

長期 肝吸虫感染마우스의 膽管系 變化*

(病理組織學的 所見을 中心으로)

梨花女子大學校 醫科大學 寄生虫學教室

閔 弘 基**

梨花女子大學校 醫科大學 病理學教室

韓 雲 燮***

= ABSTRACT =

Histopathologic Study of the Bile Ducts in Mice Infected with *Clonorchis Sinensis*

Hong Ki Min, M.D.** and Woon Sup Han, M.D.***

** *Department of Parasitology, College of Medicine, Ewha Womans Univ.*

*** *Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University*

The main objective of the present study was to obtain further information on the histopathologic changes in the bile ducts at chronic stage of *Clonorchis sinensis* infection for the establishment of relationship between clonorchiasis and cholangiocarcinoma.

BALB/C male mice were used. Approximately 500 metacercariae were given orally to each mouse. Three mice were sacrificed once monthly from the 10th month through the 20th month after infection. The hepatobiliary tissues were fixed in 10% formalin solution, sectioned serially, and stained with hematoxylin and eosin for histopathologic examination.

The results obtained are summarized as follows ;

1) The bile ducts showed moderate adenomatous proliferation, mucinous cell metaplasia and goblet cell metaplasia from the 10th month up to the 13th month after infection, then gradual regression. As the time elapsed, scattered abortive acini were also regressive.

2) Most of the stromal fibrous tissues were replaced by excessive collagen fibers which persisted throughout the observation. The pictures were considered to be irreversible.

* 本 論文은 1984 年度 生活科學研究院 研究費에 依한 것임.

3) Polymorphonuclear leucocyte and eosinophil infiltrations were slight in the degree, while chronic mononuclear leucocyte infiltration was moderate throughout the observation.

4) Even though no any evidence of malignant change of epithelial cells was demonstrated throughout the observation, *Clonorchis* infection was considered to be an important predisposing factor in carcinogenesis in the bile ducts.

緒 論

1849年 Rokitansky¹⁾가 처음으로 原發性 肝癌에 對하여 記述한 以來, 오늘에 이르기까지 主로 肝臟의 變性 乃至 再生의 原因이 되는 條件과 先天性 素因 등이 發癌要因으로 糾明, 報告되었거나 注目의 對象이 되어 왔다.

이들 發癌要因 中에는 數種의 寄生蟲도 包含되고 있는 바 大部分이 人體의 肝·膽管系를 侵犯하는 吸虫類 (trematodes) 로서 日本住血吸虫 (*Schistosoma japonicum*)은 肝細胞癌²⁾³⁾의, 만손住血吸虫 (*S. mansoni*)은 肝細胞癌⁴⁾ 및 膽管癌⁵⁾의, 그리고 肝吸虫 (*Clonorchis sinensis*)^{6)~30)}, 타이肝吸虫 (*Opisthorchis viverrini*)^{31)~38)} 및 肝蛭 (*Fasciola hepatica*)³⁹⁾⁴⁰⁾은 膽管癌의 誘發 要素로 看做되고 있다.

특히 人體, 고양이 및 개에서의 肝吸虫感染과 合併된 膽管癌은 主로 第2次膽管에서 發生하며^{11)~15)} 感染

初期에 있어서는 膽管上皮細胞의 脫落 및 增殖이 惹起되며 經時的으로 粘液을 分泌하는 粘液細胞化生 및 杯細胞化生을 보이는 腺腫性 增殖에 이어 散在性 腺芽 (scattered abortive acini)의 形成과 膽管周圍의 纖維化를 特徵으로 하는 病理組織學的 共通所見을 보인다. 그리고 上皮細胞의 惡性化는 粘液分泌가 旺盛한 腺腫性 增殖期에 成立되는 것으로 推定되고 있다. 그러나 올바른 發癌機轉은 아직까지도 糾明된 바 없다. 一方 白鼠²⁴⁾³⁰⁾ 및 마우스²⁸⁾²⁹⁾ 등 작은 實驗室動物에 있어서는 主要 病理組織學的 共通所見은 例外없이 매우 類似하게 觀察되나 種에 따라 그 進行樣相이 크게 다를 뿐만 아니라 膽管癌 發生의 證據도 確認되지 않은 實情이다.

