 절식유무에 의한 체중 증감을 없애기 위해 전군 모두 스트레스를 가하기 24시간 전에 절식시켰으며, 전군을 실험개시 20주 후에 부검하였다.

체중 및 사료·음수 섭취량 측정—체중변화의 추이를 알기 위해 시험개시일과 그후 매주 1회씩 체중을 측정하였다. 랫드의 체중 Kg당 1일 사료섭취량을 계산하기 위하여, 체중 측정과 병행해서 매주 1회 사료 및 음수 섭취량을 측정하였는데, 사료 섭취량은 사료통에 충분한 양의 사료를 채워 무게를 측정한 후 급여하고 다음날 같은 시각에 남은 양을 측정하여 계산하였으며, 음수 섭취량은 음수통에 일정한 양의 물을 채워 측정한 후 급수시키고 다음날 같은 시각에 남은 양을 측정하여 계산하였다.

장기의 처리—부검 하루전에 모든 군의 동물을 절식시켰으며, 체중을 측정한 후 부검하였다. 위는 적출하여 대만부를 따라 절개한 다음, 생리식염수에 세척하여 불순물을 제거한 후 코르크판에 대나무핀을 사용하여 넓게 펴서 유문부를 승홍고정하고, 나머지 부위는 간장, 비장, 신장 등의 장기들과 마찬가지로 10% 중성포르말린에 고정하였다.

광학 현미경 관찰—위는 전위와 선위로 구분하였으며 선위는 다시 분문부와 유문부로 나누었고, 십이지장, 간, 비장, 신장 등은 2~3 mm 두께로 조직을 채취하여 10% 중성포르말린에 고정한 후 파라핀절편을 만들고 hematoxylin 및 eosin 염색을 하였으며, 중식된 점막의 점액(mucin) 성상을 알아보기 paradoxical concanavalin A 염색[10,16,49]을 실시하여 현미경으로 관찰하였다. 위조직 중 유문부 부위는 약 6개의 strips으로 만들어서 승홍포르말린에 고정한 다음

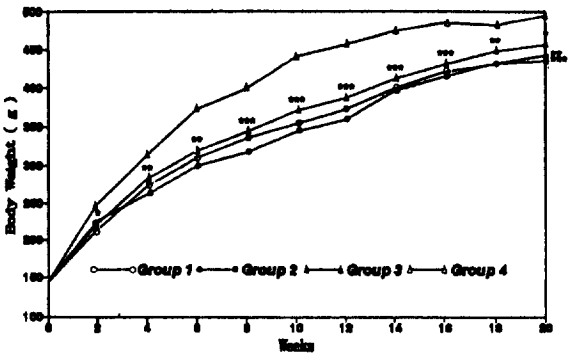

Fig. 2. The effect of stress on body weight change of rats treated with MNNG or not.
* : Significantly different from group 4 ($p<0.05$)
** : Significantly different form group 4 ($p<0.01$)
***: Significantly different from group 4 ($p<0.001$)

파라핀 포매하여 4~5 μm 두께의 절편을 만든 후 전암지표인 PAPG에 대한 면역조직화학적 염색[13,47,51]을 실시하였다. 또한 유문선 세포를 각 군당 500개 이상씩을 세어서 유문선 100개당 PAPG수를 계산하였다.

면역조직화학적 염색—유문부 조직내의 PAPG의 출현 여부를 확인하기 위해서 avidin biotin peroxidase complex(ABC)법을 이용하여 염색하였다.[9] 일본 나고야 시립대학 의학부로부터 공급받은 rabbit-anti-rat Pg 1 Ig G(1차 항체)를 0.01 M phosphate buffered saline(PBS)에 bovine serum albumin이 0.1% 첨가되도록 희석하여 0.1 ml씩 분주하여 −70℃ 초저온 냉동기에 보관하면서 사용하였다. Biotin-labeled goat anti-rabbit IgG(2차 항체)와 ABC는 Vectastain Elite ABC kit(Vector Laboratories, USA)를 사용하였다. 파라핀 조직절편은 xylene에서 녹여내고 알콜에서 농도별로 처리하여 세척한 후, Iodo 알콜과 5% sodium thiosulfate 용액을 사용하여 승홍을 제거한 다음 moisture chamber에서 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 희석), ABC의 처리과정을 거쳐, H_2O_2 0.02%가 첨가된 diaminobenzidine(DBA ; 0.2 M Tris buffer, pH 7.6)에 incubation시켜 정색반응을 일으킨 후 hematoxylin으로 핵을 대조염색 하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

자료의 통계처리—1) 평균 체중의 변화와 Pg 1 변이 유문선(PAPG)의 분석 : 다변량분산분석(multivariate analysis of variance, MANOVA)을 시행한 후 다중평균비교를 위하여 Tukey's honestly significant difference(HSD) test를 실시하였다. 2) 병리 소견분석 : 유문부에서 발생한 조직변화 및 전위·십이지장의 종양 발생율의 분석은 χ^2(chi-square) 검정을 시행한 후 Fisher's exact test를 실시하였다.

결 과

체중 변화 및 사료·음수 섭취량—발암물질을 투여한 1·2·3군이 발암물질을 투여하지 않은 4군에 비해 실험시작 2주부터 실험 종료시까지 증체율이 유의성 있게 감소하였으나($p<0.05$), 스트레스를 가한 1·2군과 스트레스를 가하지 않은 3군간에는 실험기간 전체에 걸쳐 유의성 있는 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 2). 사료 섭취량은 다소의 차이는 있었으나, 전군 공히 유의성 있는 변화는 없었다. 음수 섭취량도 발암제를 투여한 1·2·3군이 발암제를 처치하지 않은 4군보다 다소 적었으나, 유의성 있는 변화는 없었다.

PAPG의 변화—발암물질을 투여하지 않은 대조군에서는 면역 염색을 해서 볼 때 모든 유문선들이 진한 갈색으로 염색되었으며, Pg 1이 저하되거나 소실된 유문선들을 발견할 수 없었다(Fig. 3). 그러나 발암물질을 투여한 군에서는 Pg 1이 저하되거나 소실된 PAPG를 볼 수 있었는데(Fig. 4), 발암제 처치전에 스트레스를 가한 1군이 발암제만을 투여한 3군에 비해 PAPG 수를 유의성있게 증가시켰으며($p<0.01$), 위발암기간 중 촉진 기간에 스트레스를 가한 2군 역시 발암제만을 투여한 3군 보다 PAPG 수를 유의성 있게($p<0.001$) 증가시켰다(Table I).

