

## 실험적 흰쥐 간 질환 모델의 이해 - 형태학적 특징을 중심으로 -

박도윤 · 서강석

부산대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2002년 12월 27일  
게재승인 : 2003년 5월 31일

책임저자 : 서 강 석  
우 602-739 부산시 서구 아미동 1가 10  
부산의대 병리학교실  
전화: 051-240-7715, 242-7717  
Fax: 051-240-7579  
E-mail: pdy220@pusan.ac.kr

### Experimental Liver Disease Models of Rats - Morphological Characteristics -

Do Youn Park and Kang Suek Suh

Department of Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

Experimental liver disease models of rats have many similarities with those of humans, especially in morphological characteristics. Rat liver disease models can be categorized as models of hepatic fibrosis, hepatic stem cell and hepatocarcinogenesis. The purpose of this article is to review experimental liver disease models, with a major emphasis on morphologic features, including routine morphological, immunohistochemical, and electron microscopic features.

**Key Words** : Disease Models-Animal-Liver-Rats

사람에게서 발생하는 여러 질환을 실험적으로 발생시킬 수 있다면 질병의 진단 및 치료 연구에 큰 도움을 줄 수 있을 것이다. 이런 시도들은 주로 세포배양 수준에서 시도되었으며 제한적으로 실험동물에서도 연구되었다. 특히 실험동물 중 흰쥐 간 질환 모델은 사람의 간 질환 모델로 흔히 사용되는데, 이것은 흰쥐 간 이 형태학적 및 기능적으로 사람과 유사하기 때문이다. 저자들은 흰쥐 간 질환 모델을 1) 간섬유증(hepatic fibrosis), 2) 간줄기세포(hepatic stem cell), 3) 간암발생(hepatocarcinogenesis) 모델로 분류하고, 일반적으로 알려진 이들 모델의 제작 방법과 저자들이 경험한 흰쥐 간 질환 모델의 형태학적인 특징을 중심으로 설명하고자 한다.

### 간섬유증과 Ito 세포

간섬유증은 간손상에 대한 보상 기전으로 일어나는 현상이다. 이런 보상 기전이 과도하게 일어나면 결국 간세포의 기능이 저하된다. 최근 분자생물학적인 기법이 발전하면서 섬유화 과정에 대한 이해가 분자적인 수준으로 접근하게 되었다. 먼저 흰쥐의 간섬유증 발생 모델에 대해 알아보자.

### 간섬유증 모델의 특징과 종류

흰쥐 간섬유증 모델의 이상적 기준은 아래와 같은 다섯 가지

기준을 갖추어야 한다.<sup>1</sup> 1) 사람의 간경화증에서 보이는 형태학적인 소견을 보여야 하며, 2) 병리학적 변화가 점진적이고 분명하게 보여야 하며, 3) 재현성이 높고 사망률은 낮으며, 4) 병리학적 소견으로 가역 혹은 불가역성을 보이며, 5) 이차적인 병태생리학적인 후유증이 발생한다는 점 등이다. 이상과 같은 조건에 적합한 간섬유증 모델은 크게 여섯 개로 구분할 수 있다. 즉, 1) 독성(toxic), 2) 영양성(nutritional), 3) 면역학적(immunologic), 4) 담도성(biliary), 5) 알코올성(alcoholic), 6) 유전성(genetic) 모델 등이다.

### 간독소 유발 간섬유증

사염화 탄소(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)는 간섬유증을 유발하는 대표적인 간 독성 물질이다. 사염화 탄소는 경구로 투여하거나, 피하주사 또는 흡입을 통해 체내 흡수가 되면 trichloromethyl radical을 형성해 간손상을 유발하고 또한 간섬유증을 야기한다.<sup>2</sup> 간암유발물질 중 간섬유증을 유발하는 물질은 dimethylnitrosamine (DMN)과 thioacetamide (TAA)가 대표적이다. 이런 간암유발물질들은 소량으로 장기간 투여할 때는 간의 중앙 발생을 유도하지만 대량으로 단기간 투여할 때는 괴사와 이차적 섬유화증을 유발한다. 이런 간암유발물질들에 의한 간섬유증의 장점은 다른 모델과는 달리 유발물질을 투여하지 않아도 수개월 이상 간섬유증이 지속된다는 것이다.<sup>3</sup> 이들과 비교하여 CCl<sub>4</sub>에 의한 간섬유증은 CCl<sub>4</sub>를 투여하지 않으면 곧 소멸된다.

### 영양성 간섬유증

흰쥐에서 저단백, 저콜린성 및 고지질 식이를 투여하면 간섬유증을 유발할 수 있다. 일차적으로 지방변성이 선행되고 이차적으로 섬유화증이 진행된다.<sup>4</sup> 특히 사람에게서 발생하는 알코올성 섬유화증과 유사한 소견이 관찰된다. 그러나 섬유화 진행과정이 일정하지 않고 종마다 다른 차이를 보이며 실험기간이 길어서 현재는 잘 사용하지 않고 있다. 저단백, 저메치오닌 식이와 동반하여 0.5% DL-ethionine을 투여하여 간섬유증을 유발할 수 있지만, 이 모델도 섬유화 진행과정이 일정하지 않고 사망률이 높아 잘 사용하지 않는다.<sup>5</sup>

### 면역학적으로 유발한 간섬유증

이종 혈청을 주입하여 간섬유증을 유발할 수 있다. 이종 혈청 중 돼지 혈청이 가장 많이 사용되며 복강내 투여 5주 후에 전형적인 간섬유증이 발생된다.<sup>6</sup> 또한 세균벽 구성성분의 하나인 peptidoglycan polysaccharide를 투여하면 간에 육아종성 염증과 함께 섬유화증이 동반된다.<sup>7</sup> 그 외에 만손 주혈흡충(*Schistosoma mansoni*) 감염,<sup>8</sup> 내독소(endotoxin)<sup>9</sup>를 이용하면 간섬유증을 유발할 수 있다. 이 모델들은 사망률이 높고 인체에서 발생하는 간섬유증과 유사성이 떨어져 잘 사용하지 않는다.

