

# 신생기 생쥐에서 합성 에스트로젠 제재로 유발되는 자궁경관 및 질선증에 대한 레티놀 아세테이트의 효과

가톨릭대학의학부 산부인과학교실

안웅식 · 한상균 · 남궁성은 · 송승규 · 이현영 · 김승조

## =Abstract=

### Effect of Retinol Acetate on Adenosis of Vaginal and Cervical Epithelium induced by Early Neonatal Treatment with Diethylstilbestrol(DES) in Mice

Woong Shick Ahn, Sang Gyun Han, Seung Ewn Namkung, Seung Kyu Song, Hyun Young Lee,  
Seung Jo Kim

*Department of Obstetrics and Gynecology, Catholic University Medical College, Seoul, Korea*

Prevention by retinol acetate of the occurrence of diethylstilbestrol(DES) induced persistent vaginal and uterine changes was studied in neonatal ICR strain mice. The mice were divided into six groups. DES injected group received five daily injections of  $20\mu\text{g}$  DES alone from the day of birth.

In the DES plus retinol acetate-injected groups, daily injections of  $20\mu\text{g}$  DES together with 100 I.U. or 200 I.U. retinol acetate were given to mice for 5 days from the day of birth respectively.

Another group of mice was first given daily injections of  $20\mu\text{g}$  DES for 5 days from the day of birth and then given five daily injections of 200 I.U. retinol acetate from 15th postnatal day.

In addition, daily injections of 200 I.U. retinol acetate only and of 0.02ml sesame oil only were given to mice for 5 days from the day of birth respectively.

The mice were sacrificed at 5 days, 30 days, and 120 days separately. Histological observation was made on vaginae and uteri. Cells at metaphase per 500 basal cells were calculated in two sections of each of the cranial and caudal portions of the vaginal epithelium and in section of uterine epithelium. Number of cell layers of the vaginal and uterine epithelium was counted. The occurrence of the atypical epithelial change such as adenosis, adenosis-like lesion and keratinization was also examined.

The results were as follows:

1) In the 120-day-old mice receiving neonatal DES injection, the occurrence of adenosis significantly increased( $P<0.001$ ) compared with neonatally DES-injected, 5-day-old or 30-day-old mice.

2) In the DES plus retinol acetate-injected groups, the occurrence of adenosis significantly decreased( $P<0.01$ ), and 1000I.U.(200I.U./day) retinol acetate-injected group had more blocking trend on the occurrence

of adenosis compared with 500I.U.(100I.U./day) retinol acetate-injected group.

3) In the 30-day-old mice of DES plus retinol acetate-injected groups, the mitotic rate significantly increased( $P<0.05$ ) compared with 30-day-old mice of DES-injected group, whereas in DES plus retinol acetate-injected mice aged 120 days, the mitotic rate significantly decreased( $P<0.05$ ) compared with DES-injected mice aged 120 days.

The mitotic rate was more significantly decreased in the injection of DES together with 1000I.U.(200I.U./day) retinol acetate( $P<0.001$ ) than that of DES together with 500I.U.(100I.U./day) retinol acetate among mice aged 120 days.

4) There was no difference of the number of cell layers in both cranial and caudal portions of vaginal epithelium between DES plus retinol acetate injected mice aged 30 days and DES-injected mice aged 30 days.

In the 120-day-old mice, DES plus retinol acetate-injected group showed a significant decrease of the number of cell layers in both cranial and caudal portions of vaginal epithelium( $P<0.001$ ) compared with DES-injected group.

5) Two groups which had received injections either of 1000I.U.(200I.U./day) retinol acetate from the day of birth or of 1000I.U.(200I.U./day) retinol acetate from the 15th postnatal day showed no significant difference in the blocking effect of the occurrence of DES induced vaginal adenosis. However, of the two groups, the mitotic rate and the number of cell layers in vaginal epithelium are more significantly decreased in the former than the latter( $P<0.01$ ).

The present study, therefore, suggests that retinol acetate has a blocking effect on the occurrence of DES-induced atypical epithelial changes in vaginae and uteri, and the blocking effect depends upon dose of retinol acetate and date.

## I. 서 론

태생기 혹은 신생기의 암컷 생쥐에게 다량의 자연 산 혹은 합성 에스트로겐이나 안드로젠을 투여하면 난소기능과 무관하게 질상피의 지속적인 증식과 각화가 일어나며,<sup>1-3)</sup> (Takasugi, 1963, 1979; Brern & Talamantes, 1981), 질원개(vaginal fornix)와 자궁경부관(common cervical canal)에서 선증(adenosis)이나 선증양병소(adenosis like lesion)를 유발하여, 간질조직으로 증식하여 들어가는 선상구조(glandular structure)가 관찰이 된다고 한다.<sup>4-7)</sup> 또한 이러한 호르몬제재들의 영향으로 인하여 음핵하열(clitoral hypospadias), 뇨관의 질개구, wolffian duct의 잔재(remnant)를 볼수도 있다고 한다.<sup>8)</sup>

질상피의 선증은 때로는 불가역적인 상태가 지속되어 6개월 이상 경과하면 암병소를 일으키기도 한다.<sup>9-12)</sup>

임신중 합성 에스트로젠 제재인 diethylstilbestrol(DES)에 노출된 산모에게서 태어난 일대자손에서 자궁경부 및 질의 선증(cervicovaginal adenosis), 부고환낭종(edpdidymal cyst), 위축성고환(hypotrophic testis), 피막결절(capsular induration)과 같은 생식기관의 이상, 질의 투명세포 선암(clear cell adenocarcinoma)이 형성될 수 있다는 것은 잘 알려진 사실이며,<sup>13-14)</sup> 자궁경부의 이형증(dysplasia)이나 상피내암(carcinoma in situ)의 발생빈도도 높은 것으로 보고되고 있다.<sup>15)</sup> 그러나 임상적으로 임신중 DES에 노출이 된 경우 이러한 자궁경부 및 질상피의 병적인 증식을 사전에 방지할 만한 좋은 방법은 아직 알려진바가 없다.

