

F344랫트를 이용한 다장기 발암모델에 나타난 Allyl Methyl Trisulfide와 Methyl Propyl Disulfide의 항발암효과

손화영, 강부현, 하창수, 노정구
한국화학연구소, 스크리닝-안전성연구센터

A Study of Anticarcinogenic Effects of Allyl Methyl Trisulfide and Methyl Propyl Disulfide on F344 Rats in a Rat Multi-organ Carcinogenesis Model

Hwa-Young Son, Boo-Hyon Kang, Chang-Su Ha, Jung-Koo Roh

Korea Research Institute of Chemical Technology, Screening & Toxicology Research Center

Abstract. The anticarcinogenic effects of allyl methyl trisulfide(AMT) and methyl propyl disulfide(MPD) were studied in a 28 weeks rat multi-organ carcinogenesis model. Tumor incidence rate was decreased by AMT or MPD treatment comparing with the positive control. AMT treatment significantly decreased the incidence of neoplastic and preneoplastic lesions in the kidney, thyroid gland, urinary bladder, alimentary tract, lung and Zymbal's gland. MPD also inhibited incidence of neoplastic and preneoplastic lesions in the liver, kidney, urinary bladder, alimentary tract, lung and Zymbal's gland but increased that in the thyroid gland. GST-p positive foci in the liver were slightly decreased by AMT or MPD. There was no significant histopathological lesions in AMT or MPD treated group without pretreatment of carcinogens.

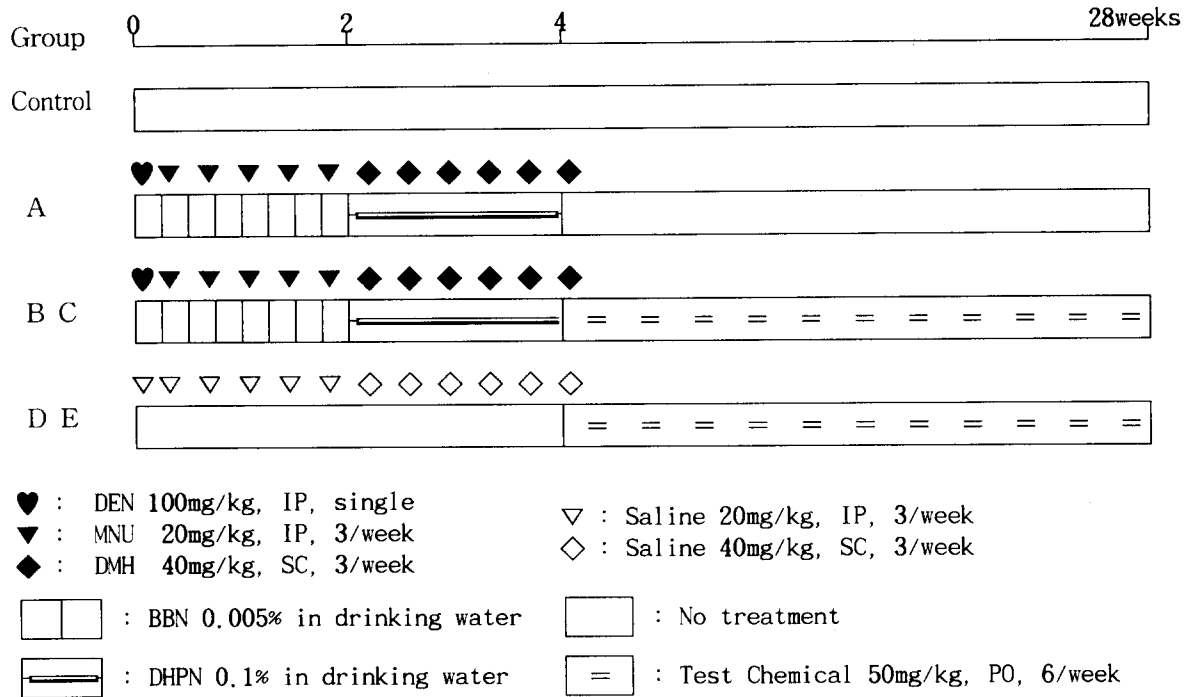
Key words : Allyl methyl trisulfide, methyl propyl disulfide, multi-organ carcinogenesis model, F344 rat

서 론

마늘(*Allium sativum*)은 오래전부터 향신료와 의약품으로 사용되어 왔으며, 이의 성분과 약효에 대하여 많은 연구가 이루어졌다. 마늘은 항발암, 살충, 항균, 항진균, 항고혈압, 항혈전, 항고혈당, 항동맥경화 등의 다양한 약리학적 작용을 가지고 있으며^{1,2,4,5,8,9,19} 항발암효과는 자연발생종양^{6,11}, transplantable tumor¹⁰, 화학적으로 유발된 종양^{3,14,15,16,18}에 모두 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 손상되지 않은 마늘은 무색, 무취, 수용성의 alline(S-allylcystein sulfoxide)를 함유하고 있으며, 이것은 마늘이 손상되었을 때 allinase에 의해 분해되어 휘발성의 유황 함유화합물인 allicin (diallyl thiosulfinate)이 형성된

다. 이 allicin은 매우 불안정하여 쉽게 분해되어 강한 냄새를 가진 마늘기름(garlic oil)으로 전환된다. 이들 마늘기름은 마늘중에 0.22±0.01%(w/w)가 함유되어 있으며, 이를 구성하는 주요 휘발성 화합물은 monosulfide, disulfide, trisulfide이다. 이 황화합물에 주로 함유되어 있는 성분은 diallyl trisulfide(DAT), diallyl disulfide(DADS), allyl methyl trisulfide(AMT), allyl methyl disulfide(AMD), diallyl sulfide(DAS), isobutyl isothiocyanate, dimethyl trisulfide(DMT), methyl allyl sulfide(MAS), dimethyl disulfide(DMDS), methyl propyl disulfide(MPD)등이며, 이외에도 28종이상의 성분을 함유하고 있다²¹. 또한 allicin은 여러가지 방법으로 분해가 일어나는 데 일례로 3분자의 allicin이 두 분자의 ajeone을 형성하며, 자가분해

Table 1. Multi-organ carcinogenesis model in a rat



하여 두 개의 isometric cyclic compound인 2-vinyl-4H-1,3-dithiin-3-vinyl-4H-1,2-dithiin을 형성한다. 이들 물질은 각각 그 성분에 따라 약효가 달라 항발암효과 또는 촉진효과를 보이며, 또한 장기에 따라서도 그 항발암효과가 다르게 나타나기 때문에 각 성분들이 각 장기에 따른 항발암효과 또는 발암촉진효과를 정확하게 알 필요가 있다.

