

4-hydroxyaminoquinoline-1-oxide 투여에 의한 백서 췌 분비선 증식성 결절의 형태학적 특성에 관한 실험적 연구

서울대학교 의과대학 병리학교실
한림대학 의학부 병리학교실*

신 형 식* · 김 용 일

서 론

인체에 발생하는 악성종양을 조기에 발견하고 제거시키기 위한 여러가지 시도 중에서도 각 장기별 악성종양의 前癌性 病變을 밝혀냄으로서 발암과정을 차단할 수 있으리라는 가정은 간세포암에서의 이형성 간결절 (hyperplastic hepatic nodule)¹⁾이나 담관세포암에서의 담관이형증식증 (cholangiodysplasia)²⁾ 및 위암증에서의 위선종 또는 이형증식증³⁾ 등 몇몇 자기에 있어서의 전암성 병변의 증명으로 시사된 바 있으며, 이러한 추정을 실험적으로 확정시키기 위한 노력이 계속되고 있다. 이를 위해서는 실험적 전암병변의 유발과 후속되는 암화과정의 증명을 전제로 하며, 또한 이들간의 상관관계를 형태학적으로 검정하여야 한다.

이상의 가정이 췌실질에서 발생하는 췌암중에서도 가능하리라는 추정은 그간의 실험동물에서의 자연발생적 종양이나 발암물질 투여에 의한 인위적 종양모델을 토대로 연구되어 왔다. 그러나 타 자기에 비하여 췌실질에 발생하는 종양은 자연발생적이든 실험적 발생이든 그 빈도가 낮고 병변의 크기가 작기 때문에 쉽게 간과됨으로서 췌암연구의 저해요소로 작용하여 왔다.

1935년 Slye 등⁴⁾은 마우스에서 2예의 자연발생적 췌종양을 보고하고 1941년 Radcliff⁵⁾는 전이소가 없는 췌종양을 파충류에서 관찰한 이래 자연발생적 췌종양은 수많은 종류의 동물에서 보고되고 있으나 그 성상에

대해서는 분명히 구명되어 있지 않다. 문헌상 보고된 대부분의 자연발생적 실험적 췌종양은 췌분비선 종양이거나 췌도의 종양으로서 동물에 따른 특이한 유형이 있다. 즉 백서에서는 췌분비선의 병변이 잘 발생하는 경향이 있으며 그 병변도 증식성 결절, 선종, 선암종으로 분류되고 있다^{6,7)}. 한편 마우스, 개, 고양이, 소 및 돼지에서는 이들 병변이 드물게 나타나며⁸⁾, hamster에서는 전혀 없다⁹⁾. 또한 췌관기원 종양은 인체에서는 가장 흔한 종양이지만 동물에서는 아주 드물며 hamster를 비롯한 몇몇 동물에서만 관찰되고 있다. 예컨대 췌관선종이나 선암종은 개나 고양이에서는 약 1% 정도로 보고되고 있으며 다른 야생동물에서는 그 빈도가 훨씬 떨어진다¹⁰⁾. Hamster는 가장 잘 췌관종양이 발생하는 동물로 생각되고 있으며 그 빈도는 모든 hamster 종양의 1~4%를 차지한다^{11,12)}. 그러나 이러한 실험 동물에서의 자연발생적 종양이 진정한 의미로서의 자연발생인지 또는 인간이 만든 어떤 환경적 요인에 의한 것인지에 대해서는 해결하기가 매우 힘든 과제이다.

4-HAQO는 1957년 Ochiai 등¹³⁾이 처음으로 합성하고 Naka hara 등¹⁴⁾이 최초로 화학적 실험종양유발에 응용하였다. 그 후 Mori 등^{15,16)}은 마우스와 백서에 경구 투여하여 위의 선암종을 유발시켰으며, Hayashi와 Hasegawa¹⁷⁾는 4-HAQO의 1회 정맥주사로 췌분비선의 증식성결절, 선종 및 1예의 췌도선종을 유발시키는데 성공하였다. Konishi 등¹⁸⁾은 4-HAQO를 정맥주사하기 전에 ethionine 첨가 단백질 결핍 사료를 투여

한 군에서 종양의 발현율이 증가 된다고 보고하였다. 또한 그들은¹⁹⁾ 4-HAQO를 투여하기 전에 부분적 췌절제술과 비절제술을 시행하여 췌종양유발률을 높이는 데 성공하였다. 그러나 이상의 연구는 발생한 췌종양의 광학현미경적 검색에 불과하여 미세구조의 특성을 밝히지 못하고 있다.

Kawazoe 등²⁰⁾은 마우스의 간에서 4-HAQO가 4-aminoquinoline-1-oxide(4-AQO) 및 4-aminoquinoline으로 전환된다고 하였으며, Konishi 등²¹⁾은 4-nitroquinoline-1-oxide 및 4-HAQO가 간에 아무런 형태학적 변화를 일으키지 않는 장점을 지적하였고 따라서 그동안 췌병변유발에 사용한 ethionine²²⁾, azaserine²³⁾, triparanol²⁴⁾, 3-furylalanin²⁵⁾ 및 puromycin²⁶⁾보다 장기 선택성이 강한 화합물이라고 할 수 있다.

인체에 발생하는 췌종양중 양성 췌분비성 종양은 1%이내로 발견되고 있으나 주위에 암종이 없는 경우에도 췌관의 국소성 이형성 변화가 적지않게 발견되고 있으며^{27,28)} 이들의 15%에서는 췌분비선의 분화양상을 보이고 있다^{29,30)}. Longnecker 등²⁷⁾은 108예의 인체췌를 수집 분석한 바 47예(43.5%)에서 이형성 췌분비성세포결절을 발견하고 Konishi 등¹⁹⁾의 동물 실험에서 나타난 증식성 결절과 유사하다고 주장하였다. 그러므로 동물실험에서 사용되는 “증식성결절(hyperplastic nodule)”과 인체의 “이형성 췌분비성 세포결절(dysplastic acinar cell nodule)”은 근본적으로 같은 병변이며 다만 용어상의 차이라고 기술하였다. 그리고 이 병변이 전암성 병변일 것이라 추측하였는데 이에 대한 정확한 근거는 없으나 역학적으로 흡연자와 알코올 음용자에서 흔히 나타나는 점이 특이하다고 하였다. 또 Pour 등³¹⁾은 83예의 인체췌 중 오직 1예만이 분비성세포의 증식성 변화가 있었다고 기술하였고 Cubilla 및 Fitzgerald²⁹⁾는 406예의 췌조직을 분석하고 1예의 췌분비성 증식성결절을 발견하였다. 이러한 증식성결절은 대체로 1% 내외의 발현율로 관찰되며 췌종양중 분비성세포 기원의 종양은 상당히 드문 것으로 보인다³²⁻³⁴⁾.

췌내분비세포의 기원에 대해서는 의견의 차이가 있어서 Pearse³⁵⁾나 다른 연구진들^{36,37)}은 신경릉(neural crest) 기원을 주장한 반면에 다른 학자들은 내배엽 상피세포로부터 분화된다고 주장하였다^{38,39)}. 또한 Pour

등^{40,41)}은 실험적 췌종양연구를 통하여 종양의 유발과 더불어 췌도내에서 췌관으로의 분화증식되는 양상을 관찰하여 췌관세포 및 췌도세포가 동일기원일 것이라는 실험적 근거를 제시하였다. 이러한 가능성을 뒷받침하는 근거로서 췌에서는 내분비 및 외분비세포의 혼합종양이 보고된 바 있으며⁴²⁾ 폐에서도 소형세포, APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) 세포, 선암세포 및 편평세포암세포도 한종피내에서 공존하는 바도 보고되었다^{43,44)}.

본 연구의 목적은 현재까지 광학현미경적 관찰에 의해서만 단편적으로 검토되어온 4-HAQO에 의한 췌병변의 연구를 혈액화학적, 광학현미경적 및 전자현미경적 관찰을 병행 시도함으로써 이들간의 상호관련성을 추구하고 연계함과 아울러 경시적 변화를 관찰함으로써 다음과 같은 논제를 구명하고자 하였다.

1) 4-HAQO에 의한 백서의 췌 증식성결절이 원발성 병변으로서 기원되는지 아니면 조직 손상에 대한 수복과정을 거치는 동안 증식에 의한 이차적인 것인가를 밝히고,

2) 분비선세포의 재생과정 중 분비선세포 및 췌도세포가 혼재되는 양상을 관찰하여 이 두 세포의 동일기원설에 대한 실험적 근거를 제시코저 하였다.

연구재료 및 방법

1) 실험동물

본 실험에 사용된 동물은 체중이 150g 정도되는 Sprague-Dawley계 웅성 백서 140마리이며 실험전 1주간 일정사료로 동일 조건을 조성하여 예비사육하였다. 대조군 및 각 실험군의 동물수는 다음과 같이 배분하였다.

- (1) 대조군.....20마리
- (2) 실험군120마리
 - ① 4-HAQO 5 mg/kg 투여군80마리
 - ② 4-HAQO 10 mg/kg 투여군20마리
 - ③ 4-HAQO 20 mg/kg 투여군10마리
 - ④ 4-HAQO 30 mg/kg 투여군10마리

2) 실험방법

(1) 약제투여방법 : 대조군에는 0.005N 염산을 꼬리 정맥에 주사하였으며 실험군에는 0.005N 염산에

4-HAQO를 용해시킨 후 꼬리정맥에 주사하였다. 투여총량은 체중 150 g 을 표준으로 할 때 5 mg/kg 투여백서에서는 0.375 ml 이었고, 10 mg/kg 투여군은 0.8 ml, 20 mg/kg 투여군에는 1.6 ml 그리고 30 mg/kg 투여군에서는 2.25 ml 이었다.

(2) 도살방법 : 대조군은 1일, 1주일 및 6개월 후에 도살하였으며, 20 mg/kg 투여군 및 30 mg/kg 투여군은 1일 후에, 10 mg/kg 투여군은 1일 및 6개월 후에, 5 mg/kg 투여군은 1일, 1주일에 10마리씩 도살하였으며 1개월 후부터는 매 1개월마다 10마리씩 배정하였다. 그러나 예정된 도살시간 이전에 사망한 동물은 본 연구대상에서 제외하였다.