비타민 A는 시력(vision), 생식(reproduction) 그리고 상피세포의 성장과 분화에 호르몬과 같은 강력한 작용을 하며,<sup>16)</sup> 화학성 발암물질이나 방사선, 성장요인(growth factor), 바이러스에 의해 유발될 수 있는 악성종양 형성을 사전에 억제하며,<sup>19/23)</sup> 자궁경부에서 인위적으로 유발시킬 수 있는 암들을 방지

하는 작용을 가지고 있다는 보고들도 있다.<sup>24)</sup>

또한 비타민 A는 ornithine decarboxylase induction을 방해하여 세포증식을 방해하는 것으로도 알려져 있다.<sup>25)</sup>

이에 따라 DES 투여로 인한 질상피의 증식에 있어서 Vitamin A가 억제한다는 보고는 있으나 retinol acetate 투여가 DES에 의한 질선증을 방어할 수 있는지에 대한 보고는 아직 없다.<sup>26-29)</sup>

이에 저자들은 DES를 투여하여 질상피의 각화, 증식뿐 아니라 질선증까지 포함한 몇가지 암전구 병소들에 대한 retinol acetate의 억제효과 및 투여시기와 용량에 따른 차이를 관찰하여 암 연구 예방에 도움을 주고자 본 연구를 시행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

실험동물은 생후 1일된 건강한 ICR계 암컷생쥐(1.6-1.62g) 170마리를 사용하였다.

### 2. 방법

#### (1) 질선증의 유발

Diethylstilbesterol(Sigma Chemical Co. St. Louis) 20 $\mu$ g을 0.02ml의 sesame oil에 녹여 생후 24시간내에 암컷생쥐의 피하에 5일간 주사하였다. 비타민 A [Retinol Acetate(Sigma)]는 100 I.U. 혹은 200 I.U.를 피하주사 하였다.

#### (2) 실험군

모든 암컷생쥐는 6군으로 나누었다. D군은 22마리로 DES(20 $\mu$ g/day)만을 투여하였고, DR100군은 26마리로 DES(20 $\mu$ g/day)와 retinol acetate(100 I.U./day), DR200군은 34마리로 DES(20 $\mu$ g/day)와 retinol acetate(200 I.U./day), D15R200군은 39마리로 DES(20 $\mu$ g/day)를 투여한후 15일째에 retinol acetate(200 I.U./day), R200군은 30마리로 retinol acetate(200 I.U./day), S군은 대조군으로서 19마리에게 sesame oil(0.02ml/day)을 각각 5일간 투여하였다.

### (3) 실험방법

모든 실험군에서 마지막 주사후인 생후 5일째 각각 6마리씩을 희생하여 초기 변화를 관찰하였고, 생후 30일째 D군(n=6), DR100(n=10), D15R200군(n=9), R200군(n=6)에서 S군(n=6)을 희생시켰다. 생후 120일째 D군(n=10), DR100(n=10), DR200(n=18), D15R200군(n=24), R200군(n=18)에서 S군(n=7)을 희생시켰다.

모든 생쥐는 희생시키기 5시간전에 100 $\mu$ g colchicine을 0.9% Nacl에 녹여 주사했다. 생후 5일에 희생시킨 36마리는 빨기반사(suckling reflex)가 억제에 민감하기 때문에 체중 g 당 1 $\mu$ g의 colchicine을 주사하였다.

질과 자궁을 bouin solution에 고정하고 5 $\mu$ m로 종축 또는 횡축으로 절편을 만들고 hematoxylin eosin(HE) 염색을 실시하였다. 조직절편은 자궁경부관과 질의 상반부(cranial; upper 3/5)와 하반부(caudal; lower 2/5)에서 각각 2매의 슬라이드를 무작위 추출하여 질상피의 질선증과 선종양병소등을 관찰하였고 자궁경부상피, 상반부 및 하반부 질상피에서 500기저(basal layer) 세포들당 세포분열비율 및 세포층수를 광학현미경 200배 시야에서 관찰하였다. 이때 DES를 투여한후 retinol acetate의 용량에 따른 상피변화 및 투여시기에 따른 상피변화를 관찰하였다.

#### (4) 통계분석

자료는 Student's t-test와 Fishers exact probability test를 이용하였다.

## III. 결과

### 1. 출생시에 DES 혹은 DES와 retinol acetate를 투여한지 5일된 질상피의 변화

5일된 S군 혹은 R200군의 경우 질상피의 상반부는 2층의 원주상피로 피복되어 있었다(Fig. 1). 그러나 하반부는 상피의 고형성주(solid cord)들이 관찰되었다. 반면에 5일된 D군이나 DR100, DR200, D15R200군 들에서는 단층의 원주상피로 피복되어 있었고, 다각형세포(polygonal cell)들로 구성된 작

은 결절들이 상피하부 결합조직에서 관찰되었다.

이와같은 결절은 질원개와 자궁경부 부위 (fornicocervical area), 질상부-하부 경계부위 (vaginal cranio-caudal junction)의 피복상피하부 결합조직에서도 모두 관찰되었는데, 증식성결절은 5-6층의 sheet를 형성하였다. 이것은 상피하부의 cephalad까지가 있으며 주로 sheet 표면에서 관찰되는 원주상피는 핵이 농축을 보이거나 방주형으로 납작하였고, 비교적 투명한 세포질을 보였다.

## 2. 출생시에 DES 혹은 DES와 retinol acetate를 투여한 경과에 따른 질선종의 발생빈도 (Table 1)

30일된 R200군과 S군에서는 질선종은 발견되지 않았다. 질상피는 위축되어 있었고, 1-3층의 다각형 및 입방세포층을 형성하고 있었다 (Fig. 2).

30일된 D군에서는 6마리중 2마리가 결합조직내에서 선상구조의 증식인 선종이 관찰되었고, 자궁경부관과 질원개에서 각각 6,4마리가 관찰되었다. 선상부의 피복상피 각질화는 1마리, 주위결합 조직부종은 2마리에서 관찰되었다 (Fig. 3).

피복원주상피로 구성된 선상구조의 간질내 확장인 선종양병소는 자궁경부관 6, 질원개에서 4마리가 관찰되었다 (Fig. 4).

1-2층의 작은 다각형 및 입방상피로 피복된 중신선관 (wolffian duct)은 6마리에서 모두 관찰되었다.

30일된 DR100군에서는 10마리중 2마리가 질선종이 관찰되었으며, 발생부위는 자궁경부관과 질원개에서 각각 2,1마리가 관찰되었다. 질선종양병소는 자궁경부관과 질원개에서 각각 2,3마리가 관찰되었다 (Fig. 5).

30일된 DR200군에서는 10마리중 3마리가 질선종이 관찰되었으며, 자궁경부관과 질원개에 각각 1,2마리가 관찰되었다. 질선종양병소는 자궁경부관과 질원개에서 각각 5,1마리가 관찰되었다 (Fig. 6).

