

## 肝吸蟲感染 및 發癌物質에 의한 白鼠膽管上皮細胞 微細構造의 變化

梨花女子大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

閔 弘 基

= Abstract =

### Effects of *Clonorchis* Infection and Carcinogens on Ultrastructural Changes of Biliary Epithelial Cells in Rats

Hong-Ki Min

Department of Parasitology, College of Medicine, Ewha Womans University

The effects of carcinogens, 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene(3'-MeDAB) and aflatoxin B<sub>1</sub> on ultrastructural changes of biliary epithelial cells in the rats experimentally infected with *Clonorchis sinensis* were investigated using male rats of the Sprague-Dowley strain.

The animals were divided into 5 groups : group I, given 50 *Clonorchis* metacercariae alone ; group II-a, treated with 0.03% 3'-MeDAB alone for 12 weeks ; group II-b, treated with 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> alone for 12weeks ; group III-a, given 50 metacercariae at the beginning of the 12 week treatment with 3'-MeDAB and group III-b, treated with 50 metacercariae plus 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub>. Since the 4th week of experiment, ultrastructures of epithelial cells were observed, using transmission electron microscope.

In group I, some elaborate interwoven folds of lateral cytoplasm forming labyrinths of interconnected intercellular space, variety in nuclear shape and marked proliferation and swelling of rough endoplasmic reticulum were characteristic. In groups II-a and II-b, remarkable enlargement of nuclear size, increase of chromatin granules along the inner membrane of nucleus and nucleolar margination were prominent. On the other hand, group III-a or group III-b revealed mostly combined findings of those shown in *Clonorchis*-infected rats and carcinogen-treated ones. Furthermore, the presence of liver fluke and carcinogen led to neoplastic change.

In general, treatment with 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> alone(group II-b) or 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> plus *Clonorchis* metacercariae(group III-b) resulted in much earlier onset of alterations than that with 0.03% 3'-MeDAB alone (group II-a) or plus metacercariae(group III-a) throughout the observation. Despite differences in time of onset of alterations, they appeared to be essentially of the same order in

cases of groups II-a and II-b, or groups III-a and III-b, respectively.

In conclusion, it was clearly evidenced that *Clonorchis* infection plays an important role as a promotor in cholangiocarcinogenesis in the rats treated with 3'-MeDAB or aflatoxin B<sub>1</sub>.

## 緒 論

韓國을 爲始하여 肝吸蟲症이 蔓延되고있는 地域에 있어 原發性 肝癌, 特히 膽管癌의 發生頻度 및 膽管癌·肝吸蟲症 合併例의 發見頻度は 그렇지 않은 地域에 있어서의 그것들보다 越等히 높다<sup>1-5)</sup>.

이러한 理由로 肝吸蟲感染은 膽管上皮細胞의 惡性化를 惹起하는 主要因으로 推定되기도 하였으나<sup>1-4)</sup> 마우스<sup>6)7)</sup>, 白鼠<sup>8)9)</sup>, 햄스터<sup>10)</sup>등을 利用한 肝吸蟲感染實驗의 結果에 따르면 모든 境遇 膽管上皮細胞에 있어 人體에서와 同一한 主要 病理組織學的 共通所見들<sup>11)</sup>이 示顯되었으나 惡性化의 證據는 經驗할 수 없었던 反面, 人體와 類似한 環境에서 사는 고양이<sup>12)</sup>나 개<sup>13)</sup>를 利用한 感染實驗에 있어서는 惡性化가 認證되었던 바 오늘날 肝吸蟲感染은 膽管上皮細胞의 惡性化를 誘發하는 要因으로 作用할 것이라는 것은 分明하나 單獨으로는 惡性化를 惹起하지 못하며 某種의 外因의 發癌刺戟의 關與가 必須的인 것으로 理解되고 있다<sup>5-14)</sup>.

實際로 肝吸蟲感染白鼠에 있어 發癌物質인 dimethylnitrosamine(DMN)의 投與는 膽管癌을 發生시켰으나 非感染例에 있어서는 發生시키지 못했으며<sup>9)</sup>, 또한 感染햄스터에 있어 N-2-fluorenylacetamide의 投與는 非感染例에 있어서보다 훨씬 高率의 膽管癌을 發生시켰다<sup>10)</sup>. 이와같은 結果들은 膽管癌 發生에 있어 肝吸蟲과 發癌物質間의 密接한 協同作用을 強力하게 示唆한다 하겠다.