이에 著者は 膽管癌 誘發에 對한 肝吸虫의 役割을 糾明하는데 必要한 基礎知見을 얻을 目的으로 肝吸虫으로 感染시킨 마우스를 使用하여 膽管變化에 關한 長期觀察을 遂行하였다.

Table 1. Characteristic histopathologic findings in the bile ducts of mice infected with 500 *Clonorchis metacercariae*, based on three mice

Age of infection	Epithelial cell			Inflammatory cell				
	glandular hyperplasia	mucinous cell metaplasia	goblet cell metaplasia	PMNL	Eos.	CMNL	fibrosis	collagen fibers
10	+	+	+	±	±	+	+	##
11	+	+	+	±	±	+	+	##
12	+	+	+	±	±	+	+	##
13	+	+	+	±	±	+	+	##
14	+	+	+	±	±	+	+	##
15	+	+	+	±	±	+	+	##
16	+	+	+	±	±	+	+	##
17	+	±	+	±	±	+	+	##
18	±	+	±	±	±	+	+	##
19	±	±	±	±	±	+	+	##
20*	±	±	±	±	±	+	+	##

± : slight + : mild # : moderate ## : severe

PMNL : polymorphonuclear leucocyte CMNL : chronic mononuclear leucocyte

材料 및 方法

實驗動物: 雄性인 BALB/C 마우스를 市販飼料로 飼育하면서 使用하였다.

感染 被囊幼虫: 洛東江 河口에 位置한 下端 流域에서 採集한 참붕어 (*Pseudorasbora parva*) 부터 人工消化法을 利用, 肝吸虫 被囊幼虫을 分離하여 約500個씩 各 마우스에 經口的으로 投與, 感染시켰다.

檢査方法: 感染後 第10個月 부터 最終 마우스가 死亡한 第20個月 까지의 慢性期 膽管變化를 觀察하였다. 感染後 第19個月 까지는 每月 3마리씩 ether 麻酔下에 犧牲시켜 肝組織을 摘出하였으며 第20個月에는 死亡한 마지막 1마리로부터 肝組織을 摘出, 使用하였다. 各各의 肝組織을 10% 中性 formalin 溶液으로 固定하였으며 所定の 脫水過程을 거쳐 paraffin에 包埋, 切片을 만들어 hematoxylin-eosin 染色下에 檢査하였다.

成 績

感染後 第10個月에 부터 月別로 觀察된 膽管의 主要 所見은 Table 1과 같이 要約되었다. 全 觀察期間을 通하여 전혀 나타나지 않은 上皮細胞의 核分裂 所見과 輕微하게 侵潤되었던 多形核白血球 및 好酸球를 除外한 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生, 杯細胞化生, 慢性 單核細胞 및 結締織 等은 顯著한 減退現象을 보였으나 間質의 膠原纖維는 高度의 水準을 維持하였다. 그러나 上皮細胞의 惡性化 證據는 認定되지 않았다.



Fig. 1. At the 12th month after infection, adenomatous proliferation, mucinous cell metaplasia and goblet cell metaplasia are moderate. Scattered acini are supported by moderate fibrous connective tissues. Stroma is moderately infiltrated by chronic mononuclear leucocytes (H & E stain, $\times 100$).

이들 變化過程은 그 出現程度 및 消長을 基準으로 하여 考慮할 때 다음과 같이 3個 樣相을 보이는 것으로 大別되었다.

第10~13個月群: 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生, 杯細胞化生, 慢性 單核白血球 侵潤과 膽管 및 門脈腔周圍 結締織 出現 程度는 中等度의 所見을 보였으며 膠原纖維는 高度의 水準으로 觀察되었다 (Fig. 1).

第14~16個月群: 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生, 杯細胞化生, 慢性 單核白血球 侵潤 및 結締織 出現 程度는 顯著히 減退되어 輕度 또는 中等度의 浮沈을 보였으나 膠原纖維는 如前히 高度의 所見은 보였다 (Fig. 2).