30일된 D15R200군에서는 모두 질선종이 관찰되지 않았으며, 질선종양병소는 자궁경부관과 질원개에서 각각 6,1마리가 관찰되었다.

S군에 비하여 각군간의 질선종의 발생빈도는 유의하지 않았고 ( $P>0.05$ ), D군에 비하여 DR100, DR200, R200 각군간의 질선종의 발생빈도도 유의하지 않았다. ( $P>0.05$ ) 120일된 R200군과 S군에서는 질선종은 모두 발견하지 않았다.

120일된 D군에서는 10마리 모두에서 질선종이 관찰되었고 (Fig 7), 자궁경부관, 질원개, 질상반부에서 각각 7,8,3마리가 관찰되었다. 질선종양병소는 자궁경부관, 질원개, 질상반부에 각각 10,10,5마리가 관찰되었다. 단층의 입방상피로 피복된 중신선관은 10마리 모두 관찰되었다.

120일된 DR100군에서는 각각 1,2,0마리가 관찰되었다. 질선종양병소는 자궁경부관과 질원개와 질상반부에서 각각 6,3,1마리 관찰되었다.

120일된 DR200군에서는 18마리중 1마리가 질선종이 관찰되었는데, 자궁경부관과 질원개에서 관찰되었다. 질선종양병소는 자궁경부관과 질원개, 질상반부에서 각각 3,2,1마리가 관찰되었다. D군의 질선종의 발생빈도는 대조군인 S군에 비하여 유의하게 높게 ( $P<0.001$ ) 나타났을 뿐 아니라 DR100 ( $P<0.005$ ), DR200, R200군에 비해서도 발생빈도가 유의하게 높게 나타났다 ( $P<0.001$ ). D군 이외의 다른 군은 S군에 비해서 유의한 차이가 없었다. ( $P>0.05$ )

DR100군과 DR200군 사이에서는 질선종의 발생빈도의 차이가 유의하지 않았다. ( $P>0.05$ )

## 3. 출생시 DES 혹은 DES와 retinol acetate를 투여한 경과에 따른 세포분열의 양상 (Table 2)

30-120일된 R200군에서는 S군과 같이 질상피가 위축되어 있으며 1-3층의 입방 상피를 형성하고 있었고 세포분열은 거의 없었다 (Fig. 8).

R200군과 S군 사이에서는 세포분열에는 유의한 차이가 없었다 (Table 2,3) ( $P>0.05$ ). 30일된 D군의 질상피의 상반부와 하반부 및 자궁 상피의 세포분열 백분율은 S, R200군에 비하여 유의하게 높았다 ( $P<0.001$ ) (Fig. 9).

30일된 D군의 질상피의 상반부와 하반부 세포분열 백분율은 DR100군에 비하여 유의하게 낮았으나 ( $P>0.005$ ) (Fig 10), 자궁상피는 ( $P>0.05$ ) 유의하지 않았다. 30일된 D군의 질상피의 상반부와 하반부 및 자궁상피의 세포분열 백분율은 DR200군에 비하여 하반부 질상피만이 유의하게 낮았다 ( $P<0.05$ ) (Fig. 11).

전체적인 경향으로 볼때 30일째에 있어서는 DR100, DR200군은 D군보다 세포분열 백분율이 높게 나타났다.

**Table 1.** Incidence of adenosis at different cervicovaginal region of female mice exposed to neonatal diethylstilbestrol(DES) treatment with or without simultaneous retinol acetate

Treatments	Age at autopsy (days)	No. of mice with adenosis / No. of mice examined	No. of mice with adenosis and ADL*			wolffian remnant
			common cervical canal	vaginal fornix	upper** vagina	
1. D	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	2/ 6	2 (6)	2 (4)	0 (0)	6
	120	10/10	7(10)	8(10)	3 (5)	10
2. D-R100	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	2/10	2 (2)	1 (3)	0 (0)	4
	120	3/10	1 (6)	2 (3)	0 (1)	7
3. D-R200	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	3/10	1 (5)	2 (1)	0 (0)	5
	120	1/18	1 (3)	1 (2)	0 (1)	7
4. R200	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	120	0/18	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
5. C	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	120	0/ 7	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0

Fisher's exact probability test for incidence rate of adenosis in 120 days

1 vs 2  $P < 0.001$  1 vs 3  $P < 0.001$  2 vs 3  $P < 0.05$  2 vs 4  $P < 0.001$

D: daily injection of 20 $\mu$ g diethylstilbestrol for 5 days

DR100: daily injection of 20 $\mu$ g diethylstilbestrol and 100 I.U. retinol acetate for 5 days

DR200: daily injection of 20 $\mu$ g diethylstilbestrol and 200 I.U. retinol acetate for 5 days

R200: daily injection of 200 I.U. retinol acetate for 5 days

C: daily injection of 0.02ml sesame oil for 5 days

\* adenosis like lesion \*\* upper vagina 3/5 ( ): ADL

그러나 120일된 D군의 질상피의 상반부와 하반부 상피의 세포분열 백분율은 S, R200, DR100, DR200 군에 비하여 유의하게 높았다( $P < 0.001$ ) (Fig. 12).

120일된 DR100군의 질상피의 상반부와 하반부 및 자궁상피의 세포분열 백분율은 DR200군에 비하여 유의하게 높았다( $P < 0.001$ ) (Fig. 13).

#### 4. 출생시 DES 혹은 DES와 retinol acetate를 투여한 경우 질상피 세포층의 변화 (Table 3)

30일된 R200, S군은 모두 질상피가 2-3층으로 위축되어 있었다(Fig. 14). 30일된 D군은, DR100, DR200군은 모두 질상피가 증식되어 있으며 8-10층의 입방상피층을 이루고 있었다(Fig. 15).

30일된 D군과 DR100, DR200군 사이에서 상피층 수는 유의한 차이가 없었다.

120일된 D군에서는 질의 상반부와 하반부 상피는 매우 심하게 증식되어 있고, 9-11층의 상피로 10마리중 4마리는 상피의 표면각질화가 관찰되었다(Fig. 16). 나머지 6마리에서 각질화는 보이지 않았으나 세포질은 투명하였고, 핵은 크고 원형인 투명세포를 형성하고 있었다.

