

## 랫드 각막에서 bFGF(basic Fibroblast Growth Factor)로 유발시킨 신생혈관에 대한 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>의 혈관신생 억제 효과

김용수 · 서강문<sup>1</sup>

강원대학교 수의학과 외과학교실

### Antiangiogenic Effect of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on the New Vessels Induced by bFGF in the Rat Cornea

Yong-Soo Kim and Kang-Moon Seo<sup>1</sup>

Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University

**Abstract :** This study was performed to evaluate the effects of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> upon antiangiogenesis in rat cornea, to examine its possible application as an anticancer drug and to provide basic data for further studies of antiangiogenetic mechanism of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Angiogenesis was induced by cornea micropocket assay, as previously described. Sixteen of forty-eight eyes of Sprague-Dawley rats were randomly assigned to one of three groups, namely, only a bFGF group(control group), and a group treated by As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group). After the pellet implantation, we measured the number of new vessels, vessel length and clock hour of neovascularization, and area of neovascularization was determined using a mathematical formula. New vessels growing began at day 3, number of vessels in As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group were significantly more less than those in control group ( $p < 0.05$ ). The length of vessels of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group was significantly shorter than that of control group after day 3 ( $p < 0.05$ ). The clock hours of all group were slowly increased at all days but As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group was inhibited more than control group. Neovascularization areas of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group were more significantly inhibited than those of control group ( $p < 0.05$ ). This study showed that As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> had powerful antiangiogenetic effects and it would be useful in the choice of anticancer drug.

**Key words :** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, cornea micropocket assay, antiangiogenesis, basic fibroblast growth factor

### 서 론

비소(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)는 자연 상태에 존재하는 물질로서 일반적으로 순수한 상태로 존재하기는 힘들고, 독성이 강하고 불안정한 황화물, 산화물형태로 존재하며, 칼륨, 나트륨, 칼슘이 포함된 비소로 발견된다<sup>30</sup>. 또한 비소는 근래 독성물질로 알려져져 만성적인 비소노출이 공중보건학적으로 심각한 문제를 야기하고 있다. 주로 작업장의 톱밥과 공기나 비소가 함유된 나무를 태울 때 발생하는 연기를 흡입하거나 비소에 오염된 물, 음식 및 토양을 섭취함으로써 중독되게 된다<sup>1</sup>.

이와 같이 비소로 인한 중독 위험이 있었지만, 비소가 가지고 있는 의학적인 효과 때문에 2,400년 이상 치료제로 사용되어 왔다. 15세기에 William Withering은 "소량의 독은 최상의 치료제가 되고 다량의 치료제는 독이 될 수 있다"고 주장하며 비소치료에 대하여 강한 지지를 나타냈으며, 18세기부터 1% 비소(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)가 포함된 중탄산칼륨용액(Fowler's solution)이 개발되어 천식, 무도병, 습진, 천포창, 건선, 빈혈, 호킨스씨 병 및 빈혈과 같은 다양한 질병의 치료제로 사용되었으며, 순수 금속성 비소를 이용하여 해열제, 방부제, 항경련제, 부식제, 닭즙분비약, 탈모제, 조혈제 및 강장약과 같

은 용도로 사용되어 19세기에 들어서는 주요한 치료약물로서 자리 잡게 되었다. 하지만 근대에 들어서 비소 섭취와 출혈성 위장관염, 심부정맥 및 정신의학질병과 관련성이 대두되고, 강한 독성과 종양유발성이 밝혀지면서 점차 사용이 쇠퇴하였고, 많은 환경론자들은 비소를 발암물질 중 하나라고 주장하였으며 국제 암 연구기관에서는 사람에게 암을 유발시키는 물질 목록에 비소를 포함시켰다<sup>1,14,30</sup>.

과거 약 100여 년간 비소 사용은 급격히 감소하였고, 1990년대 중반까지는 단지 트리피노소마증의 치료에만 적용되어 왔다. 하지만 흥미롭게도 비소는 동물에 대한 실험에서 종양유발성을 보이지 않았으며 사람에서도 종양을 유발시키지 않는 것으로 나타났다<sup>30</sup>. 비소를 이용한 치료가 다시 대두된 계기는 1800년대 비소가 항백혈병성 활성을 가지는 것으로 밝혀진 이래 1970년대 중국에서 급성 전골수성 백혈병환자<sup>10,22,25,27-29,31</sup>의 치료에 이용되면서부터이며 급성 전 골수성 백혈병, 다발성 골수종<sup>18</sup>, 만성 B세포 백혈병<sup>15</sup>과 같은 종양 치료에도 적용되고 있다.