육안 및 광학 현미경 소견—(1) 육안적 소견 : 부검시 선위부에 나타난 변화는 발암제를 투여한 군 1·2·3군 공히 2~3 mm 가량의 흰색으로 돌출된 병변들을 볼 수 있었으며(Fig. 5), 3군에서는 1예이지만, 직경 5~6 mm로 돌출된 것도 볼 수 있었다(Fig. 6). 전위부에서는 위발암 과정 중 촉진기간에

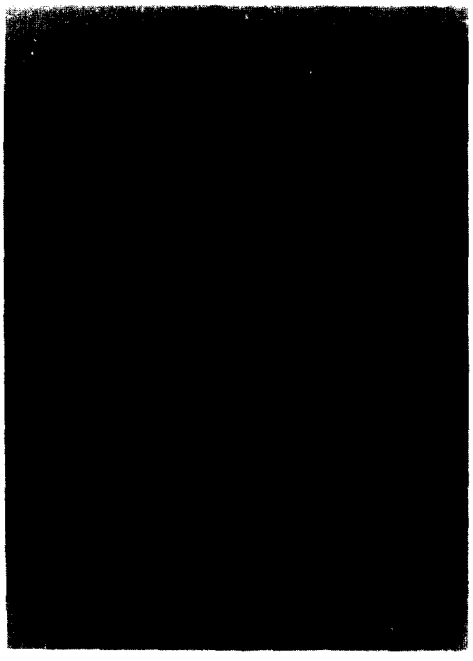

Fig. 3. Immunohistochemical demonstration of pepsinogen isozyme 1 (Pg 1) in normal pyloric mucosae. ABC staining, ×200.

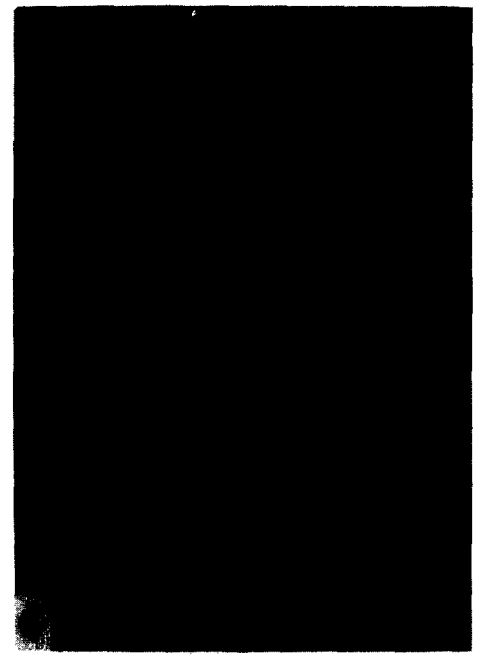

Fig. 4. Immunohistochemical demonstration of pepsinogen isozyme 1 altered pyloric gland (PAPG) in normal pyloric mucosae. ABC staining, ×200.

스트레스를 가한 2군에서 1~2 mm로 돌출된 소견과 10 mm정도로 크게 돌출된 Polyp형의 융기물도 볼 수 있었다(Fig. 7). 그러나 다른 군에서의 전위부 변화는 관찰할 수 없었다. 십이지장에서는 발암물질 투여한 1·2·3군에서 공히 1~2예의 직경 5~10 mm 정도의 융기물이 장막외로 돌출되어 있는 것을 볼 수 있었는데, 특히 발암제를 처치하기 전에 스트레스를 가한 1군에서 직경 2cm 정도의 큰 융기물이 장막외로 돌출되어 있는 것을 볼 수 있었다(Fig. 8). 그밖에 간·비장·신장 등에서는 별다른 병변을 관찰할 수 없었다. (2) 조직소견 : 1. 선위 : 발암물

Table 1 The Changes in Body Weights and Numbers of Pepsinogen isozyme 1 Altered Pyloric Glands (PAPG) in Pyloric Mucosa Rats Treated with MNNG[a)] and/or Stress[b)]

Group	Treatment	Final body weight	No. of Rat	No. of PAPG
1	Stress→MNNG	435.23± 32.65[f)]	15	10.67± 0.94[c,g)]
2	MNNG→Stress +MNNG→MNNG	442.38± 38.91[e)]	15	11.20± 1.33[h)]
3	MNNG only	456.58± 38.44[d)]	15	8.40± 0.61
4	Stress→Non-treatment	495.13± 38.03	8	–

[a)]: MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
[b)]: Stress restraint and water-immersion stress for 8 hours
[c)]: Data represent Mean± SD.
[d)]: Significantly different from group 4 ($p<0.05$).
[e)]: Significantly different from group 4 ($p<0.01$).
[f)]: Significantly different from group 4 ($p<0.001$).
[g)]: Significantly different from group 4 ($p<0.01$).
[h)]: Significantly different from group 4 ($p<0.001$).

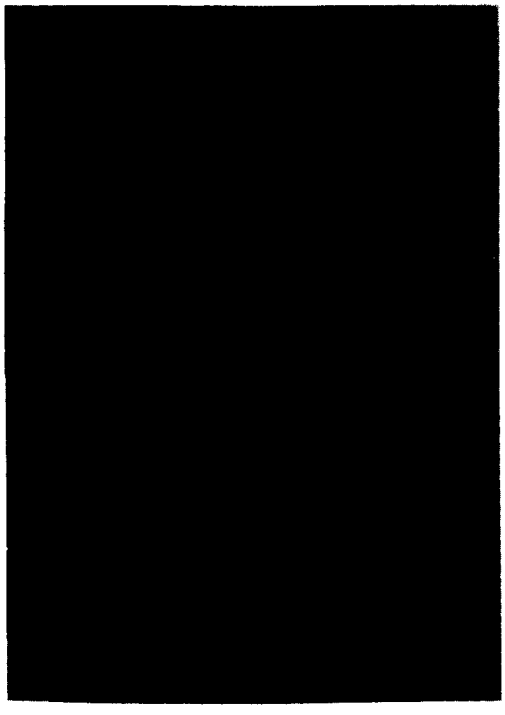

Fig. 5. Gross appearance of the protrusive lesion in

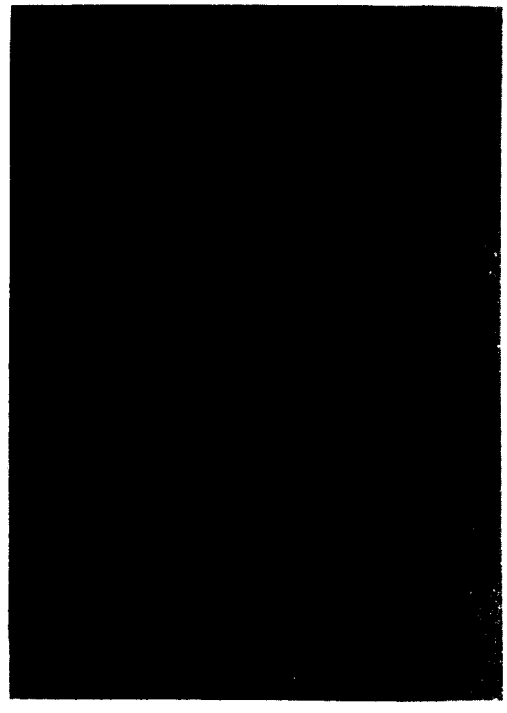

Fig. 6. Gross appearance of the protrusive lesion in pyloric mucosae.