도살직전 21 gauze 주사침으로 심천자하여 혈액 5 ml 정도를 채취하여 혈액검사용으로 사용하였고 개흉한 후 10% formalin-2.5% glutaraldehyde를 3:1로 혼합한 고정액을 관류액으로 하여 좌심방으로부터 관류시켜 췌조직의 자가용해를 예방하였다.

(3) 혈액검사 : 혈당검사는 효소법에 의한 혈당측정 kit(상표명 : glucose-E kit, 영동제약회사)를 이용하여 측정하였고 혈청 amylase는 amyloclastic 방법(Caraway방법)에 의하여 측정하였다.

(4) 췌 육안검사 및 중량측정 : 췌는 적출 즉시 10% formalin에 고정시켰고 고정 24시간 후, 화학천평(Mettler M43, Swiss)을 이용하여 10 mg 단위까지의 중량을 측정하였다.

(5) 광학현미경적 관찰 : 백서 췌조직을 10% 중성 formalin에 고정하여 일상 탈수과정을 거친 후 파라핀 포매하여 4~5 μ 정도로 박절하고 hematoxylin-eosin 염색과 더불어 PAS염색을 실시하였다.

(6) 전자현미경적 관찰 : 백서 췌의 근위부 및 원위부에서 다수의 1 mm³ 크기의 절편을 얻은 다음 2.5% glutaraldehyde 용액에 즉시 고정하여 인산염 완충용액에서 세척하고 OsO₄로 중박고정하여 ethanol 계열 하에서 탈수시켰고 propylene oxide를 침투시킨 다음 epoxy resin에 포매하였다. Epon block을 1 μ 두께로 준초박절하고 toluidine blue 염색을 실시하여 광학현미경적으로 관찰대상 부위인 외분비세포의 병변부위를 확인하였으며 LKB ultramicrotome을 이용하여 500 Å 두께로 초박절한 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 중박염색하여 Hitachi H-500 두과형 전자현미경으로 검경하였다.

(7) 광학현미경적 분석기준 : 췌분비선 세포는 호산성이며 효원과립이 풍부한 세포(이하 과립세포라 함), 호산성의 효원과립이 과립세포의 50%에 미치지 못하는 세포(이하 비과립세포라 함), 세포질에 공포가 광학현미경적으로 식별이 되는 세포(이하 공포화세포라 함)로 나누어 세포수를 산정하였으며 그외, 췌분비선 중심세포(centroacinar cell), 췌도세포 및 췌관세포에 주안점을 두었다.

연구 성적

1) 백서의 효과적 도살

각 실험군의 백서의 효과적 도살이라 함은 사망하기 전에 계획된 시간에 혈액채취 및 췌관류가 가능한 예를 말하며 이는 표 1로 요약하였다. 10 mg/kg 이상 투여군에서는 효과적 도살율이 감소하였고 5 mg/kg 투여군에서도 사육기간이 길어질수록 효과적 도살수가 감소하였다.

2) 췌의 중량

췌의 중량은 대조군의 평균은 0.86~1.17±0.33 g 이었고 5 mg/kg 투여후 1일군은 0.56±0.15 g, 1주일군은 0.64±0.14 g, 1개월군은 0.67±0.04 g, 2개월군은 1.05±0.48 g, 3개월군은 1.08±0.38 g, 4개월군은 1.18±0.97 g, 5개월군은 1.28±0.40 g, 6개월군은 2.23±1.15 g으로 이의 경시적 변화는 그림 1에 요약하였다. 또한 10 mg/kg 투여후 1일군은 0.64±0.16 g, 6개월군은 2.29±0.27 g 이었으며 20 mg/kg 투여후 1

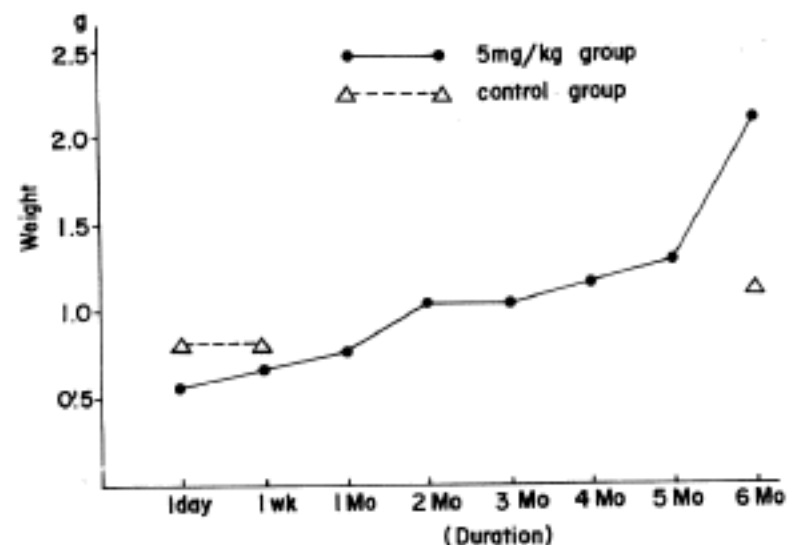


Fig. 1. Sequential changes of pancreas weight in 5 mg/kg group.

Table 1. Number of effective sacrifice of the experimental rats

		24 hr	1 wt	1 Mo	2 Mo	3 Mo	4 Mo	5 Mo	6 Mo	Total
5 mg/kg	Effective	10	10	10	10	10	9	8	8	75
	Plan	10	10	10	10	10	10	10	10	80
10 mg/kg	Effective	7							4	11
	Plan	10							10	20
20 mg/kg	Effective	4								4
	Plan	10								10
30 mg/kg	Effective	3								3
	Plan	10								10

□ indicates number of animals with hyperplastic nodules

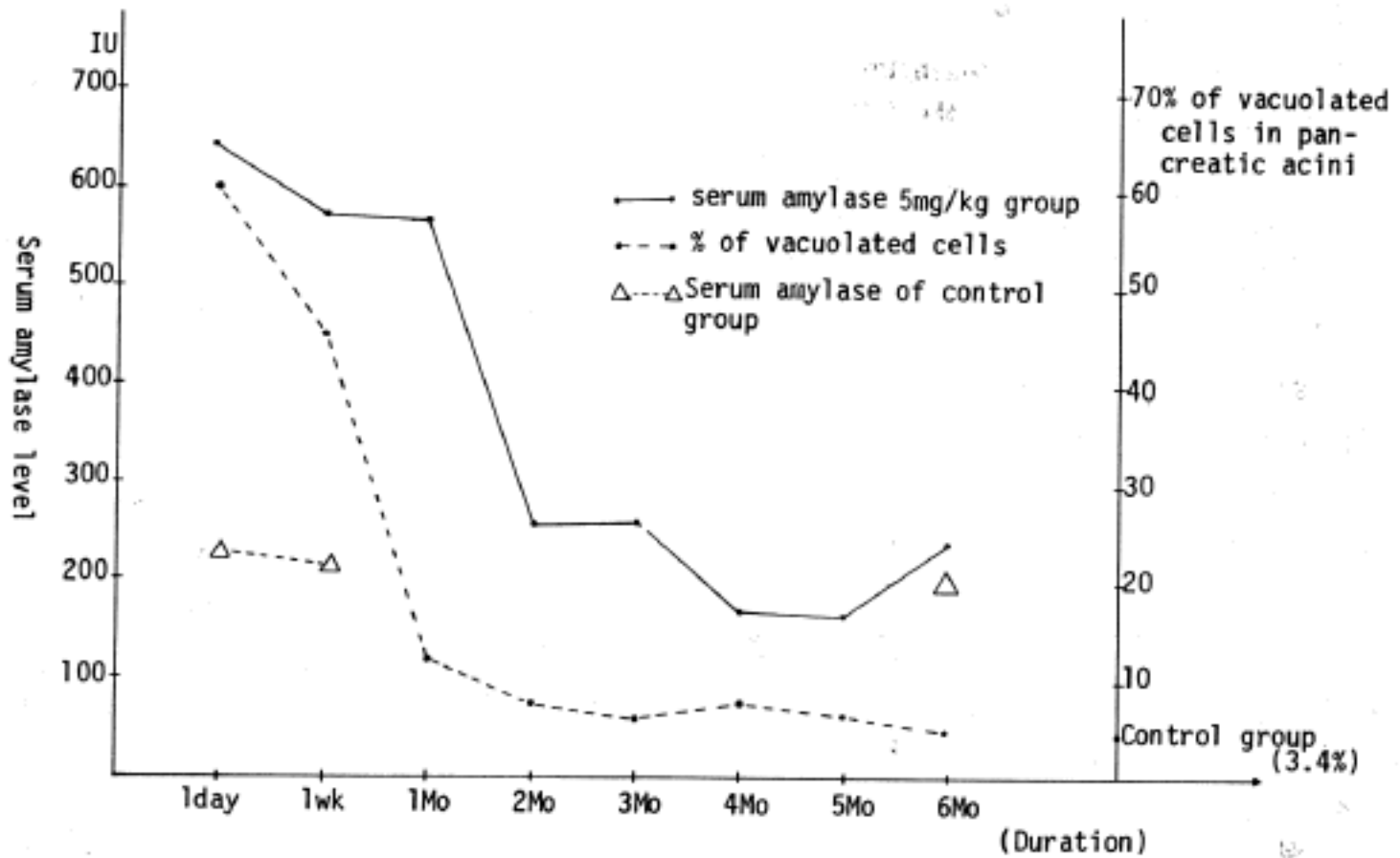


Fig. 2. Sequential changes of serum amylase in 5 mg/kg group, comparing with the degrees of vacuolar degeneration of acinar cells.

일군에서는 0.64 ± 0.22 g 이었고 30 mg/kg 투여후 1일군에서는 0.47 ± 0.06 g 이었다.