비소치료에 대한 기전이 명확하게 밝혀지지는 않았으나, 다양한 연구에 의하여 현재까지 세포자가괴사, 부분적 세포분화, 세포종식억제작용, 혈관신생억제작용을 일으키는 것으로 밝혀졌다<sup>30,32</sup>. 비소치료기전 중 하나인 혈관신생억제작용은 비소가 혈관 내피세포에 활성을 보여 내피세포에 부착하는 분자의 과활성, 모세혈관 가지의 발아와 성장의 억제, 혈

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : kmseo@kangwon.ac.kr

관내피세포의 자가괴사, 혈관내피세포성장인자의 생산억제 등을 일으켜 혈관신생억제효과를 가진다고 하였다<sup>24</sup>.

혈관신생에 관한 생물학적 검증방법으로는 cornea micropocket assay<sup>11,21,26,33</sup>, chick chorioallantoic membrane(CAM) assay<sup>4,6</sup>, dorsal mouse skin assay, rabbit ear chamber assay, hamster cheek pouch assay 및 monkey iris neovascularization model이 개발되어 있으며 이 중 각막의 무혈관성, 신생혈관 관찰의 용이성 및 약물적용의 용이성을 이유로 cornea micropocket assay가 일반적으로 선택되어 사용되고 있다<sup>26</sup>.

혈관신생을 유도하는 물질로는 basic fibroblast growth factor(bFGF)<sup>3,7-9,11,34</sup>, epidermal growth factor(EGF)<sup>13</sup>, vessel endothelial growth factor(VEGF)<sup>8,9,11,13,23,33</sup>, 및 nerve growth factor(NGF)<sup>17,26</sup>가 사용되고 있다.

기존에 알려진 혈관신생 억제효과를 가지는 것으로 interferon- $\alpha$ <sup>9</sup>, platelet factor-4<sup>9</sup>, angiostatin<sup>19</sup>, thrombospondin-1(TSP-1)<sup>9</sup>, thalidomide<sup>7,12</sup> 및 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>1,2,16,18,24,28,30</sup> 등이 보고된 바 있다.

본 연구는 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>의 혈관신생에 대한 억제효과를 평가하고, 임상활용 가능성이 있는지 검토하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

실험동물로는 체중 250-300 g의 Spraque-Dawley 랫드를 암수구별 없이 사용하였으며 물과 사료는 자유급식하였다. 실험에는 총 48안을 사용하였으며 각막에 bFGF pellet을 이식하기 전, 안검사를 실시하여 정상 눈을 가진 개체만 실험에 사용하였다.

### 실험군 분류

모든 실험군에는 각 군당 랫드 안구를 16안씩 배분하였으며, bFGF pellet만을 이식한 대조군과 bFGF pellet을 이식 후 실험기간 동안 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 하루 한번 50 mg/kg경구투여 한 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군으로 분류하였다.

### Pellet 제조

랫드 안구에 이식할 pellet은 Polverini 등<sup>21</sup>이 기술한 방법과 동일하게 제작하였다. 12% poly-2-hydroxyethylmethacrylate (Hydron<sup>®</sup>, Sigma Co., USA)가 되도록 100% 알콜과 혼합한 후 37°C 에서 24시간 동안 교반기로 흔들면서 섞어주었다. 이 혼합액에 동량의 sucralfate를 첨가한 후 각각의 pellet에 bFGF의 용량이 50 ng씩 함유되도록 Teflon rod에 2  $\mu$ l씩 분주하였고 완전히 건조시킨 후 실험에 사용하였다.

