

랫트에서 *Clonorchis sinensis* 감염이 간 oval cell의 증식에 미치는 영향

이재현, 윤병일, 박민경*, 김신나**, 이준상**, 주경환**, 김한중**

원자력병원 실험병리학 연구실, 서울대학교 수의과대학, 청운대학교 식품영양학과*, 고려대학교 의과대학 기생충교실**

Effect of *Clonorchis sinensis* infection on hepatic oval cell proliferation in rats

Jae-Hyun Lee, Byung-Il Yoon, Min-Kyung Park,*
Shin-A Kim,** Joon-Sang Lee,** Kyoung-Hwan Joo,** Han-Jong Kim**

Laboratory of Experimental Pathology, Korea Cancer Center Hospital and Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, SNU,
*Department of Food and Human Nutrition, Chungwoon University
**Department of Parasitology, College of Medicine, Korea University

Abstract. The prevalence of primary liver carcinoma (PLC) is relatively high in *Clonorchis sinensis* (CS) endemic areas in Korea. PLC is a malignant tumor which can be subclassified into hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma(CC). CC has been associated with clonorchiasis, but it is unclear whether clonorchiasis is associated with hepatocarcinogenesis. This experiment was designed to investigate relationships between clonorchiasis and early changes of hepatocarcinogenesis. Sixteen Sprague-Dawley rats weighing 150g were divided into two groups of 8 rats in each. All rats were fed choline-devoid(CD) diet for 4 weeks. Group 1 was given 0.015-0.020% diethylnitrosamine(DEN) as drinking water for 1 week. After one week, the rats were treated orally with 1% N-acetylaminofluorene(AAF) (5 times per week for 2 weeks). Group 2 was treated equally to group 1 except for CS infection during AAF treatment. Two rats in each group were sacrificed at 4th, 5th, 6th and 7th week of the experiment. Livers were stained with OV-6, proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and GST-p. Results were as follows: Group 2 livers showed more oval cell proliferation in parenchyma and portal areas at the 4th, 5th, 6th and 7th weeks than did livers of group 1(p<0.01). PCNA was mostly localized in oval cell populations, rather than hepatocytes and biliary cells. The ratio of oval cells to hepatocytes was much higher in group 2 than in group 1(p<0.01). The ratio of hepatocytes to biliary cells is higher in group 2 than in group 1(p<0.05). More group 2 acidophilic foci reacted to GST-p monoclonal antibody than in the noninfected group. It appeared that CS infection promoted potentially precancerous acidophilic foci and oval cell proliferation.

Key words : *Clonorchis sinensis*, hepatocarcinogenesis, oval cells

서론

간흡충 (*Clonorchis sinensis*) 감염은 인체에서 간암을 일으키는 원인적 요인으로 알려져 왔으나 구체적 발암기전은 아직 밝혀지

지 않았다. Katsurata(1900)가 간흡충 감염 환자에서 간암 발생을 보고한 이래로 Hou(1956), Ch'in 등(1955), Liang and Tung(1959), Belamaric(1973), Purtillo(1976), Kim 등(1989) 등이 간흡충 감염과 원발성 간암 발생과의 관계를 보고하였다. 간흡충 감염시에 관찰되는 일반적인 병리현상은 담관 내강의 확장과 담관의 증식 및 섬유화이다. 조직병리학적으로는 담관세포가 선종상 혹은 유두상으로 증식하며, 호산구와 단핵구로 구성된 만성염증세포가 침윤한다. 담관을 이룬 상피세포는 점액을 생성 분비하는 배세포 화생을 나타낸다. 그러나 최근의 연구보고에 의하면 간흡충 감염이 암발생 과정의 모든 역할을 담당하는 것이 아니며(Lee 등, 1994; Thamavit 등, 1994; Thamavit 등, 1996), 다른 간 발암물질의 발암효과를 증폭시켜 암발생의 잠복기를 단축시키고 암의 발생율을 증가시키는 역할을 하는 것으로 알려졌다(Lee 등, 1996).

간흡충 감염이 DNA를 변이시키므로 암 발생 초기화(initiation)단계에 작용하기보다는 간흡충 감염으로 인한 세포증식을 유도하여 담관암을 촉진시킨다는 결과도 보고되었다(Lee 등, 1994; Thamavit 등, 1994). 또한, Ishii 등(1989)은 간흡충 총체 물질과 배설물질이 DNA를 변형시킬 수 있는 변이원이 될 수 없을 것이라고 하였다.

