

## 영지로부터 추출한 다당체의 실험적 간경화에 대한 섬유화 억제효과

박은전·김기영\*<sup>1</sup>·김재백·김수웅<sup>†</sup>·이승룡<sup>†</sup>·손동환\*  
원광대학교 약학대학, \*약품연구소, <sup>†</sup>일양약품(주) 중앙연구소  
<sup>1</sup>현주소: 원광대학교 의과대학

(Received April 1, 1994)

### The Antifibrotic Effects of Polysaccharides Extracted from *Ganoderma lucidum* on the Experimental Hepatic Cirrhosis

Eun Jeon Park, Ki Young Kim\*<sup>1</sup>, Jae Baek Kim, Soo Woong Kim<sup>†</sup>,  
Seung Yong Lee<sup>†</sup> and Dong Hwan Sohn\*

College of Pharmacy, \*Institute of Pharmaceutical Research & Development,  
Wonkwang University, Iri 570-749, Korea

<sup>†</sup>Il Yang Pharm. Co., Ltd., Central Research Center, Yongin-kun, Kyonggi-Do 449-900, Korea  
<sup>1</sup>Present address: College of Medicine, Wonkwang University

**Abstract**—This study was carried out to investigate the antifibrotic effects of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*. The biliary cirrhosis was induced by bile duct ligation/scission (BDL/S) in rats. BDL/S rats were dosed 5 mg/rat/day orally for 4 weeks after the operation. Antifibrotic effects were evaluated by serum biochemical values, serum procollagen type III peptide (PIIINP) levels, liver hydroxyproline contents, and light microscopical histology. The results obtained were as follows; 1) PIIINP levels in sera of treated BDL/S group were lowered to 50% of those of untreated BDL/S group. 2) Hydroxyproline contents in the liver of treated BDL/S group were also reduced to 83% of those of untreated BDL/S rats. 3) The hepatic damage such as hepatocellular necrosis, inflammation, bile duct proliferation and fibrosis was less severe in the livers of treated rats. These results suggest polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* to be a promising agent for the inhibition of hepatic cirrhosis(fibrosis).

**Keywords** □ Biliary cirrhosis; *Ganoderma lucidum*; N-terminal procollagen type III peptide.

간경변증(Hepatic cirrhosis)은 그 원인과 발생기전 및 형태가 다양하고 복잡하며 사망율이 높은 질환 중 하나이다. 간경변증은 hepatic parenchymal cell destruction 및 간조직 중 결합단백이 과다생성 되어 침착된 섬유화 상태와 더불어 nodule의 형성으로 정상적인 간소엽 구조가 파괴된 만성적이고 지속적인 간 질환이라 정의될 수 있다.<sup>1)</sup>

Alcohol, toxic drugs, chemicals, viral hepatitis로부터 만성간염으로의 전이, metabolic disorder, 자가면역성 질환 및 그의 여러 원인에 의해 발생하는

것으로 알려져 있다.<sup>1,2)</sup>

이 질환은 초기단계에서는 통증이나 자각증상이 잘 나타나지 않고 말기에 발견되는 경우가 많아 그 치료가 쉽지 않다.<sup>3)</sup>

간 섬유화(경화) 억제약물에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나, 실제 임상에 적용되어 뚜렷한 항섬유화 효과를 나타내는 치료제는 현재 없는 실정이다.<sup>2,4)</sup> 영지(*Ganoderma lucidum*)는 혈압조절, 진해거담, 진통진정, 혈당강하, 항암작용 및 간장보호작용 등이 있다고 보고되고 있다.<sup>5)</sup> 간 보호작용으로는 CCL<sub>4</sub>에 의한 급성독성 유발시 병리손상 및 간 해독기능의

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

손상을 경감시키고 간세포의 재생을 촉진하며<sup>5)</sup> 또 저자 등에 의해 영지수침액이 fibrosis를 저지시키는 작용이 있다고 보고되었다.<sup>6)</sup>

이에 본 연구에서는 영지로부터 추출한 다당체를 bile duct ligation/scission 수술을 한 흰쥐에 투여하여 혈청중 fibrogenesis marker인 procollagen type III peptide(PIINP), 간의 hydroxyproline양과 간조직의 병리학적 소견 등을 중심으로 혈청의 biochemical value 등을 대조군과 비교검토하여, 영지 다당체의 항섬유화(경화) 효과를 조사하였다.