### 담도성 간섬유증

담관을 결찰하여 이차적으로 간섬유증을 유발하는 방법은 수술 술기적으로 여러 가지 문제점이 있고 나타나는 섬유화 정도도 일정하지 않기 때문에 잘 사용하지 않는다.<sup>10</sup>

### 알코올성 간섬유증

Lieber와 DeCarli는 비비 원숭이(baboon)에서 알코올로 50% 이상의 칼로리를 섭취하게 하여 간섬유증을 유발하였다.<sup>11</sup> 이 모델이 현재 유일하게 인정되는 알코올성 간질환 실험 모델이다.

### 유전적 간섬유증

Rhino mouse는 유전적으로 자발적인 간섬유증이 발생한다.<sup>12</sup>

### DMN을 이용한 간섬유증의 형태학적 소견<sup>13,14</sup>

일반적으로 간섬유증 모델로 많이 사용되는 DMN에 의한 간섬유증 모델의 특징은 다음과 같다. 실험 방법은 1% DMN을 Sprague-Dawley 흰쥐에 10  $\mu$ L/kg의 농도로 일주일에 3일 동안씩 3주간 연속하여 복강내 주사한다. DMN 투여 시작 후 7일째에 간의 소엽 중심부에 출혈성 괴사소가 관찰되며 그 부위에 다수의 림프구와 대원형 세포들의 침윤이 관찰된다(Fig. 1A). 괴사소와 주위 실질에 섬세한 섬유성 띠와 섬유성 망이 형성되며, 괴사소와 인접한 부위에 간세포가 괴사에 빠져 있는 Councilman 소체가 관찰된다. DMN 투여 시작 후 14일째에는 간소엽에 출혈성 괴사와 간실질의 격막상 붕괴가 더욱 뚜렷해지고 대소단핵

구와 방추형 소세포의 출현이 현저해지며, 섬유성 격막이 중심정맥 사이를 연결하여 미약하나마 미소결절상을 나타낸다. DMN 투여 시작 후 28일째에는 격막상 붕괴와 심한 섬유증이 형성되어 간실질에 미소결절상이 뚜렷해지며, 섬유성 격막을 따라 많은 수의 방추형 소세포들이 현저하게 출현한다(Fig. 1B). DMN 투여 시작 후 35일째에는 간실질의 병변은 별 변동이 없으나 섬유성 격막에 세포성분들이 많이 감소된다.

방추형 소세포들을 전자현미경으로 관찰해 보면 세포질에 지방적이 관찰되어 초기에 나타나는 방추형 소세포들은 지방저장세포(Ito 세포)로 생각되며, 후기에 나타나는 방추형 세포들은 많은 섬유질 다발을 가지며 면역조직화학염색에서 alpha-smooth muscle actin (SMA)에 양성으로 염색되어 근섬유모세포로 분화하는 Ito 세포로 생각된다(Fig. 1C-E).

### 간섬유증과 Ito 세포의 역할

최근 분자생물학의 비약적인 발달로 간섬유증에서의 Ito 세포의 역할이 중요해지고 있다. 최근의 간섬유증의 연구 동향은 다음과 같이 요약할 수 있다. 1) 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)의 구조와 기원세포, 2) Ito 세포를 조절하는 시토키인(cytokine), 3) Ito 세포의 활성화 기전, 4) 기질 단백질 분해효소(matrix metalloproteinases, MMP) 및 억제인자(tissue inhibitor of matrix protease, TIMP), 5) Ito 세포의 분화와 성장을 조절하는 아포프토시스 매개인자 등이다. 이상과 같이 최근의 연구 동향은 Ito 세포의 생물학적 특성에 초점이 맞추어지고 있다.<sup>15,16</sup>

### 세포외 기질의 구조와 기원세포

세포외 기질은 크게 아교질(collagen), 당단백질(glycoprotein) 및 proteoglycan 등의 세 종류로 대별할 수 있다.<sup>15</sup> 당단백질에는 fibronectin, laminin, merosin, tenascin, nidogen, hyaluronic acid 등이 있으며, proteoglycan에는 heparan sulfate, dermatan sulfate, chondroitin sulfate, perlecan, syndecan, biglycan, decorin 등이 속한다. 정상적으로 간의 내피막하 세포의 기질은 비원섬유 아교질(non-fibrillar collagen)인 4형, 6형, 14형의 아교질과 당단백질, proteoglycan 등으로 구성되어 있으며, 간섬유증이 진행되면 정상적으로 간피막이나 문맥역의 큰혈관 주위에만 존재하는 원섬유 아교질(fibrillar collagen)인 1형, 3형 아교질이 증가한다고 알려져 있다.<sup>16</sup> 1980년대 초까지도 간의 세포외 기질의 기원세포로 간세포를 주목하였다. 그러나 면역조직화학 염색, 제자리부합화(in situ hybridization) 등으로 Ito 세포가 간섬유증에 있어서 세포외 기질의 기원세포임이 밝혀졌다.<sup>17</sup>

### Ito 세포의 활성화의 기전

정상적으로 Disse 강에 존재하는 Ito 세포는 비타민 A 대사 산물인 레티노이드를 저장하고 있다. 형태학적으로 세포질내에 레티노이드를 함유하고 있기 때문에 작은 지방방울을 가지고 있