### Pellet 이식

bFGF pellet의 이식은 Seo 등<sup>26</sup>의 보고와 같은 방법으로 실시하였다. 실험동물의 마취는 ketamine hydrochloride (20 mg/kg)와 xylazine(6 mg/kg) 을 혼합하여 근육주사로 마취하였고, 랫드 안구에 0.5% proparacaine(Alcaine<sup>®</sup>, Alcon,

USA)을 점적한 후 랫드 안구의 상안검을 mosquito 지혈접자로 당겨 안구를 들출 시킨 후 미세 수술 현미경하에서 미세 수술칼 (Beaver<sup>®</sup>, Becton dickinson Co., USA)을 이용하여 각막실질 중앙에 1.5 mm의 절개창을 만들었다. 만들어진 절개창에 curved micro-dissector를 이용하여 랫드 안구의 각막연을 향하여 관통되지 않도록 둔성바리하여 미세낭을 제작하였다. 만들어진 미세낭과 각막연의 사이가 1 mm 이상 되는지를 확인한 후 bFGF pellet을 제수화시켜 미세낭의 기저부로 밀어 넣었다. Pellet이식이 완료된 후 실험기간동안 하루 한번 항생제연고(Terramycin<sup>®</sup>, Pfizer, Korea)를 도포하여 염증반응으로 인한 혈관신생을 방지하였다.

### 신생혈관 관찰

bFGF pellet 이식 후 실험기간 동안 미세 수술 현미경으로 신생혈관의 변화를 관찰하였으며 디지털 카메라를 이용하여 사진 촬영하였다. 검사항목으로는 신생혈관의 개수, 신생혈관의 길이, 신생혈관의 범위 및 신생혈관의 면적을 영상 분석 프로그램(Image Tools<sup>®</sup>, ver. 2.0, University of Texas Health Science Center in San Antonio, USA)을 이용하여 구하였으며 신생혈관의 범위는 360 구획을 30으로 나눈 clock hour로 표시하였고, 신생혈관의 면적은 신생혈관의 길이(vessels length, L)와 범위(clock hour, C)를 이용하여 D'Amato 등<sup>7</sup>이 기술한 랫드 각막 범위계산공식( $C/12 \times 3.1416[r^2 - (r-L)^2]$ ,  $r = 2.5$  mm)으로 계산하였다.

### 통계 분석

본 연구의 유의성 검증을 위한 통계분석으로는 Mann-Whitney test를 사용하여 통계분석 하였다( $p < 0.05$ ). 모든 측정치는 mean  $\pm$  SD로 나타내었다.

## 결 과

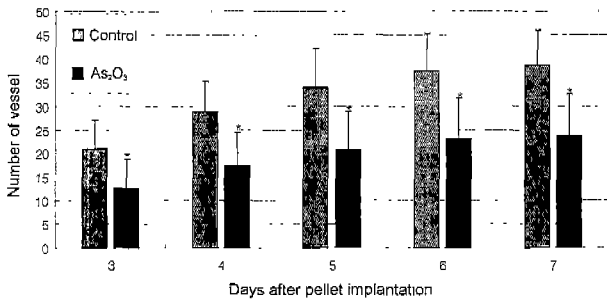
랫드 각막 실질에 bFGF가 포함된 pellet을 이식한 후, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 경구 투여한 다음 7일간 혈관신생억제효과를 비교한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

### 신생혈관의 수(The number of vessels)

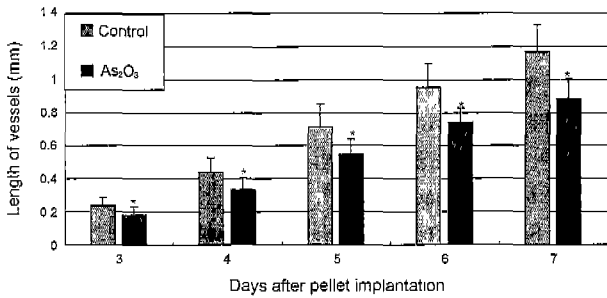
신생혈관의 개수는 pellet 이식 후 3일부터 5일까지 급속한 증가를 보였으며 6일 이후로부터는 서서히 증가하는 양상을 보였다. 3일에는 대조군이 21.0  $\pm$  6.1개인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군은 평균 12.6  $\pm$  6.2개로 비소처치군이 대조군과 비교하여 유의성 있게 적은 신생혈관의 개수를 나타내었다( $p < 0.05$ ). Pellet 이식 후 7일에는 대조군이 38.5  $\pm$  7.4개, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이 23.6  $\pm$  8.9개를 보여 7일까지 유의성있는 혈관신생 억제가 유지되는 것을 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ).

이와 같이 실험 전 기간동안 비소처치군이 대조군과 비교하여 신생혈관의 개수의 유의성 있는 감소를 발견하였다(Fig 1).