### 실험방법

원광대학교 의과대학 동물사육실로부터 200~260g의 female wistar rat를 공급받아 실험실 환경에 적응시킨 후 대조군과 약물투약군으로 분류한 다음 다시 각 군을 sham operation group과 bile duct ligation/scission(BDL/S) operation group으로 나누어 총 4군으로 하였다.

BDL/S group의 경우 흰쥐를 Rompun과 Ketalar로 마취하고 개복하여 원위담도와 근위담도를 묶고 그 사이를 자른 후 생리식염수 2 ml을 주입한 다음 봉합하였다. Sham group의 경우 개복한 후 생리식염수 2 ml을 주입한 다음 봉합하였다. 수술 4주동안 rat의 체중을 1주일 간격으로 측정하였으며 상태를 면밀히 관찰하면서 간경화를 유도하였다.

다당체는 다음과 같은 방법으로 추출하였다. 영지의 균사체(*Ganoderma lucidum* IY009)를 3차 종균배양하여 얻은 종균을 배양액이 담겨진 발효조에서 배양한 배양액을 원심분리하여 얻은 고형분을 알칼리 처리한 후 원심분리하여 잔사를 제거하고 그 상정액을 중화한 다음 에탄올로 침전시키고 다시 원심분리하여 얻은 잔사를 정제한 후 동결건조하여 시료로 하였다. 최종품의 주성분은 주로  $\beta$ -1,3-glucan결합을 한 고분자 다당류 분획이었다.

약물투약군에는 수술한 날부터 4주간 영지로부터 추출한 다당체를 생리식염수에 용해시켜 sonde로 5 mg/rat/day 경구투여하였고, 대조군에는 동량의 생리식염수를 경구투여하였다. 4주후 흰쥐를 마취하 개복하여 heart puncture하여 혈액을 취하고, 즉시 간을 적출하여 그 습중량을 측정하였다. 혈청과 hydroxyproline정량용 간조직은  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

혈청중 PIINP농도 측정은  $^{125}\text{I}$ -labeled antigen (PIINP)을 사용하여 Schuppan 등<sup>7)</sup>의 방법을 따라 radioimmunoassy법으로 측정하였다. Antigen과의 binding 최고치의 50%농도로 희석한 항혈청에 unlabeled standard antigen soln. 또는 sample과 혼합하여  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 incubation하였다. 여기에  $^{125}\text{I}$ -labeled antigen을 가하여 방치하였다. Bound form과 free form은 goat anti-rabbit-IgG antiserum으로 침전시켜 침전물의 radioactivity를 측정하였다. 간조직중 hydroxyproline양은 Jamall 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 즉 6N HCl중 5%의 간 homogenate를  $110^{\circ}\text{C}$ 에서 가수분해시킨 다음 chloramine-T로 산화시키고 Ehrlich's reagent soln.으로 발색시켜 558 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청중 alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin, cholesterol, creatinine치 등을 kit(Ciba-Corning)를 사용하여 clinical chemistry analyzer(Gilford 400E)로 측정하였다. 수술 4주후 간의 색조, 경도, 단면상 등을 육안으로 관찰하였으며 또 간조직 일부를 채취하여 10% 중성 formalin용액에 넣어  $4^{\circ}\text{C}$ 에 보관후 hematoxylin & eosin염색을 하여 광학현미경으로 조직학적인 변화를 관찰하였다. 통계처리는 Student's t test에 의했으며, p value가 최소 0.05이하인 경우를 유의한 차로 판정하였다.