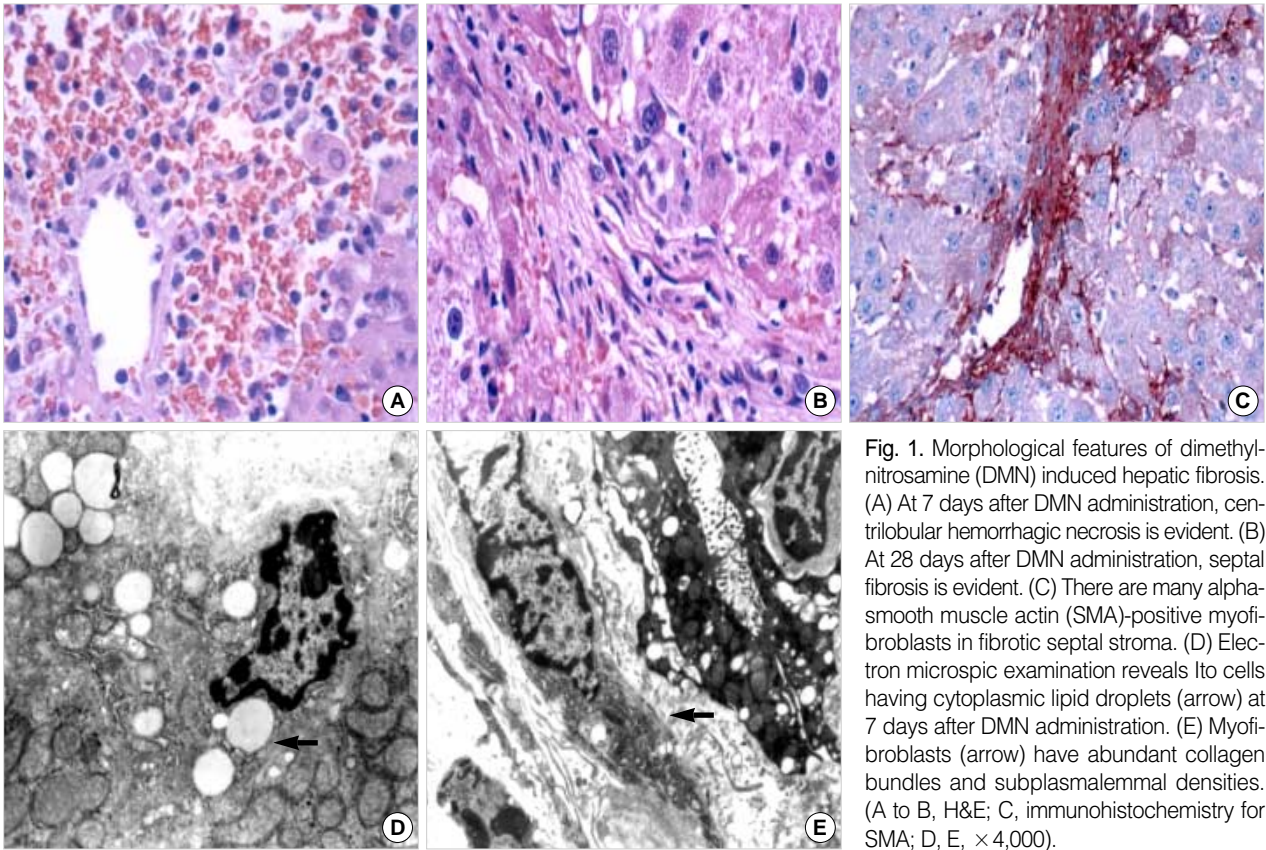


Fig. 1. Morphological features of dimethylnitrosamine (DMN) induced hepatic fibrosis. (A) At 7 days after DMN administration, centrilobular hemorrhagic necrosis is evident. (B) At 28 days after DMN administration, septal fibrosis is evident. (C) There are many alpha-smooth muscle actin (SMA)-positive myofibroblasts in fibrotic septal stroma. (D) Electron microscopic examination reveals Ito cells having cytoplasmic lipid droplets (arrow) at 7 days after DMN administration. (E) Myofibroblasts (arrow) have abundant collagen bundles and subplasmalemmal densities. (A to B, H&E; C, immunohistochemistry for SMA; D, E,  $\times 4,000$ ).

다. 또한 많은 세포돌기를 내어 주위 간세포, 내피세포와 연결하고 있다. 간손상을 받게 되면 Ito 세포는 섬유화를 유발하는 근섬유모세포로 활성화된다. Ito 세포의 활성화 기전은 크게 개시기와 영속기의 두 단계로 나눌 수 있다. 개시기의 Ito 세포는 주위의 손상 받은 세포에서 분비하는 여러 가지 인자들에 의해 활성화된다. 이들 활성화 인자에는 간세포, 내피세포, Kupffer 세포, 혈소판 및 종양세포들에서 분비하는 인자들이 있다.<sup>18,19</sup> 영속기(perpetuation)에 들어선 활성화된 Ito 세포는 다양한 변화를 보인다. 이 시기에는 형태학적으로 세포질 내에 지방방울이 줄어들며, 스스로 증식할 수 있으며, 수축능 및 섬유화 능력을 가지는 Ito 세포가 출현하며, 다른 염증세포의 화학주성을 야기하는 인자를 비롯한 여러 가지 시토카인 등을 분비한다. Ito 세포의 증식은 주로 PDGF (platelet derived growth factor)에 의해 이루어진다.<sup>20</sup> 또한 Ito 세포는 endothelin-1 (ET-1)을 통해 주변 골모양혈관(sinusoid)을 수축하여 혈류를 방해한다.<sup>21</sup> Ito 세포는 TGF- $\beta$ 1을 통하여 섬유화를 증가시키며, 화학주성 기전을 통해 염증세포와 Ito 세포 자체를 끌어들이는다.<sup>22</sup> Ito 세포를 조절하는 시토카인에는 TGF (transforming growth factor)- $\beta$ 1, PDGF, FGF (fibroblast growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), ET-1, interleukin-10 등이 있다. 많은 연구에서 활성화된 Ito 세포의 대부분은 아포토시스의 기전으로 소멸된다고 보고하였다.<sup>23</sup>