3) 혈청 amylase치

혈청 amylase의 평균농도는 대조군에서 199.0 ± 37.18 IU 였으며, 5 mg/kg 투여군에서는 1일군은 632 ± 39.41 IU, 1주일군에서는 575.0 ± 84.36 IU, 1개월군은 575.0 ± 35.0 IU, 2개월군은 268.0 ± 83.84 IU,

3개월군은 270.0 ± 39.11 IU, 4개월군은 189.0 ± 41.65 , 5개월군은 187.0 ± 34.94 IU, 6개월군은 233.0 ± 74.31 IU였고, 5 mg/kg 투여군은 경시적변화는 그림 2에 요약하였다. 10 mg/kg 투여후 1일군의 혈중 amylase치는 577.14 ± 47.86 IU였고 이의 6개월군은 200.5 ± 27.84 IU였으며 20 mg/kg 투여후 1일군은 507.5 ± 35.94 IU였고 30 mg/kg 투여후 1일군은 653.0 ± 23.10 IU였다.

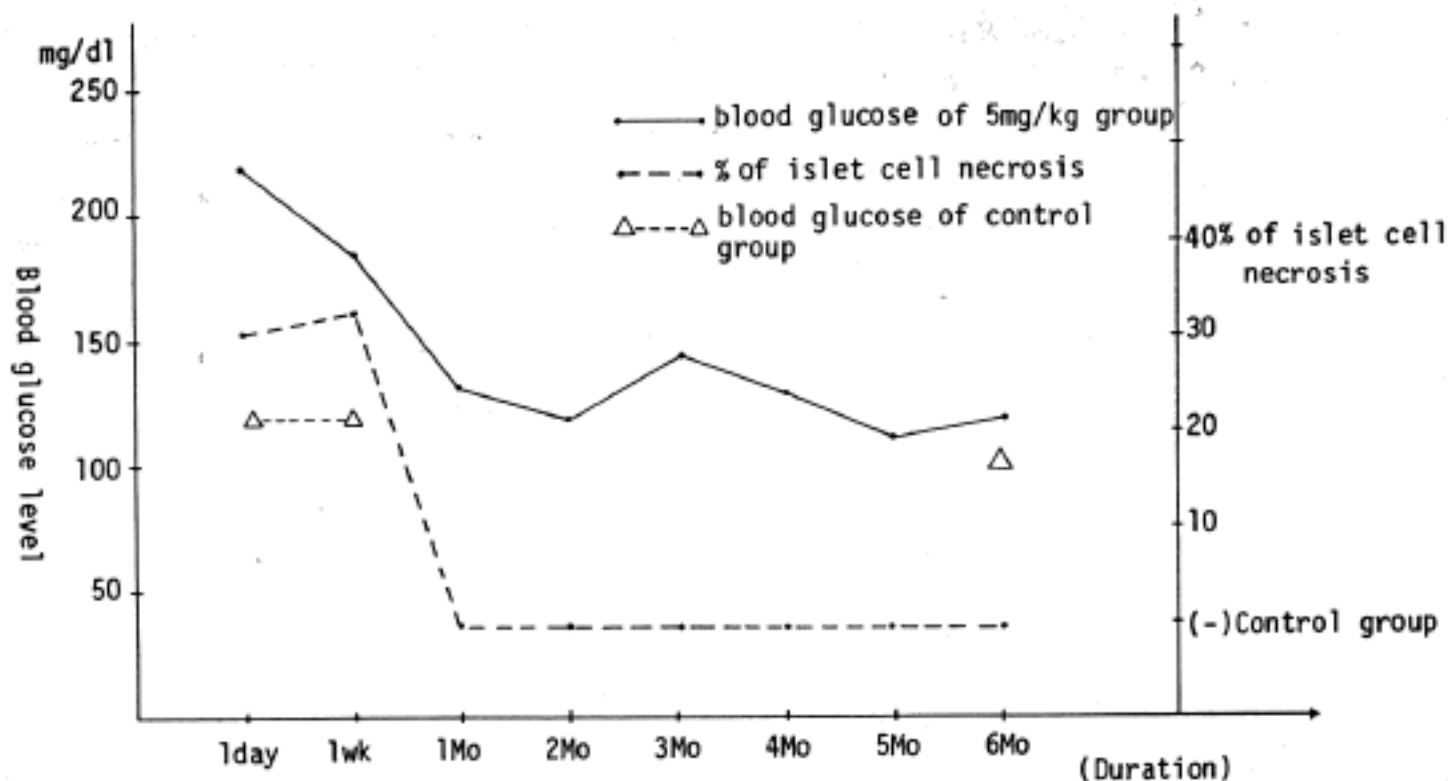


Fig. 3. Sequential changes of blood glucose in 5 mg/kg groups, comparing with the degrees of islet cell necrosis.

4) 혈당치

대조군에서의 혈당치는 102 ± 6.52 mg/dl이었고 5 mg/kg 투여후 1일군에서는 219 ± 31.43 mg/dl, 1주일군에서는 188 ± 32.93 mg/dl, 1개월군은 136 ± 23.1 mg/dl, 2개월군은 119 ± 27.0 mg/dl, 3개월군은 149 ± 39.85 mg/dl, 4개월군은 131 ± 15.84 mg/dl, 5개월군은 106.8 ± 10.63 mg/dl, 6개월군은 117 ± 23.29 mg/dl로

써 이의 경시적 변화를 요약하면 그림 3과 같다. 또한 10 mg/kg 투여, 1일군의 혈당치는 220 ± 37.86 mg/dl 이었고 6개월 경과군은 134.5 ± 28.73 mg/dl이었으며 20 mg/kg 투여후 1일군은 237.5 ± 12.58 mg/dl 이었고 30 mg/kg 투여후 1일군은 236 ± 15.30 mg/dl 이었다.

5) 육안적 소견

4-HAQO 투여 1개월까지는 췌의 크기가 감소되었으

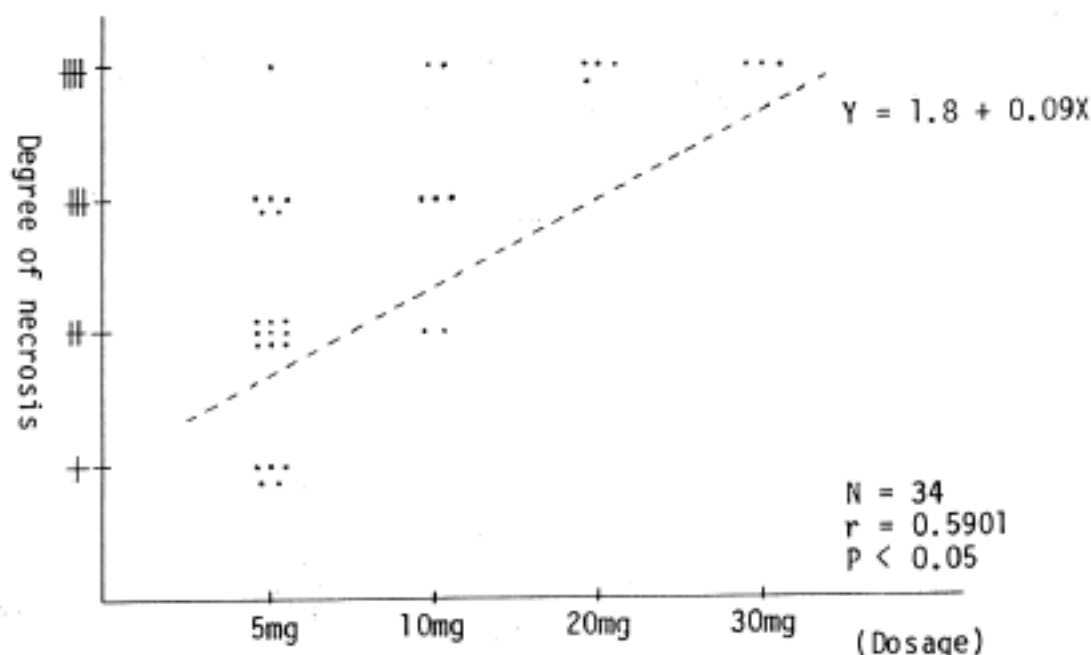


Fig. 4. The degrees of acinar cell necrosis in acute phase (within 1 week).

며 6개월군에서는 크기의 증대를 육안적으로도 인식할 수 있었다. 그러나 어느 군에서도 출혈반은 뚜렷이 찾아볼 수 없었다. 다만 5 mg/kg 투여후 6개월 경과된 8예중 1예에서 위낭성 병변이 발견되었다. 이 위낭은 직경이 1.0 cm였고 내용물은 백색의 괴사물질이었으며 피막은 섬유소성 황백색 조직으로 비와 유착되어 있었다.

많은 예에서 췌주위의 림프절증대가 관찰되었는데 큰것의 직경은 0.3 cm이었다.

(1) 7일 이내의 변화 : 전례에서 췌분비선 세포의 괴사 및 공포화가 있었으며 염증세포의 침윤을 동반하였다. 괴사부위가 전체 현미경 조직표본면적의 50% 이상일때 #, 50~30%일때 #, 30~10%일때 #, 10%미만일때 +로 표현하여 종합한 바, 그림 4와 같다.