### 신생혈관의 길이(The length of vessels)



**Fig 1.** Changes of vessel number after bFGF pellet implantation on the rat cornea. \*:  $p < 0.05$ .



**Fig 2.** Changes of the vessel length after bFGF pellet implantation on the rat cornea. \*:  $p < 0.05$ .

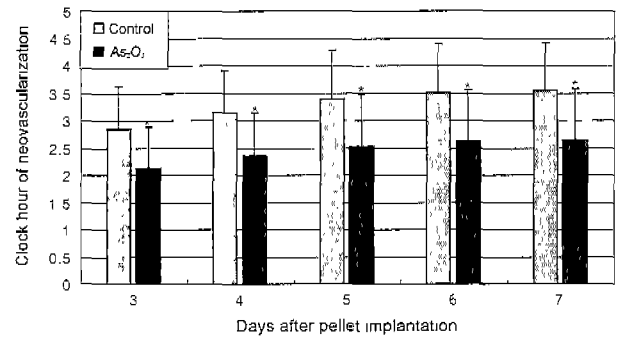
랫드각막 실질에 bFGF pellet 이식 후 3일 신생혈관이 자란 길이는 대조군이 평균  $0.24 \pm 0.04$  mm인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 군이  $0.18 \pm 0.05$  mm로 비소처치군이 대조군과 비교하여 혈관의 길이가 유의성 있게 짧은 것으로 나타났으며( $p < 0.05$ ), pellet 이식 후 7일에도 대조군이 평균  $1.16 \pm 0.16$  mm인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이  $0.88 \pm 0.11$  mm로 대조군과 비교하여 유의성 있게 억제하는 것으로 나타났다 ( $p < 0.05$ , Fig 2).

**신생혈관의 범위(The Clock hour of neovascularization)**

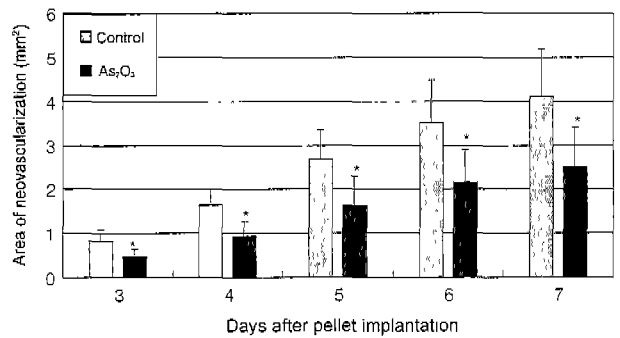
bFGF pellet 이식 후 3일 신생혈관이 자란 범위는 대조군이  $2.85 \pm 0.76$ 시간인데 반하여 비소처치군인 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이  $2.12 \pm 0.76$ 시간으로 유의성 있게 신생혈관범위가 좁은 것을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ). 7일에도 대조군의 신생혈관의 범위가  $3.53 \pm 0.87$ 시간인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이  $2.63 \pm 0.94$ 시간으로 실험 전 기간 동안 비소처치군이 대조군과 비교하여 신생혈관의 범위가 유의성 있게 감소한 것으로 나타났다( $p < 0.05$ , Fig 3).

**신생혈관의 면적(The area of neovascularization)**

신생혈관의 면적은 pellet 이식 후 3일에는 대조군이  $0.83 \pm 0.23$  mm<sup>2</sup>인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이  $0.46 \pm 0.17$  mm<sup>2</sup>로 비소처치군이 대조군과 비교하여 유의성 있게 억제하였으며( $p < 0.05$ ), pellet 이식 후 7일에도 대조군이  $4.11 \pm 1.06$  mm<sup>2</sup>인데 반하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이  $2.50 \pm 0.92$  mm<sup>2</sup>로 7일째까지 지속적으로 억제하였다(Fig 4,5).



**Fig 3.** Changes of the vessel clock hour after bFGF pellet implantation on the rat cornea. \*:  $p < 0.05$ .



**Fig 4.** Change of the vessel area after bFGF pellet implantation on the rat cornea. \*:  $p < 0.05$ .



**Fig 5.** Appearance of angiogenesis on day 7 after bFGF pellet implantation in to the rat corneal stroma. A. control group. B. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group. : New vessels.

**고 찰**

본 실험에서는 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>가 혈관생성억제 효과가 있는지 알아보기 위하여 랫드를 이용한 cornea micropocket assay를 통하여 검증하였다.