### 간줄기세포와 타원 세포(Oval cell)

#### 타원 세포에 의한 간재생 모델

간 손상 후 간 재생은 크게 두 가지 기전에 의해서 일어난다. 즉 원래 존재하는 휴지 간세포들이 재생에 참여하는 기전과 미분화 간줄기세포(hepatic stem cell)들이 재생에 참여하는 기전인 그것이다. 간 재생에 있어서 간줄기세포에 대한 연구 업적은 대단히 방대하고 그 결과 또한 다양하고 복잡하다. 일반적으로 Potten과 Loeffler가 제시한 간줄기세포의 개념은 다음의 네 가지로 요약할 수 있다.<sup>24</sup> 즉, 미분화 세포로서 1) 증식할 수 있는 능력을 가지며, 2) 자기 항상성 유지가 가능하며, 3) 다양한 분화능력을 가지며, 4) 손상 후 조직재생에 참여할 수 있어야 한다. 타원 세포는 많은 연구들을 통해서 담관 상피세포, 간세포, 장관 상피세포 및 외분비 췌장 상피세포 등으로 분화한다고 알려져 있으며, 이런 관점에서 간의 줄기세포라고 할 수 있다.<sup>25-28</sup> 타원 세포의 실험모델은, 간부분절제와 같은 여러 가지 종류의 간세포 손상을 통하여 간 재생이 일어날 때 이런 간세포에 의한 재생을 억제하여 이차적으로 간줄기세포인 타원 세포의 증식을 유도함으로써 이루어진다. 주로 흰쥐에서 많이 연구되었으며, 1) azo-dye 투여,<sup>29</sup> 2) ethionine 또는 2-acetylaminofluorene (2-AAF)투여와 choline 부족식이 병용,<sup>30</sup> 3) 간부분절제술과

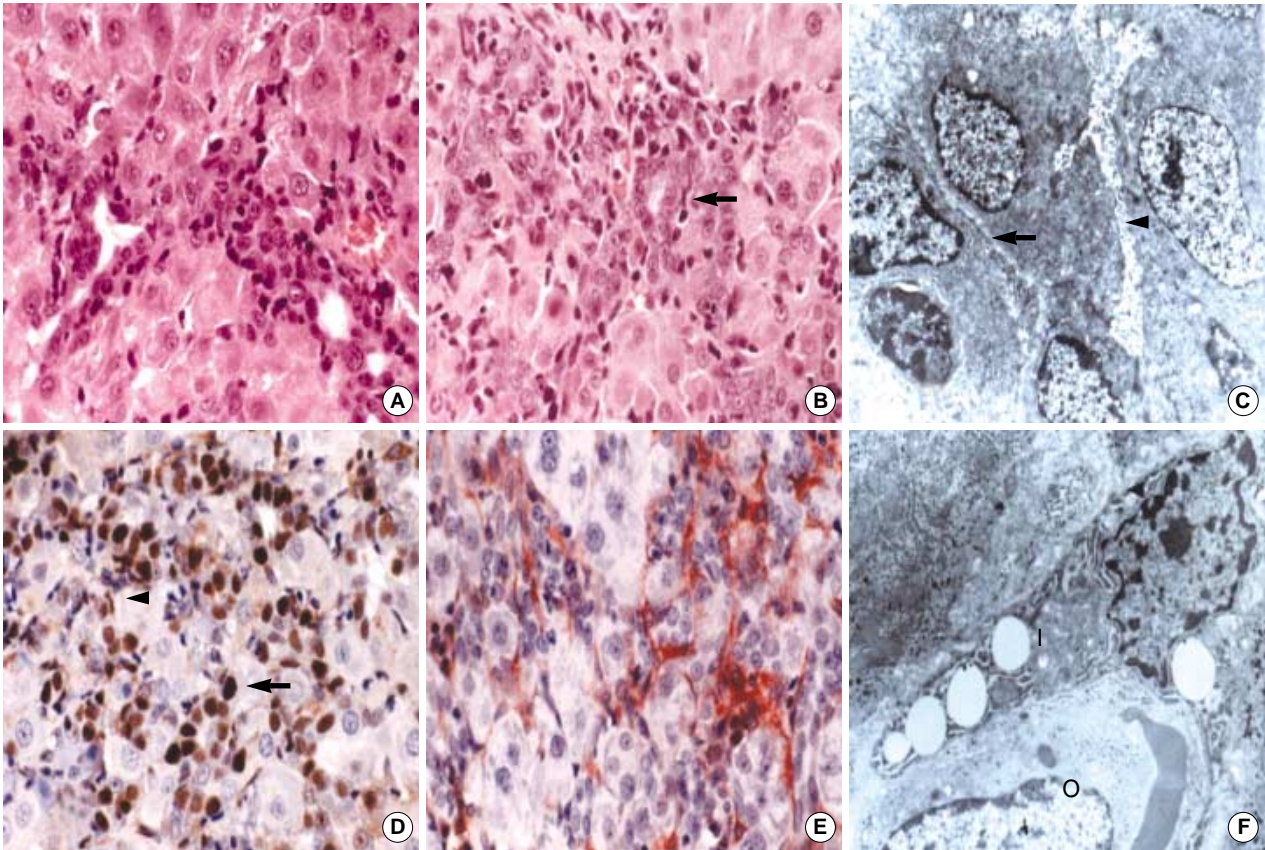


Fig. 2. Morphologic features of oval cell activation by 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy (PH). (A) Oval cells are present close to hepatocytes at limiting plates at 1 day after PH. (B) Small lumens (arrow) are formed by clustered oval cells at 8 days after PH. (C) Oval cells show features of ductular differentiation; microvilli (arrowhead), tight junctions, and surrounding basal lamina (arrow). (D) Immunohistochemistry for proliferating cell nuclear antigen (PCNA) shows proliferating oval cells (arrow) and spindle cells (arrowhead) at 8 days after PH. (E) Immunohistochemistry for alpha-smooth muscle actin shows meshwork of activated Ito cells around oval cells. (F) Ultrastructural examination reveals intimate relationship between fat-storing Ito cells (I) and oval cells (O). (A to B, H&E; D, E, immunohistochemistry for PCNA, SMA; C, F,  $\times 3,000$ ,  $\times 5,000$ ).

2-AAF 투여 병용,<sup>31</sup> 4) D-galactosamine 투여<sup>32</sup> 등이 대표적인 모델이다. 이들 중 간부분절제술과 2-AAF를 병용하는 모델은 간부분절제술에 의한 정상 간세포의 재생 능력을 2-AAF 투여로 억제하여 이차적으로 간줄기세포인 타원 세포의 증식을 유도한다.