第17~20個月群: 主要 所見들이 보다 減退되어 輕

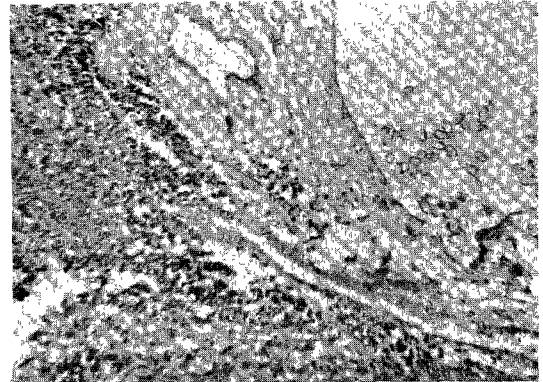


Fig. 2. At the 14th month after infection, adenomatous tissues are scanty. A solitary acinar tissue is supported by the excessive collagen fibers, instead of the connective tissues. *Clonorchis* eggs are seen in the distended bile duct (H & E stain, $\times 100$).

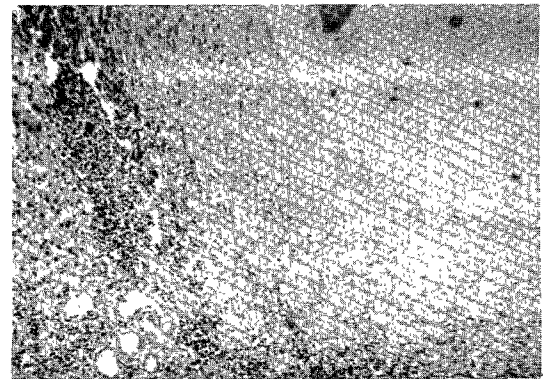


Fig. 3. At the 20th month after infection, adenomatous tissues definitely receded even though *Clonorchis* persists in the passage. Most of the fibrous connective tissues are replaced by collagen fibers. Chronic mononuclear leucocyte infiltration shows moderate in the degree (H & E stain, $\times 100$).

度乃至輕微한 狀態로 觀察되었으나 膠原纖維만은 高度의 所見을 維持하였다 (Fig. 3).

考 察

人體에 있어서의 肝吸虫感染과 合併된 膽管癌의 病理組織學的 檢査所見⁶⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾ 및 動物實驗成績^{13)~15)24)25)} 등을 根據로 考慮할 때 原發性 肝癌, 特히 膽管癌 사이에는 不可分의 相關關係가 介在하고 있음이 分明하나 아직도 올바른 發癌機轉이 解明된 바 없으며 動物의 種에 따라 膽管의 變化樣相이 多樣하게 提示되고 있다.

肝吸虫感染 고양이³⁾²⁴⁾ 및 개¹⁵⁾에서 觀察된 膽管癌은 形態學的으로 第2次 膽管에 招來된 增殖性 腺腫性 組織에서 起始된 것으로 그 進行이나 性質 및 構造에 있어 肝吸虫症을 同伴한 人體에서 發見된 것들과 同一하며, 膽管의 主要 所見은 上皮細胞의 增殖에 이어 나타나는 過量의 粘液物質을 分泌하는 粘液細胞化生 및 杯細胞化生, 그리고 間質의 豊富한 結締織 形成을 特徵으로 한다. 이러한 病變은 肝吸虫感染 時에만 觀察되는 것으로서 이와 같은 組織學의 特性을 根據로 人體에서의 肝吸虫性 膽管癌은 非肝吸虫性 腫瘍과의 鑑別이 可能하다²⁰⁾.