간흡충 감염이 암발생을 촉진한다면 간암 중 담관암 뿐 아니라 간세포암 발생에도 적용될 것으로 생각할 수 있다. 실제로 간흡충 감염이 담관암 발생 외에도 간세포암 발생에 영향을 줄 수 있을 것이라는 보고(Nakashima 등, 1977)가 있었지만 이들의 관계는 아직 확실하게 밝혀지지 않았다. 간세포암 발생은 주로 B형 혹은 C형 간염 바이러스의 감염과 아플라톡신이나 니트로사민 등의 발암성

화학물질의 노출에 의한 것으로 알려져 있으며, 간흡충 감염이 간세포암 발생에 어떠한 영향을 미칠 것인가에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

Solt-Farber(1976)는 간세포암의 발생기전을 알기 위하여 흰쥐를 이용한 간세포암 발생 모델을 개발한 바 있다. 이 보고에 의하면 간세포암의 발생기전에서 diethylnitrosamine (DEN)과 같은 화학물질은 간세포의 DNA에 영향을 주며 손상받은 세포를 암세포로 발전시키기 위하여 2/3 간절제 수술(partial hepatectomy) 및 N-acetylaminofluorene(AAF)를 투여한다고 하였다.

간흡충 감염은 담관암 발생을 촉진하고, 담관세포 뿐 아니라 간세포의 세포증식을 촉진한다. 암 발생의 촉진과정은 세포 증식과 밀접한 연관성을 가지고 있기 때문에 간흡충 감염이 담관암 외에도 간세포암의 발생을 촉진할 것으로 기대할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 간흡충 감염이 간 난원형 세포(hepatic oval cell) 증식을 촉진하는지 알아보고 더 나아가 간세포암 발생의 가능성을 검토하여 보고자 하였으며, 이를 위해 Solt-Farber의 간세포암 발생모델에 간흡충 감염을 적용하여 간절제술 대신 간흡충 감염으로 담관세포 증식 촉진효과를 알아보고자 하였다.

재 료 및 방 법

실험동물 및 처치

한국화학연구소에서 분양받은 16마리의 체중 150g의 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley rat) 16마리를 8마리씩 2개군으로 나누어 사용하였다. 1군은 실험군에 대한 대조군으로 0.015% diethylnitrosamine (DEN)을 음용수에 첨가하여 자유로이 급여한후 1주일간 휴

식기를 거쳤다. 이어서 2주간 1% N-acetyl-aminofluorene(AAF)를 체중 kg당 1 mg 주 5회 경구투여 하였다. 2군은 실험군으로 간 흡충 피낭유충을 AAF 투여 5일후에 30개씩 감염시켰다. 1군과 2군의 동물사료는 4주까지 choline-devoid 사료(Purina Mills Inc., U.S.A.)를 자유로이 급여하였다. 음용수는 DEN 급여 후에는 모두 수돗물을 자유로이 급여하였다.

간흡충 피낭유충 감염

간흡충 피낭유충 분리는 이 등(1993)의 방법에 따랐다. 간흡충 피낭유충(metacercariae of *Clonorchis sinensis*)은 간흡충 유행지역에서 채취한 참붕어(*Pseudorasbora parva*)의 근육을 모아 인공위액으로 30분간 37°C에서 소화시켰다. 소화된 내용물은 지름 0.147 mm인 채로 여과한 후 0.85 % NaCl용액으로 여러번 세척하였다. 그 후에 간흡충 피낭유충을 입체현미경 하에서 15개씩 모아서 gastric tube로 2회에 걸쳐 경구 감염시켰다.

항체

본 실험에서 사용한 1차 항체는 Table 1 과 같다. 각각의 1차 항체에 대한 2차 항체로는 primary goat anti rat AFP와 secondary rabbit antibody를 사용하였으며, GST-p에 대한 primary rabbit anti rat

GST-p로써 secondary goat antibody를, OV-6와 PCNA는 primary mouse anti rat OV-6와 PCNA로써 secondary horse antibody를 사용하였다.

조직 병리학적 처치

객관적이고 보편적인 실험결과를 얻기 위하여 부검시에 흰쥐 간의 중간엽, 좌엽 및 우엽을 채취하여 조직절편을 만들었다. 연속 파라핀 절편을 5 μm 씩 절편한 후에 H-E염색하였다. 이어서 담관 및 간세포의 증식정도, 비정형성, 세포 밀도 및 염증변화와 세포고사(cell death) 등의 조직병리학적 변화를 관찰하였다.

면역조직화학적 처치

Glutathione S transferase (GST-p)와 PCNA 항원의 복원을 위하여 포르말린 고정 조직은 고압멸균기에서 20분 동안 열처리하였다. 면역조직화학적 염색은 avidin-biotin complex (ABC) kit를 이용하여 실시하였다. 조직 절편은 내인성 peroxidase를 차단하기 위하여 0.3% hydrogen peroxidase를 처리한 후 2차 항체를 만들었던 동물과 같은 species에서 얻은 정상 혈청으로 30 분간 도포하였다. Tris buffered solution에 조직을 세척한 후 1차항체를 도포하였다. 1차 항체는 PCNA와 GST-p는 1시간, OV-6는 90분,

Table 1. Monoclonal antibodies and antisera used in this study

Name	Clone	Tissue Specificity	Dilution	Isotype	Source
AFP	Gout 41	oval and tumor cell	1 : 100	IgG	Sell's lab.
OV-6		oval cells	1 : 80	IgG1	Sell's lab.
GST-p	286(2)11	GST containing cells	1 : 50	IgG	Biotrin
CK8/18	NCL-5D3	oval cell(partially)	1 : 40	IgG	Novocastra
PCNA	NCL-pcna	proliferating cells	1 : 100	IgG2a	Novocastra

α -fetoprotein (AFP)와 cytokeratin 8/18 (CK 8/18)은 2시간씩 각각 배양시간을 일정하게 하였다. AFP, OV-6, GST-p, CK 8/18 및 PCNA의 항체 희석배수는 각각 1:100, 1:80, 1:4000 및 1:100으로 하였다. 1차항체 처리 후 TBS로 세척하고 2차항체를 40분간 37°C에서 도포한 다음 0.05% 3,3'-diaminobenzidine 용액으로 발색하였다.