본 시험에서는 Ito⁷이 고안한 중기다장기 발암모델을 시험방법으로 선택하였는데 이 방법의 장점은 발암물질의 표적장기를 비교적 쉽게 찾을 수 있고 기간도 비교적 적게 소요되는 점이다. 시험에 종양유발물질로 사용된 diethylnitrosamine(DEN)은 잘 알려진 간암유발물질이며, N-methylnitrosourea(MNU)는 갑상선, 방광, 유선 및 조혈계에 종양을 유발한다. N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN)은 식도와 전위의 종양발생을 증가시키며, dihydroxy-di-N-propylnitrosamine(DHPN)은 갑상선, 폐, 신장, 방광에 종양을 유발시키고, dimethylhydrazine(DMH)은 장관에 종양을 유발한다. 본 연구의 목적은 이들 시험물질을 투여하여 종양유발여건을 조성한 후에 마늘을 구성하고 있는 많은 성분들 중 간의 전암병변을 증가시키나 전위의 억제 효과가

가 밝혀진 AMT와 간의 전암병변 감소효과가 알려진 MPD에 대하여 다른 장기에서의 항발암효과가 어느 정도인지를 밝혀서 이들 성분들을 암예방에 활용할 수 있도록 하는데 있다.

재료 및 방법

공시동물

한국화학연구소 스크리닝-안전성연구센터의 차폐시설내에서 생산된 F344랫트로서 4주령 수컷 120마리를 입수하여 2주일 동안 순화기간을 둔 후 건강한 동물 94마리를 이용하였다.

사육환경

공시동물을 철망사육상자(410mm×220mm×200mm)에 3마리씩 배치하였고 동물의 사육환경은 온도가 23±3℃, 상대습도가 50±10%, 환기횟수가 시간당 13-18회였고, 조명이 150~300Lux하에서 12시간 조명하는 조건을 유지하였다.

Table 2. Abbreviation, unit, and analysis method of the hematology and serum chemistry

Item	Unit	Method
WBC (White blood cell)	$\times 10^3/\text{mm}^3$	Coulter S-880 electronics
RBC (Red blood cell)	$\times 10^3/\text{mm}^3$	Coulter S-880 electronics
HGB (Hemoglobin concentration)	g/dℓ	Cyanomethemoglobin
HCT (Hematocrit)	%	Calculated from MCV and RBC
MCV (Mean corpuscular volume)	fl	Coulter S-880 electronics
MCH (Mean corpuscular hemoglobin)	pg	Calculated from HGB and RBC
MCHC (Mean corpuscular hemoglobin concentration)	g/dℓ	Calculated from HGB and HCT
PLT (Platelet)	$\times 10^3/\text{mm}^3$	Coulter S-880 electronics
AST (Aspartate aminotransferase)	IU/ℓ	UV-Rate
ALT (Alanine aminotransferase)	IU/ℓ	UV-Rate
ALP (Alkaline phosphatase)	IU/ℓ	P-NPP
BUN (Blood urea nitrogen)	mg/dℓ	Urease-UV
CRE (Creatinine)	mg/dℓ	Jaffe
GLU (Glucose)	mg/dℓ	Enzyme
TCHO (Total cholesterol)	mg/dℓ	Enzyme
TG (Triglyceride)	mg/dℓ	Enzyme
TP (Total protein)	g/dℓ	Biuret
ALB (Albumin)	g/dℓ	BCG
TBIL (Total bilirubin)	mg/dℓ	Jendrassik-Cleghorn
Ca (Calcium)	mg/dℓ	OCPC
IP (Inorganic phosphorus)	mg/dℓ	Enzyme
CPK (Creatine kinase)	IU/ℓ	UV-Rate
PL (Phospholipid)	mg/dℓ	Enzyme
A/G (Albumin-globulin ratio)	ratio	ALB/(TP-ALB)
Na (Sodium)	mmol/ℓ	Flame photometer
K (Potassium)	mmol/ℓ	Flame photometer
Cl (Chloride)	mmol/ℓ	Flame photometer

사료와 음수

사료는 실험동물용 고품사료(제일사료주식회사)를 자유섭취하게 하였다. 음수는 상수도수를 자유섭취하게 하였다.

시험방법

Table 2에 의거하여 시행하였다. 즉, A군에는 발암물질을 4주간 투여한 후 28주까지 무처리 하였다. B군에는 발암물질을 4주간 투여한 후 AMT를 28주까지 투여하였으며, C군에는 발암물질을 4주간 투여한 후 MPD를 28주까지 투여하였다. D군에는 생리식염수를 4주간 투여한 후 AMT를 28주까지 투여하였으며, E군에는 생리식염수를 4주간 투여한 후 MPD를 28주까지 투여하였다. 대조군에는 아무 것도 처리하지 않았다.

시험항목

체중측정. 전 동물에 대하여 주 1회 체중을 측정하였다.