Cornea micropocket assay는 bFGF, EGF 및 VEGF등의 혈관신생 유도물질과 다양한 혈관신생억제물질에 대한 효과를 검증하기 위하여 실시하는 방법으로 chick chorioallantoic membrane(CAM) assay와 함께 많이 이용되고 있다. 토끼, 랫드 및 마우스 등의 실험동물에 적용되며 외부에서 미세 수

술 현미경이나 slit-lamp 등을 이용하여 신생혈관을 쉽게 관찰할 수 있는 장점을 가진다. CAM assay는 실험비용이 저렴한 장점을 가지고 있으나 기존에 존재하는 혈관과 새로이 자라나는 혈관의 구별이 어려운 단점을 가지고 있다. 반면에 각막은 무 혈관조직이므로 새롭게 자라나는 혈관의 관찰이 매우 용이하며 각막에 대한 약물의 적용이 용이한 장점을 가지고 있다<sup>21</sup>.

랫드 각막에 삽입된 pellet은 bFGF, sucralfate 및 hydron의 조합으로 제조되었다. Kenyon 등<sup>11</sup>은 pellet 내에서 bFGF의 활성을 안정화시키는 sucralfate만 첨가한 pellet은 혈관신생이 일어나지 않았으며, bFGF가 단독으로 90 ng 이하로 첨가된다면 혈관신생을 일으키지 않는다고 하였으며, 135 ng 이상의 고농도는 혈관신생과 더불어 각막의 부종과 출혈을 일으킨다고 보고하였다. 용량 의존적으로 혈관신생 정도가 다르게 나타나므로 가장 이상적인 bFGF 농도를 본 실험 용량으로 결정하기 위해 50 ng을 선정하였으며, pellet내의 혈관유도물질의 안정화와 지속적인 분비를 위해 sucralfate와 hydron을 첨가하였으며, Polverini 등<sup>22</sup>은 pellet 제작 시 hydron을 첨가하는 이유가 혈관유도물질을 천천히 분비하기 위해서라고 보고하였다.

혈관신생반응은 고형종양과 백혈병성 세포의 성장에 중요한 역할을 담당한다. Lew 등<sup>16</sup>은 BALB/c 마우스를 이용하여 피부에 Meth-A 육종을 이식하고, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 복강내로 주입하여(10 mg/kg) 고형종양의 맥관형성억제효과를 검정하고자 실험을 실시한 바, 고형종양은 혈관의 성장억제와 급속한 혈관 감소로 출혈성 괴사를 가져오게 되고, 이러한 현상은 실험동물의 정상적인 피부, 근육 및 신장에 대하여 아무런 독성을 보이지 않고 반복적으로 효과를 보이므로 고형종양에 대한 혈관반응 억제를 확인하였으며, Roboz 등<sup>24</sup>이 사람의 제대혈관 내피세포에 비소를 적용한 연구에 의하면 내피세포의 활성화, 내피세포 부착 분자의 과활성, 모세혈관 성장과 분아의 억제, 내피세포의 세포 자가괴사 및 혈관내피성장인자 생산 억제를 일으켜 항암효과를 가지는 것으로 발표하였다. Kenyon 등<sup>12</sup>이 보고한 thalidomide를 cornea micropocket assay와 점막시커 혈관신생억제효과를 검증한 연구를 제외하고는 다른 혈관신생억제물질에 대한 효과를 *in vivo* 실험으로 보고한 연구는 아직 전무한 상태이다. 더욱이 비소의 혈관신생억제효과를 cornea micropocket assay를 이용하여 검증한 보고는 없다. 비소의 혈관신생억제에 대한 정확한 기전을 밝히기 위해서는 *in vivo* 실험에 의한 검증실험이 필요하다고 사료되어 본 실험을 실시하게 되었다.