本 著者는 肝吸蟲感染이 膽管癌을 誘發하는 機轉의 根本性狀을 糾明하기 爲한 研究의 一環으로 發癌物質인 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene(3'-MeDAB)과 aflatoxin B<sub>1</sub>을 選擇, 投與한 白鼠膽管上皮細胞에 있어 肝吸蟲感染時 經時的으로 나타나는 微細構造의 形態學的 變化를 觀察하고자 本 實驗을 遂行하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 肝吸蟲 被囊幼蟲

肝吸蟲症의 濃厚 蔓延地域인 洛東江 下流에 位置한 下流流域에서 捕獲한 肝吸蟲의 主要 第2中間宿主人 참붕어를 細切, 適當히 다진후 人工胃液을 使用하여 消化시켰으며 解剖顯微鏡을 利用, 被囊幼蟲을 分離, 感染에 使用하였다.

### 2. 發癌物質 및 食餌

Butter yellow인 4-dimethylaminoazobenzene의 한 誘導體인 3'-MeDAB(Kwasei Ind. Co. Ltd., Tokyo, Japan, 25gm vial)을 標準蛋白食餌(Table 1)에 0.03%가 되도록 添加하여 實驗食餌로 使用하는 한편, aflatoxin B<sub>1</sub>(Sigma Chemical Co., U.S.A.) 10mg을 1.0ml의 N,N-dimethylformamide로 溶解시킨後 水에 1.0ppm 濃度로 添加하여 使用하였다.

### 3. 動物分類 및 實驗設計

實驗動物로는 Sprague-Dowley株의 雄性 白鼠를 使用하였으며 觀察目的에 따라 다음과 같이 分類하

Table 1. The composition of the diet(per Kg.)

Ingredient	Quantity
Casein	180gm
Corn oil	50gm
Glucose monohydrate	710gm
Salt mixture	40gm
Riboflavin	1mg
Vitamin mixture	5ml*

\* Contains cod liver oil 20gm(cholin chloride 1.5gm, pteroryl glutamic acid 0.6mg, biotin 1.5mg thiamine-HCl 20mg, pyridoxine-HCl 20mg, and menadione 50 mg in 20gm of cod liver oil), nicotinamide 50mg, potassium-aminobenzoic acid 50mg, calcium pantothenate 60mg, inositol 100mg and cyanocobalamin 40µg.

었다.

第 I 群 : 50個의 被囊幼蟲만을 投與, 感染시킨 36마리.

第 II 群 : 各各의 發癌物質만을 投與한 群으로서 II-a群은 0.03% 3'-MeDAB 實驗食餌만을 投與한 36마리, 그리고 II-b群은 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液만을 投與한 36마리.

第 III 群 : 被囊幼蟲과 各各의 發癌物質을 함께 投與한 群으로서 III-a群은 50個의 被囊幼蟲을 投與, 感染시킨 當日부터 0.03% 3'-MeDAB 實驗食餌를 投與한 36마리, 그리고 III-b群은 感染시킨 當日부터 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液을 投與한 36마리.

肝吸蟲 被囊幼蟲을 鐵製導管을 連結시킨 注射器를 利用하여 經口的으로 直接 胃內에 注入, 感染시켰으며, 實驗食餌 및 水溶液은 12週間 制限없이 供給하였다. 그리고 正常膽管上皮細胞의 觀察을 위하여 非感染·非投藥의 白鼠 3마리를 利用하였다.

#### 4. 膽管上皮細胞의 微細構造 觀察

實驗開始 第4週째부터 4週 間隔으로 第48週까지 總 12次에 걸쳐 各群으로부터 無作爲로 3마리씩 取하여 ether 全身麻醉下에 開腹, 肝臟을 摘出하였다.