혈액채취 및 혈액학·혈액생화학적 검사. 랫트를 채혈 전에 약 12시간 동안 절식시킨 후 에테르로 마취하여 한국화학연구소 스크리닝-안전성 연구센터의 표준작업지침(standard operating procedure; SOP)에 따라 후대정맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액의 일부는 EDTA-2K로 처리된 병(CBC bottle, 녹십자)에 담아 응고를 방지하였고, 나머지는 혈액생화학적 검사를 위해 혈청분리용 플라스틱시험관(Iatron Lab. Inc., Japan)에 옮겨 담았다. 혈액학적 검사는 채혈 후 20분 이내에 Coulter S-880을 사용하여 실시하였으며, 일부는 감별계산을 위해 도말표본을 제작하는 데 사용하였다. 혈액생화학적 검사는

Table 3. Summary of absolute organ weights(g) of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Organ \ Group		Con	A	B	C	D	E
No. of rats		15	14	16	16	17	16
Liver	Mean	8.934	8.797	7.989**	7.908**	8.798	8.949
	SD	0.6685	1.0329	0.6920	0.5837	0.8614	0.4932
Kidney-Lt	Mean	1.044	1.127**	1.011	1.041	1.037	1.044
	SD	0.0614	0.0620	0.0873	0.0760	0.0703	0.0559
Kidney-Rt	Mean	1.050	1.213**	1.012	1.034	1.052	1.061
	SD	0.0692	0.2673	0.0867	0.0742	0.0724	0.0694
Pancreas	Mean	0.855	0.952	0.861	0.805	0.899	0.908
	SD	0.2763	0.2449	0.2280	0.1679	0.2573	0.2807
Urinary bladder	Mean	0.104	0.096	0.086	0.101	0.092	0.131
	SD	0.0256	0.0180	0.0136	0.0477	0.0175	0.1207
Kidney-Lt+Rt	Mean	2.094	2.340**	2.023	2.075	2.089	2.105
	SD	0.1265	0.2902	0.1705	0.1464	0.1385	0.1194

** : Significant difference from Con $p < 0.01$ Con : No treatment A : Carcinogens

B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide

D : Allyl methyl trisulfide E : Methyl propyl disulfide

채혈 후 30분 이내에 3000rpm으로 10분간 원심분리 한 후 분리된 혈청을 deep freezer(-80°C)에 보관하였다가 3개월 이내에 Clinalyzer(JCA-VX1000, Jeol Co.)로 실시하였고, Na, K 및 Cl은 전해질자동분석 장치(IL943 Flame photometer, Instrumentation Lab., USA)를 이용하여 측정하였다. 혈액 및 혈액 생화학적 검사의 방법과 단위는 Table 2과 같다.

부검. 랫트로부터 채혈이 끝난 후 랫트를 방혈치 사시켜 부검하였으며, 육안적으로 모든 장기를 검사하고, 고환과 부고환을 채취하여 Bouin용액에, 안구와 하더리안선을 채취하여 Davidson용액에 고정하였다. GST-p 양성 foci에 대한 면역조직화학적 염색을 위하여 간장의 좌엽, 중간엽, 우엽의 일부를 각 2-3mm 정도의 두께로 4°C 아세톤에 고정하였다. 그 밖에 피부, 뇌, 뇌하수체, 갑상선(부갑상선 포함), 대퇴골, 흉선, 폐, 기관, 심장, 흉골, 타액선, 간장, 비장, 신장, 부신, 췌장, 정낭선, 전립선, 골격근악하림프절, 식도, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 방광, 장간막림프절, 좌골신경, 척수, 혀, 대동맥을 채취하여 10% 중성완충 포르말린용액에 고정하였다.

장기중량 측정. 전 동물에 대해서 신장, 간장, 췌장, 방광의 중량을 측정하였다.

병리조직학 검사. 부검시에 전 동물로부터 채취한 상기조직에 대한 조직표본을 제작하여 H-E염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 간장의 경우는 GST-p foci를 ABC법으로 면역조직화학적 염색을 하여 숫자와 면적을 Immage analyzer(LA 500, PIAS, Japan)로 측정하였다.

통계처리

측정된 자료는 컴퓨터 프로그램인 LABCAT(Innovative Programming Associates, Inc., USA)에 자동적으로 저장되었으며, 이를 추출하여 Dunnett법을 사용하여 체중, 혈액학, 혈액생화학 검사치 및 장기중량에 대하여 군간 유의성을 검정하였다. GST-p foci의 수와 면적의 군간 유의성은 SAS(SAS Institute, Inc., Cary, N.C.) 통계처리용 프로그램으로 Dunnett법을 사용하여 검정하였다.

Table 4. Summary of final body and relative organ weights(g) of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Organ \ Group		Con	A	B	C	D	E
No. of rats		15	14	16	16	17	16
Body weight	Mean	364.8	349.9	289.8**	316.2	354.3	389.2
	SD	17.99	12.35	31.82	18.14	20.29	25.83
Liver	Mean	2.448	2.518	2.808*	2.500	2.485	2.409
	SD	0.1143	0.3228	0.5730	0.0732	0.1901	0.3767
Kidney-Lt	Mean	0.287	0.322**	0.351**	0.329**	0.293	0.281
	SD	0.0137	0.0160	0.0317	0.0164	0.0173	0.0444
Kidney-Rt	Mean	0.288	0.347**	0.352**	0.327*	0.297	0.285
	SD	0.0148	0.0769	0.0357	0.0156	0.0160	0.0449
Pancreas	Mean	0.235	0.273	0.303	0.255	0.255	0.244
	SD	0.0773	0.0734	0.0926	0.0565	0.0751	0.0851
Urinary bladder	Mean	0.028	0.027	0.030	0.032	0.026	0.036
	SD	0.0067	0.0048	0.0075	0.0158	0.0043	0.0344
Kidney-Lt+Rt	Mean	0.574	0.669**	0.703**	0.656**	0.590	0.567
	SD	0.0266	0.0829	0.0666	0.0302	0.0318	0.0887

* : Significant difference from Con $p < 0.05$ ** : Significant difference from Con $p < 0.01$

Con : No treatment A : Carcinogens B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide

C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide D : Allyl methyl trisulfide

E : Methyl propyl disulfide

결 과

체중(Table 4)

최종 부검시 동물의 체중은 대조군에 비해 B군에서 유의성 있게 감소하였으며, A, C군에서는 약간 감소하였으나 유의성이 있는 정도는 아니었다. E군에서는 대조군에 비해 체중의 증가를 약간 보였으나 유의성은 없었다.