반면에 DR100, DR200 군에서는 4-6층으로 D군보다 상피층이 유의하게 감소하였다고 (Table 2) ( $P < 0.001$ ), 한편 DR200군은 DR100군에 비하여 질상피의 상반부 및 하반부의 상피층이 유의하게 적었다( $P < 0.005$ ) (Fig. 17, 18).

Table 2. Mitotic rate(%) of the vaginal epithelium receiving neonatal DES treatment with or without simultaneous retinol acetate

Neonatal treatments	No. of mice	Age at autopsy (days)	Mitotic rates(%) vaginal epithelium		Uterine epithelium
			Cranial	Caudal	
1. D	6	5	0.16±0.02	0.18±0.04	0.04±0.001
	6	30	1.97±0.05	1.32±0.05	0.70±0.04
	10	120	2.11±0.07	1.46±0.05	0.89±0.05
2. D-R100	6	5	0.15±0.03	0.25±0.03	0.28±0.11
	10	30	2.19±0.04	1.60±0.06	0.66±0.03
	10	120	1.10±0.05	0.97±0.05	0.70±0.05
3. D-R200	6	5	0.16±0.02	0.29±0.03	0.04±0.01
	10	30	1.94±0.03	1.78±0.02	0.60±0.03
	18	120	0.62±0.03	0.56±0.03	0.42±0.02
4. R200	6	5	0.20±0.03	0.25±0.04	0.05±0.01
	6	30	0.38±0.03	0.43±0.03	0.03±0.02
	18	120	0.18±0.02	0.20±0.01	0.03±0.01
5. C	6	5	0.22±0.04	0.29±0.03	0.04±0.01
	6	30	0.35±0.04	0.38±0.03	0.03±0.02
	7	120	0.16±0.03	0.19±0.04	0.04±0.02
Student's t-test	1 vs 2	5	NS	NS	NS
		30	P<0.005	P<0.005	NS
		120	P<0.001	P<0.001	P<0.001
	1 vs 3	5	NS	NS	NS
		30	NS	P<0.001	NS
		120	P<0.001	P<0.001	P<0.005
	2 vs 3	5	NS	NS	NS
		30	NS	P<0.011	NS
		120	P<0.001	P<0.001	P<0.001

## 5. 출생후 DES 혹은 retinol acetate에 노출된 자궁상피의 변화

30일군에서는 모두 자궁상피의 변화가 관찰되지 않았다. 120일된 DR200, S군은 낮은 원주상피의 단층세포만 있었고, 세포분열은 거의 없었다. 반면에 120일된 D군에서는 중층편평 상피를 보였고, 6마리 중 5마리에서 편평상피 화생이 있었다(Fig. 19, 20).

## 6. DES와 retinol acetate 200IU를 출생후 24시간내 동시에 투여한 군과 투여후 15일군과의 질상피의 변화의 비교

질선종의 발생율은 DR200은 D15R200에 비하여 30-120일에서 모두 유의하지 않았다(Table 4). 30일된 DR200군은 D15R200군에 비해서 질상피 세포

분열 백분율이 유의하게 낮았으나(P<0.005), 자궁상피에서는 차이가 없었다(Table 5).

질상피 세포층수는 DR200군은 D15R200군에 비하여 30-120일에서 모두 유의하게 낮았다(P<0.001)(Table 6).

## IV. 고 찰

신생기에 합성호르몬에 노출되면 영구적이고 불가역적인 질 및 자궁상피의 증식이나 각화가 발생하며 또는 선상구조들이 간질조직으로 증식해 들어가는 소견도 관찰이 되고 나이가 진행함에 따라 종양으로 이행할 수 있다고 한다.

임상적으로 임신 첫 3개월내에 절박유산을 방지하기 위하여 DES를 사용한 산모의 딸에서 사춘기 이

**Table 3.** Proliferation and vaginal layer receiving DES treatment with or without simultaneous retinol acetate

Neonatal treatments	No. of mice	Ages at autopsy (days)	Vaginal epithelium		Uterus	
			No. of cell layers		No. of mice with clear cells	No. of mice having the uterus with epi- thelial stratification
			Cranial	Caudal		
1. D	6	5	1.7±0.1	2.0±0.1	0	0
	6	30	8.2±0.2	9.9±0.3	0	0
	10	120	9.6±0.2	9.8±0.3	1	4
2. D-R100	6	5	1.6±0.1	2.2±0.1	0	0
	10	30	8.7±0.3	10.1±0.8	0	0
	10	120	5.6±0.3	6.7±0.3	0	0
3. D-R200	6	5	1.7±0.1	2.0±0.1	0	0
	10	30	7.9±0.2	9.1±0.2	0	0
	18	120	4.7±0.2	5.4±0.2	12	1
4. R200	6	5	2.2±0.1	2.4±0.2	0	0
	6	30	2.2±0.2	2.3±0.2	0	0
	18	120	1.6±0.2	2.2±0.2	0	0
5. C	6	5	2.3±0.1	2.4±0.1	0	0
	6	30	2.2±0.2	2.3±0.2	0	0
	7	120	1.7±0.2	2.9±0.3	0	0
Student's t-test 1 vs 2			NS	NS		
or Fisher's			NS	NS		
exact probabi-						
lity test						
1 vs 3			NS	NS		
			NS	NS		
			P<0.001	P<0.001	P<0.01	P<0.05
1 vs 4			NS	NS		
			P<0.001	P<0.001		
			P<0.005	P<0.001		
2 vs 3			NS	NS		
			P<0.05	NS		
			P<0.005	P<0.001		

후에 질선증이 발견되는 수가 있고, 이러한 질선증은 편평상피암이나 투명세포선암을 일으킬 가능성이 있다고 한다.<sup>30-31)</sup> 동물실험에서도 신생기 생쥐에 DES를 투여하기 질상부에 선증양병소를 유발시킬 수 있는데 생쥐의 종류에 따라 NMRI 계통에서는 유발되나 CIR/JCL 계통에서는 유발되지 않는다는 의견도 있으나, 이 두계통 모두에서 DES 투여로 질선증을 일으킬 수 있다는 보고도 있다.<sup>32)</sup>

저자들의 실험은 ICR 생쥐들을 사용하였으며, 20 µg의 DES를 생후 5일간 투여하였을 때 생후 30일 만에 처음으로 6마리중 2마리에서 질선증이 발생하였으며, 120일에서는 10마리 전예가 질원개에서 발생하였고 자궁경부관에서도 질선증이 이따금 관찰이 되었다.