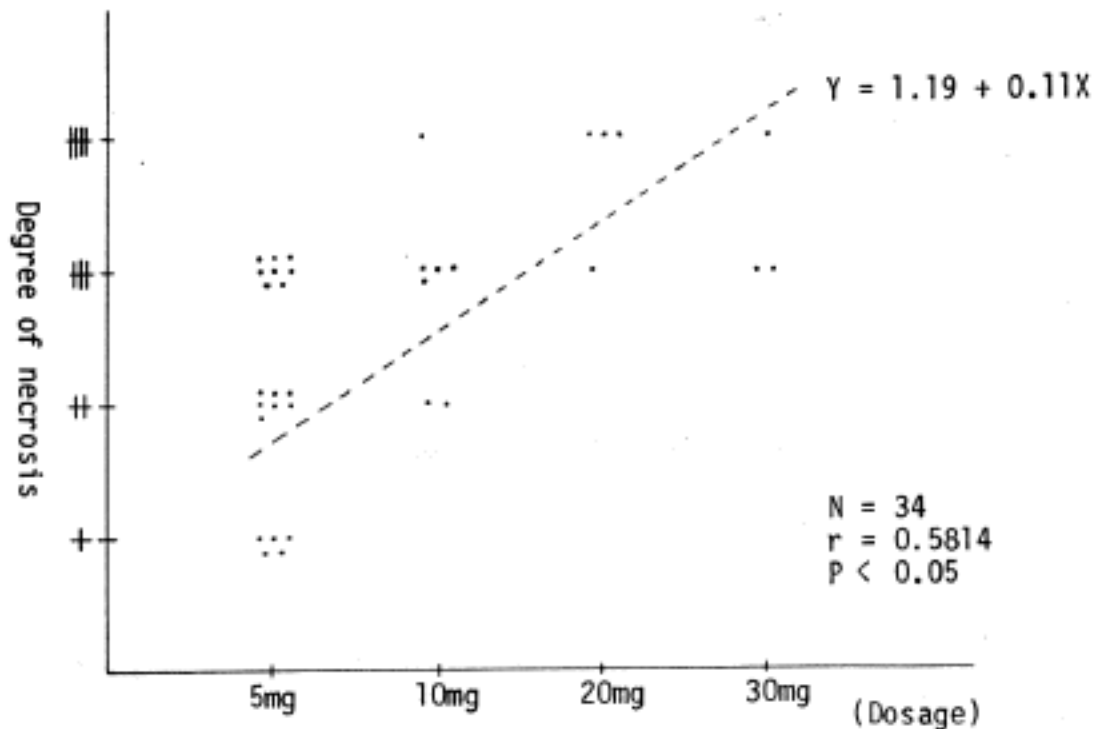


Fig. 5. The degree of islet cell necrosis in acute phase. (within 1 week)

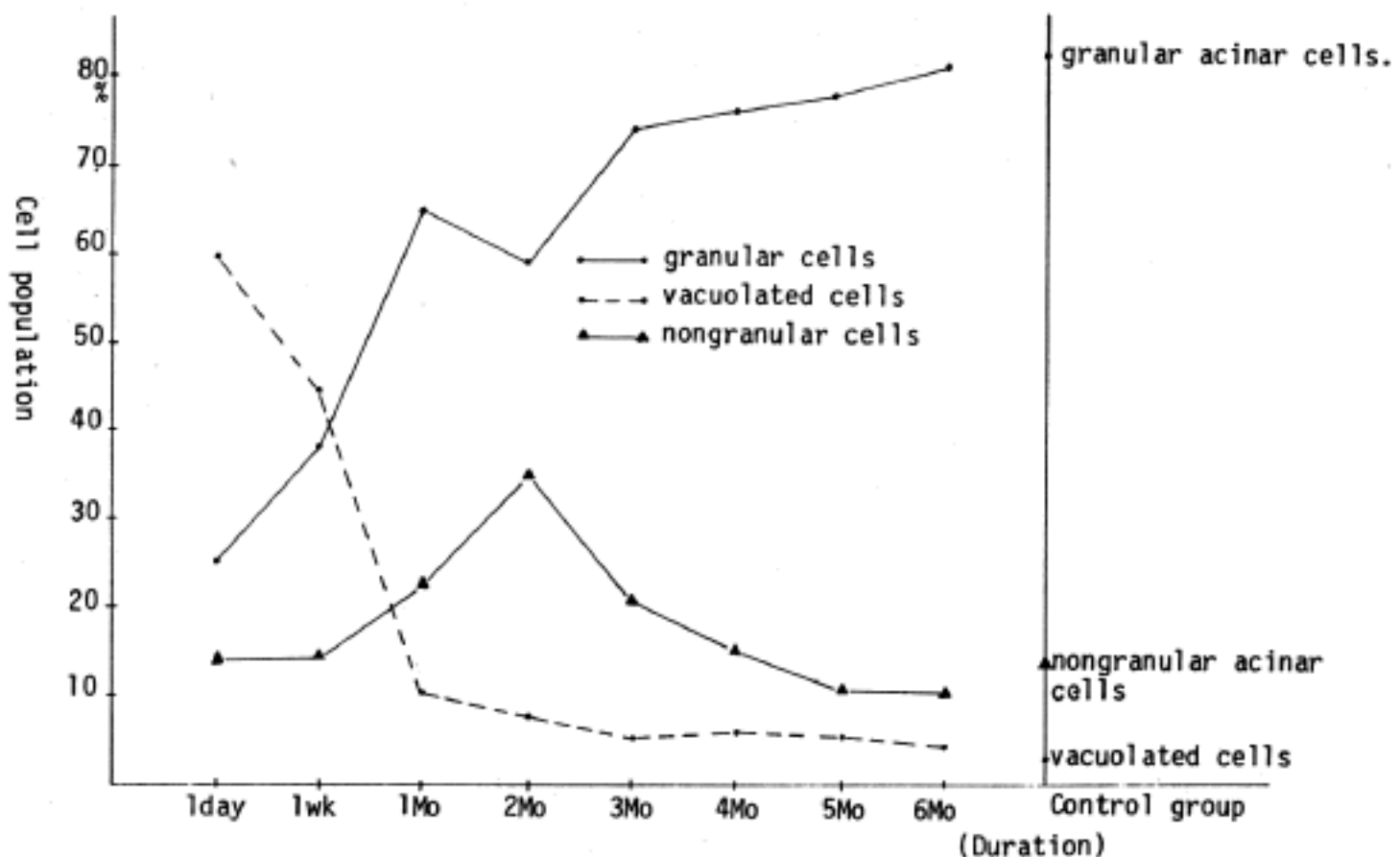


Fig. 6. Sequential changes of differential counts of acinar cells in 5 mg/kg group.

또한 췌관세포에서는 주위의 췌분비선 및 췌도가 심한 피사를 보였음에도 불구하고 특별한 병변을 식별할 수 없었다.

췌도세포에서도 피사가 관찰되었으며 췌분비선과 같은 분석기준을 적용하였던 바 이를 요약하면 그림 5와 같다.

(2) 1개월~5개월의 소견: 췌분비선의 피사부위는 거의 없었고 공포화 변성이 있는 부위가 관찰되었으며 이들 공포는 아주 미세한 크기로 부터 15 μ 에 이르기까지 다양하였다. 비과립세포들은 대조군에 비하여 숫적으로 증가하고 있어 감별산정을 필요로 하였다. 비과립세포들은 간혹 이중핵을 보였고 고배율 소견상 세포질에는 미세한 호염기성 막성 구조들이 동심원상으로 배열되어 있었다.

이상의 결과를 과립세포, 비과립세포, 공포화 세포의 합을 100으로 하였을 때 각각의 비율을 감별산정하여 경시적으로 도시하면 그림 6과 같다.

분비선 중심세포가 3개월 경과 군부터 약간 증가되

Table 2. Number of centroacinar cells per 1mm² in 5 mg/kg group after 1 month

Duration	Mean \pm S.D	p value
1 Mo	236.6 \pm 27.3	p>0.05
2 Mo	236.0 \pm 25.7	p>0.05
3 Mo	265.0 \pm 19.8	p>0.05
4 Mo	260.3 \pm 30.7	p>0.05
5 Mo	280.0 \pm 40.5	p>0.05
6 Mo	275.3 \pm 25.8	p>0.05
Control	250.5 \pm 32.4	

는 경향을 보여 한 분비선에 두개 이상의 세포가 관찰되었으며 현미경 조직 표본의 1mm²의 면적에 나타나는 분비선중심세포의 수를 계산한 바, 대조군은 250.5 \pm 25.7~280.0 \pm 40.5로써 이들간의 차이는 통계적으로 유의하지 않았다(표 2).