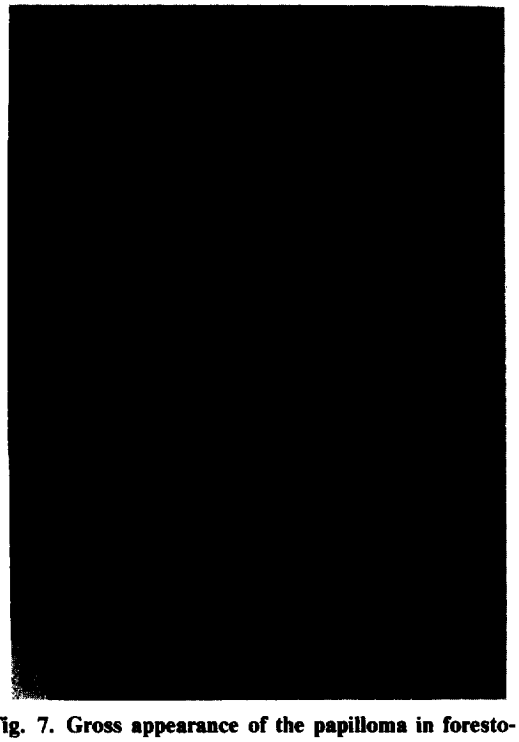

Fig. 7. Gross appearance of the papilloma in forestomach of rats treated with MNNG and stress.

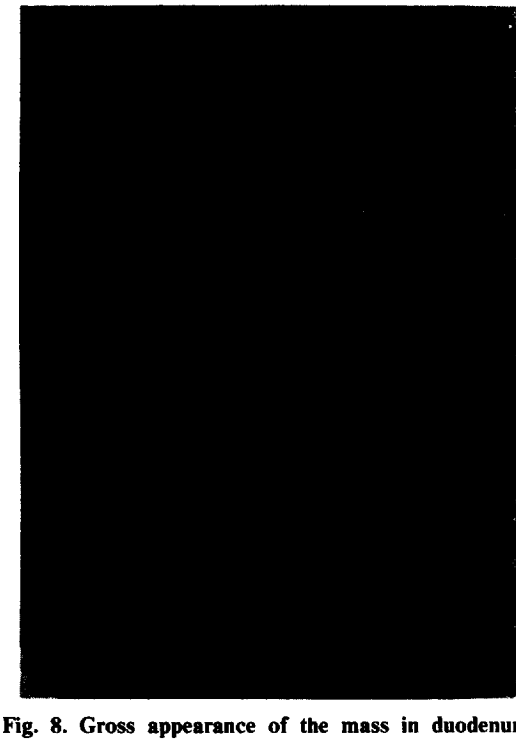

Fig. 8. Gross appearance of the mass in duodenum of rats treated with MNNG and stress.

Table II Histopathological Changes in the Pyloric Mucosa of rats treated with MNNG[a] and/or Stress

Group	No. of rats	Erosion	Atrophic Changes	Mucosal Hyperplasia	Adenomatous Hyperplasia
1	15	10(67)[b]	5(33)	7(47)	0(0)
2	15	13(87)	5(33)	10(67)*	0(0)
3	15	10(67)	6(40)	3(20)	1(7)
4	8	1(7)	0(0)	0(0)	0(0)

[a]: MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)
[b]: Data represent numbers of rats with tumor and Rate of tumor incidence (%)
*: Significantly different from group 3 ($p<0.05$)

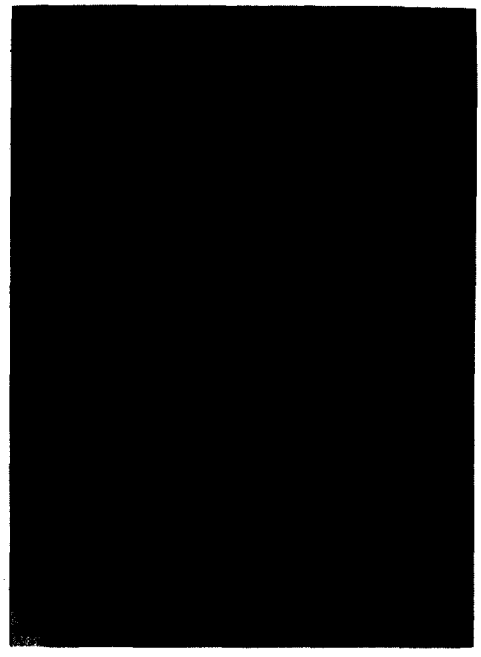

Fig. 9. Mucosal Hyperplasia of the pyloric mucosae in glandular stomach treated with MNNG and stress. H & E, ×100.

Fig. 10. Mucosal Hyperplasia in pylorus, which consists of class III mucin. Paradoxical Con A staining, ×40.

질을 투여한 1·2·3군 모두 유문부에서 미만성으로 점막의 미란성 병변이 보였으며, 선이 짧아지고 점막에 섬유화가 동반된 위축성 병변도 관찰되었으며 (Table II), 발암물질을 투여한 군에서 선암의 초기 단계로 보이는 촉진기간에 스트레스를 가한 2군이 스트레스를 가하지 않은 3군보다 점막 과형성의 발생을 유의성있게 증가시켰다($p<0.05$). 또한 이들은 paradoxical concanavalin A 염색을 실시한 결과 대부분이 3형 점액(class III mucin)으로 구성된 유문선형 점막 과형성이었다(Fig. 10). 발암물질만 투여한 3군에서 점막하직까지 침범하고 염증세포의 침윤을 동반한 선종양 과형성(adenomatous hyperplasia) 1예를 볼 수 있었다(Fig. 11). 2. 전위 : 위발암 과정 중 촉진기간에 스트레스를 가한 2군에서 육안적으로 1~2 mm 정도로 돌출되어 보이는 것은 단순 점막 과형성(simple hyperplasia) 이었으며, 직경 10 mm 정도로 보이는 것은 중층 편평 상피의 심한 각화와 keratin pearl을 수반한 유두종(papilloma) 이었다(Fig. 12). 그러나 침윤과 세포 이형은 관찰할 수 없었다(Table II). 3. 십이지장 : 십이지장에 있어서는 대부분 선관 배열의 혼란, 세포의 이형을 관찰할 수 있었으며, 선세포가