### 결 과

수술후 4주동안 Sham group의 경우 대조군과 약물투약군에서 모두 건강상태가 양호하였다. BDL/S group의 경우 대조군과 약물투약군 모두에게 수술 3일후부터 귀, 발바닥 등에 황달을 나타냈으며 노역시 진한 노란색을 띠었다.

체중의 경우 수술직전 무게에 대한 수술 4주후 무게의 비로 계산시 대조군의 sham group은 5.3%, BDL/S group은 10.8% 증가하였고, 약물투약군의 경우 sham group은 1.7%, BDL/S group은 9.1% 증가하였다(Table I). BDL/S group은 대조군과 비투약군 모두에게 수술후 1주일동안 뚜렷한 체중감소를 보인 후 체중증가를 보였다. 1주째의 체중감소는 수술에 의한 것이며 그후 BDL/S군의 체중증가는 간 무게의 증가에 의한 것이라 사료된다.

**Table I**—Body and Liver weight of BDL/S operated rats

	n	Body weight(g)		Liver weight (g)
		0 wk	4 wk	
<b>Control</b>				
Sham group	6	226± 13.7	238± 12.0	8.3± 0.63
BDL/S group	7	222± 5.4	246± 4.0	20.3± 0.90**
<b>Treated</b>				
sham group	6	242± 3.9	246± 2.4	9.5± 0.20
BDL/S group	8	242± 3.8	264± 7.2	19.7± 1.30**

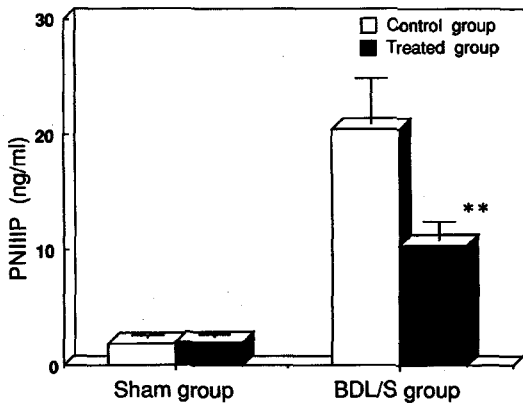
Duration of the study, 4 weeks.

Results show means± S.E.M.

\*\* : Significantly different from sham group(p<0.01)

간의 무게는 체중 100 g당의 습중량으로 비교시 대조군과 약물투약군 모두에서 sham group이 대조군에 비해 약 13% 감소하였다(Table I).

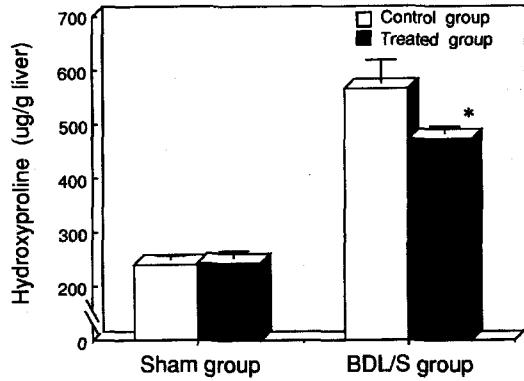
수술 4주후 혈청중 PNIIP의 농도는 약물투약군의 BDL/S group인 경우 10.4± 1.6 ng/ml, 대조군 BDL/S group은 20.5± 3.9 ng/ml로 약물투약군 BDL/S군이 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(p<0.01)(Fig. 1). 간조직중 hydroxyproline양은 약물투약군 BDL/S group의 경우 471± 16 µg/g liver, 대조군 BDL/S group은 566± 42.9 µg/g liver로 약물투약군 BDL/S군이 대조군보다 유의성 있게 감소하



**Fig. 1**—Serum procollagen type III peptide(PNIIP) levels of the BDL/S operated rats treated with polysaccharide extracted from *Garnoderma lucidum*(5 mg/rat/day) for 4 weeks.