摘出 直後 各葉으로부터 1.0mm<sup>3</sup> 程度의 組織小片을 2~3個씩 切取하여 1% paraformaldehyde-2% glutaraldehyde 混合固定液(phosphate buffer pH 7.4)으로 前固定하였으며 이어 1% osmium tetroxide (phosphate buffer pH 7.4)로 後固定하였다. 이 組織들을 ethanol과 acetone系에서 脱水시킨後 Epon 812에 包埋하였다. 觀察部位의 確認을 爲하여 組織標本을 ultramicrotome(Sorvall MT-5000)으로 1μm 두께의 semithin section을 만들어 toluidine blue로 染色, 觀察하여 確認한 部位를 50nm 두께의 超薄切片을 만들어 uranyl acetate와 lead acetate로 二重染色하고 透過電子顯微鏡(Hitachi H-600)을 利用, 微細構造를 觀察하였다.

### 成 績

正常白鼠膽管上皮細胞는 大體로 立方形이었으며 膽管面을 沿하여 잘 發達된 microvilli가 觀察되었고 드물게는 cytoplasmic projection도 나타났다. 隣接한 細胞들과는 部分的으로 interdigitation 및 desmo-

some을 보이는 連結構造에 依하여 서로 密着되어 있었다. 高電子密度의 核輪廓은 大體로 緩曲한 類圓形을 보였으며 核小體는 中心性 또는 偏在性으로 나타났다. 染色質은 顆粒性으로 比較的 均等하게 散在하였다. 細胞質內에서는 少數의 mitochondria, rough endoplasmic reticulum(RER), smooth endoplasmic reticulum, Golgi complex, lysosome等이 觀察되었다(Fig. 1).

第 I 群에 있어 初期 上皮細胞는 大體로 立方形보다는 圓柱狀이 優勢하였으며 microvilli는 잘 發達되었고 cytoplasmic projection은 보다 頻繁하게 觀察되었다. 部位에 따라서는 수 많은 interdigitation이 서로 分離되어 隣接細胞사이에서 甚히 不規則한 空間이 생겼으나 近尖部의 desmosome 連接은 比較的 잘 保存되어 있었다. 核은 若干 增大되었으며 그 輪廓은 若干 不規則한 類圓形을 보였고 染色質은 大體로 均等하게 分散되어 있었으며 核小體는 中心性 또는 偏在性이었다. 細胞質內의 mitochondria 및 RER은 輕度の 增加와 擴張을 보였으며 少數의 粘液小滴이 觀察되었다. 基底膜에서는 輕度の 纖維化가 示顯되었다(Fig. 2). 第12週 以後의 核의 輪廓은 不規則하며 多樣化되었고 染色質은 核內膜을 沿하여 緻密하게 凝集되어 나타났다. 細胞質은 甚하게 腫張된 多樣한 모양과 크기의 수 많은 RER에 依하여 거의 占有되었으며 核의 內膜과 外膜의 間隔이 顯著히 分離된 것등이 매우 特徵的이었다. Mitochondria, Golgi complex, lysosome, 粘液小滴等에는 別다른 變化가 없었다(Fig. 3). 上記한 特徵의 所見들은 第32週까지 維持되었으며 漸次 그 程度가 輕減되었고, 上皮細胞는 部分的으로 扁平化 또는 重疊化되었으며 基底膜의 纖維化는 高度의 所見을 보였다.

第 II 群의 II-a群 및 II-b群에 있어 初期의 上皮細胞는 大體로 立方形이었으며 microvilli는 正常 또는 第 I 群의 것들과 類似하였으나 cytoplasmic projection은 보다 크고 頻繁하게 나타났다. 細胞間 連結構造는 比較的 잘 保存되어 있었다. 特히 核은 類圓形으로서 한 細胞의 거의를 占有할 程度로 顯著히 增大되었으며 染色質은 分散 乃至 核內膜을 沿하여 集結되었고 核小體의 邊緣趨向(nucleolar margination)을 보인 것들이 特徵的이었다. 細胞質內의 mitochondria 및 RER은 若干 增加, 擴張된 듯한 印象을 보였다(Fig. 4 및 5). 이와 같은 所見들은 II-a群에

서는 第32週까지, 그리고 II-b群에서는 第24週까지 維持되었으나 그 以後부터 大部分의 上皮細胞는 扁平化되었고 이에 對應하여 核의 形態는 類橢圓形으로 나타났으며 mitochondria나 RER는 어느 程度 減少, 萎縮되었던 所見을 보였다(Fig. 6). 後期에 있어서의 이와같은 變化들은 II-a群에 있어서는 徐徐히, 그리고 II-b群에 있어서는 빠르게 나타났다.