一方, 肝吸虫으로 感染시킨 小實驗室動物에서는 아무도 膽管癌 發生의 證據를 찾을 수 없었지만 李等²⁴⁾은 12週間의 白鼠觀察에서 上皮細胞의 增殖, 腺腫性 增殖, 細胞의 非定型性, 假重層化, 扁平化生, 角質化 및 間質의 纖維化 등을 經時的으로 認定할 수 있었으나 粘液細胞化生이나 杯細胞化生을 볼 수 없었다고 하였으나, 金³⁰⁾은 15個月間의 白鼠觀察을 通하여 이들과 類似한 所見 外에도 感染 第2個月 째에 粘液細胞化生이, 그리고 第3個月 째에 杯細胞化生이 惹起되어 第6~10個月 사이에 高度의 顯著한 所見을 볼 수 있었다고 하였다. 다른 李等²⁵⁾은 肝吸虫感染 기니픽을 使用하여 感染 第11週에 있어 乳頭狀 構造의 形成, 囊狀 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 및 杯細胞化生 등을 觀察할 수 있었고 閔 및 韓²⁸⁾²⁹⁾은 마우스에 있어 感染 初期인 第3日째에 上皮細胞의 增殖을, 第10日째에 粘液細胞化生을, 그리고 第15日째에는 杯細胞化生을 觀察할 수 있었으며 이들은 第25日 부터 第4個月 까지 高度의 水準을 보이다가 減退傾向을 보이기 始作하였고 間質의 纖維化는 第7日째에 나타나기 始作하였으나 第4個月 以後 부터는 高度로 發展한 膠原纖維에 依하여 大部分 代置되었다고 報告하였다. 또한 泰國을 爲始한 東南亞 一帶에 널리 分布하고 있는 타이肝吸虫으로 感染시킨 햄스터를 使用한 154日間의 觀察³³⁾

에서도 上皮細胞의 顯著한 增殖, 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 및 杯細胞化生 등을 볼 수 있었다.

以上 列學한 觀察所見과 本 實驗成績을 綜合, 考慮할 때, 膽管의 上皮細胞 增殖, 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 杯細胞化生 및 間質의 纖維化는 人體에서와 類似하게 肝吸虫 또는 타이肝吸虫에 感染된 모든 動物에 있어 必發되는 主要한 病理組織學的 共通所見임은 明確하다 하겠다.

肝吸虫感染 時 膽管에서 惹起되는 組織學的 變化의 經時的 進行過程을 一般的으로 上皮細胞의 脫落, 上皮細胞의 增殖과 脫落, 上皮細胞의 增殖, 脫落 및 腺腫性 增殖, 그리고 散在性 腺芽의 形成과 間質의 纖維化 등 4 個期로 區分¹²⁾²⁸⁾하고 있으나 上皮細胞의 惡性化(膽管癌 發生)를 追加하여 5 個期로 區分²⁰⁾하기도 한다. 그러나 諸 觀察成績을 詳考하면 感染 初期에 있어 上皮細胞의 增殖에 이어 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 및 杯細胞化生이 觀察됨은 事實이나 脫落이나 腺芽의 形成 또는 纖維化 등은 觀察對象에 따라 經時的으로 或은 同時的으로 또는 先後가 뒤바뀌어 觀察되고 있어 이러한 區分은 進行樣相을 模型化하기 爲한 技術의 表現에 不週한 것이라 생각된다.

Hou^{13)~15)}는 上皮細胞의 增殖 및 腺腫性 增殖은 感染回數, 強度 및 期間에 影響되며 反復感染은 例外없이 腺腫性 組織을 形成하며 形成된 腺組織의 多寡는 感染強度와 比例한다고 言及한 바 있으나 金³⁰⁾은 感染強度 및 感染回數를 달리한 白鼠觀察을 通하여 肝·膽管系 및 腹腔內 肉眼的 所見의 輕重程度에 比較的 큰 差異가 認定되었으나 各 群間에 있어 同一期間別로 나타난 組織學的 變化의 程度는 相互 大同小異하여 큰 差異는 認定되지 않았다고 報告함으로써 少數感染에 있어서도 無視해 버릴 수 없는 病變이 惹起될 可能性을 示唆하였다.

慢性期에 접어들면서 虫卵의 排出數가 顯著히 減少되며 腺腫性 增殖의 消退傾向이 뚜렷하다 함은 잘 알려진 事實¹⁴⁾²⁸⁾이거니와 本 實驗成績에 있어서도 膠原纖維의 增殖을 除外한 諸般 主要 所見이 顯著한 減退를 보이고 있어 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 및 杯細胞化生 등은 種에 따라 差異를 보이나 膽管內 虫體의 活動性과 平行하는 것으로 理解되며 纖維化는 非可逆的임이 分明하다 하겠다.