장기중량(Table 3, 4)

A군에서는 신장의 절대중량이 유의성 있게 증가하였으며, B군과 C군에서는 간장과 신장의 체중에 대한 상대중량이 유의성 있게 증가하였으나 D군과 E군에서는 유의성 있는 변화가 없었다.

혈액학적 검사(Table 5, 6)

A군에서는 호중구가 유의성 있게 증가하였으며, B군에서는 RBC, HGB, HCT, MCHC가 유의성 있게 감소하였으나 C군, D군과 E군에서는 별 변화가 없었다.

혈액생화학적 검사(Table 7)

A군에서는 ALT가 유의성 있게 증가하였으며, TCHO, TP, ALB, 및 PL이 유의성 있게 감소하였다. B군에서는 ALT가 유의성 있게 증가하였으며, TCHO, TP, 및 PL이 유의성 있게 감소하였다. C군에서는 ALT가 유의성 있게 증가하였으며, TCHO가 유의성 있게 감소하였다. D군과 E군에서는 별 변화가 없었다.

병리조직학적 검사(Table 8, 9)

병리학적 검사에서 대조군에서는 증식성 병변이 전혀 관찰되지 않았다.

A군에서는 간장에서 clear cell foci 9례, eosinophilic foci 2례, basophilic foci 3례, hepatocellular hyperplasia 1례, hepatocellular adenoma 1례 및 cholangiofibrosis 등이 관찰되었다. 하더리안선에서 hyperplasia 1례, 고환에서 mesothelial hyperplasia 2례, mesothelioma 2례, 방광에서 transitional cell hyperplasia 3례, 신장에서 tubular cell hyperplasia 4례, tubular cell adenoma 1례, transitional cell

Table 5. Summary of hematological values of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Group/Item		WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
Con	Mean	5.22	8.98	16.06	46.86	52.20	17.88	34.28	767
	SD	1.134	0.553	0.817	2.084	2.038	0.371	0.785	99.8
A	Mean	6.18	8.43	14.78	43.28	51.50	17.57	34.15	935
	SD	2.905	1.048	1.731	4.794	1.905	0.472	1.345	335.5
B	Mean	5.65	7.88**	13.87**	41.95**	53.14	17.51	32.97**	904
	SD	1.457	1.229	2.470	6.843	1.689	0.681	1.479	295.1
C	Mean	4.93	8.48	14.88	44.17	52.18	17.55	33.67	802
	SD	0.806	0.755	1.321	3.478	1.251	0.203	0.778	134.7
D	Mean	5.70	8.91	15.96	47.47	53.27	17.91	33.63	866
	SD	0.989	0.291	0.471	1.697	0.674	0.283	0.486	61.1
E	Mean	5.20	9.10	16.25	47.73	52.42	17.84	34.05	826
	SD	1.570	0.299	0.714	1.827	0.437	0.361	0.687	59.8

** : Significant difference from Con p<0.01 Con : No treatment A : Carcinogens
 B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide
 D : Allyl methyl trisulfide E : Methyl propyl disulfide

carcinoma 1례, mesenchymal tumor 4례가 발생하였다. 비장에서 stromal hyperplasia 2례, 갑상선에서 C-cell adenoma 1례, follicular cell hyperplasia 4례, follicular cell adenoma 3례, 식도에서 papilloma 1례, 폐에서 alveolar-bronchiolar hyperplasia 11례, alveolar-bronchiolar adenoma 3례, 혀에서 papilloma 1례, 십이지장에서 mucosa의 hyperplasia 1례, adenocarcinoma 2례, 공장에서 mucosa의 hyperplasia 1례, 결장에서 mucosa의 hyperplasia 2례가 관찰되었다. 그 밖에 Zymbal's gland에서 Zymbal's gland carcinoma 3례가 관찰되었다.

B군에서는 간장에서 clear cell foci 13례, eosinophilic foci 1례, basophilic foci 1례, hepatocellular hyperplasia 1례 및 bile duct hyperplasia, cholangiofibrosis등이 관찰되었다. 하더리안선에서 hyperplasia 1례, 고환에서 mesothelial hyperplasia 1례, 방광에서 transitional cell hyperplasia 1례, 신장에서 tubular cell hyperplasia 7례, mesenchymal tumor 2례가 발생하였다. 부신에서 cortical hyperplasia가 1례, 갑상선에서 C-cell hyperplasia 2례, follicular cell hyperplasia 6례, parathyroid gland adenoma 1례, 식도에서 papilloma 1례, 뇌하수체에서 pars distalis의 hyperplasia 1례, 폐에서 alveolar-bronchiolar

hyperplasia 15례, alveolar-bronchiolar adenoma 1례, 근위에서 basal cell hyperplasia 1례, 십이지장에서 adenoma 1례, 공장에서 adenocarcinoma 1례, 회장에서 mucosa의 hyperplasia 1례가 관찰되었다. 그 밖에 횡격막에서 rhabdomyosarcoma 1례와 Zymbal's gland에서 Zymbal's gland carcinoma 1례가 관찰되었다.