저자들의 실험에서 DES 투여로 질선증을 유발시킨 것은 이미 문헌상으로 알려진 사실과 일치되나 투여용량, 투여시기, 질선증 발생시기에 대한 성적은 저자들의 실험과 문헌상의 보고와 차이가 있다.

Forsberg 등은 생후 5일된 신생기 쥐에 DES (5-10 µg/day)를 투여하고 경과가 지나면 일정한 선암, 혼합성암(편평상피선암)이 발생하는 수도 있다고 하였다.

그러나 Forsberg 등<sup>33)</sup>은 신생기 생쥐에 DES (5 µg/day)를 5일간 주사하면 생후 30일후에 질선증이 발생하였는데 대부분은 자궁벽 상피에 발생하였고 질부위에서도 상피하조직으로 증식해 들어가는 선증양병소가 관찰되는 수가 있다고 하였다.

Forsberg 등은 에스트로겐이 신생기 생쥐의 질상

**Table 4.** Incidence of adenosis at different cervicovaginal region of female mice exposed to neonatal DES treatment with or without retinol acetate

Treatments	Age at autopsy (days)	No. of mice adenosis / mice exam.	No. of mice with adenosis and ADL*			
			Common cervical canal	Vaginal fornix	Upper vagina**	Wolffian duct.
1. D-R200	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	3/10	1 (5)	2 (1)	0 (0)	5
	120	1/18	1 (3)	1 (2)	0 (1)	7
2. D15-R200	5	0/ 6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	30	0/ 9	0 (6)	0 (1)	0 (0)	0
	120	2/24	2(10)	2 (8)	1 (1)	6
Fisher's exact probability test		1 vs 2	None of the F.E.T. was statistically significant			

D-R200: daily injection of 20µg diethylstilbestrol and 200 I.U. retinol acetate for 5 days

D15-R200: daily injection of 20µg diethylstilbestrol and 15th day 200 I.U. retinol acetate for 5days

\* Adenosis like lesion

\*\* Upper vagina 3/5

( ): ADL

**Table 5.** Mitotic rate(%) of the vaginal epithelium receiving neonatal diethylstilbestrol(DES) treatment with or with or without simultaneous retinol acetate

Neonatal treatments	No. of mice	Age at autopsy (days)	Mitotic rates(%) vaginal epithelium		Uterine epithelium
			Cranial	Caudal	
1. DR200	6	5	0.16±0.02	0.29±0.03	0.04±0.01
	10	30	1.94±0.03	1.78±0.02	0.60±0.03
	18	120	0.62±0.02	0.56±0.03	0.42±0.03
2. D15-R200		5	0.16±0.04	0.19±0.04	0.04±0.02
	9	30	2.12±0.03	1.90±0.05	0.66±0.03
	24	120	0.75±0.02	0.62±0.02	0.47±0.02
Student's t-test	1 vs 2	5	NS	NS	NS
		30	P<0.001	P<0.05	NS
		120	P<0.05	NS	NS

**Table 6.** Proliferation and vaginal layer receiving neonatal DES treatment with or without simultaneous retinol acetate

Neonatal treatments	No. of mice	Ages at autopsy (days)	Vaginal epithelium		Uterus	
			No. of cell layers		No. of mice with clear cells	No. of mice having the uterus with epithelial stratification
			Cranial	Caudal		
1. D-R200	6	5	1.7±0.1	2.0±0.1	0	0
	10	30	7.9±0.2	9.1±0.2	0	0
	18	120	4.7±0.2	5.4±0.2	12	1
2. D15-R200		5	1.7±0.2	0.2±0.1	0	0
	9	30	8.9±0.2	10.0±0.1	0	0
	24	120	5.3±0.2	5.8±0.2	0	0
Student's t-test or Fisher's exact probability test	1 vs 2	5	NS	NS	P<0.005	NS
		30	P<0.005	P<0.005		
		120	P<0.05	NS		



피에 미치는 첫번째 영향은 세포분열을 억제하여 원주상피의 성장을 방해하므로 질선증을 일으킨다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 DES 투여후 초기부터 오히려 원주상피의 세포분열은 왕성하였다. 이소성 원주상피가 간질조직으로 증식하여 들어가는 선증양 병소는 질선증을 일으키는 전단계로 간주되고 있는데,<sup>34-35)</sup> 그 발생시기는 문헌상에 따라 차이가 있으나(Iguchi, 1986a, b; Palpinger & Bern, 1979), 본 실험에서는 질선증 발생시기와 동일하게 DES 투여후 30일째 나타났다. 선증양 병소의 발생기전에 대해 Forsberg 등은 신생기에서 원주상피가 편평상피로 화생화되는 과정의 억제로 인한다고 하였다.

DES를 소량 투여한 경우에는 시상하부-뇌하수체-난소축에 작용하여 황체호르몬의 surge를 일으키지 못하기 때문에 질선증이 발생하며 이때는 난소의 역할이 영향을 끼친다고 한다.

DES를 200  $\mu$ g 혹은 200  $\mu$ g 처럼 다량투여한 경우에는 질선증 및 선증양병소의 발생 빈도가 매우 높게 나타나며, 이때는 시상하부-뇌하수체-난소축과는 관계없이 직접 질상피에 작용하기 때문이라는 보고도 있다.

본 논문에서는 DES를 100  $\mu$ g (20  $\mu$ g/day) 투여했음에도 불구하고 이미 언급한바처럼 30일에서 질선증이 관찰되었고, 120일에는 전예에서 관찰이 되었다.

DES로 유발한 질선증을 포함한 질이상 상피에 대하여 retinol acetate의 억제 효과를 추구하기 위하여 계획된 본 실험에서, retinol acetate의 용량은 500 I.U. (100 I.U./day) 및 1000 I.U./day로 각각 투여하였고, 투여시기는 출생후 DES와 동시에, 또는 DES를 먼저 투여하고 출생 15일후에 retinol acetate를 투여한 군으로 분류되어 그 효과를 관찰하였다.

이미 오래전에 Wolbach 등은 설치류에서 retinol acetate가 부족한 경우 정상세포가 비정형 편평상피로 이행함을 보고하였고, retinol acetate의 부족도가 클수록 비정형 정도가 크다는 것을 관찰하였었다.