통계처리

1군과 2군에서 OV-6, PCNA, GST-p 및 CK 8/18 양성세포 수는 현미경 400배 시야에서 100mm² grid를 이용하여 계산하였다. 좌엽, 중간엽 및 우엽에서 10개 부위를 선별하였다. 선별기준은 염색정도가 아주 심하거나 또는 아주 약한 부위는 제외하였다. 양성세포 수에 대한 성적은 student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결 과

조직 병리학적 관찰

Table 2에 본 실험의 간세포암 발생 과정에서 간흡충을 감염시키지 않은 대조군과 간흡충을 감염시킨 실험군에서 나타난 초기 조직병리학적 간의 변화를 요약한 것이다. 1

군에서 실험종료 다음 날인 4주에 간세포의 대부분에서 심한 지방변성을 보였다. 간세포의 지방은 미세공포(microvacuole)와 거대공포 (macrovacuole)의 형태로 세포질내에 축적되어 있었다. 4주에는 새로운 세포의 증식은 보이지 않았다. 5주에 간장 문맥에 난원형 세포(oval cell)의 증식과 더불어 문맥성 섬유화(cholangiofibrosis)를 관찰할 수 있었다. 문맥성 섬유화에서 증식한 담관세포와 관강의 형태는 불규칙하였다. 6주 및 7주에 간실질의 몇몇 부위에서 acidophilic foci (Fig.4.A) 및 clear cell foci가 존재하였다.

2군은 4주에 간문맥과 간 실질에서 난원형 세포가 증식하였고 1군보다 더욱 현저하였다(Fig.4.B). 난원형 세포는 문맥부위에서 관강을 형성하여 세담관의 모양을 나타낸 것과 군집형태나 혹은 일직선 형태로 배열하여 간 실질과 중심정맥 주위에까지 침투되어 있는 형태를 나타내었다. 난원형 세포는 크기가 간세포의 1/2 정도이나 작은 간세포 (small hepatocyte)의 모양을 가지고 있는 것도 많았다. 난원형 세포는 H-E염색하에서 성숙 간세포에 비해 친염기성 염색상을 띠고 있으며 핵의 모양이 난원형이다. 간세포 변성은 1군보다 현저하였고 더 많은 clear cell 혹은 acidophilic cell들이 관찰되었다.

Table 2. Comparison of CS infected liver to CS non-infected liver in early changes during hepatocarcinogenesis of rats

	CS non-infected liver	CS infected liver
Oval cell proliferation	+	+++
Inflammation	?	+++
OV-6 response	+	+++
PCNA expression	+	+++
GST-p expression	+	++
CK8/18 expression	+	+

면역조직화학적 관찰

Table 3 은 흰쥐 간에서 stem cell을 검색하는 항체로 알려진 OV-6, 증식세포의 핵에 존재하여 증식세포를 검색하는 데에 이용하는 PCNA, 일부의 난원형 세포와 태아간 세포의 항원성을 가진 것으로 알려진 CK 8/18 및 흰쥐 간암의 전암병변에 표지되는 GST-p에 대한 간조직내의 면역조직학적 반응의 분석이다.

OV-6 면역반응. DEN과 AAF를 투여한 1군에서 4주에 간조직은 OV-6 양성세포를 관찰할수 없었다. 문맥주위 및 간실질에 새로운 세포의 증식은 관찰되지 않았다. 5주에는 문맥주위에서 OV-6 양성세포를 검출할 수 있었지만 그 수는 미약하였다. 6주 및 7주에는 Fig.4.C 와 같은 정도의 OV-6양성세포를 확인할 수 있었다.

간흡충을 감염시킨 2군에서는 간조직에서 OV-6 양성세포 수가 1군에 비하여 유의성 있는 차이를 보였다. 4주부터 OV-6 양성세포 수는 Fig.4.D 와 같이 증가하였다. 5주 및 6주에는 더 많은 수의 OV-6 양성세포가 간실질에 까지 분포한 것을 관찰하였다. OV-6 양성세포는 duct를 이룬 난원형 세포와 군집한 난원형 세포 외에도 증식한 담관 세포 및 일부의 작은 간세포(small hepatocyte)에서 양성을 보였다. 7주에는 5주나 6주보다 약한 OV-6 양성세포가 관찰되었

다. Fig.1은 6주에 1군과 2군에서 OV-6 양성세포의 분포를 분석한 것으로 OV-6 양성세포는 문맥주위와 간실질 모두에서 $P < 0.001$ 이하였다. 대부분의 양성세포는 문맥주위와 간실질에서 난원형 세포와 간세포의 증식정도를 나타내고 있다. OV-6 양성세포는 간실질에서보다 문맥주위에서 많은 분포를 보였다.