C군에서는 간장에서 clear cell foci 12례, eosinophilic foci 1례, basophilic foci 2례, hepatocellular hyperplasia 1례 및 cholangiofibrosis, biliary cyst등이 관찰되었다. 하더리안선에서는 hyperplasia 3례, 고환에서 mesothelial hyperplasia 3례, mesothelioma 1례, 방광에서 transitional cell hyperplasia 1례, 신장에서 tubular cell hyperplasia 5례, mesenchymal cell hyperplasia 2례가 발생하였다. 비장에서 stromal hyperplasia 1례, red pulp hyperplasia 1례, 부신에서 cortical hyperplasia 2례, 갑상선에서 follicular cell hyperplasia 6례, follicular cell adenoma 3례, follicular cell carcinoma 1례, parathyroid gland adenoma 1례, 뇌하수체에서 pars distalis의 hyperplasia 1례, 폐에서 alveolar-bronchiolar hyperplasia 12례, alveolar-bronchiolar adenoma 1례, 십이지장에서 adenocarcinoma 1례가 관찰되었다. 그 밖의 장기에서는 Zymbal's gland에서 Zymbal's gland carcinoma 1례가 관찰되었다.

Table 6. Summary of differential count of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Group/Item		Neutrophils	Eosinophils	Basophils	Lymphocytes	Monocytes
Con	Mean	1.25	0.07	0.00	3.77	0.12
	SD	0.472	0.065	0.000	0.850	0.204
A	Mean	2.08*	0.13	0.00	3.89	0.08
	SD	1.468	0.216	0.000	1.334	0.189
B	Mean	1.70	0.04	0.22	3.58	0.11
	SD	0.754	0.049	0.868	1.328	0.109
C	Mean	1.40	0.10	0.00	3.34	0.07
	SD	0.361	0.061	0.000	0.646	0.091
D	Mean	1.37	0.12	0.00	4.08	0.14
	SD	0.439	0.072	0.000	0.916	0.097
E	Mean	1.33	0.10	0.00	3.67	0.10
	SD	0.499	0.079	0.000	1.192	0.073

* : Significant difference from Con p<0.05 Con : No treatment A : Carcinogens B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide
C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide D : Allyl methyl trisulfide E : Methyl propyl disulfide

Table 7. Summary of serum chemistry values of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Group/Items		AST	ALT	ALP	BUN	CRE	GLU	TCHO	TG	TP
Con	Mean	119.64	88.60	196.49	17.43	0.78	158.26	76.68	141.01	7.23
	SD	25.426	19.902	28.640	1.805	0.061	23.020	9.408	31.171	0.200
A	Mean	142.73	93.15	233.80*	18.09	0.77	152.79	63.91**	135.98	6.77**
	SD	45.409	37.484	37.881	2.056	0.047	23.216	10.715	68.151	0.324
B	Mean	124.98	74.13	243.39**	18.29	0.75	145.26	65.10**	125.50	6.85**
	SD	31.259	17.044	39.004	2.131	0.059	19.303	7.703	47.256	0.532
C	Mean	150.97	88.84	242.05**	19.01	0.76	154.05	67.53*	108.52	6.99
	SD	47.471	22.075	27.112	2.640	0.055	21.968	8.253	30.438	0.240
D	Mean	103.61	74.34	195.10	17.29	0.77	157.58	68.15	126.15	7.31
	SD	23.451	25.560	43.568	1.701	0.056	20.727	10.712	28.602	0.224
E	Mean	111.84	89.78	205.41	18.06	0.78	167.85	78.83	132.99	7.29
	SD	36.280	43.031	42.148	0.865	0.057	27.887	9.864	39.152	0.221

Group/Items		ALB	TBIL	CA	IP	CPK	PL	A/G	NA	K	Cl
Con	Mean	4.85	0.35	10.13	5.96	149.28	150.75	2.04	138.0	5.02	100.0
	SD	0.170	0.117	0.776	1.010	55.601	14.997	0.142	1.65	1.198	1.46
A	Mean	4.52**	0.36	9.88	5.86	140.11	135.58*	2.03	138.8	4.60	100.7
	SD	0.278	0.089	0.276	0.859	62.912	19.361	0.190	1.42	0.946	1.27
B	Mean	4.63	0.37	9.93	6.22	171.26	136.16*	2.09	138.0	5.19	100.9
	SD	0.454	0.123	0.279	0.949	79.863	14.085	0.224	2.17	0.974	1.49
C	Mean	4.72	0.35	10.02	5.97	141.61	137.15	2.09	137.9	4.67	100.3
	SD	0.184	0.097	0.441	0.973	56.385	10.411	0.110	2.39	1.170	1.27
D	Mean	4.90	0.38	10.18	6.19	143.02	137.97	2.04	137.5	4.82	99.9
	SD	0.145	0.115	0.344	0.760	65.334	17.495	0.075	2.34	1.108	1.24
E	Mean	4.91	0.36	10.32	6.04	118.91	152.26	2.07	137.6	4.93	99.7
	SD	0.151	0.110	0.482	0.913	28.377	17.126	0.148	2.70	1.341	1.36

* : Significant difference from Con p<0.05 ** : Significant difference from Con p<0.01

Con : No treatment A : Carcinogens B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide

C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide D : Allyl methyl trisulfide E : Methyl propyl disulfide