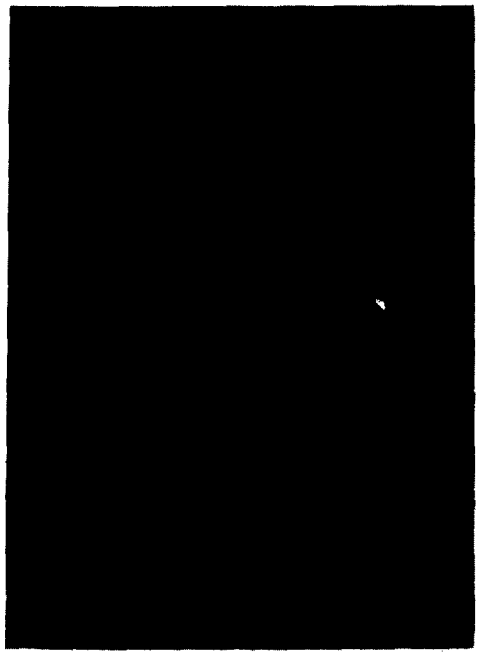

Fig. 11. Adenomatous Hyperplasia in pylorus treated with MNNG, which invaded the submucosa in pylorus. H & E, ×40.

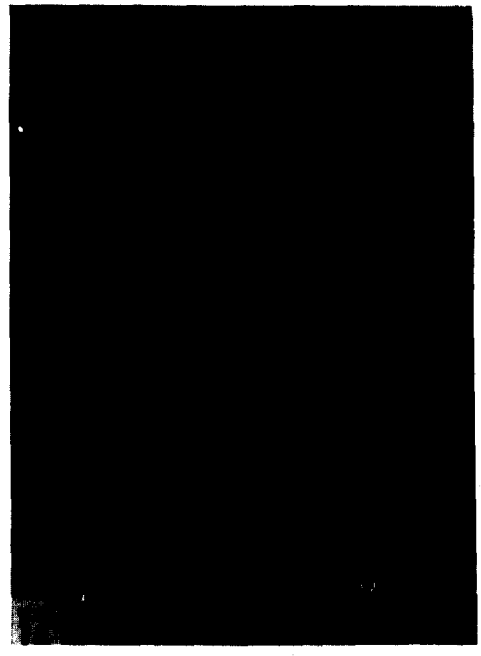

Fig. 12. Pailloma in the forestomach treated with MNNG adn stress. H & E, ×40.

근육층내로까지 침범하는 선암(adenocarcinoma)이었는데(Fig. 13, 14), 이들 선세포는 낭포형(cyst)으로 크게 확장되어 있는 것을 종종 관찰할 수 있었다(Table III).

고 찰

위발암 유발능과 촉진능의 유무를 검색하기 위해서는 위발암 모델 개발이 필수적인데, 랫드에서 MNNG를 사용하여 약 20주 내외라는 비교적 단기간에 조직병리학적 전암변화보다도 선행하여 나타나는 전암지표인 Pg 1 변이 유문선(PAPG)을 조사함으로서 간단하게 위암 촉진물질을 스크리닝 할 수 있는 방법이 제안되고 있다.[13] 위발암 물질인 MNNG를 투여하면, 일주일만에 유문선 점막에서 Pg 1의 저하가 확인되며, 이 변화는 영구적인 변화로 남게 된다.[5,51,52] Tatematsu 등(1987b)은 PAPG 방법에 의하여 점막 과형성을 구성하는 유문선 세포형에서 약 30% 정도가 Pg 1의 저하가 확인된다고 보고함으로써, 면역조직화학적인 Pg 1의 변화가 실제 병리학적인 변화와도 일치되는 것으로 알려져 있다.

유문선 세포 동태를 파악하기 위해 ^{3}H-thymidine

Table III Incidence of Neoplasm in Forestomach and Duodenum of Rats Treated with MNNG[a] and/or Stress

Group	No. of rats	Forestomach Papilloma	Duodenum Adenocarcinoma
1	15	0(0)[b]	2(13)
2	15	1(7)	1(7)
3	15	0(0)	2(13)
4	8	0(0)	0(0)

[a]: MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)

[b]: Data represent numbers of rats with tumor and Rate of tumor incidence (%)

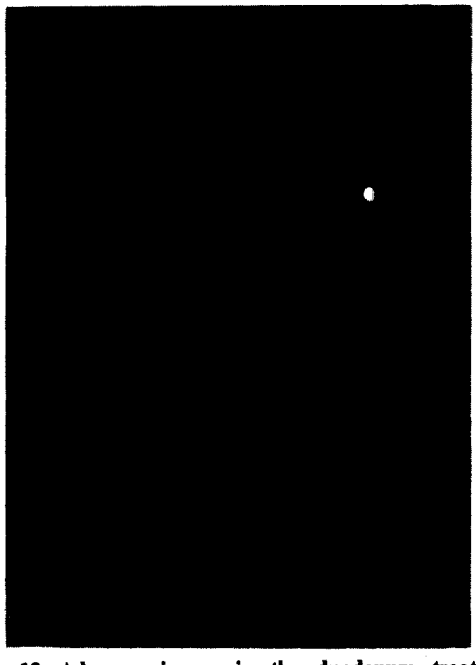

Fig. 13. Adenocarcinoma in the duodenum treated with MNNG and stress. H & E, ×40.