또한 1개월 이상 경과 군에서는 췌도 및 췌관에 특

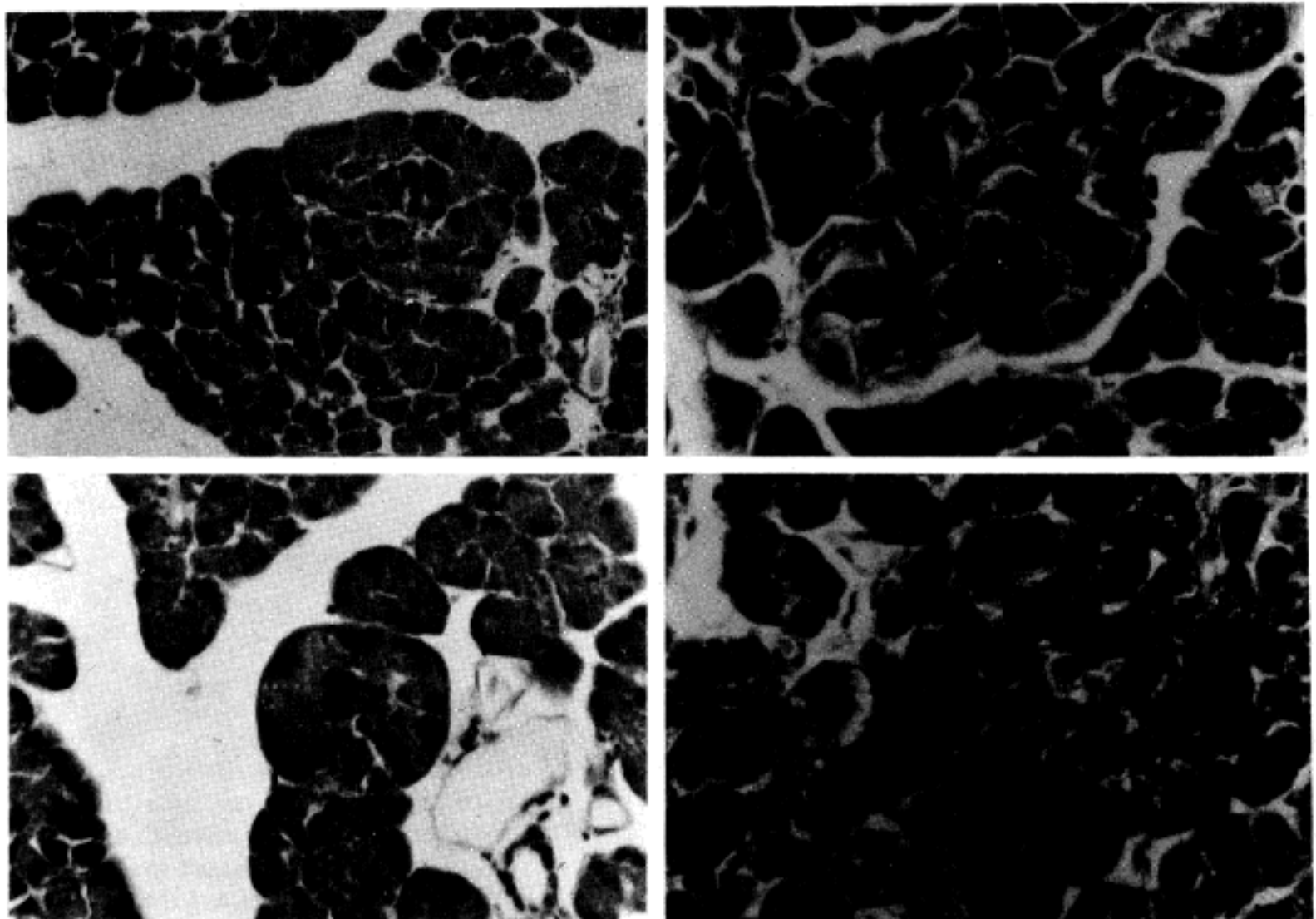


Fig. 7. Hyperlastic nodules. Majorities of the cells are similar with nongranular acinar cells. The diameter of the largest one is 500 μ (H&E, \times 200~400).

별한 변화를 볼 수 없었다. 기타 췌외의 장기 중 타액선, 간, 폐, 위, 신등을 현미경적으로 검색하였으나 이상소견을 발견할 수 없었다.

(3) 6개월 경과 군에서의 증식성결절 : 5 mg/kg 투여군의 8에 및 10 mg/kg 투여군의 4에 모두에서 증식성결절이 발견되었고, 이 중 가장 큰 것은 0.5 mm에 달하였다(그림 7). 이 결절을 구성하는 세포의 핵의 평균직경은 10 μ 으로서 대조군의 과립세포핵의 평균직경인 5 μ 보다 2배로 컸으며 핵소체가 뚜렷하였고 한 세포안에 두개의 핵이 존재하는 경우도 흔하였다. 핵의 형태는 대체로 원형이었고 약간 농염성이었으나 간혹 타원형이며 한정되어 이형성을 보인 경우도 있었다(그림 8). 효원과립이 관찰되는 경우라 할찌라도 과립수가 적었으며 세포질에서는 핵을 중심으로 미세한 동심원적 막성구조가 관찰되었다.

6) 전자현미경적 소견

(1) 공포화 과립세포의 소견 : 전 실험군에서 과립세포의 공포화가 나타났으며 시간이 경과할수록 그 빈도가 완화되었다. 핵은 대체로 경한 함입을 보였고, 사립체는 종창되고, cristae가 소실되기도 하였으며 membranous body(myelin figure)의 존재도 확인할 수 있었다. 조면 내형질망(rough endoplasmic reticulum)은 비교적 잘 유지되었으며, 교원과립의 수도 다소 감소되었다(그림 9).

(2) 비과립세포의 소견 : 비과립세포와 증식성결절 세포와의 감별은 뚜렷한 핵소체가 없기 때문에 이들 간의 감별은 비교적 용이하였다. 이 세포의 핵은 원

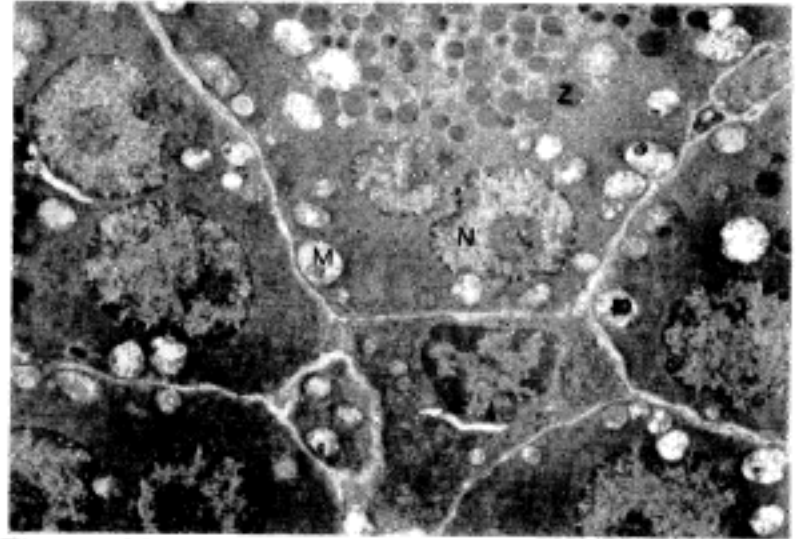


Fig. 9. Many vacuoles are reflected by mitochondrial swelling, loss of cristae and often contain myelin figures. ($\times 7,000$)
Z: Zymogen granules. N: Nucleus.
M: Mitochondria.

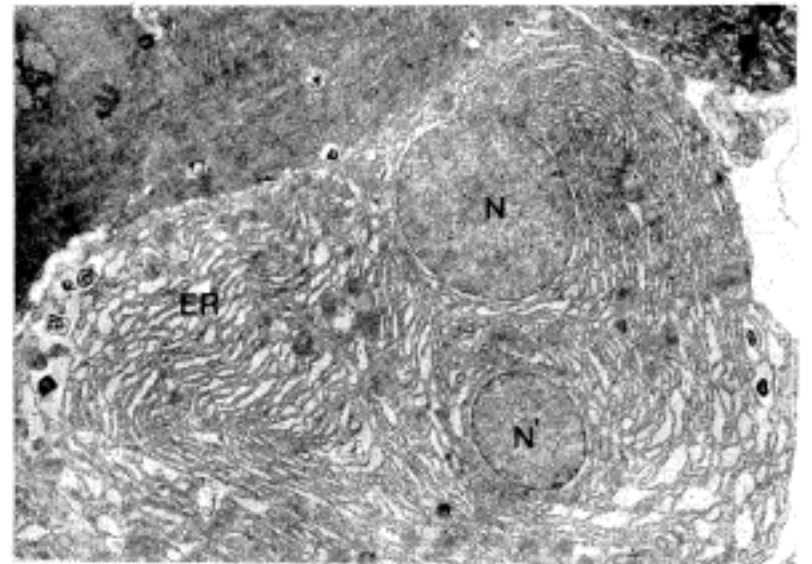


Fig. 10. A nongranular acinar cell, having double nuclei, dilated endoplasmic reticulum and few zymogen granules. ($\times 7,000$)
N&N': Nuclei. ER: Endoplasmic reticulum.

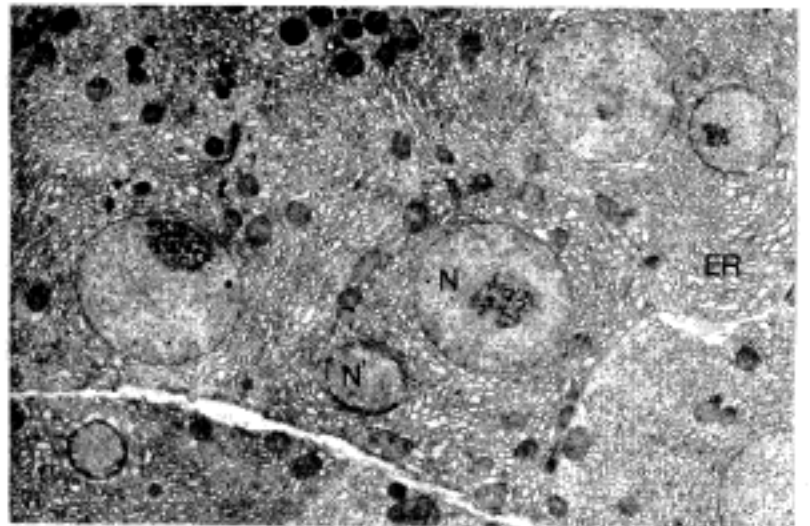


Fig. 11. Hyperplastic nodule, revealing round nuclei, prominent nucleoli, dilated endoplasmic reticulum and few zymogen granules. A few cells have double nuclei and their cytoplasmic borders are indistinct. ($\times 5,600$)
N&N': Nuclei. ER: Endoplasmic reticulum.
Z: Zymogen granules.

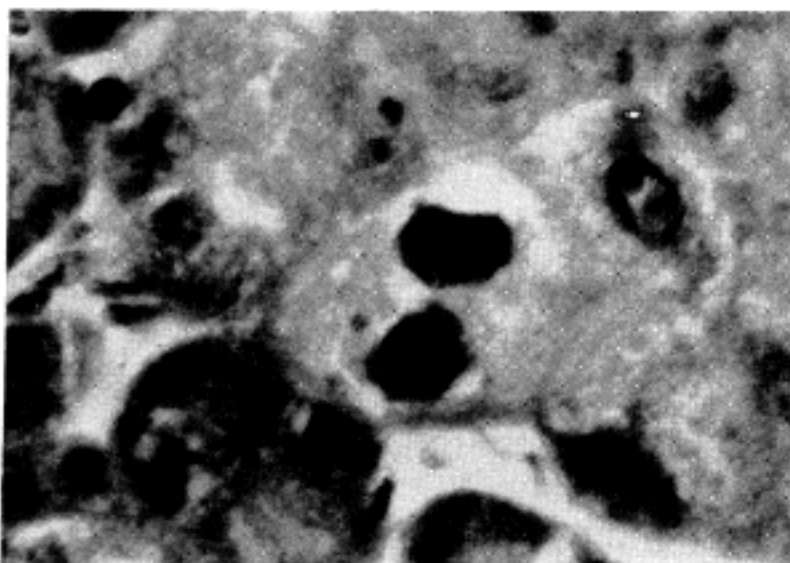


Fig. 8. Large hyperchromatic atypical cells in hyperplastic nodule. (H&E, $\times 1,000$)

형이고 핵질은 미만성으로 균등하게 분포되어 있으며 핵막의 함입은 거의 없었고 세포질에 사립체의 크기는 다양하였으나 사립체의 종창이나 cristae의 소실 등은 볼 수 없었다. 과립성 내형질망은 부분적으로 종창되었으며 RER에서 떨어져 나온 ribosome도 거의 볼 수 없었다. 또한 대부분의 이들 세포에서는 효원과립이 전혀 없거나 극히 소수였고 그 전자밀도는 대조군과 비교할 때 별다른 차이가 없었다(그림 10).