Mean values± S.E.M.

\*\* : significantly different from control, BDL/S group(p<0.01).



**Fig. 2**—Liver hydroxyproline content of the BDL/S operated rats treated with polysaccharide extracted from *Garnoderma lucidum*(5 mg/rat/day) for 4 weeks.

Mean values± S.E.M.

\* : significantly different from control BDL/S group(p<0.05).

였다(p<0.05)(Fig. 2).

대조군과 약물투여군의 혈청 parameter변화는 Table II와 같다. 투약군 sham group의 cholesterol치는 대조군 sham group보다 31% 유의성있게 감소하였다. 또한 AST, ALT, total-bilirubin치는 약 14%, 35%, 33% 증가하였으나 유의성은 없었고 ALP치는 유의성있게 약 140% 증가하였다. 투약군의 BDL/S group은 대조군보다 AST치와 cholesterol치가 약 10%와 16% 감소하였으나 유의성은 없었고 ALP치가 71%정도 유의성 있게 증가하였다. 그외의 parameter는 대조군과 약물투약군에 있어서 유사하였거나 약물투약군이 약간 높았다.

수술 4주후 부검시 대조군의 BDL/S group의 경우 모세혈관의 확장이 관찰되었으며, 간은 매우 경화되어 있었고, 주위 장기와의 유착이 심했고, 신장은 bilirubin의 침착으로 인해 암갈색을 띠었으며, 비장이 비대해져 있었고, 팽대한 담도에 약 4~20 ml의 담즙이 차있었으나 복수는 관찰되지 않았다. 약물투약군의 BDL/S group의 경우 간의 주위 장기와의 심한 유착은 거의 관찰되지 않았다.

간의 조직검사 결과, 대조군의 BDL/S group에서 중등도의 간세포 괴사, 염증 및 심한 담관증식을 수반하는 fibrosis가 관찰되었다(Fig. 3a). 약물투약군 BDL/S group에서는 간세포 괴사 및 염증정도가 약한

**Table II**—Serum biochemical values of BDL/S operated rats

	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	Cholesterol (mg/dL)	T-Bili (mg/dL)	Crea (mg/dL)
Control						
sham group	128± 8.7	45± 4.0	171± 26.7	82± 3.7	0.3± 0.04	0.5± 0.04
BDL/S group	576± 106.7	139± 28.6	286± 36.1	108± 8.4	6.4± 0.08	0.8± 1.20
Treated						
sham group	146± 3.8	61± 3.7	410± 86.4	56± 3.2	0.4± 0.12	0.5± 0.02
BDL/S group	524± 49.1	180± 91.7	491± 60.0	90± 13.3	4.7± 1.20	0.5± 0.04

Duration of the study, 4 weeks.

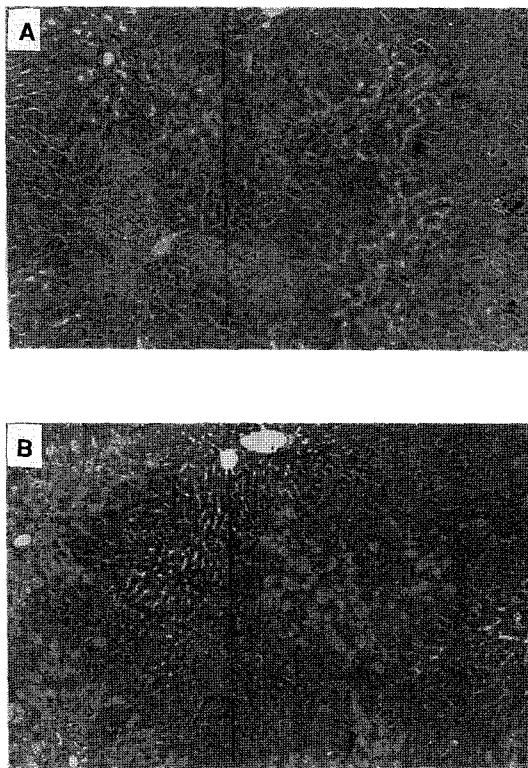
Results show means± S.E.M.