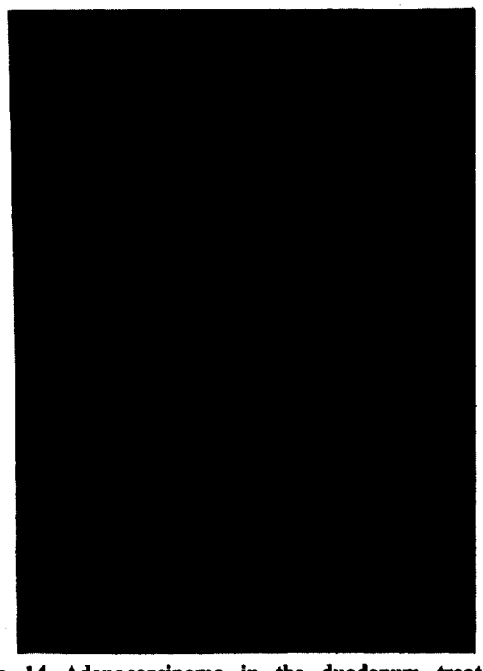

Fig. 14. Adenocarcinoma in the duodenum treated with MNNG and stress. H & E, ×100.

incorporation 또는 ABC 방법으로 Pg 1의 면역염색과 BrdU(bromodeoxyuridine)와 IGSS(immuno-gold silver staining)의 이중 염색을 실시한 결과, 정상 유문선은 선경부의 중식대에서 분열한 유문선 세포가 분화·성숙하면서 하방으로 이동하며, 그 기간은 약 12일 이라고 하였고, PAPG는 약 8일간에 치환된 세포동태를 나타내어 전암변화를 시사한다고 하였다.[8,51,55]

MNNG를 투여한 랫드의 위발암 실험에 있어서 초기에 나타나는 변화는 유문선의 미란(erosion), 유문부에서 점막의 위축, 점막 과형성 등이다.[30,39] 점막 위축의 경우에는 선관수의 감소와 점막 고유층의 섬유화를 동반하는 수가 많다고 한다.[30] Tatematsu(1987a)는 점막 과형성을 피복상피세포 의 증식이 주체인 피복상피 세포형(foveola epithelial type)과 유문선세포의 증식이 주체인 유문선형(pyloric gland type)으로 나누어 있고, 선종양 과형성을 상방으로 성장하는 polyp형 선종양 과형성과 하방으로 성장하는 점막하 선종양 과형성으로 나누었다.

일반적으로 경구투여한 MNNG는 직접 위점막 세포로 이동하는데, 세포로 들어간 MNNG는 곧바로 MNG(N-methyl-N'-nitroguanidine)로 대사되고 약 90%는 뇨중으로 배설된다고 한다.[64] MNNG는 핵산·단백질 등을 메칠화 하는데, MNNG 투여시 위점막에서 7-Methylguanidine, O^6-methylguanidine 등이 증가한다고 한다.[11] MNNG가 발암성을 나타내는 주요 작용기전은 DNA(또는 RNA)의 alkyl화 등의 DNA 정보 발현에 이상을 일으키는 epigenetic적인 작용에 기인한다.[64] Tatematsu 등(1980 b)은 MNNG를 음수로 투여하면 MNNG은 유문선 세포들의 germ cells 단백질과 DNA를 공격하여 DNA의 이중나선구조를 파괴하는데, 이 때 DNA의 수복(DNA repair) 과정 중 수복이 안될 경우 이런 germ cells은 DNA의 변화(modification)에 따른 Pg 1 유전자표현에 변이가 생겨서 결과적으로 PAPG가 출현한다고 하였다.

랫드의 소화관 점액은 paradoxical con A 염색법으로 크게 II형 점액(class II mucin)과 III형 점액(class III mucin)으로 나누어 지는데 II형 점액은 피복상피세포, 장의 배세포(goblet cell)와 흡수상피세포(absorptive epithelial cell)에 함유되어 있으며, III형 점액은 점액경 세포(Mucous neck cell), 유문선 세포 및 Bruner's 선세포에 함유되어 있다고 하는데(katsuyama와 Spicer, 1978 ; Tatematsu 등,

1980a), II형 점액 및 III형 점액의 반응성은 지극히 안정하여 II형에서 III형으로, III형에서 II형으로 변화하지 않는다고 한다.[45] Tatematsu 등(1980a)은 paradoxical con A 염색법은 점액의 세포 기원(Cellular origin) 결정에 유용하며, III형 점액의 반응성은 유문선 세포 및 이와 관련된 세포의 지표(marker)라고 하였다. Nakahara(1978), Matsukura 등(1980) 그리고 김 등(1987)은 위점막의 장상피 화생시에는 배세포와 Paneth 세포가 출현하며, peptidase, disaccharidase 및 acid phosphatase 등의 많은 소화성 효소들이 분비되는데, 이 장상피 화생은 사람의 분화형 선암(diffferentiated adenocarcinoma, intestinal-type carcinoma)의 전암병변이라고 하였다. 그러나 Tatematsu 등(1983), Furihata 등(1984) 그리고 Tatematsu 등(1984)은 paradoxical con A 염색으로 랫드에서 장상피 화생과 위발암과의 관계를 검사한 결과, 장상피 화생은 정상 위점막 세포의 장형화 이며, 종양내의 장형세포는 위형(gastric type) 종양세포의 장형화에 의해서도 형성될 수 있다고 보고하였다. 따라서 장상피 화생과 장형 종양세포는 각기 독립해서 형성되며 장상피 화생은 점막 분화의 이상이 생길 때 발생하지만 분화형 선암의 직접적인 전암병변이 아니라고 한다.[45,47] Tatematsu 등(1987b)은 사람의 위암에 있어서도 장상피 화생보다는 위점막의 pepsinogen isozyme의 변화를 보이는 유문선들이 위암의 전암변화를 나타내는데 유용하다고 하였다.

스트레스가 위궤양을 일으키는 기전으로서는 물리적·정신적인 스트레스 인자들이 대뇌의 변연계(limbic system)를 자극하면 이것이 시상하부(hypothalamus)와 수질중심(medullary center)를 자극하고 시상하부는 위장운동 및 위산분비에 변화를 줌으로서 그리고 수질 중심은 미세순환(microcirculation)에 영향을 줌으로서 일으키는 것으로 알려져 있다.[57] 암의 임상적인 경과와 발전에 있어서 스트레스의 역할은 아직 불확실한데, Sklar와 Anisman (1979)과 Visintainer 등(1983)은 P815 종양세포나 Walker 256 Sarcoma를 마우스나 랫드에 이식한 후 급성으로 스트레스를 가하면 종양성장을 증가시킨다고 하였다.