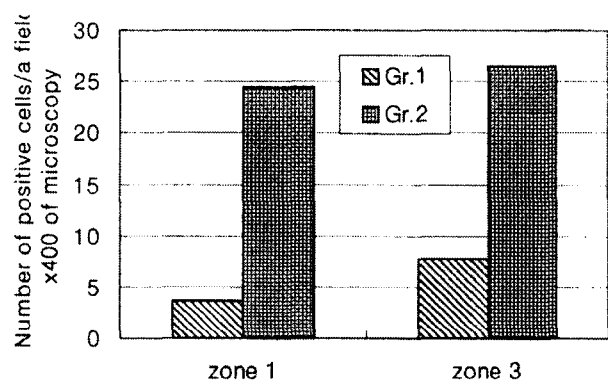


Fig. 1. Number of OV-6 positive cells in C S-non-infective(group 1) and CS infective(group 2) groups during hepatocarcinogenesis. Numbers of cells of group 2 are significantly higher both in parenchyma and portal areas than those of group 1 ($p < 0.001$)

PCNA 면역반응. 1군에서는 4주에 PCNA 양성세포가 관찰되지 않았다. 5주에 문맥주위에서 소수의 증식세포가 존재하였으며 일부의 간세포가 400배 시야에서 1-2개 정도로 관찰되었다. 6주 및 7주에는 Fig.

Table 3. Immunoreactivity of various antibodies to rat liver infected with CS during hepatocarcinogenesis

Name	Tissue Specificity (Grade)
OV-6	Oval cells (++) , biliary cells (+++),
GST-p	Acidophilic cells (++) , foci (++)
CK8/18	Some oval cells (++) , some hepatocytes (+++)
PCNA	Proliferation of oval cells (++++), bile duct cells (+++) and hepatocytes (++)

5.A와 같은 정도로 관찰되었다. PCNA 항원성은 문맥주위의 난원형 세포와 담관세포의 일부에서 분포하여 있었다.

2군에서는 4주부터 Fig.5.B와 같은 정도의 많은 PCNA양성세포가 관찰되었다. PCNA는 대부분의 난원형 세포와 간세포 및 혈관내피세포에서 관찰되었다. 5주, 6주 및 7주의 간조직의 반응성은 4주와 비슷한 분포를 보였다. 난원형 세포 중에서 증식세포는 약 60% 이상이 PCNA 양성을 보였으며 이것은 8.5%를 보인 1군에 비하여 유의한 성적을 보였다($P < 0.01$). 2군의 간세포나 담관세포 중에서 PCNA 양성세포 수는 약 2-9% 정도가 되어 0.4-1.5%를 보인 1군에 비하여 $P < 0.05$ 에서 유의한 차이를 보였다. 그러나 acidophilic foci나 clear cell foci에서 PCNA 양성세포는 수적으로 매우 미약하였다(Fig. 2).

CK 8/18 면역반응. 본 실험에서 사용한 CK 8/18은 anti human CK 8/18 (NOVOCASTRA)로서 rat의 난원형 세포에

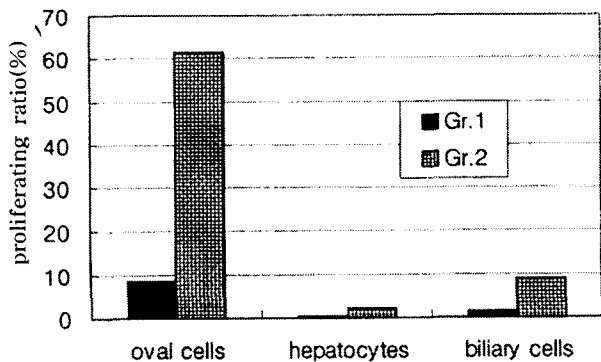


Fig. 2. The ratio of PCNA positive cells to oval cell-, hepatocyte- and biliary cell-populations in non-CS (group 1) and CS (group 2) groups during hepatocarcinogenesis. The proliferating ratio of oval cell population is significantly higher in group 2 than in group 1 ($p < 0.01$). The proliferating ratio of hepatocyte- and biliary populations is much higher in group 2 than in group 1 ($p < 0.05$).

교차 반응한다. CK 8/18 양성세포는 문맥주위에 존재하는 난원형 세포에 양성반응을 보였으며 2군 보다 1군에서 반응성이 강하였다 (Fig.5.C).

GST-p 면역반응. 1군에서 GST-p는 주로 간세포의 세포질에 양성반응을 보였다. 4주와 5주에 양성세포의 정도는 비슷하였으며 주로 간세포 날개 단위에서 양성반응을 보였다. 5주와 6주에는 날개의 간세포도 존재하였으나 양성반응을 보인 간세포 foci의 수가 많았다. 간세포에서 GST-p 반응은 담관주위 혹은 간 실질에서 무작위로 반응하는 형태를 보였다.