그 이후에 retinol acetate가 암에 대한 다양한 항증식 작용을 보인다는 많은 보고들이 있었다.<sup>36-38)</sup>

Sporn 등은 세포분화 과정이 손상된 종양에 대하여 retinoid를 투여함으로써 다시 정상적 세포분화를 유도시킬 수 있다고 하였다. 또한 세포증식을 자극하는 DNA 합성이 높아지는 과정을 차단하든지

리보솜막을 불안전하게 하여 종양의 자기 소모가 유발될 수 있다는 가설도 제시되고 있다.

DES로 유발한 이상질상피에 대한 변화는 비타민 A를 투여함으로써 방지될 수 있다는 보고들은 있으나, 신생기에 retinol acetate를 투여함으로써 DES로 유발되는 질선증에 대한 효과를 관찰한 문헌은 없었다.<sup>39)</sup>

본 실험에서 DES에 의해서 형성된 질 편평상피의 이상증식과 질선증은 주로 물러싸관에서 유래하는 질상방부에서 관찰되었는데 DES와 retinol acetate를 동시에 투여한 후 30일에서는 일시적인 편평상피의 증식이 일어났으나 120일에서는 이러한 편평상피의 증식이 소실되었고, 세포분열 백분율도 매우 감소하였으며, 질선증의 발생도 억제되었다. 이러한 효과는 retinol acetate를 500 I.U.보다 1000 I.U.를 투여하였을때, 더욱 효과적이었다. 100 I.U.를 투여한 군에서도 출생후 24시간 이내에 투여한 군이 출생 15일후에 투여한 군보다 질상피세포분열 백분율과 편평 상피 세포층수의 감소를 현저하게 나타내어 1000 I.U. 투여가 이상상피 증식예방에 보다 효과적인 것을 알 수가 있었다.

Mori 등은 질이상상피의 억제효과를 에스트로젠과 retinol acetate를 동시에 투여할때 좋은 성적을 나타낸다고 하였고, Iguchi 등<sup>40)</sup>도 안드로젠을 투여한 이후에 retinol acetate를 투여한 군보다는 안드로젠과 retinol acetate를 동시에 투여한 군에서 이상상피의 증식을 억제한다고 보고하였다.

retinol acetate가 DES로 유발된 질 및 자궁의 이상상피 변화를 초기에는 억제시키지 못하고 120일째 경우처럼 상당한 기일이 경과한 후에야 억제효과가 나타나는 원인에 대하여는 더 연구해야 될 과제로 생각되며 문헌상에도 찾아볼수 없었다. 아마도 앞에 언급한 시상하부-뇌하수체-난소축이 관여할지도 모르며 생쥐의 혈액속에 질상피의 불가역적인 증식을 억제하는 인자가 뒤늦게 나타날수도 있다고 생각한다.

## V. 결 론

저자는 retinol acetate가 diethylstilbestrol(DES)에 의해 유발되는 질선증 및 질상피 증식을 방지하는지 알아보기 위해 생후 1일된 암컷쥐 170마리를 6군으로 나누어 본 시험을 시행하였다. D군에게는 DES를, DR100에게는 DES와 retinol acetate 100

I.U.를, DR200군에게는 DES와 retinol acetate 200 I.U.를 R200군에게는 retinol acetate 200 I.U.만을 각각 생후 1일부터 5일간 피하주사하였고, S군은 대조군으로서 sesame oil만을 5일간 투여하였다. 한편 retinol acetate의 투여시기에 따른 차이를 알아보기 위하여 D15R200군에게는 DES를 생후 1일부터 5일간 투여한후 retinol acetate 200 I.U.를 생후 15일부터 5일간 투여하였다. DES는 sesame oil에 녹여 주사하였다. 본 연구의 결과는 다음과 같다.

1. DES를 투여하고난후 5일, 30일, 120일후에 각각 질선종의 발생율을 관찰한 바 120일에서만 질선종의 발생이 대조군에 비하여 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.001$ ).
2. DES에 의하여 유발된 질선종의 발생율은 retinol acetate를 DES와 동시에 투여할때 유의한 억제효과를 나타냈고( $P < 0.001$ ),  $100\mu g$ 을 투여한 경우보다  $200\mu g$ 을 투여한 경우에 더 뚜렷한 억제경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다( $P < 0.116$ ).
3. DES단독 투여군과 DES와 retinol acetate를 동시에 투여한 군에 있어서 질상피의 세포분열 백분율은 30일째의 경우 동시 투여군이 단독투여군에 비해 유의하게 높았고( $P < 0.05$ ), 120일째에는 정반대로 유의하게 감소하여 DES와 retinol acetate의 동시투여가 후기에는 세포분열 백분율을 감소시키는 효과가 있음을 보였다. ( $P < 0.05$ ) 이러한 영향은 retinol acetate 투여용량이  $100\mu g$ 으로 하였을 때보다  $200\mu g$ 으로 하였을때 더 두드러지게 나타났다( $P < 0.01$ ).
4. DES단독 투여군과 DES와 retinol acetate를 동시에 투여한군에 있어서 질상피의 세포층은 30일째인 경우 유의한 차이를 나타내지 않았다. 120일째의 경우에는 DES와 retinol acetate의 동시 투여군만이 세포층을 감소시키는 효과가 있음을 보였다. ( $P < 0.001$ ) 이러한 효과는 retinol acetate투여 용량을  $200\mu g$ 으로 하였을때 더 두드러지게 나타났다( $P < 0.01$ ).
5. Retinol acetate를 투여함에 있어서 출생후 24시간내에 동시 혹은 출생 15일후에 투여하였던 바, 투여시기에 따라 DES로 유발된 질선종의 발생 억제 효과에는 차이가 없었으나 세포분열과 세포층수에 있어서는 출생후 동시에 투여한 것이 출생 15일후에 투여하는 것보다 더 효과적인 것으로 나타났다( $P < 0.01$ ).