위궤양과 위암과의 관계는 계속적인 논란의 대상이 되고 있는데, 위궤양이 위암발전에 있어서 중요한 인자로 작용하지 않는다고 생각하는 견해는 임상적인 조사결과, 위암을 가진 환자중에서 위궤양 병력을 가진 환자는 1% 이하 또는 많아야 3%이하 라는 이유를 들고 있다.[2,28,56] 또한 Nagayo 등(1965)은 N, N'-2, 7-fluorenylenbis-acetamide(2, 7-FAA)의 발암화 과정에 있어서, 궤양은 커다란 영향을 미치지 못했다고 하였다. 그러나 Oota(1963)는 14년간 병원에 의뢰된 case를 조사한 결과, 위궤양과 위암은 상당히 밀접한 관계가 있다고 하였다. 1962년 Steinwerblowsky는 Wistar 랫드에 위부분 절제술을 하여 전위(forestomach)에 칼(scalpel)이나 부식제(caustic)로 궤양을 일으키면 위발암을 촉진시킨다고 하였다. Magima 등(1967)은 beewax를 용매로 한 4-NQO(4-nitroquinoline-1-oxide)를 랫드의 위벽에 이식하여 ulcer-carcinoma 생성을 유도한 결과, 궤양의 형성이 암발전에 중요한 역할을 한다고 하였다. Takahashi 등(1976)과 Shirai 등(1978)은 랫드에서 iodoacetamide에 의한 위저부의 궤양은 위저부의 선암을 촉진 시킨다고 하였다. 또한 1981년 Takahashi 등은 −78℃로 냉동된 stainless-steel 막대를 이용하여 궤양을 유발시키고 MNNG를 투여하면 랫드의 위저부(fundus)와 근위십이지장 부위(proximal duodenum)에서 위발암을 촉진시킨다고 하였다. 1984년 Nagai 등은 50% Acetic acid를 이용하여 위궤양을 일으키고 MNNG를 투여하면, 궤양이 치유되는 주변부에서 종양 발생율이 증가된다고 하였다. 한편 고농도의 식염[53], aspirin[1], formalin, 그리고 potassium meta-bisulfite 등[46]은 랫드에서 MNNG에 의한 위발암을 촉진시키며 위암 발생시기를 빠르게 한다. Tatematsu 등(1976), Chang 등(1983) 그리고 Takahashi 등(1986)은 이는 위점막을 자극하고 점막벽을 파괴하여 발암물질의 침투를 용이하게 하기 때문이라고 하였다. 이외에도 purse string suture[27], 요관 S상 결장 문합술[20] 그리고 Billroth I, II에 의한 위·장 문합술 등[12]은 장발암화 과정을 촉진시킨다고 한다.

본 실험에서 발암제(MNNG)을 처치하기 전에 스트레스를 가한 1군에서 선암의 초기병변으로 보이는 점막 과형성의 수를 유의성있게 증가시키지 못했지만, 양성 대조군이 3군에 비해 PAPG 수를 유의성 있게 증가시켰으므로 속박 및 침수 스트레스에 의한 위궤양이 위발암의 유발(initiation)에

전혀 영향이 없다고는 생각되지 않는다. 또한 위발암과정 중 촉진기간에 스트레스를 가한 군에서 발암제만을 투여한 군 보다 PAPG 수와 점막 과형성의 발생이 유의성 있게 증가하였으므로, 스트레스에 의한 위궤양이 위암 발전에 있어 촉진 효과가 있음을 간접적으로 알 수 있었다. 이는 스트레스에 의한 위궤양에 의해 MNNG에 대한 점액의 보호능이 다소 소실되어 위점막의 germ cell이 발암제에 더 영향을 받은 것으로 사료된다.

국문요약

랫드에서 속박 및 침수 스트레스에 의한 위궤양이 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)의 위발암과정에 어떠한 영향이 있는지 알아보기 위하여 본 실험을 실시하였다. 1군은 시험시작 8시간전에 스트레스를 가한 후 MNNG를 투여하였으며, 2군은 MNNG를 음수 투여한 후 MNNG에 의한 위발암 기간중 촉진기간이라고 알려진 3~12주 사이에 매주 발암물질과 함께 스트레스를 1회 가하였다. 3군은 양성대조군으로서 MNNG만을 투여하였고, 4군은 음성대조군으로 발암제를 처치하지 않았다. 전군 공히 20주에 부검하여 avidine-biotin peroxidase complex(ABC) 방법으로 면역조직화학적 염색을 한 후 PAPG(Pepsinogen isozyme 1 Altered Pyloric Gland)에 대한 통계 분석을 하였으며, 각 군간의 체중 변화와 병리변화를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발암물질을 투여한 1·2·3군이 비투여군(4군)에 비해 증체율이 유의성 있게 감소하였다($p<0.05$). 그러나 발암물질 투여군간의 체중변화에는 유의성이 없었다. 2. MNNG 투여와 함께 스트레스를 가한 군이 스트레스를 가하지 않고 MNNG만을 투여한 군에 비하여 Pg 1 변이 유문선(PAPG)의 수가 유의성 있게 증가되었다($p<0.01$). 3. 위발암 과정 중 촉진기간에 스트레스를 가한 군이 스트레스를 가하지 않고 MNNG만을 투여한 군에 비해 점막 과형성(mucosal hyperplasia)의 발생이 유의성 있게 증가되었다($p<0.05$).

참고문헌

1. Chang, T. H., Lee Y. C., Lee, K. Y., Sun C. H. and Chang, Y. P.: Cocarcinogenic action of aspirin on gastric tumors induced by MNNG (N-Methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine) in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 1067-1075 (1983).
2. Ellis, D. J., Kingston, R. D., Brookes, V. S. and Waterhouse, A. H.: Gastric carcinoma and previous peptic ulceration, *Br. J. Surg.*, **66**, 117-119 (1979).
3. Furihata, C., Kawachi, T. and Sugimura, T.: Premature induction of pepsinogen in developing rat gastric mucosa by hormones. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **47**, 705-711 (1972).
4. Furihata, C., Saito, D. and Fujiki, H.: Purification and characterization of pepsinogens and a unique pepsin form rat stomach. *Eur. J. Biochem.*, 105, 43-50 (1980).
5. Furihata, C., Sasajima, K., Kazama, S., Kogure, K., Kawachi, T., Sugimura, T., Tatematsu, M. and Takahashi, M.: Changes in pepsinogen isozymes in stomach carcinogenesis inuced in rats by MNNG. *J. Natl. Cancer Inst.*, **55**, 925-930 (1975).
6. Furihata, C., Tatematsu, M., Miki, K., Katsuyama, T., Sudo, K., Miyagi, N., Kubota, T., Jin, S. S., Kodama, K., Ito, N., Konishi, Y., Suzuki, K. and Matsushima, T.: Gastric and intestinal-type properties of human gastric cancers transplanted into nude mice. *Cancer Res.*, **44**, 727-733 (1984).
7. Hare, W. V., Stewart, H. L., Bennet, J. G. and Lorenz, E.: Tumors of the glandular stomach induced in rat by intramural injection of 20-methylcholanthrene. *J. Natl. Cancer. Inst.*, **12**, 1019-1056 (1952).
8. Hattori, T. and Fujita, S.: Tritiated thymidine autoradiographic study of cell migration and renewal in the pyloric mucosae of golden hamsters. *Cell Tissue Res.*, **175**, 49-57 (1976).
9. Hsu, S. M., Raine, L. and Fanger, H.: Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577-580 (1981).
10. Katsuyama, T. and Spicer, S. S.: Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. *J. Histochem. Cyotochem.*, **26**, 233-