혈관생성반응은 여러 가지 복잡한 과정을 통하여 발생한다. 혈관의 발달은 크게 맥관신생(vasculogenesis)와 혈관신생(angiogenesis)으로 나뉘며 태아기시기가 아닌 보통의 혈관발달은 혈관신생으로만 형성된다<sup>9</sup>. 혈관발달의 과정에서 중배엽성 전구체가 혈관아세포(hemangioblast)가 되고 다시 맥관아세포(angioblast)로 발달하여 발아성 혈관신생과 접합성 혈관신생을 보이는 초기 모세혈관복합체로 발아할 때와 미성숙 혈관계로 발달하는 대부분의 과정에서 혈관신생유도물질

들이 관여하게 된다<sup>23</sup>. 이때 혈관신생억제물질이 관여하게 되면 혈관신생 스위치 균형기설에 의하여 혈관신생이 억제되게 된다<sup>9</sup>. 비소가 혈관신생억제효과를 가지고 있다는 사실은 본 실험을 통하여 입증은 되었지만 혈관생성과정과 관련하여 어떻게 작용하는지에 대한 연구가 더 이뤄져야 할 것으로 사료된다.

본 실험을 통하여 모든 검사항목에서 비소처리군이 대조군과 비교하여 유의성 있게 혈관신생을 억제하는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 양상은 시간이 지남에 따라 더욱 뚜렷이 관찰되었는데, 실험결과에는 기술되어있지 않지만 pellet 이식 후 10일째에는 더 큰 신생혈관억제효과를 확인할 수 있었으며, 7일 이후 비소의 투약을 중지하였을 때는 신생혈관의 개수와 길이 및 면적이 급속히 증가하는 양상을 보였다.

이러한 결과로 볼 때 본 실험을 통하여 비소화합물인 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>가 랫드각막에서 혈관신생억제효과를 가지는 것으로 보아 중앙치료제의 신물질로 개발될 가능성이 높은 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구에서는 bFGF로 혈관신생을 유도한 랫드 각막에서 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 투여하여 혈관신생 억제효과가 있는지를 검토하고자 본 실험을 실시하였다.

실험 후 3일부터 모든 군에서 신생혈관이 자라기 시작하였으며 신생혈관의 개수는 대조군에 비하여 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군은 유의성 있게 적음을 알 수 있었다(p < 0.05). 신생혈관의 길이는 실험 전기간 동안 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이 대조군에 비해서 유의성 있게 더 짧게 자라는 것을 알 수 있었다(p < 0.05). 신생혈관의 범위와 면적도 실험기간동안 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>군이 대조군에 비해 유의성 있게 억제되는 것을 보였다(p < 0.05).

따라서 본 연구를 통하여 랫드 각막 미세낭 검정법을 이용한 실험에서 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>는 혈관신생억제효과가 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구를 수행하는데 있어, pellet제조 및 실험설계에 조언과 도움을 주신 원자력병원의 이창훈 선생님, 박명진 선생님과 천지산 주식회사의 배일주 선생님께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Antman K. Introduction : The history of arsenic trioxide in cancer therapy. *Oncologist* 2001; 6: 1-2.
2. Barchowsky A, Roussel R, Klei L, James P, Ganju N, Smith K, Dudek E. Low levels of arsenic trioxide stimulate proliferative signals in primary vascular cells without activating stress effector pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 159: 65-75.
3. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Reilly M. Antiangiogenic

- therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 1997[letter]; 390: 404-407.
4. Brooks P, Montgomery A, Rosenfeld M, Reisfeld R, Hu T, Klier G, Cheres D. Integrin  $\alpha_3\beta_3$  antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell* 1994; 79: 1157-1164.
  5. Brouty-Doye D, Zetter BR. Inhibition of cell motility by interferon. *Science* 1980; 208: 516-518.
  6. Cao R, Farnebo J, Kurimoto M, Cao Y. Interleukin-18 acts an angiogenesis and tumor suppressor. *FASEB J* 1999; 13: 2195-2202.
  7. D'Amato R, Loughnan M, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 4082-4085.
  8. Fokman J, D'Amore P. Blood vessel formation : what is its molecular basis? *Cell* 1996; 87: 1153-1155.
  9. Hanahan D, Folkman J. Pattern and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353-364.
  10. Jing Y, Dai J, Chalmers-Redman R, Tatton W, Waxman S. Arsenic trioxide selectively induces acute promyelocytic leukemia cell apoptosis via a hydrogen peroxide-dependent pathway. *Blood* 1999; 94: 2102-2111.
  11. Kenyon B, Voest E, Chen C, Flynn E, Fokman J, D'Amato R. A model of angiogenesis in the mouse cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1625-1632.
  12. Kenyon B, Browne F, D'Amato R. Effect of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 1997; 64: 971-978.
  13. Kim K, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips H, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993; 362: 841-844.
  14. Kwong YL, Todd D. Delicious Poison: arsenic trioxide for the treatment of leukemia [letter]. *Blood* 1997; 89: 3487-3488.
  15. König A, Wrazel L, Warrell Jr R, Rivi R, Pandolfi P, Jakubowski A, Gabilove J. Comparative activity of melarsoprol and arsenic trioxide in chronic B-cell leukemia lines. *Blood* 1997; 90: 562-570.
  16. Lew Y, Brown S, Griffin R, Song C, Kim J. Arsenic trioxide causes selective necrosis in solid murine tumors by vascular shutdown. *Cancer Res* 1999; 59: 6033-6037.
  17. Mahoney M, Saltzman W. Millimeter-scale positioning of a nerve- growth-factor source and biological activity in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4536-4539.
  18. Munshi N. Arsenic trioxide : An emerging therapy of multiple myeloma. *Oncologist* 2001; 6:17-21.
  19. O'Reilly M, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal R, Moses M, Lane W, Cao Y, Sage E, Folkman J. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-328.
  20. Polverini P, Bouck N, Raztinejad F. Assay and purification of naturally occurring inhibitor of angiogenesis. *Methods Enzymol* 1991; 198: 440-450.
  22. Rego E, He L-Z, Warrell R, Wang Z-G, Pandolfi P. Petinoic acid(RA) and As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> treatment in transgenic models of acute promyelocytic leukemia(APL) unravel the distinct nature of the leukemogenic process induced by the PML-RAR $\alpha$  and PLZF-RAR $\alpha$  oncoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10173-10178.
  23. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-674.
  24. Roboz G, Dias S, Lam G, Lane W, Soignet S, Warrell Jr R, Rafii S. Arsenic trioxide induces dose- and time- dependent apoptosis of endothelium and may exert an antileukemic effect via inhibition of angiogenesis. *Blood* 2000; 96: 1525-1530.
  25. Rust D, Soignet S. Risk/benefit profile of arsenic trioxide. *Oncologist* 2001; 6: 29-32.
  26. Seo K, Choi J, Park M, Rhee C. Angiogenesis effects of nerve growth factor(NGF) on rat corneas. *J Vet Sci* 2001; 2: 125-130.
  27. Shen Z-X, Chen G-Q, Ni J-H, Li X-S, Xiong S-M, Qiu Q-Y, Zhu J, Tang W, Sun G-L, Yang K-Q, Chen Y, Zhou L, Fang Z-W, Wang Y-T, Ma J, Zhang P, Zhang T-D, Chen S-J, Chen Z, Wang Z-Y. Use of arsenic trioxide(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in the treatment of acute promyelocytic leukemia(APL): II. clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients. *Blood* 1997; 89: 3354-3360.
  28. Soignet S. Clinical experience of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic. *Oncologist* 2001; 6: 11-16.
  29. Soignet S, Maslak P, Wang Z-G, Jhanwar S, Calleja E, Dardashti L, Corso D, DeBlasio A, Garbrilove J, Scheinberg D, Pandolfi P, Warrell R. Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide. *NEJM* 1998; 339: 1341-1348.
  30. Waxman S, Anderson K. History of the development of arsenic derivatives in cancer therapy. *Oncologist* 2001; 6: 3-10.
  31. Zhang T, Westervelt P, Hess J. Pathologic, cytogenetic and molecular assessment of acute promyelocytic leukemia patients treated with arsenic trioxide(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). *Modern Pathology* 2000; 13: 954-961.
  32. Zhu X-H, Shen Y-L, Jing Y-K, Cai X, Jia P-M, Huang Y, Tang W, Shi G-Y, Sun Y-P, Dai J, Wang Z-Y, Chen S-J, Zhang T-D, Waxman S, Chen Z, Chen G-Q. Apoptosis and growth inhibition in malignant lymphocytes after treatment with arsenic trioxide at clinically achievable concentrations. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 772-778.
  33. 이자영, 정성근, Hwang D. Basic fibroblast growth factor에 의해 유도된 쥐의 각막혈관생성에 있어서 urokinase plasminogen activator 수용체에 대한 길항체의 억제효과. *대한안과학회지* 1997; 38: 553-558.
  34. 정성근, 이자영, Hwang D. 각막혈관생성에 있어서 Urokinase plasminogen activator수용체에 대한 길항체의 억제효과. *대한안과학회지* 1996; 37: 1595-1600.