#### 2-AAF와 간부분절제술을 병용한 타원 세포 모델의 형태학적 소견<sup>33</sup>

이 모델은 1% 2-AAF를 10 mg/kg의 농도로 2주간 경구 투여하고 경구투여 시작 1주 후에 간부분절제술을 시행한다. 타원 세포는 간부분절제 1일 후 문맥역 주위로 소수의 호염기성 세포질을 가진 타원 세포들이 관찰된다(Fig. 2A). 시간이 지남에 따라 타원 세포의 증식이 소엽중심대로 확대된다. 타원 세포들은 문맥역 주위에서 주변 간세포 사이로 파고들면서 증식하고, 간세포들 사이에서 작은 담세관이나 이보다 더 큰 담소관을 이

루어 담관 상피세포로 분화하는 소견을 보인다(Fig. 2B). 또 타원 세포들과 인접해 주위 간세포보다는 작지만 호염기성의 세포질을 가지며 간세포를 닮은 세포들도 관찰되어 간세포로 분화하는 소견으로 생각된다. 전자현미경으로 관찰하여 보면 다음과 같은 담관상피세포로의 분화 소견이 관찰된다. 즉 선단세포막의 미세융모양 돌기, 외측세포막의 주변세포와의 폐쇄소대(tight junction) 형성 및 기저세포막 아래의 분명한 기저판(basal lamina) 등을 볼 수 있다(Fig. 2C). 또한 핵이 커지고 세포 소기관이 증가하며, 주위 간세포와 세포간 소관을 형성하고 당원입자가 나타나는 간세포로의 분화 소견도 관찰된다.

이 모델에서 나타나는 중요한 두 가지 세포는 타원 세포와 Ito 세포이다. 증식핵항원(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)에 대한 면역염색으로 증식되는 세포를 확인하여 보면 증식하는 세포는 단원형의 타원 세포와 방추형 세포로 구분할 수 있다(Fig. 2D). PCNA에 양성인 방추형세포들은 증식하는 Ito 세포로 생각된다(Fig. 2E). 또한 전자현미경을 이용하면 방

추형세포의 세포질에서 지방적이 관찰되어 증식하는 방추형 세포는 Ito 세포임을 알 수 있다(Fig. 2F). 실제로 타원 세포의 증식과 분화는 동반된 Ito 세포의 증식과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되어 있다.<sup>34</sup> 형태학적으로 타원 세포들이 증식하는 곳에 밀접하여 Ito 세포의 증식이 관찰되며 또한 증식 분화하는 타원 세포를 Ito 세포들이 그물같이 둘러싸고 있고, 타원 세포가 문맥역 주위에서 소엽중심대로 파고 들어갈 때 이들을 앞서서 Ito 세포가 진행해 나가는 모양이 관찰된다(Fig. 2E). 또한 전자현미경으로 보면 증식된 타원 세포와 Ito 세포가 서로 접하고 있으며 이들 사이에 밀접한 관련이 있는 것을 암시한다(Fig. 2F). 실제로 타원 세포의 증식 및 분화와 관련이 있는 여러 성장인자들이 Ito 세포에서 발현된다는 보고가 이런 사실들을 잘 뒷받침해 준다.<sup>34</sup>

### 화학적 간암 발생

#### 흰쥐에서 화학적 간암 발생 모델

흰쥐에서 화학적으로 유발하는 간암발생 모형은 크게 세 가지로 구분할 수 있다(Table 1). 1) 단일 제제를 이용하는 방법,<sup>35-38</sup> 2) 개시기-증진기-진행기로 구분하는 방법,<sup>39-42</sup> 3) 영양 결핍을 이용하는 방법<sup>43</sup>이다. 단일 제제를 이용하는 방법 및 영양 결핍을 이용한 방법들은 시기에 따라 동일한 병변이 발생하지 않아 다단계 간암발생기전을 연구하는 데는 적합하지 않으며, 제제를 중단하면 다시 정상으로 복귀한다는 단점이 있다. 개시기-증진기-진행기로 구분하는 방법 중 Solt와 Farber의 방법인 저항성 간세포 모델(resistant hepatocyte model)은 주로 화학적 발암 물질인 diethylnitrosamine (DEN)으로, 개시기 동안 DNA에 변이를 보이는 저항성 간세포를 유발하고 이차적으로 2-AAF와 간부분절제술을 병행하여 저항성 간세포의 클론성 성장을 유발한다. 이 모델의 장점은 다른 모형들과 달리 같은 시기에 동일한 병변이 관찰되어 다단계 발암 과정을 연구하는 데 가장 적합하다는 점이다. Solt와 Farber 방법 외의 다른 개시기-증진

기-진행기의 방법들은 시기에 따라 상이한 병변이 관찰되어 간암 발생 연구에 적당하지 않다.

흰쥐에서 화학적으로 유발한 간암 발생 과정 중 glutathione S-transferase placental form (GST-P)은 전암성 병변 및 간세포 암증을 확인할 수 있는 중요한 표지자로 잘 알려져 있다.<sup>44</sup> GST-P는 정상적으로 흰쥐에서 거의 존재하고 있지 않으며 간암 발생 과정 중에 발현이 현저히 증가된다.<sup>45</sup> 전암성 병변 및 간암증에서 증가되는 GST-P의 기능에 대해서는 아직 잘 모르고 있으나, 증가된 GST-P는 이차적으로 간세포의 발암 과정 중에 중요한 지질 과산화(lipid peroxidation) 과정을 억제하여 종양 진행에 역할을 할 것으로 알려졌다.<sup>46</sup> 그렇지만 GST-P는 전암성 병변과 간암증에서 보이는 진단상의 특징적인 효소가 아니라, 진행 과정에서 보이는 세포내 대사의 변화에 의해 출현하는 이차적으로 형성되는 특징이라는 견해도 있다.<sup>46</sup>

#### Solt와 Farber에 의한 화학적 간암 모델 및 형태학적 소견<sup>47,48</sup>

일반적으로 흰쥐 간에서 나타나는 전암성 병변 및 간암종의 분류는 Table 2와 같다.<sup>49</sup> 변이세포 병소(altered cellular foci)는 대개 크기가 간소엽 하나의 크기보다 작다. 또한 간실질의 변화는 관찰되지 않으며 주위 간세포와 뚜렷한 경계 없이 연결되어 있다. 세포질의 소견에 따라 투명세포 병소(clear cell foci), 호염기성 병소(basophilic foci), 호산성 병소(eosinophilic foci) 및 혼합 병소(mixed foci)로 분류한다. 증식성 결절(hyperplastic nodule)은 대개 두 세개 간소엽을 합한 크기 정도이며 간실질의 변화와 함께 주변 간세포와 뚜렷한 경계를 이룬다. 간세포암증은 인체에서 발생하는 간세포암종과 유사한 병리학적 특성을 보인다.