Table 8. Proliferative lesions of F344 rats observed in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Group: Number of rats: Number of lesion(#) and percentage(%)	Con 15		A 14		B 16		C 16		D 17		E 16	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
LIVER												
Clear cell foci	0	0.0	9	64.0	13	81.0	12	75.0	0	0.0	0	0.0
Eosinophilic foci	0	0.0	2	14.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
Basophilic foci	0	0.0	3	21.0	1	6.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0
Hepatocellular hyperplasia	0	0.0	1	7.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
Hepatocellular adenoma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Cholangiofibrosis	0	0.0	1	7.0	2	13.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0
Bile duct hyperplasia	0	0.0	2	14.0	4	25.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
HARDERIAN GLAND												
Hyperplasia	0	0.0	1	7.0	1	7.0	3	19.0	0	0.0	0	0.0
TESTIS												
Mesothelial hyperplasia	0	0.0	2	14.0	1	6.0	3	19.0	0	0.0	0	0.0
Mesothelioma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
URINARY BLADDER												
Transitional cell hyperplasia	0	0.0	3	21.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
KIDNEY												
Tubular cell hyperplasia	0	0.0	4	29.0	7	44.0	5	31.0	0	0.0	0	0.0
Tubular cell adenoma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Transitional cell carcinoma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Mesenchymal cell hyperplasia	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0
Mesenchymal tumor	0	0.0	3	21.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
SPLEEN												
Red pulp hyperplasia	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
Stromal hyperplasia	0	0.0	2	14.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
Fibrosis/capsule	0	0.0	1	7.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
ADRENAL GLAND												
Cortical hyperplasia	0	0.0	0	0.0	1	6.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0
THYROID GLAND												
C-cell hyperplasia	0	0.0	0	0.0	2	13.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
C-cell adenoma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Follicular cell hyperplasia	0	0.0	4	29.0	6	38.0	6	38.0	0	0.0	0	0.0
Follicular cell adenoma	0	0.0	3	21.0	0	0.0	3	19.0	0	0.0	0	0.0
Follicular cell carcinoma	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
Adenoma/parathyroid	0	0.0	0	0.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
PITUITARY GLAND												
Hyperplasia/pars distalis	0	0.0	0	0.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
LUNG												
Alveolar-bronchiolar hyperplasia	0	0.0	11	79.0	15	94.0	12	75.0	0	0.0	0	0.0
Alveolar-bronchiolar adenoma	0	0.0	3	21.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
FEMUR												
Myeloid hyperplasia	0	0.0	2	14.0	2	13.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
STERNUM												
Myeloid hyperplasia	0	0.0	2	14.0	2	13.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
TONGUE												
Papilloma	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
ESOPHAGUS												
Papilloma	0	0.0	1	7.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
STOMACH												
Basal cell hyperplasia/forestomach	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
DUODENUM												
Atypical hyperplasia/mucosa	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Adenoma	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Adenocarcinoma	0	0.0	2	14.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0
JEJUNUM												
Atypical hyperplasia/mucosa	0	0.0	1	7.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Adenocarcinoma	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
ILEUM												
Atypical hyperplasia/mucosa	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
COLON												
Atypical hyperplasia/mucosa	0	0.0	2	14.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
DIAPHRAGM												
Rhabdomyosarcoma	0	0.0	0	0.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
SUBCUTANEOUS MASS												
Zymbal's gland carcinoma	0	0.0	3	21.0	1	6.0	1	6.0	0	0.0	0	0.0

Con : No treatment

A : Carcinogens

B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide

C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide

D : Allyl methyl trisulfide

E : Methyl propyl disulfide

Table 9. Summary of tumor incidence of F344 rats in the study using a rat multi-organ carcinogenesis model

Item \ Group	Con	A	B	C	D	E
Total rats/group	15	14	16	16	17	16
Total primary tumors	0	21	10	9	0	0
Total rats with tumors	0	11	7	5	0	0
Total rats with multiple tumors	0	7	3	4	0	0
Total benign tumors	0	14	7	6	0	0
Total malignant tumors	0	7	3	3	0	0
Total malignant with metastasis	0	0	0	0	0	0

Con : No treatment A : Carcinogens B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide

C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide D : Allyl methyl trisulfide E : Methyl propyl disulfide

Table 10. Numbers and areas of GST-p positive foci in liver of F344 rats

Groups	No. of rats	GST-p positive foci	
		No./Cm ²	Area(mm ² /Cm ²)
Con	15	0.47±0.743	0.010±0.0016
A	14	23.57±6.734	0.136±0.0785
B	16	20.69±6.478	0.108±0.0355
C	16	20.38±6.602	0.113±0.0579
D	17	0.65±0.812	0.011±0.0037
E	16	0.53±0.734	0.009±0.0065

Each value is mean±SD Con : No treatment

A : Carcinogens

B : Carcinogens+Allyl methyl trisulfide

C : Carcinogens+Methyl propyl disulfide

D : Allyl methyl trisulfide

E : Methyl propyl disulfide

D군과 E군에서는 대조군에서와 마찬가지로 증식성 병변이 관찰되지 않았다.

종양의 발생률은 A군에서 14마리 중 21례(양성 14례, 악성 7례)가 발생하여 150%, B군은 16마리중 10례(양성 7례, 악성 3례)로 62.5%, C군은 16마리 중 9례(양성 6례, 악성 3례)로 56.3%의 발생률을 나타내었다. 두 종류 이상의 종양이 발생한 종물은 A군 7마리, B군은 3마리 C군은 4마리였다. D군과 E군에서는 종양이 한례도 발생하지 않았다.

GST-p 양성 foci의 수 및 면적(Table 10)

간에서 GST-p 양성 foci는 대조군에서는 소수가 관찰되었으며, 대조군에 비해 A, B 및 C군은 유의성있는 증가를 보였고 D와 E군에서는 유의성이 인정되지 않았다. A군에 비해 B군, C군은 약간 감소

하였으나 유의성은 없었다

고 찰

본 연구에서 체중이 B군에서 유의성 있는 감소를 보였으며, A군, C군에서도 약간 감소를 보였는데 이것은 발암물질에 의한 영향이라고 판단된다(Table 4). 마늘이 발육에 미치는 영향에 관하여 강등²²이 DADS와 DMDS투여에 의한 체중의 증가를 관찰한 바 있으며, Nakagawa¹³은 어린 랫트에 생마늘의 지속적인 투여가 체중감소와 성장장애를 유발한다고 한바 있으나 본 시험에 사용된 AMT와 MPD는 발육에 미치는 영향이 적었다고 사료된다.

장기중량측정 검사에서는 A군, B군 및 C군에서 신장의 상대중량의 유의성 있는 증가는 현미경적 소견에서 관찰된 병변발생의 증가와 더불어 고려할 때, 이들 장기에 형성된 병변의 영향으로 해석된다. A군에서는 약간 증가하였으며, B군에서 유의성 있는 증가를 나타낸 간장의 중량도 간장에 형성된 병변의 영향으로 해석된다(Table 3,4).