이상과 같은 결과로 보아 생쥐의 출생시 DES에 의한 질선종 발생에 있어서 retinol acetate가 억제효과가 있음은 확실하고 투여시기는 DES투여개시 15일후에 투여하는 것보다는 DES투여개시 24시간내 동시에 투여하는 것이 효과적이며 이러한 효과는 용량에 따른 차이가 있음을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. Takasugi, N. Vaginal cornification in persistent-estrous mice. *Endocrinology*(1963): 72, 607-619.
2. Takasugi, N. Development of permanently proliferated and cornified vaginal epithelium in mice treated neonatally with steroid hormones and the implication in tumorigenesis. *J. Natl. Cancer. Inst. monogr.*(1979): 51, 57-66.
3. Bern, H.A. & Talamantes, F.J. Neonatal models and their relation to disease in the human female. In developmental effect of diethylstilbestrol(DES) in pregnancy, ed. Herbst, A.L. & Ber, H.A. 1981:p.129-147, New York, Thiemes Strotton Inc.
4. Forsberg, J.G. The development of atypical epithelium in the mouse uterine cervix and vaginal fornix after neonatal oestradiol treatment. *Br. J. Exp. Path.*(1969):50, 187-195.
5. Forsberg, J.G. Late effects in the vaginal and cervical epithelia after injections of diethylstilbestrol into neonatal mice. *Am. J. Obstet. Gynecol.*(1975):121, 101-104.
6. Forsberg, J.G. Developmental mechanism of estorgen-induced irreversible changes in the mouse cervicovaginal epithelium. *Natl. Cancer. Inst. Monogr.*(1979):51, 41-56.
7. Plapinger, L. & Bern, H.A. Adenosis like lesions and other cervicovaginal abnormalities in mice treated perinatally with estrogen. *J. Natl. Cancer Inst.*(1979): 63, 507-518.
8. Herbst, A.L., Scully, R.E., Robby, S.J. Prenatal diethylbestrol exposure and human genital tract abnormalities. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*(1979):51, 25-35.
9. Dunn, T.B. & Green, A.W. Cysts of the epididymis, cancer of the cervix, granular cell myoblastoma, and other lesions after estrogen in jections in newborn mice. *J. Natl. Cancer Inst.*(1963):31, 425-455.

10. Takasugi, N. & Bern, H.A. Crystals and concretions in the vaginae of persistent-estrous mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*(1962): 109, 622-624.
11. Takasugi, N., & Bern, H.A. Tissue changes in mice with persistent vaginal cornification induced by early postnatal treatment with estrogen. *J. Natl. Cancer. Inst.*(1964): 33, 855-865.
12. Mori, T. Further studies on the inhibitory effect of vitamin A on the development of ovaryindependent vaginal cornification in neonatally estrogenized mice. *Proc. Japan Acad.*(1969): 45, 115-120.
13. Herbst, A.L., Vlfelder, H. & Poskanzer, D.C. Adenocarcinoma of the vagina: Association of the maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New Engl. J. Med.*(1971):284, 878-881.
14. Herbst, A.L., & Bern, H.A. Developmental effects diethylstilbestrol(DES) in pregnancy(1981): p.203-207, New York, Thieme-Straton.
15. Bornstein, J., Kaufman, R.H., Adam, E., Adler, Stortz, K. Human papillomavirus associated with vaginal intraepithelial neoplasia in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Obst. Gynecol.*(1987):70, 75-80.
16. Wolbach, S.B. & Howe, P.R. Tissue changes following deprivation of fat soluble A vitamin. *J. Exp. Med.*(1925): 42, 753-777.
17. Lotan, R. Effect of vitamin A and its analog- (retinoids) on normal and neoplastic cells. *Biochem. Biophys. Acta.*(1980): 605, 33-91.
18. Davis, R.E. Effect of vitamin A on 7, 12-dimethylbenzanthracene-induced papillomas in rhino mouse skin. *Cancer Res.*(1967):27, 237-245.
19. Cohen, S.M. Effect of avitaminosis A and hypervitaminosis A on urinary bladder carcinogenicity of N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) formamide. *Cancer Res.*(1967):36, 2334-2345.
20. Thompson, H.G. Continual requirements of retinoid for maintenance of mammary cancer inhibition. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*(1978): 19, 74-82.
21. Sporn, M.B. Chemoprevention of cancer with retinoids. *Fed. Proc.*(1979): 38, 2528-2534.
22. Saffiotti, U., Montesano, R., Sellakumar, A.R. & Borg, S.A. Experimental cancer of lung; Inhibition by vitamin A of the induction of tracheobronchial squamous metaplasia and squamous cell tumors. *Cancer.*(1967): 20, 857-864.
23. Lasnitzski, I. Reversal of methylcholanthrene induced changes in mouse prostate in vitro by retinoic acid and its analogs.(1976): 34, 239-248.
24. Chu, E.W. & Malmgren, R.A. An Inhibitory effect of vitamin A on the induction of tumors of forestomach and cervix in the Syrian hamster by carcinogenic polycyclic hydrocarbons. *Cancer Res.*(1965):25, 884-889.
25. Russell, D.H. & Haddox, M.K. Antiproliferative effects of retinoid related to the cell cyclespecific inhibition of ornithine decarboxylase. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*(1981): 359, 281-292.
26. Mori, T. Changes in reproductive organs and some other gland in old C3H/MS mice treated neonatally with low doses of estrogen. *Annot. Japon.*(1968a): 41, 43-52.
27. Mori, T. Changes in reproductive organs and some other gland in old C3H/MS mice treated neonatally with high doses of estrogen. *Annot. Zool. Japon.*(1968b): 41, 85-94.
28. Mori, T. Effects of neonatal injection of estrogen in combination with vitamin A on the vaginal epithelium of the adult mice. *Annot. Zool. Japon.*(1968c): 41, 113-118.
29. Yasui, T. & Takasugi, N. Prevention by vitamin A of the occurrence of permanent vaginal changes in neonatally estrogen treated mice. *Cell Tiss. Res.*(1977): 179, 475-482.
30. Herbst, A.L., Anderson, S., Hubby, M.M., Haenszel, W.M., Kaufman, R.H., Noller, K.L. Risk factors for the development of diethylstilbestrol associated clear cell adenocarcinoma; A case control study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*(1986): 154, 814-822.
31. Barber, H.R., Facog., Sommers, S.C. Vaginal adenosis, dysplasia, and clear cell adenocarcinoma after diethylstilbestrol treatment in pregnancy. *Obstet. Gynecol.*(1974):43, 645-652.
32. Forsberg, J.G. & Kalland, T. Neonatal estrogen treatment and epithelial abnormalities in the cervicovaginal epithelium of adult mice.