것으로 관찰되었고 담관증식은 대조군보다 적었으며 중등도의 fibrosis가 관찰되었다(Fig. 3b).

**고 찰**

Hepatic cirrhosis(fibrosis)의 경우 간조직중 collagen의 양이 정상간보다 6~7배 증가하는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 정상간에 존재하는 collagen의 종류로는 type I, II, IV, V와 VI 등 5종류가 보고되었다.<sup>2,9)</sup> Collagen은 (Gly-Xaa-Yaa)의 특이한 아미노산 배열을 갖고 있으며 Yaa위치에 proline 또는 hydroxyproline이 배열된다. 이와 같은 hydroxyproline은 collagen중에만 특이적으로 약 10% 함유되어 있어 간조직중의 hydroxyproline을 정량함으로써 간조직중의 collagen의 양을 예측할 수 있다. 또한 collagen은 세포내 procollagen으로 존재하다가 세포외로 유리되면서 양끝의 N-terminal과 C-terminal peptide가 분해되어 혈청, 뇨 등으로 유리된다.<sup>2,9)</sup> 이 peptide를 혈청중에서 측정함으로써 간섬유화, 경화를 진단하는 연구가 1980년대부터 시작되었으며 현재까지 간경화 지표로 가장 많이 연구된 것은 N-terminal procollagen type III peptide(PIIINP)로서, 간 질환 진행과정중 fibrogenesis 진단에 유용한 지표라 보고되고 있다.<sup>7,9-13)</sup>

간 섬유화(경화) 실험동물 모델로는 carbon tetrachloride,<sup>13)</sup> billiary obstruction,<sup>14)</sup> methotrexate,<sup>15)</sup> ethanol,<sup>16,17)</sup> dimethylnitrosamine<sup>18,19)</sup> 및 Vit B<sub>12</sub>결핍에 의한 diet<sup>20)</sup> 모델 등이 있다. Biliary obstruction 모델은 1984년 J. Kountouras 등<sup>14)</sup>이 발표한 후부터 hepatic fibrosis(cirrhosis)모델로 사용되기 시작하였다. 그동안 주로 사용된 CCl<sub>4</sub> 모델의 경우 간섬유화(경화) 유도시 8~12주 정도의 장기간이 소요되며, 30~60%의 높은 치사율을 나타내고, 간섬유화 유도에 대한 개체차가 크며, 간의 조직학적인 변화가 임



**Fig. 3**—Light microscopical appearance of liver in the rats after 4 weeks of BDL/S operation(magnification×80).  
a: control BDL/S group. b: polysaccharide treated BDL/S group.

상에서 관찰되는 간질환의 소견과는 많은 차이가 있다고 보고되고 있다.<sup>21)</sup> 이에 반해 bile duct ligation/scission(BDL/S) 모델은 치사율이 현저히 낮고, 90% 이상이 4주 이내에 간섬유화(경화)가 유도되며, 간의 조직학적 소견이 간 질환자와 유사하다고 보고되고 있다.<sup>10)</sup> 또 CCl<sub>4</sub>, DMN 모델 등은 간이 위축됨으로써 총 collagen양은 거의 증가하지 않고 상대적인 collagen양만 증가하나, BDL/S 모델은 상대적인 collagen양 뿐만 아니라 총 collagen양도 증가하므로 결합조직의 metabolism과 regulation을 연구하기 적합한 모델이라 사료되고 있다.<sup>10)</sup>