Chou 및 Gibson¹⁷⁾은 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生 및 杯細胞化生은 新生物 形成의 前段階로 考慮된다 하였고, Hou^{13)~15)}가 觀察한 고양이 및 개에 있어서도 이러한 變化가 가장 顯著한 時期인 第3期에 上皮細胞의 惡性化가 成立되었다 하였으며, Attwood 및 Chou⁴¹⁾는 肝吸虫 單獨으로는 다만 膽管上皮細胞에 病變을 誘

發시킴으로써 外因의 發癌刺戟에 對한 感受性を 높일 뿐으로 膽管癌 發展에는 某種의 發癌物質의 協同作用이 關與될 것이라 言及하였다. 이러한 報告들을 根據로 할 때 비록 以前의 諸 動物實驗 및 本 實驗에서 癌發生 證據는 認定되지 않았지만 例外없이 觀察된 粘液細胞化生에 이어 나타난 杯細胞化生은 胃癌의 境遇와 마찬가지로 腺癌 發展의 可能性을 示唆하는 가장 重要な 組織學的 變化所見으로 믿어진다.

따라서 肝吸虫은 膽管癌 誘發의 直接的인 原因이 되고 있다기 보다는 先行要因으로서 根本的인 重要な 役割을 하는 것은 分명한 바, 肝吸虫 幼虫이 膽管에 到達하면 即時 組織反應이 惹起되어 上皮細胞의 增殖이 나타나고 이어 腺腫性 增殖이 뒤따르며 粘液細胞化生과 杯細胞化生이 續發되고 어떤 特定 發癌因子가 이와 같은 異常上皮細胞에 作用하게 되면 細胞의 遺傳子 樣相에 變動이 招來되어 癌으로 發展할 것이라 理解된다.

더우기 우리나라에 있어 唯獨 肝吸虫症의 高度 蔓延 地域이며 肝吸虫症을 合併한 膽管癌의 發見頻도가 높은 大邱와 釜山地域의 메주와 된장에서만 aflatoxin이 檢出되었던 金等⁴²⁾의 成績과 汎世界的으로 여러가지 食品에서 檢出되고 있는 N-nitrosocompounds 의 하나인 dimethylnitrosamine이 타이 肝吸虫 非感染 햄스터에서는 전혀 發癌效果를 나타내지 못한 同一한 微量으로 感染 햄스터 全例에 있어 粘液分泌性 膽管癌을 誘發시킬 수 있었다는 Thamavit 等³⁵⁾의 報告를 勘案하면 向後 肝吸虫과 이들 發癌物質을 兼用한 追試가 크게 期待된다.

結 論

肝吸虫感染과 膽管癌의 相互關係에 關한 知見을 얻기 爲한 一連의 施圖로서 肝吸虫感染 마우스를 使用, 感染 第10個月째 부터 第20個月까지의 慢性期 膽管의 病理組織學的 變化樣相을 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 感染後 第10個月 부터 第13個月 까지 大體로 中等度の 所見을 보인 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生, 杯細胞化生 및 慢性 單核白血球의 侵潤은 漸次 減退하기 始作하여 末期에는 거의 消退되는 傾向이 뚜렷하였다.

2) 散在性 腺芽를 둘러싸고 있던 間質의 纖維化는 感染後 第14個月 以後 輕度로 消退하는 反面, 膠原纖維는 末期까지 高度의 水準을 維持하여 非可逆的 變化 所見임을 보였다.

3) 多形核白血球 및 好酸球의 侵潤은 全 觀察期間

을 통하여 輕微한 所見을 보였으며 慢性 單核白血球는 第16個月 以後 減退, 輕度の 所見을 보였다.

4) 全 觀察期間을 통하여 上皮細胞의 惡性化 證據는 認定되지 않았다.