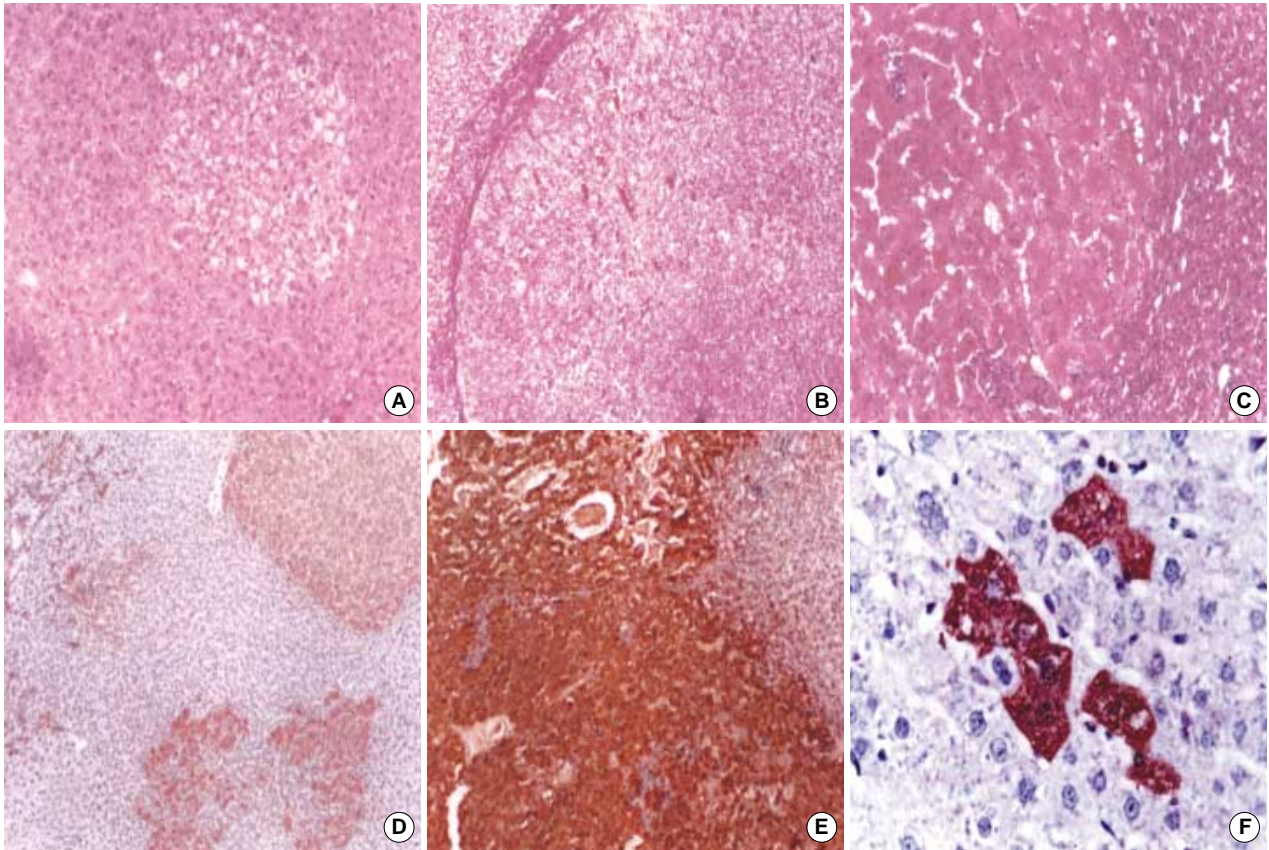
Solt와 Farber에 의한 간암 유발 모델은 다음과 같다. DEN 200 mg/kg을 복강내 주사하여 간세포의 DNA 손상을 야기하고(개시기), DEN 투여 후 2주째에 2-AAF 10 mg/kg을 2주간 경구투여하여 변이가 일어나지 않은 간세포의 클론성 성장을 억제시킨다. 2-AAF를 경구투여하기 시작한 후 1주일째에 간의 1/3를 절제하는 부분절제술을 시행하여 개시기에 변이된 간세포의 클론성 성장을 유도한다. 간부분절제 후 1, 2개월(증진기),

Table 1. Experimental models of hepatocarcinogenesis in rats

Classification	Model	Reference
Single agent	1. Long term exposure to azo dyes	35
	2. Intermittent exposure to azo dyes	36
	3. Exposure to N-nitrosomorpholine	37
	4. Exposure to peroxisome proliferators	38
Initiation-Promotion-Progression	1. Chronic enzyme induction model - phenobarbital	39
	2. Resistant hepatocyte model	40
	3. Choline-methionine-deficient model	41
	4. Exposure of orotic acid	42
Dietary deficiency	Choline-devoid low methionine diet without added carcinogens	43

Table 2. Recommended classification of specific hepatocellular lesions in rats<sup>54</sup>

Category	Specific hepatocellular lesions
Foci of cellular alteration	Clear cell foci
	Eosinophilic or ground glass foci
	Basophilic foci
	Mixed cell foci
Neoplastic nodules	Hyperplastic nodules
Hepatocellular carcinomas	Well differentiated
	Moderately differentiated
	Poorly differentiated
	With glandular and/or papillary formation
Cholangiofibrosis	Adenofibrosis



**Fig. 3.** Morphologic features of chemical hepatocarcinogenesis induced by Solt and Farber's method. (A) Altered cellular foci, including clear cell foci are evident at 1 month after partial hepatectomy (PH). (B&C) Hyperplastic nodule (B) and trabecular hepatocellular carcinoma (C) are evident at 6 months, 12 months after PH, respectively. (D) Hyperplastic nodule is multifocally positive for glutathione S-transferase placental form (GST-P). (E) Hepatocellular carcinoma cells are strongly positive for GST-P. (F) GST-P positive clustered preneoplastic hepatocytes are appeared at 7 days after diethylnitrosamine administration. (A to C, H&E; D to F, immunohistochemistry for GST-P).