간장약 개발을 위해 그동안 주로 사용된 carbon tetrachloride 간장해 실험동물모델의 경우 CCl<sub>4</sub>를 1~2회 투여하여 혈청중 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase(ALT)값을 상승시킨 후 AST, ALT값을 강하시키는 약물을 screening하는 방법을 사용해 왔다. 그러나, 이러한 방법은 손상된 간세포의 기능을 회복시킨다는 의미는 있을지 모르나 간섬유화(경화)치료제에 요구되는 약효검색으로는 적절치 못하다. CCl<sub>4</sub>의 1~2회 투여로는 간섬유화가 유도되지 않으며 또한 AST와 ALT 등의 혈청 parameter로는 간의 섬유화(경화) 진행정도를 진단하기 어렵기 때문이다. 이에 혈청 clinical parameter와 더불어 혈청 PIIINP와 간 조직중의 hydroxyproline양을 측정하는 방법이 간섬유화(경화) 치료제의 약효검색을 하는데 유효한 것으로 사료되고 있다.<sup>6,9,10,20,22)</sup>

Penicillamine,<sup>2)</sup> 16,16-dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub>,<sup>20)</sup> biphenyl dimethyl dicarboxylate,<sup>22)</sup> colchicine,<sup>23)</sup> glucocorticoid,<sup>24)</sup> malotilate,<sup>25)</sup> interferon- $\gamma$ ,<sup>26)</sup> pentoxifylline<sup>27)</sup> 및 prolyl 4-hydroxylase inhibitor인 pyridine-2,4-dicarboxylic-diethylamide(SO 885)<sup>10,13)</sup> 와 pyridine-2,4-dicarboxylic-di(2-methoxyethyl) amide(HOE 077)<sup>10)</sup> 등 섬유화 억제약물에 대한 많은 연구가 진행되고 있으나 임상에 적용시 항섬유화 작용이 미약하거나 그 부작용이 심하여 뚜렷한 항섬유화 효과를 나타내는 치료제는 아직 없는 실정이다. 본 실험 결과 영지버섯 자실체로부터 분리한 균사체 (*Ganoderma lucidum* IY 009)의 배양액으로부터 얻어진 다당체는 간조직 중 collagen의 과다축적을 상당히 억제하고 있음이 밝혀졌다.

혈청 parameter 결과 영지로부터 알칼리 추출한 다당체가 cholesterol과 total-bilirubin을 제외한 pa-

rameter에는 유의성 있는 유효한 변화를 나타내지 않았다. Sham group의 경우 ALT와 ALP치가 유의성 있게 증가하였고 BDL/S group에서도 ALP치가 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과로부터 간세포에 대한 독성을 추측할 수 있으나 한편으로는 혈청 parameter와 collagen축적과는 연관성이 없음을 나타내고 있다. 그리고 흰쥐로부터 분리한 간세포에 CCl<sub>4</sub>와 시료인 다당체를 처리하여 배양시 ALT활성이 약 40%정도 억제된 것으로 보고되어<sup>28)</sup> 본 실험결과와 큰 차이를 보이고 있다. *in vitro*와 *in vivo*간의 직접적인 비교는 곤란하나 이러한 상이한 결과는 동물모델간의 차이에서 기인한다고 추측할 수 있겠다.

간섬유화 유발과정을 간단히 살펴보면 그 원인에는 관계없이 염증이 유발되고 그 부위로 각종 염증세포가 밀집되면서 유리되는 각종 cytokine을 매개로 fibroblast의 collagen합성이 촉진되고 또한 collagen의 분해가 억제되는 것으로 예상되고 있다. 본 실험결과로부터 영지 다당체의 섬유화 억제 기전을 예측하는 것은 현재로서는 어려우나, ALT, AST, ALP치의 상승 내지는 변화가 없음에도 불구하고 collagen치가 감소하는 것으로 보아 염증세포에서 유리되는 fibroblast에 작용하는 cytokine에 영지 다당체가 작용하지 않나 추측된다. 그러나 이 부분에 대해서는 더욱 구체적인 연구가 요구된다.