250 (1978).
11. Kobori, O., Schmerold, I., Ludeke, B., Ohgaki H. and Kleihues, P.: DNA methylation in rat stomach and duodenum following chronic exposure to MNNG and the effect of dietary taurocholate. *Carcinogenesis,* **9**, 2271-2274 (1988).
12. Kondo, K., Suzuki, H. and Nagayo, T.: The influence of gastro-jejunal anastomosis on gastric carcinogensis in rats. *Gann,* **75**, 362-369 (1984).
13. Lim, C. H., Hur, G. H. and Lee, Y. S.:Inhibitory effects of red ginseng extract on development of pepsinogen 1 decreased pyloric glands in rat stomach. *Korean J. Toxicol.,* **5**, 151-166 (1989).
14. Majima, S., Takahashi, T., Yoshida, K., Karube, K., Machida, T., Narisawa, T., Hoshi, N., Hoshi, H., Hiroki, T., Ito, N. and Kurata, Y.: Atypical epithelial proliferation in the course of experimental production of ulcer-carcinoma of the stomach. *Tohoku J. Exp. Med.,* **93**, 363-376 (1967).
15. Majima, S., Yamaguchi, I., Karube. K., Teshima, T. and Yoshida, K.: A histopathologic study on the origin of early carcinoma of the stomach. *Tohoku J. Exp. Med.,* **86**, 348-365 (1965).
16. Matsukura, N., Suzuki, K., Kawachi, T., Aoyagi, M., Sugimura, T., Kitaoka, H., Numgjiri, H., Shirota, A., Itabashi, M. and Hirota, T.: Distribution of marker enzymes and mucin in intestinal metaplasia in human stomach and relation of complete and incomplete types of intestinal metaplasia to minute gastric carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.,* **65**, 231-240 (1980).
17. Ministry of Health and Social affairs of Korea: Five years report for cancer register programme in the ROK, *J. Korean Cencer Res. Association.,* **21**, 153-216 (1988).
18. Mirvish, S. S.: The etiology of gastric cancer; Intragastric nitrosamide formation and other theories. *J. Natl. Cancer Inst.,* **71(3)**, 631-647 (1983).
19. Morris, H. P., Wagner, B. P., Ray, F. E., Stewart, H. L. and Snell, K. C.0: Comparative carcinogenic effects of 2, 7-FAA (N, N'-2, 7-fluorenylenebisacetamide) by intra peritoneal and oral routes of adminstration to rats, with particular reference to gastric carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.,* **29**, 977-1012 (1962).
20. Mueller, C. E. and Thornbury, J. R.: Adenocarcinoma of the colon complication ureterosigmoidostomy: A case report and review of the literature. *J. Urology,* **109**, 225-227 (1973).
21. Murakami, M., Lam, S. K., Inada, M. and Miyake, T.: Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermia restraint stress in rat. *Gastroenterology,* **88**, 660-665 (1985).
22. Nagai, T., Pfeiffer, C. J., Fujimura, M., Hattori, T. and Tobe, T.: Susceptibility of healed gastric ulcers to chemical carcinogenesis in rats and implications of cellular kinetic changes. Cancer Res., **44**, 5828-5835 (1984).
23. Nagayo, T.: Effect of oral adminstration of N, N'-2, 7-fluorenylenebisacetamide combined with traumatic ulcers of the glandular stomach of buffalo rats. *J. Natl. Cancer Inst.,* **35**, 829-840 (1965).
24. Nakahar, K.: Special features of intestinal metaplasia and its relation to early gastric carcinoma in man: Observation by a method in which leucine aminopeptidase activity is used. *J. Natl. Cancer Inst.,* **61**, 693-702 (1978).
25. Okabe S., Takeuchi, K., Urushidani, J. and Takagi, K.: Effects of cimetidine, a histamine, H_2-receptor antagonist on various experimental gastric and duodenal ulcers. *Am. J. Dig. Dis.,* **22**, 677-684 (1977).
26. Oota K.: Role of gastric ulcer in the causation of gastric cancer in japan: A histopathological study of 3,000 gastrectomy materials. *Acta. Unio. Int. Contra Cancrum,* **19**, 1208-1209 (1963).
27. Pozharisski, K. M.: The significance of Nonspeific injury for colon carcinogensis in rats. *Cancer Res.,* **35**, 3824-3830 (1975).
28. Ronnov-Jessen, V., Ahlgren, P. and Qvist, C. F.: Incidence of gastric cancer in medically treated with patients with gastric ulcer. *Acta. Medica. Scandinavica,* **178**, 141-153 (1965).
30. Saito, T., Inokuchi, K., Takayama, S. and Sugimura T.: Sequential morphological changes in MNNG carcinogensis in the glandular stomach of rats. *J. Natl. Cancer Inst.,* **44**, 769-783 (1970).
31. Saito, T., Sasaki, D., Tamada, R., Imamatasu, H. and Inokuchi, K.: Sequential studies of development of gastric carcinoma in dogs induced by MNNG. *Cancer,* **42**, 1246-1254 (1978).
32. Salmoff, I. M.: Cellular localization of group 1 pepsinogens in human gastric mucosa by immunofluorescence. *Gastroenterology,* **610**, 185-188 (1971).
33. Salmoff, I. M. and Liebman, W. M.: Cellular localization of the group pepsinogens in human sto-