2군에서 GST-p는 난원형 세포와 간세포 모두에서 양성반응을 보였다. 난원형 세포에서 반응성은 주로 핵에서 반응하는 것과 세포질에서 반응하는 것으로 나타났다. 4주부터 6주까지 비슷한 양성분포를 보였으며 간흡충을 감염하지 않은 1군에 비하여 상대적으로 많은 양성세포 수를 보였으나 (Fig.3) 유의적인 차이는 보이지 않았다.

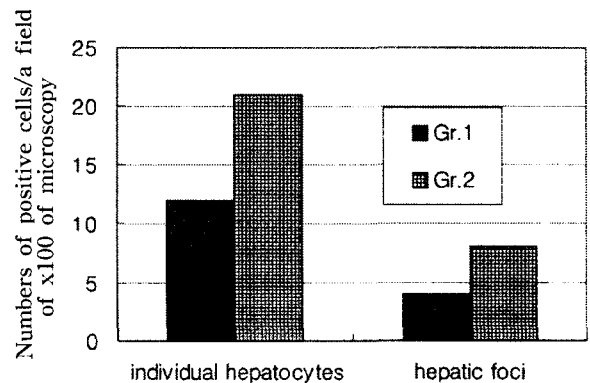


Fig. 3. Number of GST-p positive cells and foci in non-CS(group 1) and CS(group 2) infected groups. The positive number of GST-p of individual hepatocytes and hepatic foci is higher, but not significantly higher in group 2 than in group 1.