(3) 증식성결절세포의 소견: 증식성 결절부위를 1 μ 로 준박절하고 toluidine blue로 염색한 표본에서 일단 구성세포를 확인한 바 뚜렷한 핵소체의 존재로 인지하였다. 전자현미경적으로도 이들 세포내에서 효원과립은 전혀 없거나, 있어도 소수에 지나지 않았고 과립성 내형질망은 부분적으로 종창되어 있었으며 사립체에서는 종창이나 cristae의 소실 등은 볼 수 없었고, 과립성 내형질망에서 유리된 ribosome도 거의 볼 수 없었다. 이 세포들은 뚜렷한 핵소체를 포함하는 원형의 핵을 가지고 있었고 간혹 핵막의 함입이 나타나기도 하였다. 이들 결절구성세포의 핵은 대체로 원형이었으며 핵질의 분포는 대조군에 비하여 현저하게 미만성으로 분포되었다. 이중핵을 가진 세포도 흔하였으며 세포질간의 경계는 뚜렷하지 않았다(그림 11).

또한 증식성 결절을 구성하지 않고 단독 또는 2~3개의 세포가 과립세포 및 비과립세포와 더불어 나타나는 경우도 있었다(그림 12). 이 결절들은 주위조직과는 구별되었으나 기저막을 만들고 있지는 않았다.

(4) 분비선 중심결절의 소견: 분비선 중심세포는 1~2개의 뚜렷한 핵소체를 가지고 있었으며 염색질이 핵막에 연하여 고농도로 분포되어 있었다. 사립체의 종창 및 경도의 cristae의 소실이 관찰되었으나 과립세포보다 심하지 않았고 RER의 종창도 미만성으로 분포되었다(그림 13).

(5) 비과립세포와 췌도세포의 혼재: 췌도세포의 존재는 원형의 핵과 세포질에 막으로 경계지어지고 과립주위에 투명한 띠가 있는 과립이 있음으로 인지되었다. 췌도세포의 분포가 췌도를 형성하지 않고 췌장 분비선세포간에 삽입되어 있는 양상이 발견되었다(그림 14). 이 췌도세포의 주위에는 비과립세포들이 둘러싸 있었고 이 비과립세포들의 핵과 비슷한 핵을 가지고 있었으며 그 모양은 원형이고 핵소체가 뚜렷하였으며 핵질이 미만성으로 분포되었다. 세포질에는 주위의 외

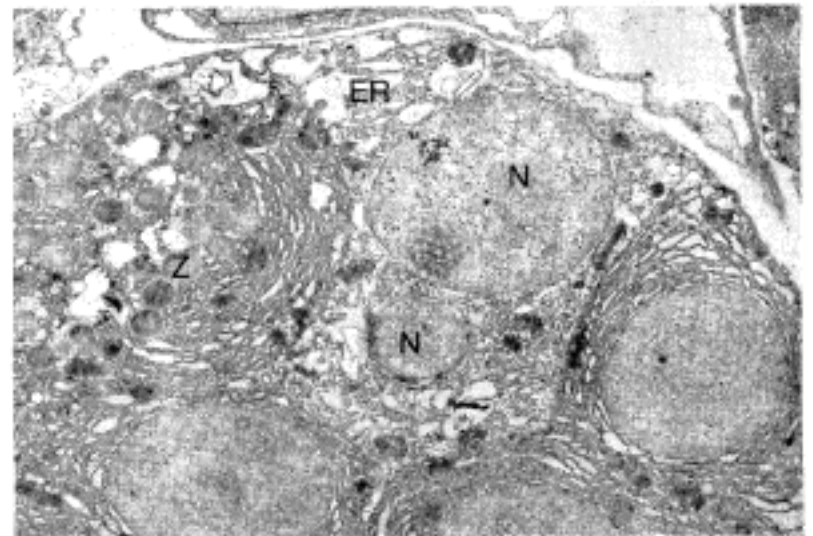


Fig. 12. A few cells similar with the cells of hyperplastic nodule are found without formation of nodule. ($\times 7,000$)
N&N': Nuclei. ER: Endoplasmic reticulum.
Z: Zymogen granules.

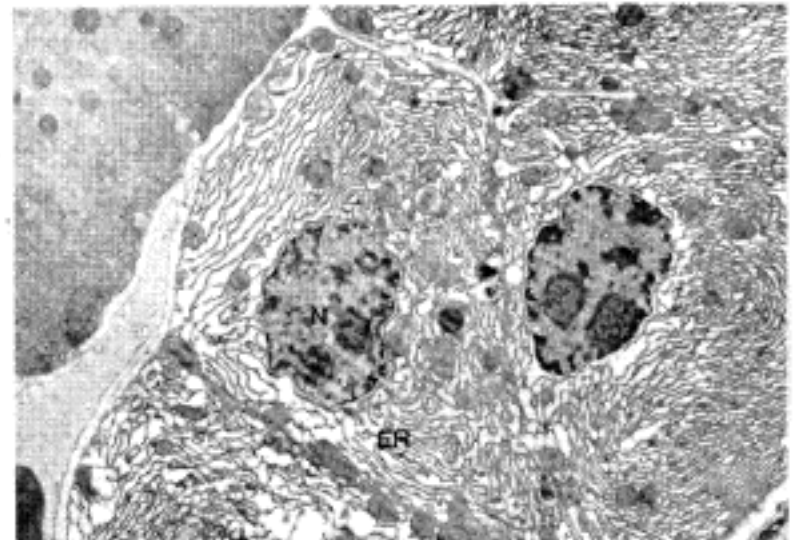


Fig. 13. Centroacinar cells, revealing dilatation of endoplasmic reticulum. ($\times 7,000$)
N: Nucleus. ER: Endoplasmic reticulum.

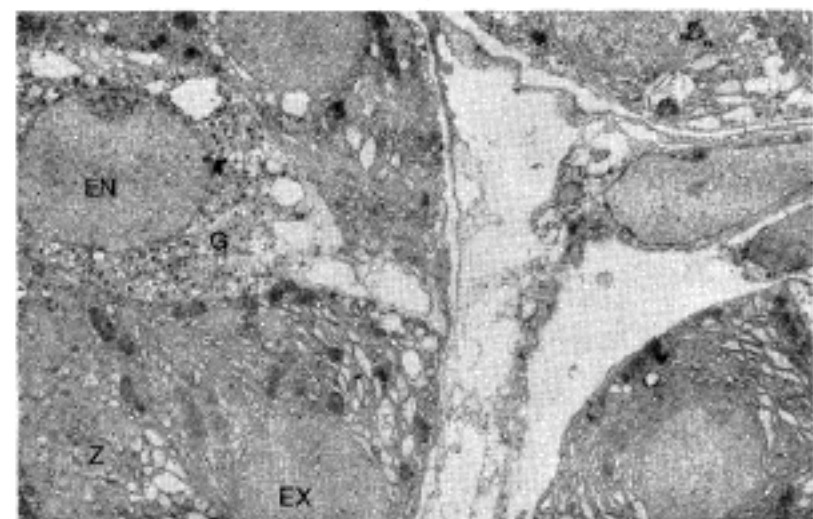


Fig. 14. An endocrine cell having small granules is found among exocrine cells in regeneration process. ($\times 7,000$)
EN: Nucleus of endocrine cell. EX: Nucleus of exocrine cell. G: Membrane bound granules with clear halos. Z: Zymogen granules.

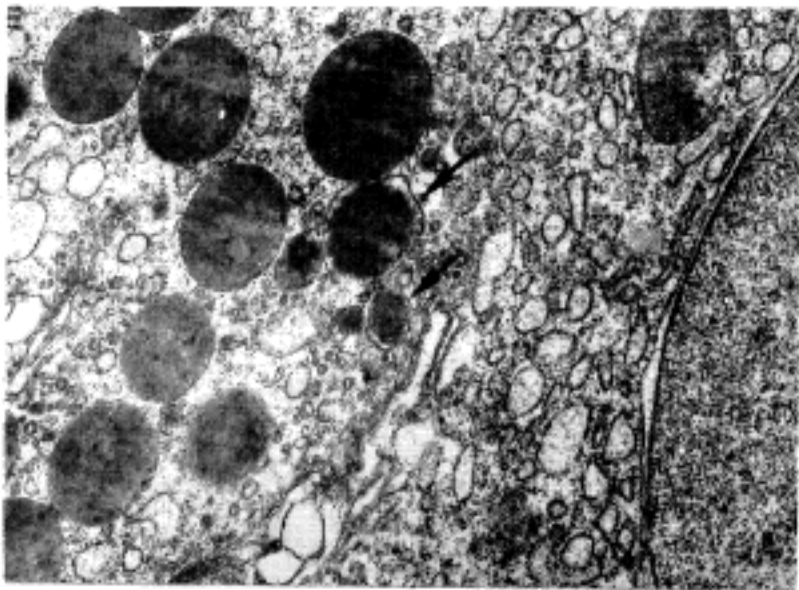


Fig. 15. Two membrane-bounded granules in the cytoplasm of regenerating acinar cell. (×30,600)

분비세포와 같이 부분적으로 종창된 조면 내형질망이 관찰되었고 과립은 200~450 nm의 크기였으며 과립 주위에 투명한 물이 뚜렷하였고 막성구조로 둘러싸여 실치류의 β세포로 생각되었다.