6, 8개월(진행기), 12개월(암종기)로 구분할 수 있다. 간부분절제술 후 1, 2개월 제인 증진기에서는 다양한 정도의 전암성 병변이 관찰된다. 간부분절제술 후 1개월째에는 다양한 정도의 변이세포 병소가 관찰된다. 즉 투명세포 병소(Fig. 3A), 호염기성 병소, 호산성 병소 및 혼합 병소로 분류할 수 있다. 간부분절제술 후 2개월째에는 증식성 결절이 관찰된다(Fig. 3B). 이런 증진기의 전암성 병변들은 간부분절제술 후 6개월, 8개월제인 진행기에 증가하는 소견이 관찰된다. 간부분절제술 후 12개월 이후에는 간세포암종이 관찰된다(Fig. 3C). 간세포암종의 주위로 다양한 전암성 병변들이 관찰된다. GST-P에 대한 면역조직화학 염색에서 GST-P 양성 전암성 간세포들은 시간이 경과함에 따라 증가한다. 또한 증식성 결절 및 간세포암종에서도 GST-P에 양성으로 염색되는 소견이 관찰된다(Fig. 3D, E). DEN 투여 1주 후 개시기에는 형태학적으로는 변이세포 병소가 아니지만 한 개의 간세포 또는 몇 개의 간세포 단위로 GST-P 양성 간세포들이 관찰된다(Fig. 3F). 이런 개시기의 GST-P 양성 간세포들은 DEN에 의한 DNA 변이를 보이는 저항성 간세포로 알려져 있다.<sup>50</sup> 이런 저항성 간세포들은 증진기나 진행기에 이차적으로

클론성 성장을 통해 증식성 결절이나 간세포암종을 형성하는 것으로 알려져 있다. 증식성 결절 및 간세포암종의 주위로 GST-P 양성인 타원 세포의 증식도 다수 관찰된다.

## 결론

실험적 흰쥐 간질환 모델은 임상적으로 사람에게서 발생하는 여러 질병(간염, 간경화 및 간암)과 유사한 특징을 보이므로, 여러 가지 임상적인 진단 및 치료 방법을 개발하는 데뿐만 아니라 간질환의 병태생리에 대한 기초적인 연구 수단으로 이용하는 데 효과적일 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Tsukamoto H, Matsuoka M, French SW. Experimental models of hepatic fibrosis: a review. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 56-65.

2. Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 1989; 43: 139-54.
3. Madden JW, Gertman PM, Peacock EE Jr. Dimethylnitrosamine-induced hepatic cirrhosis: a new canine model of an ancient human disease. *Surgery* 1970; 68: 260-7.
4. Webster GT. Cirrhosis of the liver among rats receiving diets poor in protein and rich in fat. *J Clin Invest* 1942; 21: 385-92.
5. Popper H, de la Huerga J, Yesinick C. Hepatic tumors due to prolonged ethionine feeding. *Science* 1953; 118: 80-2.
6. Ballardini G, Degli Esposti S, Bianchi FB, *et al.* Correlation between Ito cells and fibrogenesis in an experimental model of hepatic fibrosis. A sequential stereological study. *Liver* 1983; 3: 58-63.
7. Wahl SM, Hunt DA, Allen JB, Wilder RL, Paglia L, Hand AR. Bacterial cell wall-induced hepatic granulomas. An in vivo model of T cell-dependent fibrosis. *J Exp Med* 1986; 163: 884-902.
8. Dunn MA, Rojkind M, Warren KS, Hait PK, Rifas L, Seifter S. Liver collagen synthesis in murine schistosomiasis. *J Clin Invest* 1977; 59: 666-74.
9. Levy E, Slusser RJ, Ruebner BH. Hepatic changes produced by a single dose of endotoxin in the mouse. *Electron microscopy. Am J Pathol* 1968; 52: 477-502.
10. Tams EG. Morphological and functional changes in the livers of rats after ligation and excision of the common bile duct. *Am J Pathol* 1952; 33: 13-27.
11. Lieber CS, DeCarli LM. The feeding of alcohol in liquid diets: two decades of applications and 1982 update. *Alcohol Clin Exp Res* 1982; 6: 523-31.
12. Fujimoto M, Kimoto M, Sugarawa I, *et al.* Immunological study of homozygous rhino mice associated with spontaneously occurring hepatic fibrosis. In Hirayama C, Kivirikko KI (Eds); *Pathobiology of hepatic fibrosis. Excerpta Medica* 1985; 171-80.
13. SK Lee, DY Park. Phenotypic analysis of inflammatory infiltrate and localization of fibroblast growth factor in the rat with dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis. *Korean J Gastroenterol* 1997; 29: 497-505.
14. SN Lee, DY Park, SK Lee. Cellular distribution of TGF- $\beta$ 1 peptide in dimethylnitrosamine induced fibrosis of rat liver. *Korean J Pathol* 1997; 31: 1157-65.
15. Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 618-33.
16. Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-35.
17. Gressner AM, Bachem MG. Cellular sources of noncollagenous matrix proteins. Role of fat-storing cells in fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 30-46.
18. Gressner AM. Cytokines and cellular crosstalk involved in the activation of fat-storing cells. *J Hepatol* 1995; 22(S): 28-36.
19. Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta. Implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology* 1990; 11: 599-605.
20. Pinzani M, Milani S, Grappone C, Weber FJ, Gentilini P, Abboud HE. Expression of platelet-derived growth factor in a model of acute liver injury. *Hepatology* 1994; 19: 701-7.
21. Rockey DC. The cellular pathogenesis of portal hypertension. Stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology* 1997; 25: 2-5.
22. Bissel DM, Wang SS, Jamagin WR, Roll FJ. Cell specific expression of transforming growth factor-beta in rat liver. Evidence for autocrine regulation of hepatocyte proliferation. *J Clin Invest* 1995; 96: 447-55.
23. Gong W, Pecci A, Pecci S, Lahme B, Beato M, Gressner AM. Transformation-dependent susceptibility of rat hepatic stellate cells to apoptosis induced by soluble Fas ligand. *Hepatology* 1998; 28: 492-502.
24. Potten CS, Loeffler M. Stem cells; attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. *Development* 1990; 110: 1001-20.
25. Thorgeirsson SS. Hepatic stem cells. *Am J Pathol* 1993; 142: 1331-3.
26. Fausto N. Oval cells and liver carcinogenesis: an analysis of cell lineages in hepatic tumors using oncogene transfection techniques *Prog Clin Biol Res* 1990; 331: 325-34.
27. Sell S. Is there a liver stem cell? *Cancer Res* 1990; 50: 3811-5.
28. Sigal SH, Brill S, Fiorino AS, Reid LM. The liver as a stem cell and lineage system. *Am J Physiol* 1992; 263: G139-48.
29. Inaoka Y. Significance of the so-called oval cell proliferation during azo-dye hepatocarcinogenesis. *Gann* 1967; 58: 355-66.
30. Shinozuka H, Lombardi B, Sell S, Iammarino RM. Early histological and functional alterations of ethionine liver carcinogenesis in rats fed a choline-deficient diet. *Cancer Res* 1978; 38: 1092-8.
31. Tatematsu M, Ho RH, Kaku T, Ekem JK, Farber E. Studies on the proliferation and fate of oval cells in the liver of rats treated with 2-acetylaminofluorene and partial hepatectomy. *Am J Pathol* 1984; 114: 418-30.
32. Lesch R, Reutter W, Keppler D, Decker K. Liver restitution after acute galactosamine hepatitis: autoradiographic and biochemical studies in rats. *Exp Mol Pathol* 1970; 12: 58-69.
33. Park DY, Suh KS. Transforming growth factor- $\beta$ 1 protein, proliferation and apoptosis of oval cells in acetylaminofluorene-induced rat liver regeneration. *J Korean Med Sci* 1999; 14: 531-8.
34. Everts RP, Hu Z, Fujio K, Marsden ER, Thorgeirsson SS. Activation of hepatic stem cell compartment in the rat: role of transforming growth factor alpha, hepatocyte growth factor, and acidic fibroblast gro-