第III群의 III-a群 및 III-b群에 있어 初期의 上皮細胞는 立方形 乃至 圓柱狀이었으며 많은 境遇 microvilli는 減少, 萎縮되었고 cytoplasmic projection은 크고 頻繁하게 觀察되었다. 隣接細胞間的 連接은 部分的으로 interdigitation의 分離에 따른 不規則, 多様な 空間을 보였다. 核은 類圓形으로 顯著히 增大되었으며 그 輪廓은 若干 不規則하였고 核內膜에 沿하여 凝集된 染色質은 보다 增加되었으며 核小體의 邊緣趨向도 보다 두드러지게 나타났다. 細胞質內 mitochondria 및 RER은 中等度로 增加, 擴張되었으며 其他 微細構造들은 第II群의 初期 所見과 類似하였다(Fig. 7). 第8週 以後 經時的으로 核은 더욱 增大되었으며 染色質은 增加, 보다 緻密하여졌고 核小體의 邊緣趨向은 더욱 顯著해졌으며 擴張된 mitochondria는 많은 境遇 全部 또는 一部分이 單層化된 囊狀을 보였고 細胞들은 立方形으로 되었으며 核이 없는 것도 있었고 細胞間 連結構造는 大部分 纖維化되었던 바(Fig. 8) 이러한 變化는 全期間을 通하여 III-a群에 있어 徐徐히, 그리고 III-b群에 있어 보다 빨리 進行되었으나 出顯의 順序는 大同小異하였다. 後期에 이르러서는 上皮細胞는 扁平化 乃至 重疊化되었으며 核은 細胞의 形態에 따라 多樣化되었고 특히 高電子密度의 染色質이 核內와 核內膜 周邊部에 增加, 多様な 形態로 나타나 있어 邊緣趨向性을 보이는 核小體들과의 區別이 어렵게 되었으며 細胞質內 諸微細構造들은 그 程度가 急激히 貧弱해졌다. 이렇게 變形된 上皮細胞들이 膽管 周圍로부터 逸脫, 周邊部の 結締組織內로 浸潤된 所見이 觀察되었다(Fig. 9 및 10).

## 考 察

3'-MeDAB은 食品染料로 널리 쓰이고 있는 azo化合物인 butter yellow의 한 誘導體로서 白鼠의 肝臟에서 強力한 發癌性을 示顯하며<sup>15-19)</sup>, 日本住血吸蟲

感染白鼠에 있어 肝癌의 發生率을 有意性 높게 增加시키고<sup>20)</sup> 肝吸蟲感染마우스에 對한 12週間의 0.03% 3'-MeDAB 混合食餌 投與는 實驗開始 第40週부터 粘液分泌性的 잘 分化된 腺癌인 膽管上皮細胞癌을 發生시킨 바 있다<sup>21)</sup>. 또한 aflatoxin B<sub>1</sub>은 여러가지 食品<sup>22-24)</sup> 및 家畜飼料로 쓰이고 있는 穀物等<sup>25-27)</sup>에서 檢出되고 있는 肝毒性 物質이며 各種 實驗動物에서 肝細胞性 癌을 發生시키는 強力한 發癌性 物質로서<sup>28-30)</sup> 肝吸蟲感染마우스에 對한 12週間의 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液 投與는 實驗開始 28週後부터 亦是 粘液分泌性的 잘 分化된 腺癌인 膽管癌을 發生시킨 바 있다<sup>31)</sup>. 그러나 肝吸蟲 單獨感染이나 0.03% 3'-MeDAB 混合食餌 또는 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液의 單獨投與의 境遇에 있어서는 전혀 膽管癌의 發生을 經驗하지 못하였다.

本 觀察에 있어 正常上皮細胞의 核內 및 細胞質內 微細構造들은 Johannessen이 觀察, 記述한 바<sup>32)</sup>와 一致하였다. 그러나 第I群, 第II群 및 第III群에 있어서는 正常所見과 다를 뿐만 아니라 各各에서 示顯되는 經時的 變化所見들은 서로 다른 特徵있는 樣相을 보였다.