또한 비과립세포의 세포질내 분비과립중에 간혹 막성구조로 둘러싸인 과립이 혼재하고 있었으며 고배율로 β과립으로 증명되었다(그림 15).

고 찰

4-HAQO 투여에 의한 급성기의 변화는 “급성 화학적 괴사”의 용어로 대표될 수 있다. 어떤 화합물질이 췌조직에 병변을 일으킬 때 그 병변이 췌에만 국한된다면 그 화합물질은 실험적 췌병변 유발에는 좋은 화합물이라 할 수 있을 것이다. 예를 들어 dimethylbenzanthracene (DMBA)⁴⁵⁾ 및 azaserine²³⁾ 등은 췌에 심한 병변을 일으키지만 간 및 위, 십이지장에도 병변을 일으키기 때문에 췌의 병변이 이들 타 장기의 병변에 의한 이차적인 효과를 배제하기가 곤란하다.

실제로 인체의 급성췌장염의 원인으로서는 담도질환, 알코올중독증, mumps, 부갑상선기능항진증 등에 수반되는 이차적인 췌손상을 들 수 있으며, 실험적으로도 간이나 십이지장의 영향이 적을 수록 좋은 약제라 할 수 있겠다. 또한 이런 연유로 해서 실험약제를 위장관을 통하여 투여하기 보다는 주사로 함이 이차적 병변의 가능성을 더욱 배제시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

4-HAQO는 약한 염산에서 화학적 안정성이 줄기 때문에 0.005N의 염산에 녹인 용액은 1일 이상 쓰지 않도록 하였다. 이런 방법은 4-HAQO를 ethanol에 녹여 vinyl tube를 통하여 백서의 위에 투여하여 선위에 선암을 유발시킨 Mori등¹⁶⁾의 연구에서도 확인할 수 있었으며 저자가 2일 이상 0.005N 염산에 보관된 약제를 사용하였을 때는 기대한 효과를 얻지 못하여 폐기한 경험으로도 증명된다.

인체의 경우 췌질환은 남성에 다소 빈발하는 경향이²⁴⁾ 있고, 또 백서의 성별 반응양상의 차이를 배제하기 위하여 웅성 백서만을 사용하였다.

췌는 자가용해가 심한 장기이므로 조직채취전 고정을 위하여 10% formalin : 2.5% glutaraldehyde가 3 : 1로 혼합된 용액을 관류하는 방법을 채택하였다. 이에 비하여 조직채취후 고정조직 표본에서는 자가용해손상을 피할 수가 없었다. 그러므로 사망한 후 발견된 예는 표본을 만들어 참고만 하였을 뿐 적극적 분석대상에 포함시키지 않았다.

본 연구의 궁극적 목적인 4-HAQO에 의한 백서에서의 췌분비선증식성결절이 변성-재생-성숙의 과정에서 속발성으로 생기는 것으로 가정하는 데는 다음과 같은 요건을 제시할 수 있다.

첫째, 과립세포는 광학 및 전자현미경적으로 관찰할 때 성숙된 췌분비선 세포로 생각되며 비과립세포는 췌조직의 손상뒤에 주로 증가됨으로써 성숙과정중에 있는 재생성세포로 생각된다. 그리고 4-HAQO 투여후 6개월군에서 나타난 증식성결절을 구성하는 세포의 초미세구조가 비과립세포와 흡사하다는 점은 이를 강력하게 뒷받침해 주고 있다. 특히 증식성결절의 세포는 비과립세포보다 핵소체가 현저하였고 핵막의 함입이 빈번히 발견됨으로서 비과립세포보다 미숙한 단계에서 유도되는 일련의 증식성 세포임을 시사하고 있다.

둘째로, 분비선의 재생과정 중에 비과립세포의 사이에 삽입된 내분비세포의 발견으로 인하여 이 두가지 세포가 동일기원일 것이라는 설의 실험적 근거와 아울러 재생과정에서 나타나는 세포임을 시사해 주고 있다.

세째로, 이들 결절들이 전 췌조직에 걸쳐 산발적으로 발생하고 있어서 선행 췌분비선의 손상이 있었던 부위 어느 곳에서나 이러한 증식성 결절이 생길 수 있

음을 반영해 주고 있다.

炎性期の 세포는 전자현미경적으로 사립체의 변성이 주소견이고 세포의 손상과정을 의미한다⁴⁶⁾. Chedid⁴⁷⁾ 등은 전자현미경적으로 간세포에서 발견되는 거대한 사립체를 종창에 의한 것과 사립체 기질에 과립이 침착됨에 의한 것으로 대별하였고, 사립체 종창은 사립체의 호흡기전 장애에 기인한다고 기술하였다. 또한 이를 유발시키는 원인 중 화학적 손상도 그 하나이며 다른 예로써 Cuprizone, lead, cortisone, diethyldithiocarbamate, glycerin, phosphate, ethidium bromide 등이 포함된다고 하였다. 또한 신 등⁴⁸⁾은 백서에 streptozotocin을 복강내로 투여하고, 이와 같은 세포질내 공포화가 나타나며 시간이 경과함에 따라 그 정도가 경하게 되는 현상을 기술하였다.

분비선 중심세포의 수는 본 실험에서는 통계적으로 유의하지 않아 별 중요성이 없는 것 같다. 그러나 Fitzgerald 등^{48, 49)} 등은 인체에서 췌분비선결절의 재생 및 치환과정 중에 빈번히 나타나는 분비선 중심세포를 상당히 중요시 하였는데 일단 분비선세포가 괴사를 일으키면 분비선 중심세포로 대체되며 이들이 증식을 일으켜 위세관(pseudo ductule)을 형성하는 것이 췌관암종의 초기단계라 하였다. 또한 이는 동물실험^{50, 51)}으로도 증명된 바 있으며 이 분비선중심세포들이 효원과립을 갖는 분비선세포로도 분화되고 있다. 이 세포들은 분비선과 췌관과의 중간에 위치하나 췌관성분화가 강하며 사람이나 hamster 같이 췌관암종이 흔한 경우에는 이들 세포의 증식이 문제가 되나 백서에서는 별 문제가 되지 않는 것으로 사료된다.

췌도세포가 췌도이외부위에서 간혹 정상으로도 발견될 수 있으나 그의 대부분은 과립이 β 세포보다 훨씬 작은 췌 polypeptide 세포 등이다. 본 실험에서는 주위의 재생세포와 핵의 형태학적 특징이 비슷한 점과 세포질내에 종창된 내형질망이 있는 점으로 추측할 때 재생성 과정의 결과라 생각되었다. 또한 이 세포는 과립의 형태로 미루어 보아 β 세포에 해당되었으며 이와 유사한 세포를 췌도내에서도 빈번히 관찰할 수 있었다. 또한 재생성 세포의 과립에서도 내분비과립과 외분비과립의 혼합되어 있는 양상은 이 두세포의 기원이 동일한 것이라는 설의 근거가 될 수 있을 것이다.

본 실험에서 채택한 혈액화학적 검사중 혈당측정은 췌도변화를 간접적으로 확인하기 위하여, amylase는

췌분비선의 변화를 확인하기 위하여 시행하였다. 혈당치는 1주일 후까지는 대조군보다 상당히 상승되고 광학현미경적으로 췌도의 괴사와 부합된다. 또한 1개월 이후의 소견도 조직학적 소견과 잘 연계된다.

총괄 및 결론

120마리의 웅성 Sprague-Dawley 계 백서에 4-hydroxyaminoquinolin-1-oxide(4-HAQO)를 체중 1 kg 당 5 ml, 10 ml, 20 ml, 30 ml을 1회 정맥주사하고 6개월까지 췌분비선 변화를 추적 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 4-HAQO 주사후 1주일 이내에서는 췌관을 제외한 췌분비선 및 췌도에 심한 괴사를 보였다.
- 2) 췌분비선 재생과정의 일환으로 과립이 적은 분비선세포가 관찰되었다.
- 3) 6개월 경과군 모두에서 췌분비선의 증식성결절이 다발성으로 관찰되었는 바, 가장 큰 것은 500μ 이었고, 그 구성세포는 재생성 비과립세포와 광학 및 전자현미경적으로 형태가 유사하였으며 세포괴사성을 보였다.
- 4) 재생과정중 췌분비선세포 및 췌도세포가 혼재되어 있는 양상이 전자현미경적으로 검색되었다.

이상의 결과를 토대로 하여 4-HAQO에 의한 백서 췌분비선의 증식성결절의 발생기전은 췌분비선의 변성—재생—성숙 과정중에 나타나는 일부세포의 증식 결과로 해석되며, 또한 췌분비선세포와 췌도세포가 동일 기원임을 시사하였다.