REFERENCES

- 1) Rokitansky CA: Manual of pathological anatomy. 1849, 2: 151, London.
- 2) Pesigan TP and Beltran AM: Studies on liver function in *Schistosoma japonica*. J Parkistan Med. Ass 1951; 27: 220-228.
- 3) Nakashima T, Ckuda K, Kojiro M, Sakamoto K Kubo Y and Shimokawa Y: Primary liver cancer coincident with *Schistosoma japonicum*. A study of 24 necropsies. Cancer, 1975; 36: 1483-1486.
- 4) Cheever AW: Schistosomiasis and neoplasia. J Nat Ca Inst, 1978; 61: 13-18.
- 5) Greenwald ED, Greenwald ES and Brenner SM: Extrahepatic bile duct cancer. NY State J Med, 1981; 81: 324-329.
- 6) Katsurada F: Beitrag zur Kenntinis des *Distomum spathulatum*. Beitrage zur pathologische Anat u zur Allge. Path, 1900; 28: 479-505.
- 7) Tull JC: Primary carcinoma in orientals. J Path Bact 1932; 35: 557-563.
- 8) Hoeppli R: Histological changes in the liver of Chinese infested with *Clonorchis sinensis*. Chinese Med J, 1933; 47: 1125-1141.
- 9) Brumpt E: Precis de parasitologie. 6th ed, 1936; pp. 607, Paris, Masson.
- 10) Chin KY, Lei AT and Wang TY: Primay mucinous carcinoma of liver associated with *Clonorchis sinensis* infection. Chinese Med. J, 1955; 73: 26-35.
- 11) Hou PC: The pathology of *Clonorchis sinensis* infestation of the liver. J Path Bact, 1955; 70: 53-64.
- 12) Hou PC: The relationship between primary carcinoma of the liver and infestation with *Clonorchis sinensis*. J Path Bact, 1956; 72: 239-246.
- 13) Hou PC: Primary carcinoma of bile duct of the liver of cat infested with *Clonorchis sinensis*.