mach and duodenum by immunofluorescence. *Gastroenterology*, **65**, 36-42 (1973).
34. Shirai, T., Takahashi, M., Fukushima, S., Tatematsu, H., Hirose, M. and Ito, N.,: Induction of preneoplastic neoplasia and carcinoma by MNNG form regenerated mucosa of ulcers induced by Iodoacetamid in fundus of rat stomach. *Gann.*, **69**, 361-366 (1978).
35. Sklar, L. S. and Anisman, M.: Stress and coping factors influence tumor growth. *Science.*, **205**, 513-515 (1979).
36. Stein-werblowsky, R.: An experimental study of gastric cancer in relation to gastric ulcer. *Gut*, **3**, 129-134 (1962).
37. Stewart. H. L., Snell, K. C., Morris, H. P., Wagner, B. P. and Ray, F. E.: Carcinoma of the glandular stomach of rats ingesting 2, 7-FAA. *J. Natl. Cencer Inst. Monogr.*, **5**, 105-139 (1961).
38. Sugimura, T. and Fujimura, S.: Tumor production in glandular stomach of rat by MNNG. *Nature*, **216**, 943-944 (1967).
39. Sugimura, T., Fujimura, S. and Baba, T.: Tumor Production in the Glandular Stomach and Alimentary of the Rat by MNNG. *Cancer Res.*, **30**, 455-465 (1970).
40. Takagi, K., Kasuya, Y. and Watanabe, K.: Studies on the drugs for peptic ulcer. A. reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 465-472 (1964).
41. Takahashi, M., Hasegawa, R., Furukawa, F., Toyock, K., Sato, H. and Hayashi, Y.: Effects of ethanol, potassium metabisulfite, formaldehyde and hydrogen peroxide on gastric carcinogensis in rats after initiation with MNNG. *Gann.*, **77**, 118-124 (1986).
42. Takahashi, M., Kokubo, T., Furukawa, F., Kurokawa, Y., Tatematsu, M. and Hayashi, Y.: Effects of fundic ulcers induced by iodoacetamide on development of gastric treated with MNNG. *Gann.*, **67**, 47-54 (1983).
43. Takahashi, M., Shirai, T., Fukushima, S. Ito, N., Kokubo, T., Furukawa, F. and Kurata, Y.: Ulcer formation and associated tumor production in multiple sites within the stomach and duodenm of rats treated with MNNG. *J. Natl. Cancer Inst.*, **67**, 473-479 (1981).
44. Tatemastu, M., Furihata, C., Hirose, M., Shirai, T., Ito, N., Nakajima, Y. and Sugimura, T.: Changes in pepsinogen isozymes in stomach cancers inuced in Wistar rats by MNNG and in transplantable gastric carcinoma (SG2B). *J. Natl. Cancer Inst.*, **58**, 1709-1716 (1977).
45. Tatemastu, M.: Histogenesis of tumors induced by chemicals: Glandular stomach. *Toxicol. forum*, **10 (5)**, 486-496 (1987a).
46. Tatemastu, M., Aoki, T., Inoue, T., Mutai, M., Furihata, C. and Ito, N.: Coefficient induction of pepsiongen 1-decreased pyloric gland and gastric cancers in five different strains of rats treated with MNNG. *Carcinogensis*, **9**, 495-498 (1988a).
47. Tatemastu, M., Furihata, C., Katsuyama, T., Mera, Y., Inoue, T., Matsushima, M. and Ito, N.: Immunohistochemical demonstration of pyloric glandtype cells with low-pepsinogen isozyme 1 preneoplastic and neoplastic tissues of rat stomachs treated with MNNG *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 771-777 (1987b).
48. Tatemastu, M., Furihata, C., Katsuyama, T., Hasegawa, R., Nakanowatari, J., Saito, D., Takahashi, M., Matsushima, T. and Ito, N.: Independent induction of intestinal metaplasia and gastric cancer in rats treated with MNNG *Cancer Res.*, **43**, 1335-1341 (1983).
49. Tatemastu, M., Katsuyama, T., Fukushima, S., Takahashi, M., Shirrai, T., Ito, N. and Nasu, T.: Mucin histochemistry be paradoxical concanavalin a staining in experimental gastric cancers induced in Wistar rats by MNNG or 4-NQO. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 835-843 (1980a).
50. Tatemastu, M., Katsuyama, T., Furihata, C., Tsuda, H. and Ito, N.: Stable intestinal phenotypic expression of gastric and small intestinal tumor cells induced by MNNG or Methylnitrosourea in rats. *Gann.*, **75**, 957-965 (1984).
51. Tatemastu, M., Mutai, M., Aoki, T., Camargo, J. L., Furihata, C. and Ito, N.: Proliferation kinectics of pepsinogen altered pyloric gland cells in rats with MNNG. *Carcinogenesis*, **10 (5)**, 907-911 (1989)
52. Tatemastu, M., Saito, D., Furihata, C., Miyata, Y., Nakatsuka, T., Ito, N. and Sugimura, T.: Initial DNA damage and heritable pyloric mucosae of rats after short-term administration of MNNG. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 774-781 (1980b).
53. Tatematsu, M., Takahashi, M., Fukushima, S., Hananouchi, M. and Shirai, T.: Effects in rats of sodium chlorde on experimental gastric cancers induced by MNNG or 4-NQO. *J. Natl. Cancer*

Inst., **55**, 101-106 (1975).
54. Tatematsu, M., Takahashi, M., Hananouchi, M., Shirai, T., hirose, M., Fukushima, S. and Ito, N: Protective effect of mucin on experimental gastric cancer induced by MNNG plus sodium chloride in rats. *Gann.*, **67**, 223-229 (1976).
55. Tatematsu, M., Tsuda, H. and Ito, N.: Detection of DNA replication by BrdU. *Toxicological Forum*, **11 (3)**, 269-278 (1988b).
56. Thunold, S. and Wetteland, P.: Ulcer-cacinoma of the stomach in a 10-year-biopsy series. *Acta. Pathol. Microbiol, Scand.*, **56**, 155-165 (1962).
57. Yabana T. and yachi A.: Stress-induced vascular damage and ulcer. *Dig. Dis. & Sci.*, **33**, 751-761 (1988).
58. Visintainer, M. A., Volpicalli, J. R. and Seligma, M. E.: Tumor rejection in rats after inescapable or escapable shock. *Science*, **216**, 437-439 (1983).
59. Zeitoun, P., Duclert, N. and Liautaud, F.: Intracellular localization of pepsiongen in guinea pig pyloric mucosa by immunohistochemistry. *Lab. Invest.*, **27**, 218-225 (1972).
60. 김용한, 이규섭, 이기호, 김매자, 권영호 : 위 질환의 장상피 화생에 대한 임상적 관찰. 대한소화기병학 잡지 제 19권 제 2호, 420-424(1987).
61. 박실무 : 소화성 궤양의 역학 및 병인론. 대한소화기병학잡지 제 20권 제 1호, 1-3(1988).
62. 맹광호 : 한국인 암발생 및 사망 지표 현황. 카토릭 암센터 論集, 5-13(1989).
63. 장영운, 김병호, 이정일, 박충기, 장린, 민영일, 박승준, 정주호, 정치창 : 속박과 침수로 유도된 흰쥐의 스트레스성 급성 위점막 병변 발생에 있어서 위산 분비의 역할. 대한 소화기병학잡지 제 21권 제 1호, 2228(1989).
64. 松創側夫・河内 章 : 胃癌 In : ヒトの癌と動物モデル. 1st ed. Oota, K., Yamamoto, T., Sugimura, T., Sugano, H. (ed.), 南江堂, 東京, pp. 124- 143 (1979).