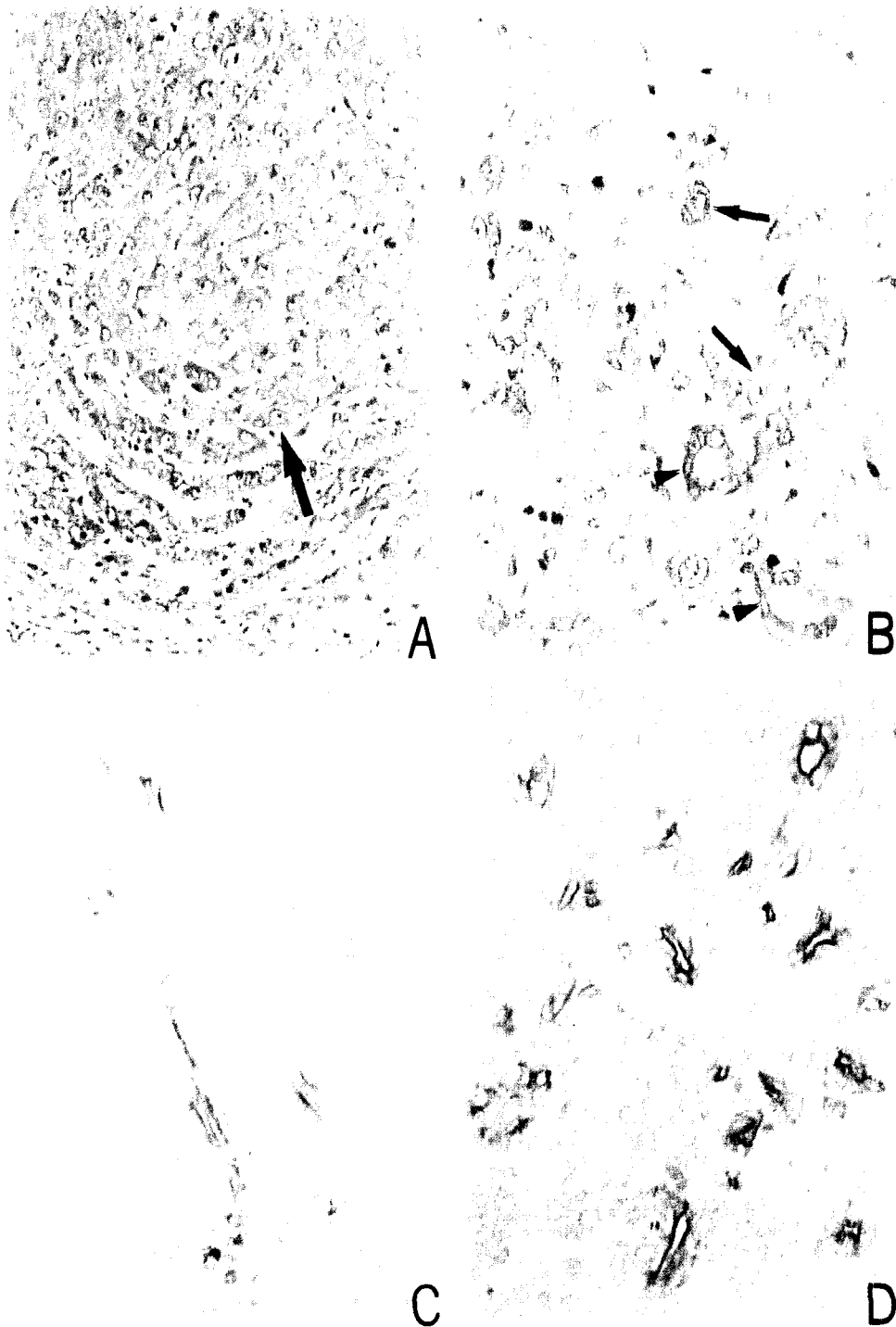


Fig. 4. A and B : histopathology of rat livers. A shows a acidophilic focus (arrow) at 5 weeks of the experiment in a liver treated with diethylnitrosamine (DEN) followed by acetylaminofluorene (AAF) for 2 weeks, x200. B (4 weeks of CS-infected group) shows oval cell proliferation. Oval cells are proliferated as duct- (arrowheads) and ductular-like (arrow) forms or clustering cells, x400. C and D : OV-6 immunohistochemistry. C (6 weeks of CS-noninfected gr.), the liver shows a few of oval cells immunoreacted to OV-6 monoclonal antibody., x400. D (4 weeks of CS-infected group), a lot of oval cells are stained with OV-6 antibody, x400.

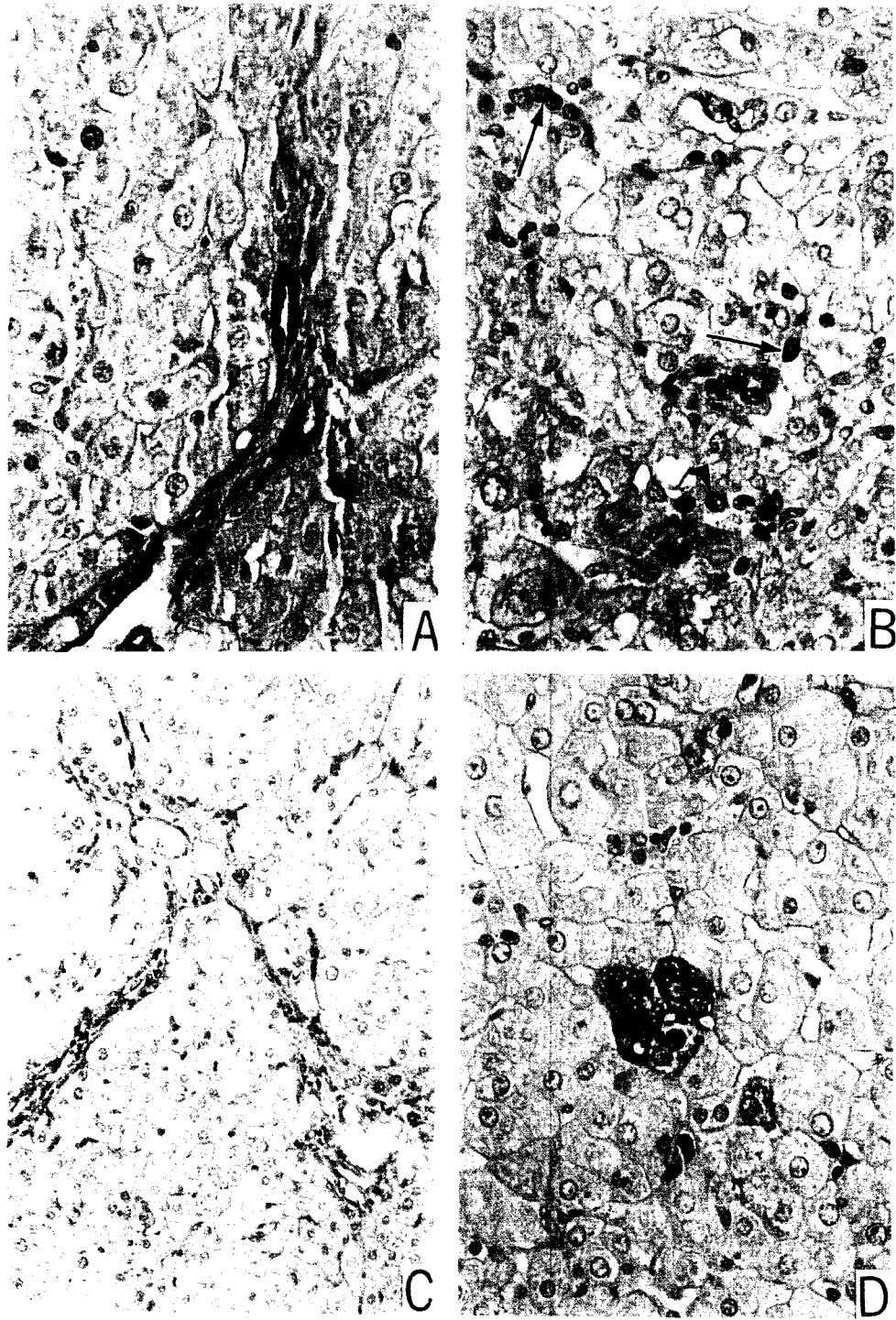


Fig. 5. A and B : PCNA immunohistochemistry. A (6 weeks of CS-noninfected group), PCNA positive cells are low in number and are localized in the nuclei of oval cells, x400. B (4 weeks of CS-infected group), a lot of cells are positive to PCNA., oval cells (arrows), hepatocyte (arrowhead), x400. C (7 weeks of CS-noninfected group), cytokeratin 8/18 immunohistochemistry, oval cells and some hepatocytes in portal areas are positive to cytokeratin 8/18, x200. D (7 weeks of CS-infected group), GST-p immunohistochemistry, acidophilic foci and oval cells are positive to GST-p monoclonal antibody, x400.