혈액학적 검사에서 B군의 경우 RBC, HGB, HCT 및 MCHC의 감소가 관찰되어 AMT는 적혈구에 영향을 주는 것으로 나타났으나 AMT단독 투여군에서는 영향이 없어 발암물질과 상호작용에 의해 나타난 것으로 사료된다. A군에서 백혈구 감별계산에서 호중구의 유의성 있는 증가가 관찰되었는데 이 변화는 일부 종양이 발생된 동물에서 종양부위에 염증세포의 침윤과 골수에 myeloid cell의 증식이 조직표본에서 관찰되었던 바 종양세포의 괴사로 인한 염증반응과 관련된 결과로 사료된다. 다른 혈액학적 검사 항목에서는 변화가 인정되지 않았다

(Table 5, 6).

혈액생화학적 검사에서 A군, B군과 C군에서 ALT가 증가하여 이 시험물질들이 간장에 병변을 유발시켰음을 시사하였다. 또한 cholesterol이 A군, B군, C군에서 감소하였으나 D군(AMT단독투여군) 또는 E군(MPD단독투여군)에서는 변화가 없어 AMT 또는 MPD에 의한 영향은 아니며, 발암물질에 의한 변화로 사료된다. 그외에 A군, B군과 C군에서 대조군에 비해 TP, ALB 및 PL치의 감소가 나타났다. 그러나 A군과 비교해 볼 때 B군, C군에서의 변화가 적고, D군(AMT단독투여군) 또는 E군(MPD 단독투여군)에서도 변화가 없어 이는 AMT 또는 MPD에 의한 영향은 아니며, 발암물질에 의한 변화로 사료된다(Table 7).

병리학적 검사(Table 8, 10)에서 간장에서는 종양의 발생이 A군에서만 1례가 관찰되어 이들 물질의 간장에 대한 항발암효과를 판정하는 데 어려움이 있었다. MPD투여에 의해 종양 및 전암성 병변의 발생이 약간 감소하였으며, AMT투여에 의해서는 별로 변화가 관찰되지 않았다. GST-p 양성 foci의 수는 AMT 또는 MPD투여에 의해서 약간 감소하였으나 유의성이 있는 정도는 아니었다. Takada²⁰은 랫트의 간에서 diethylnitrosamine으로 유발된 GST-p foci가 AMT에 의해 증가되었으며, MPD에 의해서는 감소하였음을 보고한 바 있다. Matsuda¹²도 MPD가 F344 랫트에서 용량상관성 있게 GST-p foci를 감소시킴을 보고하였다. 본 연구에서는 MPD에 의해 미약하나마 감소를 나타내어 유사한 결과를 얻었다. 그러나 AMT투여에 의해서는 확실한 증가효과가 관찰되지 않아 Takada²⁰의 보고와 다소 차이를 나타내었다. 이는 시험방법, 투여용량, 시험기간 등의 차이에 따른 것으로 사료되며, 이를 명확히 하기 위해서는 좀 더 연구가 필요하다고 생각된다. 고환에서는 AMT에 의해 mesothelial hyperplasia 또는 mesothelioma가 약간 감소하였으나 MPD에 의해서는 별 변화가 없었는데 종양의 발생이 적어 이들 물질의 고환종양에 대한 항발암효과를 판단하는 데는 어려움이 있다. 방광에서는 AMT 또는 MPD에 의해 방광종양이 모두 감소를 나타내어 방광의 종양을 억제하는 작용이 있음을 시사하였다. 신장에서는 종양의 발생이 A군 5례, AMT투여군 2례, MPD투여군 0례로 그 발생이 감소하여 이들 물질이 신장의 종양발생을 억제함을 알 수 있었다. 갑상선 종양은 AMT투여군이 발암물

질투여군의 4례에 비해 1례로 현저히 감소하여 억제되었으며, MPD투여군은 5례로 발암물질투여군에 비해 약간 증가하였다. 폐장에서는 AMT에 의해서는 변화가 없었으나 MPD에 의해서는 전암병변이나 종양의 발생이 약간 감소하였다. Spanin¹⁷이 보고한 바에 따르면 폐장에서는 sulfur atom이 하나 또는 2개인 DAS와 AMD는 폐장종양을 억제하였으며, 3개인 DAT와 AMT는 그렇지 못하다고 하여 본 시험의 결과와 일치하였다. 위장관에서는 발암물질투여군의 종양발생이 57.1%인 것에 비해 AMT에 의해서는 종양의 발생이 25%로, MPD에 의해서도 6.3%로 현저한 감소를 보였다. 그러나 소화기의 각 장기에 대한 종양의 억제효과는 발생례가 적어 확실히 밝히기가 어려웠으나, 십이지장과 결장에서 억제효과가 높게 나타났다. Spanin¹⁷에 의하면 암컷 A/J 마우스에 benzo(a)pyrene을 투여하여 유발한 전위종양이 96시간 또는 48시간 전에 투여한 AMT, AMD, DAT, DAS에 의해 억제되었으며, allyl기를 propyl기로 대체한 경우에는 효과가 없다고 하여 allyl기가 발암억제에 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 두 개의 allyl기를 가진 DAT가 한 개의 allyl기를 가진 AMT보다 효과가 높게 나타났다고 하였다. 그러나 본시험에서는 위의 종양발생이 관찰되지 않아 이들의 보고와 비교할 수가 없었다.

그 이외의 장기에 대해서는 Zymbal's 선의 종양이 AMT와 MPD에 의해 모두 감소하였으며, B군(AMT투여군)에서 횡격막에 종양이 발생하였으나 발생례가 적어 원인을 판단하기에는 어려움이 있다.