## 결 론

영지로부터 추출한 다당체를 BDL/S 수술을 한 흰쥐에 5 mg/rat/day 경구투여시 그 항섬유화 효과는 다음과 같다.

1. 혈청중 fibrogenesis marker인 aminoterminal procollagen type III peptide(PIIINP)의 수치의 경우 약물투여군 BDL/S group(10.4±1.6 µg/ml) 이 대조군 BDL/S group(20.5±3.9 µg/ml)보다 50%정도 유의성 있게 감소하였다(p<0.01).

2. 간조직중 hydroxyproline의 양은 약물투여군 BDL/S group(417±42.9 µg/g liver)이 대조군 BDL/S group(566±42.9 µg/g liver)보다 13%정도 유의성 있게 감소하였다(p<0.05).

3. 간 조직을 Hematoxylin & eosin 염색시 약물투여군 BDL/S group이 대조군 BDL/S group보다 간세포 괴사, 염증, 담도증식 및 결합조직이 침착 정

도가 약한 것으로 관찰되었다.

이상의 결과로서 영지로부터 추출한 다당체가 biliary fibrosis(cirrhosis) 실험동물에서 섬유화 억제 효과가 있음이 사료된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 1993년 보사부 신약개발 연구지원에 의해 수행되었기에 이에 깊이 감사드립니다.

### 문헌

- 1) Anthony, P. P., Ishak, K. G., Nayak, N. C., Poulsen, H. E., Schener, P. J. and Sobin, L. H.: The morphology of cirrhosis. *J. Clin. Pathol.* **31**, 395 (1978).
- 2) Sherlock, S.: *Disease of the liver and biliary system* 8th ed., Blackwell Scientific Publication, London, p.410 (1989).
- 3) Crowley, L. V.: *Introduction to human disease* 3rd ed., Jones and Bartlett Publishers, Boston, p.578 (1992).
- 4) Chojkier, M. and Brenner, D. A.: Therapeutic strategies for hepatic fibrosis. *Hepatology* **8**, 176 (1988).
- 5) 上海科學技術出版社 小學館: 中藥大事典, 上海科學技術出版社, 東京, p.5583 (1985).
- 6) 김기영, 한상수, 김재백: Biliary liver fibrosis 실험동물에서 인삼, 영지, 오미자의 항섬유화 약효검색. 원광대학교 약품연구소보, **7**, 1 (1991).
- 7) Schuppan, D., Dumont, J. M., Kim, K. Y., Hennings, G. and Hahn, E. G.: Serum concentration of the aminoterminal procollagen III peptide in the rat reflects early formation of connective tissue in experimental liver cirrhosis. *J. Hepatology* **3**, 27 (1986).
- 8) Jamall, I. S., Finelli, V. N. and Que Hee, S. S.: A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.* **112**, 70 (1981).
- 9) Schuppan, D.: Connective tissue polypeptides in serum as parameters to monitor antifibrotic treatment in hepatic fibrogenesis. *J. Hepatology* **13**, s17 (1991).
- 10) Boker, K., Schwarting, G., Kaule, G., Gunzler, V and Schmidt, E.: Fibrosis of the liver in rats induced by bile duct ligation: Effects of inhibition of prolyl 4-hydroxylase. *J. Hepatology* **13**, s35 (1991).
- 11) Babbs, C., Smith, A., Hunt, L. P., Rowen, B. P., Haboubi and Warnes, T. W.: Type III procollagen peptide: A marker of disease activity and prognosis in primary biliary cirrhosis. *Lancet*, **i**, 1021 (1988).
- 12) Galambos, M. R., Collins, D. C. and Galambos, J. A.: A radioimmunoassay procedure for type III collagen: Its use in the detection of hepatic fibrosis. *Hepatology* **5**, 38 (1985).
- 13) Bickel, M., Badder, E., Brocks, D. G., Engelbart, K., Gunzler, V., Schmidts, H. L. and Vogel, G. H.: Beneficial effects of inhibitors of prolyl 4-hydroxylase in CCl<sub>4</sub>-induced fibrosis of the liver in rats. *J. Hepatology* **13**, s26 (1991).
- 14) Kountouras, J., Billing, B. H. and Scheuder, P. J.: Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br. J. Exp. Path.* **65**, 305 (1984).
- 15) Custer, R. P., Freeman-Narrood, M. and Narrood, S. A.: Hepatotoxicity in wistar rats following chronic methotrexate administration: A model for human reaction. *J. Natl. Cancer. Inst.* **58**, 1011 (1977).
- 16) Tsukamoto, H., Gaal, K. and French, S. W.: Insights into the pathogenesis of alcoholic liver necrosis and fibrosis: Status report. *Hepatology* **12**, 599 (1990).
- 17) Tsukamoto, H., Towner, S. J., Ciofalo, L. M. and French, S. W.: Ethanol-induced liver fibrosis in rats fed high fat diet. *Hepatology* **6**, 814 (1986).
- 18) Jezequel, A. M., Mancini, R., Rinaldesi, M. L., Macarri, G., Venturini, C. and Orlando, F.: A morphological study of the early stages of hepatic fibrosis induced by low doses of dimethylnitrosamine in the rat. *J. Hepatology* **5**, 174 (1987).
- 19) Jenkins, S. A., Grandison, A., Baxter, J. N., Day, D. W., Taylor, I. and Shields, R.: A dimethylnitrosamine-induced model of cirrhosis and portal hypertension in the rat. *J. Hepatology* **1**, 489 (1985).
- 20) Ruwart, M. J., Wilkinson, K. F., Rus, B. D., Vidmazr, T. J., Hahn, E. G., Peters, K. M., Hendley, K. S., Appelman, H. D., Kim, K. Y. and Schuppan, D.: The integrated value of serum procollagen III peptide over time predicts hepatic hydroxyproline content