- with factor in early proliferation. *Cell Growth Differ* 1993; 4: 555-61.
35. Kinoshita R. Studies on the carcinogenic chemical substances. *Trans Jpn Pathol Soc* 1937; 27: 65-71.
36. Teebor GW, Becker FF. Regression and persistence of hyperplastic hepatic nodules induced by N-2-Fluorenylacetylamide and their relationship to hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 1971; 31: 1-3.
37. Bannasch P, Hacker HJ, Klimek F, Mayer D. Hepatocellular glyco-genesis and related pattern of enzymatic changes during hepatocarcinogenesis. *Adv Enzyme Regu.* 1984; 22: 97-121.
38. Reddy JK, Scarpelli DG, Subbarao V, Lalwani ND. Chemical carcinogens without mutagenic activity: peroxisome proliferators as a prototype. *Toxicol Pathol* 1983; 11: 172-80.
39. Peraino C, Fry RJ, Staffeldt E. Reduction and enhancement by phenobarbital of hepatocarcinogenesis induced in the rat by 2-acetylaminofluorene. *Cancer Res* 1971; 31: 1506-12.
40. Solt DB, Medline A, Farber E. Rapid emergence of carcinogen-induced hyperplastic lesions in a new model for the sequential analysis of liver carcinogenesis. *Am J Pathol* 1977; 88: 595-618.
41. Sells MA, Katyal SL, Sell S, Shinozuka H, Lombardi B. Induction of foci of altered, gamma-glutamyltranspeptidase-positive hepatocytes in carcinogen-treated rats fed a choline-deficient diet. *Br J Cancer* 1979; 40: 274-83.
42. Rao PM, Nagamine K, Ho RK, *et al.* Dietary orotic acid enhances the incidence of gamma-glutamyltransferase positive foci in rat liver induced by chemical carcinogens. *Carcinogenesis* 1983; 4: 1541-5.
43. Yokoyama S, Sells MA, Reddy TV, Lombardi B. Hepatocarcinogenic and promoting action of a choline-devoid diet in the rat. *Cancer Res* 1985; 45: 2834-42.
44. Sato K, Satoh K, Tsuchida S, *et al.* Specific expression of glutathione S-transferase Pi forms in (pre) neoplastic tissues: their properties and functions. *Tohoku J Exp Med* 1992; 168: 97-103.
45. Sato K, Kitahara A, Satoh K, Ishikawa T, Tatematsu M, Ito N. The placental form of glutathione S-transferase as a new marker protein for preneoplasia in rat chemical hepatocarcinogenesis. *Gann* 1984; 75: 199-202.
46. Tsuchida S, Sato K. Glutathione transferases and cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1992; 27: 337-84.
47. Park DY, Hwang SY, Suh KS. Expression of transforming growth factor (TGF)-beta1 and TGF-beta type II receptor in preneoplastic lesions during chemical hepatocarcinogenesis of rats. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 541-9.
48. HJ Lee, DY Park, KU Choi, *et al.* Expression of Fas / Fas ligand and its relationship with apoptosis in chemically induced preneoplastic lesions in rat liver. *Korean J Pathol* 2001; 35: 383-90.
49. Bannasch P, Becker FF, Busey W, *et al.* Report of a workshop on classification of specific hepatocellular lesions in rats. *Cancer Res* 1975; 35: 3214-23.
50. Pitot HC. Stage-specific gene expression during hepatocarcinogenesis in the rat. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122: 257-65.