전체적인 종양의 발생율은 A군이 14마리중 21례(150%), B군이 16마리중 9례(56.3%), C군이 16마리중 9례(56.3%)를 나타내었다. 악성종양은 A군에서 7례, B군에서 3례, C군에서 3례가 발생하였으나 전이는 관찰되지 않았다. 대조군, D군 및 E군에서는 종양이 1례도 발생하지 않았다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 AMT투여에 의해 특정장기에 대한 종양발생의 증가가 관찰되지 않았으며, 전체적으로 종양의 발생이 현저히 감소하였고, 특히 신장, 방광, 갑상선, 소화기의 종양이 감소한 것으로 보아 이들 장기에 대한 항발암효과가 있는 것으로 사료된다. 또한 MPD투여에 의해서도 전체적으로 종양의 발생이 현저히 감소하였으며, 특히 간, 방광, 신장, 폐, 소화기의 종양이 감소하여 이들 장기에 대한 항발암효과가 있는 것으로 나타났다. 반면, MPD투여로 갑상선에서 전암병변이나 종양의 발생이 증가하여 MPD

가 갑상선에 어느정도 발암촉진 효과를 가지고 있는 것으로 사료된다. 그외에 고환, 비장, 부신, 하더리안선 등의 장기에도 영향이 나타났으나 발생례가 적어 그 영향을 판단하기에는 어려움이 있다.

AMT와 MPD에 대한 연구가 많이 이루어지지 않아 다른 연구자들과 결과를 비교할 수는 없지만 앞으로 본 시험의 결과가 마늘 성분에 대한 항발암효과 검색에 중요한 참고자료가 될 것으로 기대된다. 본 연구에서 중앙발생이 많지 않은 장기에 대해서는 항발암효과를 확인하기에 어려움이 있었는데 시험에 이용되는 동물의 수를 대폭 증가시키므로써 그 어려움을 해소할 수 있을 것으로 사료되며, 발암 유발물질의 투여량, 투여기간, 시험기간 등을 적절하게 조절한다면 여러가지 물질의 발암성 또는 항발암성을 검색하는 데 본 연구에서 이용한 다장기 발암모델이 매우 유용하리라고 생각한다.

참 고 문 헌

- Adetumbi MA, Lau BHS, *Allium Sativum* (Garlic)-A Natural Antibiotic. Medical Hypotheses 12:227-237. 1983.
- Amer M, Taha M, et al. The effect of aqueous garlic extract on the growth of dermatophytes. Int. J. Dermatology 19:285-287. 1980.
- Belman S. Onion and garlic oils inhibit tumor promotion. Carcinogenesis 4(8):1063-1065. 1983.
- Bordia A, Verma SK. Effect of garlic feeding on regression of experimental atherosclerosis in rabbits. Artery 7:428-437. 1980.
- Fromtling RA, Bulmer GS. In vitro effect of aqueous extract of garlic(*Allium sativum*) on the growth and viability of Cryptococcus neoformans. Mycologia 70:397-405. 1978.
- Horwitz N. Garlic as a plant du jour: Chinese study finds it could prevent G.I. cancer. Medical Tribune, August 12. 1981.
- Ito N, Imaida K, et al. Wide-spectrum initiation models : possible applications to medium-term multiple organ bioassays for carcinogenesis modifiers. Jpn J Cancer Res(Gann) 79:413-417. 1988.
- Jain RC. Effect of alcoholic extract of garlic in atherosclerosis. Am J Clin Nutr 31:1982-1983. 1973.
- Jain RC, Vyas CR. Garlic in alloxan induced diabetic rabbits. Am J Clin Nutr 28:684-685. 1975.
- Kimura Y, Yamamoto K. Cytological effect of chemicals on tumors. Influence of crude extracts from garlic and some related species on MTK-sarcoma III. Gann 55:325-329. 1964.
- Kroning F. Garlic as an inhibitor for spontaneous tumors in mice. Acta Unio Inter Contra Cancrum 20:855-856. 1964.
- Matsuda T, Takada N, et al. Dose-dependent inhibition of glutathion s-transferase placental form-positive hepatocellular foci induction in the rat by methyl propyl disulfide and propylene sulfide from garlic and onions. Cancer Lett. 86(2):229-234, 1994.
- Nakagawa S, Masamoto K, et al. Effect of raw and extracted-aged garlic juice on growth of young rats and their organs after peroral administration. J Toxicol Sci 5:91-112. 1980.
- Nishino H, Iwashima A, et al. Antitumor -Promoting Activity of Garlic Extracts. Oncology 46:277-280. 1989.
- Rao AR, Sadhana AS, et al. Inhibition of skin tumors in DMBA-induced complete carcinogenesis system in mice by garlic(*Allium sativum*). Indian of Exp Biol 28:405-408. 1990.
- Slaga TJ, Bracken WM. The effects of antioxidants on skin tumor initiation and aryl hydrocarbon hydroxylase. Cancer Res 37:1631-1635. 1977.
- Spanin VL, Mott AW, et al. Effects of Allyl methyl trisulfide on glutathione s-transferase activity and BP-induced neoplasia in the mouse. Nutr Cancer 8:211-215. 1986.
- Sumiyoshi H, Wargovich MJ. Chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in mice by naturally occurring organic sulfur

- compounds. *Cancer Res* **50**:5084-5087. 1990.
- 19 Tadi PP. Anticarcinogenic, antitumor, and antifungal properties of *Allium Stivum*. *Diss Abstr Int B* **52**(8):4144. 1992.
- 20 Takada N, Matsuda T, et al. Enhancement by organosulfur compounds from garkic and onions of diethylnitrosamine-induced glutathione s-transferase positive foci in the rat liver. *Cancer Res.* **54**(11):2985-2899, 1994.
- 21 Yu TH, Wu CM, et al. Volatile compounds from garlic. *J Agric Food Chem* **37**:725-730. 1989.
- 22 강부현, 손화영, et al. 다장기 발암모델을 이용한 dimethyl disulfide와 diallyl disulfide의 항발암효과. *한국수의병리학회지* **1**(1):13-25, 1997.