第I群의 膽管上皮細胞에 있어 隣接細胞間的 連結構造, 특히 interdigitation의 分離에 依한 間隔의 形成, RER의 顯著한 增加 및 高度의 腫張等이 特徵인 變化像이었는데, 細胞間 interdigitation의 分離現象은 細胞의 滲透壓平衡을 爲한 水分吸收의 結果<sup>33)</sup>인 同時에 肝吸蟲感染의 影響으로 나타나는 初期變化的 하나로 考慮되는 上皮細胞 脫落의 前段階의 變化로 推定되었으며 RER의 高度 增加 및 腫張은 粘液細胞化生 乃至 杯細胞化生의 主要所見<sup>34)</sup>이라 理解되었다.

第II群에 있어서는 細胞의 거의를 占有할 程度로 나타난 核의 顯著한 增大, 核小體의 分割現象 및 邊緣趨向, 染色質의 核內膜 周邊部 集結等이 特徵적이었는데 이와 같은 所見들은 II-a群 및 II-b群에 있어 出顯時期가 달랐을 뿐 原則적으로 類似하였고, Ma 및 Webber<sup>35)</sup>의 3'-MeDAB 單獨投與白鼠에서, 그리고 Svoboda 등<sup>29)</sup>의 aflatoxin B<sub>1</sub> 單獨投與白鼠에서 觀察, 記述된 變化 所見과 各各 類似하였다. 특히 核小體 및 染色質에 있어서의 이와같은 變化들은 毒性物質의 影響에 依한 蛋白合成의 障礙에 起因되는 것으로 알려져 있다<sup>29)35)</sup>.

第Ⅲ群에 있어서는 第Ⅰ群 및 第Ⅱ群 各各에서 觀察된 細胞의 形態, 核內 및 細胞質內 諸微細構造들의 特徵의인 主要變化가 複合的으로 惹起, 增強된 樣相을 나타낸 것으로 解釋되었으며 이 境遇에 있어서도 變化의 進行은 Ⅲ-a群에 있어 徐徐히, 그리고 Ⅲ-b群에 있어 빠르게 이루어졌으며 變化所見 및 이들의 出顯順序는 大同小異하였다. 特히 Ⅲ-a群에 있어 第40週부터, 그리고 Ⅲ-b群에 있어 第28週부터 여러 部位에서 觀察된 核內 및 核內膜 周邊部의 高電子密度의 染色質顆粒의 高度增加와 核小體의 顯著한 邊緣趨向, 그리고 RER의 高度增加 등은 核酸, 特히 DNA를 含有한 蛋白質의 蓄積에 따른 非可逆的인 細胞의 損傷<sup>30)36)</sup>을 意味하는 것으로 理解되었으며 또한 異常膽管上皮細胞의 核과 核小體의 變化像은 Johannessen<sup>32)</sup>이 觀察, 提示한 膽管上皮細胞의 癌細胞에서의 所見과 至極히 類似하였다.

異常狀態에 있어 細胞增殖이 가장 旺盛한 時期에 細胞의 免疫學的 反應도 가장 敏活하게 進行되며<sup>37)</sup> 核內에서의 DNA 合成은 迅速하게 進行, 蓄積되고<sup>38)</sup> 이러한 때에 dinitrosocompound와 같은 發癌物質이 關與되면 DNA의 methyl化가 顯著히 高調되기 때문에 細胞의 遺傳樣相에 非可逆的인 變動이 招來되어 惡性化한다고<sup>39)40)</sup> 알려져 있다.

3'-MeDAB 및 aflatoxin B<sub>1</sub>도 核酸의 methyl化 乃至 alkyl化에 關與하는 發癌性 物質이라는 點과 本 實驗 特히 第Ⅲ群에서 經時的으로 示顯된 所見들을 聯關시켜 考慮할 때 肝吸蟲感染으로 因하여 膽管에 있어 腺腫性 增殖, 粘液細胞化生, 杯細胞化生 등이 旺盛하게 惹起되는 時期에 化生된 細胞 特히 DMN, 3'-MeDAB, aflatoxin B<sub>1</sub> 등과 같이 methyl化 乃至 alkyl化에 關與되는 發癌物質에 特異하게 敏感한 杯細胞<sup>41)42)</sup>에 비록 分量이나 投與期間에 問題가 있을런지 알 수 없지만 0.03% 3'-MeDAB 12週間の 投與는 徐徐히 그리고 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 12週間の 投與는 보다 迅速하게 작용하여 上皮細胞의 惡性化를 惹起시킬 것이라 생각되었다.