REFERENCES

- 1) Farber E: Hyperplastic liver nodules. In *Methods in Cancer Research*, Vol. 7, Busch H (ed). Academic Press, New York, 1973, p 345
- 2) Park CK, Kim YI: Precancerous lesion in experimental cholangiocarcinoma—Sequential change of oval cell proliferation, bile duct proliferation and cholangiodysplasia. *Seoul J Med* (in press)
- 3) 이종철, 최규환, 김용일: 위 선종과 화생성 점막간의 연속적 추이 해석을 위한 초미세 구조적 속성분석. *대한내과학회지* 36:308, 1986

- 4) Slye M, Holmes HF and Wells HG: *The comparative pathology of carcinoma of the pancreas, with report of two cases in mice. Am J Cancer* 23: 81, 1935
- 5) Radcliff HL: *Noplastic disease of the pancreas of snakes (Serpentes). Am J Pathol* 19:359, 1943
- 6) Rawlatt U: *Spontaneous epithelial tumors of the pancreas of mammals. Br J Cancer* 21:82, 1967
- 7) Rawlatt U and Roe FJC: *Epithelial tumors of the rat pancreas. J Natl Cancer Inst* 39:17, 1967
- 8) Kirchner CH and Nielso SW: *XIV Tumors of the pancreas. Bull WHO* 53:195, 1976
- 9) Pour PM, Mohr U, Cardesa A, Althoff J and Kmoch N: *Spontaneous tumors and common diseases in two colonies of Syrian hamsters. II, Respiratory tract and digestive system. J Natl Cancer Inst* 56:937, 1976
- 10) Efforn Griner L and Bernirschke K: *Nature and rate of neoplasia found in captive wild mammals, birds, and reptiles at necropsy. J Natl Cancer Inst* 59:185, 1977
- 11) Fortner JG: *Spontaneous tumors, including gastrointestinal neoplasms and malignant melanomas in Syrian hamsters. Cancer* 10:1153, 1957
- 12) Poel WE and Yerganian G: *Adenocarcinoma of the pancreas in diabetes-prone Chinese hamsters. Am J Med* 31:861, 1961
- 13) Ochiai E, Ohta A, Nomura H: *Pharm. Bull (Japan)* 5:310 1957. (cited from Mori K, Ohta A, Murakami T, Tamura M and Ichimura H: *Carcinomas of the glandular stomach and other organs of rats by 4-HAQO. Gann* 60:627, 1969
- 14) Nakahara W, Fukuoka F and Sugimura T: *Gann* 48:129, 1957(cited from same article of No. 10)
- 15) Mori K, Ohta A, Murakami T, Tamura M and Kondo M: *Carcinoma of the glandular stomach of mice induced by 4-HAQO. Gann* 60:151, 1969
- 16) Mori K, Ohta A, Murakami T, Tamura M, Kondo M and Ichimura H: *Carcinoma of the glandular stomach and other organs of rats by 4-HAQO. Gann* 60:627, 1969
- 17) Hayashi Y and Hasegawa: *Experimental pancreatic tumor in rats after intravenous injection of 4-HAQO. Gann* 62:329, 1971
- 18) Konishi Y, Denda A, Miyata Y and Kawabata H: *Enhancement of pancreatic tumorigenesis of 4-HAQO by ethionine in rats. Gann* 67:91, 1976
- 19) Konishi Y, Denda A, Inui S and Kondo H: *Communication-Pancreatic carcinoma induced by 4-HAQO after partial pancreatectomy and splenectomy in rats. Gann* 67:919, 1976
- 20) Kawazoe Y, Tachibana M Aoki K and Nakahara W: *Biochem. Pharmacol* 16:631, 1967(cited from. *Gann* 60:627, 1969)
- 21) Konishi Y, Popp JA and Shinozuka H: *Pancreatic acinar cell damage induced by 4-NQO. J Natl Cancer Inst* 52:917, 1974
- 22) Herman L and Fitzgerald PJ: *The degenerative changes in pancreatic acinar cells caused by DL-ethionine. J Cell Biol* 12:277, 1962
- 23) Hruban Z, Swift H and Slers A: *Effect of azaserine on the fine structure of the liver and pancreatic acinar cells. Cancer Res* 25:708, 1965
- 24) Hruban Z, Swift H and Slers A: *Effect of triparanol and diethanol amine on the fine structure of hepatocytes and pancreatic acinar cells. Lab Invest* 14:1652, 1965
- 25) Hruban Z, Swift H, Dunn FW, et al: *Effect of b-3-furylalanine on the ultrastructure of the hepatocytes and pancreatic acinar cells. Lab Invest* 14:70, 1965
- 26) Longnecker DS and Farber E: *Acute pancreatic necrosis induced by puromycin. Lab Invest* 16:321, 1967
- 27) Longnecker DS, Shinozuka H and Dekker A: *Focal acinar cell dysplasia in human pancreas. Cancer* 45: 534, 1980
- 28) Cubilla AL and Fitzgerald PJ: *Morphological patterns of primary nonendocrine human pancreas carcinoma. Cancer Res* 35:2234, 1975
- 29) Cubilla AL and Fitzgerald PJ: *Morphological lesions associated with human primary invasive nonendocrine pancreas cancer. Cancer Res* 36:2690, 1976
- 30) Webb JN: *Acinar cell neoplasms of the exocrine pancreas. J Clin Pathol* 30:103, 1977
- 31) Pour PM, Sayed S and Sayed G: *Hyperplastic, preneoplastic and neoplastic lesions found in 83 human pancreases. Am J Clin Pathol* 77:137, 1982
- 32) Halpert B, Mark L and Jordan GL: *A retrospective study of 120 patients with carcinoma of the pancreas. Surg Gynecol Obstet* 121:91, 1965
- 33) Moldow RE and Connelly RR: *Epidemiology of pancreas cancer in Connecticut. Gastroenterology* 55: 677, 1968
- 34) Longnecker DS: *Pathology and pathogenesis of diseases of the pancreas. Am J Pathol* 107:103,

1982

- 35) Pearse AGE: *The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept.* *J Histochem Cytochem* 17:303, 1969
- 36) Weichert RF: *The neuroectodermal origin of the peptide secreting endocrine glands.* *Am J Med* 49: 232, 1970
- 37) Andrew A: *An experimental investigation into possible neural crest origin of pancreatic APUD (islet) cells.* *J Embryol Exp Morphol* 35:577, 1976
- 38) Fontaine J DeDouarin NM: *Analysis of endoderm formation in the avian blastoderm by use of quail-chick chimeras; Problem of the neuroectodermal origin of the APUD series.* *J Embryol Exp Morphol* 41:209, 1977
- 39) Sidhu GS: *The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells. Histopathologic evidence and a review of the literature.* *Am J Pathol* 96:5, 1979
- 40) Pour P, Althoff J and Takahashi M: *Early lesions of the pancreatic ductal carcinoma in the hamster model.* *Am J Pathol* 88:291, 1977
- 41) Pour P: *Islet cells as a component of pancreatic ductal neoplasms. I. Experimental study: Ductular cells, including islet cell precursors, as primary progenitor cells of tumors*
- 42) Ulich T, Cheng L and Lewin K: *Acinar-endocrine cell tumor of the pancreas.* *Cancer* 50:2099, 1982
- 43) Brereton HD, Matthews MM, Costa J, Kent H and Johnson RE: *Mixed anaplastic small cell and squamous cell carcinoma of the lung.* *Ann Intern Med* 88:805, 1979
- 44) Berger CL, Goodwin G, Mendelsohn G, et al.: *Endocrine related biochemistry in the spectrum of human lung carcinoma.* *J Clin Endocrinol Metab* 53:522, 1981
- 45) Gurskii T: *On the problem of the experimental induction of pancreatic tumors.* *Probl Oncol* 5:97, 1959 (cited from Moosa AR: *Tumors of the pancreas, Williams and Wilkins, Baltimore, 1980.*)
- 46) Chedid A, Jao W and Port J: *Megamitochondria in hepatic and renal disease.* *Am J Gastroenterol* 73: 319, 1980
- 47) 신형식, 박성희, 김용일 : *Streptozotocin 무여가 백서 췌 분비선의 미세구조에 미치는 영향.* *대한병리학회지* 18(1):16, 1984
- 48) Fitzgerald PJ: *The problem of the precursor cells of regenerating pancreatic acinar epithelium.* *Lab Invest* 9:67, 1960
- 49) Fitzgerald PJ, Herman L, Carol B, Rogue W, Marsh WH, Rosenstock L, Richard C and Perl D: *Pancreatic acinar cell regeneration. I cytologic, cytochemical and pancreatic weight changes.* *Am J Pathol* 52:983, 1968
- 50) Bockman DE, Black O Jr., Mills LR and Webster PD: *Origin of tubular complexes developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7, 12-dimethylbenz-anthracene.* *Am J Pathol* 90:645, 1978
- 51) Scarpelli DG and Rao MS: *Transplantable ductal adenocarcinoma of the Syrian hamster pancreas.* *Cancer Res* 39:52, 1979

— Abstract —

Experimental Induction of Pancreatic Hyperplastic Nodules by Administration of 4-hydroxyaminoquinoline-l-oxide in Rats

Hyung Sik Shin, M.D.* and Yong Il Kim, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine
Seoul National University

Department of Pathology, Hallym College*

Pancreatic hyperplastic nodules were experimentally produced in male Sprague-Dawley rats by single doses of intravenous injection of 4-hydroxyaminoquinoline-l-oxide(4-HAQO), 5 mg, 10 mg, 20 mg and 30 mg per kg of body weight. Every ten rats were sacrificed after 1 day, 1 week and monthly until 6 months. Within the first week, pancreatic acini and islets were severely affected with necrosis and the adjacent acinar cells underwent vacuolization. But, pancreatic ductules remained relatively unaffected. The degrees of acinar cell degeneration were proportionally increased as with the increased doses of 4-HAQO administration. The levels of blood glucose and serum amylase were closely corresponding to the light microscopic features of the pancreas.

Two months after administration of 4-HAQO, the nongranular acinar cells started to proliferate and their proportion of total acinar cells was 35%, whereas that of control group was 15%. After 3 months the proportion of nongranular cells was decreased.

After 6 months, multiple hyperplastic nodules were discovered within the pancreatic acini of all 12 rats, and the largest one measured $500\ \mu$ in diameter. Each hyperplastic nodule was uniformly composed of larger cells in two folds of normal cells with hyperchromatic nuclei and prominent nucleoli together with a few zymogen granules in their cytoplasm.

Ultrastructurally, the cells contained abundant dilated endoplasmic reticulum and markedly decreased zymogen granules. Nuclear heterochromatin became finely dispersed with loss of marginal clumping.

During the regeneration process, admixture of islet cells with membrane-bounded granules was identified among the clusters of regenerating acinar cells.

On the basis of above findings, the induction of hyperplastic nodules in rat pancreas by 4-HAQO was confirmed, and its histogenesis may reflect a nodular hyperplasia of non-granular acinar cells with potential progress as a neoplastic lesion. And the evidence of the hypothesis that the pancreatic exocrine cells and endocrine cells are in same origin, was presented.