- Cancer. Res.*(1981):41, 721-734.
33. Forsberg, J.G. Cervicovaginal epithelium; its origin and development. *Am. J. Obstet. Gynecol.*(1973):115, 1025-1043.
  34. Iguchi, T., Takase, M. & Takasugi, N. Development of vaginal adenosis like lesion and uterine epithelial stratification in mice lesion and uterine epithelial stratification in mice exposed perinatally to diethylstilbestrol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*(1986): 181, 59-65.
  35. Iguchi, T., Takei, T., Takase, M. & Takasugi, N. Estrogen participation in induction of cervicovaginal adenosis-like lesion in immature mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Acta. Anat.*(1986): 127, 110-114.
  36. Meriman, R.A. & Bertram, R.L. Reversible inhibition by retinoids of 3-methyl chlanthreneinduced neoplastic transformation in C3H/10T1/2CL8 cells. *Cancer Res.*(1979): 39, 1661-1666.
  37. Todaro, G.J., Delarco, J.E. & Sporn, M.B. Retinoids block phenotypic cell transformation produced by sarcoma produced factor. *Nature.*(1978): 276, 272-274.
  38. De Larco, J.E. & Todaro, G.J. Growth factors from murine sarcoma virus transformed cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*(1978):75,4001-4005.
  39. Yasui, T., Iguchi T., & Takasugi N. Blockage of the occurrence of permanent vaginal changes in neonatally estrogen treated mice by vitamin A, parabiosis and transplantation studies. *Endocrinol. Japon.*(1977): 24, 393-398.
  40. Iguchi, T. & Takasugi, N. Blockade by vitamin A of the occurrence of the permanent vaginal changes in mice treated neonatally with 5-dihydrotestosterone. *Anat. Embryol.*(1979):155, 127-134.

### Explanation of figures

- Fig. 1.** Control group(5 days). The cranial portion of vaginal epithelium consists of two rows of cells. The outer row of cells is composed of tall columnar epithelium, the inner row of cells cuboidal epithelium (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 2.** Retinol acetate 200 I.U. group(30 days). The atrophic and nonkeratinized vaginal epithelium consists of cuboidal or small polygonal cells. Adenosis-like lesion is not seen (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 3.** DES group(30 days). The caudal portion of vaginal portion of vaginal epithelium, in addition to being superficial keratinization, shows marked thickening of stratified squamous epithelium. A mitotic figure (an arrow) is seen in the basal layer (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 4.** DES group(30 days). The thickened epithelium of vaginal fornix shows multifocal adenosis-like lesions (arrows) in the submucosal connective tissue. These lesions are composed of tall columnar or cuboidal cells (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 5.** DES plus retinol acetate 100 I.U. group(30 days). Vaginal epithelium shows a adenosis-like lesion (an arrow). This lesion reveals a direct continuity with squamous epithelium (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 6.** DES plus retinol acetate 200 I.U. group(30 days). The caudal portion of common cervical portion shows two, ovoid, and well defined adenosis-like lesions(an arrow) in the submucosal connective tissue (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 7.** DES group(120 days). The cranial portion of vaginal lamina propria shows a distinct adenosis. Proliferating glandular structures are shown in the fibrous connective tissue (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 8.** Retinol acetate 200 I.U. group(120 days). The cranial portion of vaginal epithelium shows a marked flattening in epithelial thickness and consists of polygonal or cuboidal cells. Mitosis is not seen (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 9.** DES group(30 days). The caudal portion of vaginal epithelium shows a mitotic figure(an arrow) in the basal layer (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 10.** DES plus retinol acetate 100 I.U. group(30 days). The cranial portion of vaginal epithelium shows frequently mitotic figures(anarrows) in the basal layer (H & E,  $\times 400$ ).
- Fig. 11.** DES plus retinol acetate 200 I.U. group(30 days). The cranial portion of vaginal epithelium shows a thin keratinization, two mitoses(an arrow) in the basal layer, and also reveals thickened epithelial layers through the mucosa (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 12.** DES group(120 days). The cranial portion of vaginal epithelium shows a mitotic figure in the basal layer. This epithelium manifests a marked increase in the number of cell layers (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 13.** DES plus retinol acetate 100 I.U. group(120 days). The cranial portion of vagina shows proliferative and stratified squamous epithelium having a mitosis(an arrow) in the basal layer(H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 14.** Control group(30 days). The caudal portion of vaginal epithelium shows an atrophic epithelium consisting of 2~3 layers of cells. Mitosis is not present (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 15.** DES group(30 days). The cranial portion of vaginal epithelium shows a moderate increase in the number of epithelial layers (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 16.** DES group(120 days). The caudal portion of vaginal epithelium show a considerable keratinization and also reveals a marked increase in number of cell layers (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 17.** DES plus retinol acetate 100 I.U. group(120 days). The caudal portion of vaginal epithelium consists of 4~6 layers of noncornified cells. Mitosis is not seen (H & E stain,  $\times 80$ ).

- Fig. 18. DES plus retinol acetate 200 I.U. group(120 days). The cranial portion of vaginal epithelium is composed of 4~6 layers of nonkeratinizing cells (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 19. DES group(120 days). The upper cervical portion of uterine epithelium shows a squamous metaplasia (an arrow) (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 20. DES group(120 days). The caudal cervical portion of uterine epithelium shows a marked degree of squamous metaplasia(an arrow) (H & E stain,  $\times 80$ ).
- Fig. 21. Retinol acetate 200 I.U. group(retinol acetate injection at 15 days after DES injection)(30 days). The caudal portion of vaginal epithelium shows a marked increase in number of cell layers (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 22. Retinol acetate 200 I.U. group(retinol acetate injection at 15 days after DES injection)(30 days). The cranial portion of vaginal epithelium is composed of proliferated and keratinized squamous cells. A mitotic figure is noted (H & E stain,  $\times 400$ ).
- Fig. 23. Retinol acetate 200 I.U. group(retinol acetate injection at 15 days after DES injection)(120 days). The cranial portion of vaginal epithelium consists of 5~6 layers of nonkeratinized cells. Mitosis is not shown in the basal layer (H & E stain,  $\times 200$ ).
- Fig. 24. Retinol acetate 200 I.U. group(retinol acetate injection at 15 days after DES injection)(120 days). The caudal portion of vaginal epithelium shows a somewhat atrophic change and consists of 5~6 layers of nonkeratinized cells (H & E stain,  $\times 80$ ).



Effect of Retinol Acetate on Adenosis of Vaginal and Cervical Epithelium induced by Early Neonatal Treatment with Diethylstilbestrol (DES) in Mice



안용식外 · 신생기 생쥐에서 합성 에스트로겐제제로 유발되는 자궁경관 및 질선증에 대한 레티놀 아세테이트의 효과

Effect of Retinol Acetate on Adenosis of Vaginal and Cervical Epithelium induced by Early Neonatal Treatment with Diethylstilbestrol (DES) in Mice