## 結 論

肝吸蟲感染 白鼠의 膽管上皮細胞 微細構造의 經時的인 形態學的 變化 및 膽管癌 誘發에 미치는 發癌物質 3'-MeDAB과 aflatoxin B<sub>1</sub>의 影響을 糾明하기

爲한 研究의 一環으로 白鼠를 第Ⅰ群, 50個의 肝吸蟲 被囊幼蟲 單獨投與, 第Ⅱ群, 12週間の 0.03% 3'-MeDAB 混合食餌 單獨投與인 Ⅱ-a群 및 12週間の 1.0 ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液 單獨投與인 Ⅱ-b群, 그리고 第Ⅲ群, 50個의 被囊幼蟲 投與와 함께 12週間の 3'-MeDAB 混合食餌 投與인 Ⅲ-a群 및 同一數의 囊被幼蟲 投與와 함께 同一期間의 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub> 水溶液 投與인 Ⅲ-b群 등으로 分類, 實驗開始後 第4週부터 4週間隔으로 第48週까지 12次에 걸쳐 3마리씩 無作爲로 取하여 肝臟을 摘出하였고 所定の 處理過程을 거쳐 電子顯微鏡的 觀察를 遂行하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 第Ⅰ群에 있어 初期의 上皮細胞는 大體로 圓柱狀이었으며 隣接細胞間 連結構造의 一部인 interdigitation의 甚한 分離現象, mitochondria 및 RER의 高度增加 및 擴張, 粘液小滴의 出現, 基底膜內 纖維化 등이 特徵的이었고 後期에 이르러서는 核輪廓의 不規則性 및 染色質顆粒의 稠密化 등을 보였다.

2) 第Ⅱ群에 있어서의 上皮細胞는 大體로 立方形이었으며 核의 高度增大, 核小體의 邊緣趨向, 核內膜 周邊部의 染色質 集結과 凝集現象 등이 特徵的이었고 後期에 이르면서 漸次 그 程度는 輕減되었는데 이들 變化像은 Ⅱ-a群 및 Ⅱ-b群에 있어 原則的으로 類似하였으나 變化 進行은 Ⅱ-b群에 있어 훨씬 빨랐다.

3) 第Ⅲ群에 있어서의 上皮細胞는 大體로 立方形과 圓柱狀이었으며 核 및 細胞質內 微細構造는 經時的으로 第Ⅰ群과 第Ⅱ群에서 觀察되었던 特徵的인 主要變化像이 複合的으로 示顯, 增強된 樣相을 보였으며 後期에 이르러서는 上皮細胞의 扁平化 乃至 重疊化, 核輪廓의 多樣化, 核內 및 核內膜 周邊부에 있어서의 高電子密度의 染色質顆粒의 增加, 顯著한 核小體의 邊緣趨向 등이 續發된 反面 細胞質內 微細構造의 變化程度는 顯著히 減少, 萎縮되어 惡性化한 所見을 보였다. Ⅲ-a群 및 Ⅲ-b群에 있어 이들 變化像은 類似하였으나 出現時期는 Ⅲ-a群에 있어 훨씬 늦었다.

以上の 所見들을 綜合, 考慮할 때 肝吸蟲感染은 膽管上皮細胞에 對한 發癌刺戟이 充分치 않으며 다만 上皮細胞에 變化를 誘發, 外因의 發癌刺戟에 對한 感受性을 高調시켜 惡性化를 促進시키는 所謂 促進的 要因으로 作用함을 알 수 있었다.