고 찰

간암의 발생원인은 지역에 따라 많은 차이가 있을 수 있으며 우리나라에서는 간염바이러스 감염이 간세포암을 일으키는 주요 원인 인자로 알려졌고(Lee 등, 1998), 간흡충 유행지역에서는 간세포암보다는 담관암 환자가 많이 발생하기 때문에 간흡충 감염은 담관암 발생과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되었다(Kim 등, 1968; Kim 등, 1974). 그러나, 인체에서 담관암이 간흡충 감염과 동반되어 보고된 예가 상당수에 이르지만 간흡충증이 담관암발생의 직접적인 원인이 될 수 있는가에 대하여는 아직 의문의 여지가 많다. 많은 동물실험을 통해 간흡충 감염만으로는 간암이 발생되지 않는 것으로 보이며 최근, 간흡충이나 태극간흡충 감염이 발암기전의 2단계 모델에서 발암의 촉진역할을 한다는 보고가 있었다(Lee 등, 1989; Thamavit 등, 1994).

암발생의 촉진이라 함은 암발생의 개시작용 후에 세포증식을 유도하고 정상적인 세포분화를 억제하면서 암적 분화를 자극하므로서 발암의 잠복기를 줄이고 발암율을 증가시키는 것을 말한다. 간흡충 감염이 간암을 촉진하는 구체적인 기전은 밝혀지지 않았으나 간흡충이 분비하는 어떤 성장인자 또는 숙주의 염증반응으로부터 비롯된 물질이 촉진 역할을 하는 것으로 여겨진다.

Solt-Farber(1976)의 간세포암 발생 모델에서 실시하고 있는 간절제술은 세포증식을 유도함으로써 간세포암을 촉진하는 방법으로 사용되며 간세포재생을 위한 실험으로 널리 알려져 있다. 한편, 간흡충 감염이 햄스터에서 담관암을 촉진하고 담관세포 외에도 간세포의 세포증식을 유도한다는 사실이 밝혀졌다. 따라서, 간절제술 대신에 간흡충을 감염

시켜 간흡충이 간세포암 발생에 미치는 영향을 검토하였다. 본 실험에서 간세포암 발생에 관련이 있는 난원형 세포의 검색을 위하여는 단일 크론 항체 OV-6를 사용했으며, 간세포암의 전암병변을 검색하기 위한 표식자는 AFP와 GST-p에 대한 항체를 이용하였다.

간흡충을 감염시킨 동물의 간세포에서 OV-6 및 GST-p는 양성반응을 보였으나 AFP에 대한 반응은 나타나지 않았다. 간세포의 DNA는 DEN에 의하여 이미 변형되어 있어서 성숙한 간세포나 putative stem cell도 간흡충 감염 이전에 변형되어 있을 것으로 판단되며, 간흡충을 감염시킨 2군에서 난원형 세포가 증식되는 이유는 암적 변형을 받은 난원형 세포가 간흡충 감염에 의하여 증식한 때문으로 생각된다. 난원형 세포의 현저한 증식은 향후 간세포암이나 담관암으로 분화할 수 있는 가능성을 높여주고 있다. 이를 뒷바침할 수 있는 또 다른 이유는 난원형 세포에서 PCNA의 반응성이 매우 높다는 것이다. 다른 간세포나 담관세포에서 보다도 특히 난원형 세포의 증식성이 현저하기 때문에 간암의 표적세포(target cell)로써 충분한 근거가 마련되었다고 할 것이다. 그러나, 난원형 세포가 AFP 항체에 반응하지 않은 것은 난원형 세포에 AFP mRNA가 복사(transcription)되지 않아 아직 단백질이 만들어지지 않은 단계에 있기 때문으로 여겨진다(Alpini 등, 1992).

최근, 햄스터에서 간흡충 감염으로 발생시킨 담관암은 난원형 세포와 관련이 있으며 담관암의 기원세포를 밝히기 위한 모델로써 제안되었다(Lee 등, 1995). 햄스터에 dimethylnitrosamine (DMN)을 투여한 후 간흡충을 감염하면 비정형의 세담관 증식과 담관섬유화를 동반한 담관암이 발생하며(Lee

등, 1993), 간문맥에서 담관세포 및 간세포 뿐만이 아니라 난원형 세포의 증식을 촉진한다. 이때 DMN은 간세포 및 담관세포와 난원형 세포를 변형시키기 때문에 증식성이 가장 활발한 난원형 세포가 담관암으로 분화하기 쉬운 것으로 사료된다.