- sis. J Path Bact, 1964 ; 87 : 239 - 244.
- 14) Hou PC : Pathological changes in the intrahepatic bile ducts of cats (*Felis catus*) infested with *Clonorchis sinensis*. J Path Bact, 1965 ; 89: 357 - 364.
 - 15) Hou PC : Hepatic clonorchiasis and carcinoma of the bile duct in a dog. J Path Bact, 1965 ; 89 : 365 - 367.
 - 16) 朴斗福 : 원발성 간장암의 통계적 고찰. 부산대학교 10 주년 기념논문집, 1956 ; 399 - 405.
 - 17) Chou ST and Gibson JB : The histochemistry of biliary mucins and the changes caused by infestation with *Clonorchis sinensis*. J Path, 1970 ; 101 : 185 - 197.
 - 18) Gibson JB and Sun T : Clonorchiasis in pathology of protozoal and helminthic diseases. Marcial-Rojas Ed, 1971 ; pp. 546 - 566, Williams and Wilkins Co, Baltimore.
 - 19) Belamaric J : Intrahepatic bile duct carcinoma and *Clonorchis sinensis* infection in Hong Kong. Cancer, 1973 ; 31 - 468 - 473.
 - 20) 金勇一 · 梁德鎬 · 張起呂 : 韓國에 있어 肝吸虫症과 原發性 肝癌과의 相關關係. 서울의대잡지, 1974 ; 5(3) : 247 - 255.
 - 21) 金勇一 · 朴喆根 · 金貞蘭 · 張子俊 : 肝의 原發性 上皮性 惡性腫瘍. 302 例에 對한 病理組織學的 再分類와 成長樣式. 大韓癌學會誌, 1980 ; 12(1) : 33-53.
 - 22) 정갑년 : 부산지방에서 관찰된 원발성 간암에 대한 병리학적 연구 - 특히 간디스토마감염을 고려하여. 부산의대잡지, 1975 ; 15(1) : 217 - 227.
 - 23) 정창수 · 이선경 : 부산지방의 원발성 간암에 대한 역학적 연구. 대한병리학회지, 1976 ; 10(1) : 33-46.
 - 24) 李純炯 · 沈台燮 · 李相文 · 池堤根 : 肝吸虫感染白鼠 肝의 病理組織學的 變化. 기생충학잡지, 1978 ; 16(2) : 148 - 155.
 - 25) 李善容 · 李純炯 · 池堤根 : 肝吸虫感染 guinea pig 에서의 肝細胞 및 膽管上皮細胞 微細構造的 變化. 기생충학잡지, 1978 ; 16(2) : 88 - 102.
 - 26) Schwartz DA : Review. Helminths in the induction of cancer ; *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis* and cholangiocarcinoma. Trop Geogr Med, 1980 ; 32 : 95 - 100.
 - 27) 민흥기 · 소진탁 : 원발성 간암환자에 있어서의 肝吸虫染의 疫學的 調査. 梨花醫大誌, 1980 ; 3(4) : 163 - 167.
 - 28) 閔弘基 · 韓雲燮 : 肝吸虫症의 肝癌誘發 可能性에 關한 研究. 梨花醫大誌, 1983, 6(3) : 139 - 148.
 - 29) 閔弘基 · 韓雲燮 : 肝吸虫感染 마우스의 膽管系 早期 變化. 梨花醫大誌, 1984 ; 7(2) : 63 - 68.
 - 30) 김희진 : 백서에 있어 간흡충 감염의 담관암 유발 가능성에 관한 실험적 연구. 1984 ; 이화여자대학교 대학원 석사논문.
 - 31) Bhamarapravati N and Viranuvatti V : Liver diseases in Thailand ; an analysis of liver biopsies. Am J Gastroent, 1966 ; 45 : 267 - 275.
 - 32) Bhamarapravati N : Animal studies on liver fluke infestation, dimethylnitrosamine, and bile duct carcinoma. Lancet, 1978 ; 1 : 206 - 207.
 - 33) Bhamarapravati N Thamavit W and Vajrasthira S : Liver changes in hamsters infected with a liver fluke of man *Opisthorchis viverrini*. Am J Trop Med Hyg, 1978 ; 27 : 787 - 794.
 - 34) Koompirochana C Sonakul D Chinda K and Stinimankarn T : Hepatic carcinoma with Opisthorchiasis. S.E. Asian J Trop Med Publ Hlth, 1978 ; 9(2) : 215 - 219.
 - 35) Thamavit W Bhamarapravati N Sahaphong S Vajrasthira S and Angsubhakorn S : Effect of dimethylnitrosamine on induction of cholangiocarcinoma in *Opisthorchis viverrini* infected Syrian golden hamsters. Cancer Res, 1978 ; 38 : 4634 - 4639.
 - 36) Flavell DJ, Pattanapanyasat K, Lucas SB, and Vongsangnak V : *Opisthorchis viverrini* ; liver changes in golden hamsters maintained on high and low protein diets. Acta Tropica, 1980 ; 37 : 337 - 350.
 - 37) Flavell DJ : Liver-fluke infection as an aetiological factor in bile duct carcinoma of man. Tran Roy Soc Trop Med Hyg, 1981 ; 75(6) : 814-824.
 - 38) Flavell DJ and Lucas SB : Potentiation by the human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, of the carcinogenic action of N-nitrosodimethylamine upon the biliary epithelium of the hamster. British J Can, 1982 ; 46 : 985 - 994.
 - 39) Robbins SL : Textbook of pathology with clinical application 1962 ; Ed. 2, p. 335. WB Saunders Co. Philadelphia.
 - 40) Osuna O Edds GT and Blankespoor HD : Toxic effects of aflatoxin B₁ in male holstein calves

with prior infection by flukes(*Fasciola hepatica*). Am J Vet Res, 1977 ; 38 : 341 - 350.

41) Attwood HD and Chou ST : The longevity of *Clonorchis sinensis*. Pathology, 1978 ; 10 : 153 -

156.

42) 金容華 · 皇甫丁淑 · 李瑞來 : 몇 가지 韓國食品 中 aflatoxin 의 檢出. 한국식품과학회지, 1977 ; 9(1) : 73 - 80.