- and stainable collagen in a model of dietary cirrhosis in the rat. *Hepatol.* **10**, 801 (1989).
- 21) Tamayo, R. P.: Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl<sub>4</sub>, an adequate model of human cirrhosis? *Hepatol.* **3**, 112 (1983).
- 22) 김기영, 함성호, 김재백: 간섬유화 실험동물에서 procollagen type III peptide와 hydroxyproline 측정방법으로 WK910의 fibrogenesis 억제효과 검색. 원광대학교 약품연구소보 **6**, 33 (1991).
- 23) Kershenobich, H. D., Vargas, Garcia-Tsao, G., Perez-Tamayo, R. and Rojkind, M.: Effectiveness of colchicine in patients with cirrhosis(abstract). *Hepatol.* **7**, 1104 (1987).
- 24) Guzelian, D. S., Lindblad, W. J. and Diegelmann, R. F.: Glucocorticoids suppress formation of collagen by the hepatocyte: Studies in primary monolayer cultures of parenchymal cells prepared from rat liver. *Gastroenterology* **86**, 897 (1984).
- 25) Ala-Kokko, L., Stenback, F. and Ryhanen, L.: Preventive effect of malotilate on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* **113**, 177 (1989).
- 26) Svegliati Beroni, G., Curto, P., Recchioni, A., Mancini, R., Benedetti, A., Jezequel, A. M. and Orlandi, F.: Interferon-gamma reduces liver injury and collagen deposition in dimethylnitrosamine-induced cirrhosis(abstract). *Hepatol.* **18**, 209A (1993).
- 27) Peterson, T. C.: Pentoxifylline prevents fibrosis in an animal model and inhibits platelet-derived growth factor-driven proliferation of fibroblasts. *Hepatol.* **17**, 486 (1993).
- 28) Personal communication, 일양약품