간흡충 감염으로 인한 세포증식 촉진 및 분화를 결정하는 기전은 여러 가지가 있을 수 있지만 우선 간흡충 총체에서 분비하는 여러 가지 대사물질을 생각하여 볼 수 있다. 종양촉진은 세포의 증식을 촉진하는 동시에 세포의 분화를 결정하게 된다. 본 실험에서 난원형 세포는 아직 미분화된 세포이기 때문에 분화를 결정짓는 인자의 역할에 의하여 간세포암이나 담관암으로 발전할 수 있다. 간흡충 감염은 난원형 세포를 담관암으로 발전하게 하는 세포증식 인자인 동시에 담관암 세포로 분화를 촉진하는 인자로 여겨진다. 간세포암의 발암기전에서 간절제술의 의의는 난원형 세포를 간세포암으로 증식 및 분화하도록 유도하는 역할을 하는 것이다.

난원형 세포로부터 간세포암이나 담관암의 발생을 유발할 수 있는지의 여부를 알기 위하여 본 실험모델을 이용한 간세포암과 담관암의 발생연구는 계속되어야 할 것으로 사료된다.

This paper was supported by the Basic Medical Research Fund from the Ministry of Education of Korea

참 고 문 헌

- Alpini G, Aragona E, et al. Distribution of albumin and α -fetoprotein mRNAs in normal, hyperplastic, and preneoplastic rat liver. *Am J Pathol* 141(3):623-632, 1992.
- Belamaric J. Intrahepatic bile duct carcinoma and *Clonorchis sinensis* infection in Hong Kong. *Cancer* 31: 468-473, 1973.
- Ch'in KY, Lei AT, et al. Primary mucinous carcinoma of liver associated with *Clonorchis sinensis* infection. *Chin Med J* 73:26-35, 1955.
- Hou PC. The relationship between primary carcinoma of the liver and infestation with *Clonorchis sinensis*. *J Pathol Bacteriol* 72:293-246, 1956.
- Ishii A, Matsuoka H, et al. Evaluation of the mutagenicity and the tumor-promoting activity of parasite extracts: *Schistosoma japonicum* and *Clonorchis sinensis*. *Mutation Res* 224:229-233, 1989.
- Katsurata F. *Beitr Pathol Anat* 28:479, 1900(cited in Hou,1956)
- Kim YI, Song WY, et al. Primary carcinoma of liver induced by *Clonorchis sinensis*. *J Korean Surg Soc* 10(4):273-281, 1968.
- Kim YI, Yang DH, et al. Relationship between *Clonorchis sinensis* infestation and cholangiocarcinoma of the liver in Korea. *Seoul J Med* 15(3):247-255, 1974.
- Kim YI, Yu ES, et al. Intraductal variant of peripheral cholangiocarcinoma of the liver with *Clonorchis sinensis* infection. *Cancer* 63:1562-1566, 1989.
- Lee JH, Rim HJ, et al. Effects of *Clonorchis sinensis* infection and dimethylnitrosamine administration on the induction of cholangiocarcinoma in Syrian golden hamsters. *Korean J Parasit* 31:21-30, 1993.
- Lee JH, Rim HJ, et al. Heterogeneity of the

- "oval cell" response in the hamster liver during cholangiocarcinogenesis following *Clonorchis sinensis* infection and dimethylnitrosamine treatment. *J Hepatology* 26 :1313-1323, 1995.
- Lee JH, Yang HM, et al. Promoting role of *Clonorchis sinensis* infection on induction of cholangiocarcinoma during two-step carcinogenesis. *Korean J Parasit* 32:13-18, 1994.
- Lee YI, Lee S, et al. The human hepatitis B virus transactivator X gene product regulates Sp1 mediated transcription of an insulin-like growth factor II promoter 4. *Oncogene* 16(18):2367-2380, 1998.
- Liang PC, Tung C. Morphologic study and etiology of primary liver carcinoma and its incidence in China. *The Chinese Med J* 79:336-347, 1959.
- Nakashima T, Sakamoto K, et al. A minute hepatocellular carcinoma found in a liver with *Clonorchis sinensis* infection. *Cancer* 1306-1311, 1977.
- Purtillo DT. Clonorchiasis and hepatic neoplasms. *Trop Geogr Med* 28:21-27, 1976.
- Solt DB, Farber E. New principle for the analysis of chemical carcinogenesis. *Nature(Lond.)* 263:702-703, 1976.
- Thamavit W, Pairojkul C, et al. Strong promoting effect of *Opisthorchis viverrini* infection on dimethylnitrosamineinitiated hamster liver. *Cancer Letter* 78:121-125, 1994.
- Thamavit W, Tiwawech D, et al. Equivocal Evidence of Complete Carcinogenicity after repeated infection of Syrian hamsters with *Opisthorchis viverrini*. *Toxicological Pathology* 24:493-497, 1996.

Request reprints from Dr. Jae-Hyun Lee, Laboratory of Experimental Pathology, Korea Cancer Center Hospital, Gongneung-dong, Nowon-ku, Seoul 139-706, Republic of Korea, Tel) 02-970-1304, Fax) 02-970-1304, E-mail : jaeh@kcchsun.kcchre.kr