## 參 考 文 獻

- 1) Hoespli R : *Histological changes in the liver of of Chinese infested with Clonorchis sinensis*. *Chinese Med J* 1988 : 47 : 1125-1141
- 2) Hou PC : *The pathology of Clonorchis sinensis infestation of the liver*. *J Path Bact* 1955 : 70 : 53-64
- 3) 金勇一·梁德鎬·張起呂 : 韓國에 있어 肝吸蟲症과 原發性 肝癌과의 相關關係. *서울의대잡지* 1974 : 5(3) : 247-255
- 4) 민흥기·소진탁 : 原發性 肝癌 患者에 있어서의 肝吸蟲感染의 疫學的 調査. *梨花醫大誌* 1980 : 3(4) : 163-167
- 5) Min HK : *The relationship between Clonorchis sinensis infection and cholangiocarcinoma*. *Yonsei Rept Trop Med* 1984 : 16(1) : 1-21
- 6) 閔弘基·韓雲燮 : 肝吸蟲症의 肝癌 誘發 可能性에 關한 研究. *梨花醫大誌* 1983 : 6(3) : 139-148
- 7) 閔弘基·韓雲燮 : 肝吸蟲感染 마우스의 膽管系 早期變化. *梨花醫大誌* 1984 : 7(2) : 63-68
- 8) 閔弘基·韓雲燮 : 肝吸蟲感染 白鼠膽管의 病理組織學的 變化. *梨花醫大誌* 1985 : 8(2) : 111-115
- 9) Min HK and Soh CT : *The effect of a carcinogen, dimethylnitrosamine, in cholangiocarcinogenesis in the albino rats experimentally infected with Clonorchis sinensis metacercariae*. *Yonsei Rept Trop Med* 1986 : 17(1) : 1-10
- 10) Iida H : *Experimental study of the effects of Clonorchis sinensis infection on induction of cholangiocarcinoma in Syrian golden hamsters administered 0.03 % N-2-fluorenylacamide(FAA)*. *Jpn J Parasitol* 1985 : 34(1) : 7-16
- 11) Chou ST and Gibson JB : *The histochemistry of biliary mucins and the changes caused by infestation with Clonorchis sinensis*. *J Pathol* 1970 : 101 : 185-197
- 12) Hou PC : *Primary carcinoma of bile duct of the liver of cat infested with Clonorchis sinensis*. *J Path Bact* 1964 : 87 : 239-244
- 13) Hou PC : *Hepatic clonorchiasis and carcinoma of the bile duct in a dog*. *J Path Bact* 1965 : 89 : 365-367
- 14) Attwood HD and Chou ST : *The longevity of Clonorchis sinensis*. *Pathology* 1978 : 10 : 153-156
- 15) Kinoshita R : *Researches on the carcinogenesis of the various chemical substances*. *Gann* 1936 : 30 : 423-426
- 16) Orr JW : *The histology of the rat's liver during the cause of carcinogenesis by butter yellow (p-dimethylaminoazobenzene)*. *J Path Bact* 1940 : 50 : 393-408
- 17) Richardson HL and Nachtnebel EB : *Study of liver tumor development and histologic changes in other organs in rats fed azo dye*. *Cancer Res* 1951 : 11 : 298-403
- 18) Miller JA, Miller EC and Finger GC : *Further studies on the carcinogenicity of dyes related to 4-dimethylaminoazobenzene. The requirement for an unsubstituted 2-position*. *Cancer Res* 1957 : 17 : 387-398
- 19) Reddy PK, Buchmann JR and Chomet B : *Cholangiocarcinomas induced by feeding 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene to rats*. *Am J path* 1977 : 87 : 189-204
- 20) Shigefuku T : *An experimental study of the relation of changes in the liver caused parasites and the development of cancer of the liver*. *Jikken Igaku Z* 1943 : 27 : 356-365
- 21) 閔弘基·鄭慶淑 : 肝吸蟲症의 肝癌 誘發 可能性에 對한 發癌物質 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene의 影響. *韓國生活科學研究院 論叢* 1986 : 37 : 195-204
- 22) Goldblatt LA : *Introduction ; aflatoxin*. *Academic Press New York* 1969 : 1-7
- 23) 李寬寧·崔彥浩·李瑞來 : 國內에서 分離된 *Aspergillus flavus* 菌株에 依한 aflatoxin의 生成. *韓國生化학회지* 1975 : 8(1) : 1-9
- 24) 金容華·皇甫丁淑·李瑞來 : 몇가지 韓國食品중 Aflatoxin의 檢出. *한국식품과학회지* 1977 : 9(1) : 73-81
- 25) 吳有珍·李雄洙 : 輸入飼料中 Aflatoxin의 檢出. *忠北大 論文集* 1980 : 2 : 29-301
- 26) 姜鎬祚·姜正夫 : 國內市販飼料에 對한 衛生學的研究 2報. *곰팡이 및 Aflatoxin의 汚染狀態*. *韓國獸醫公衆保健學會誌* 1982 : 6(2) : 95-103

- 27) 朴鍾鳴 · 韓壽南 : 飼料中の 아플라톡신 B<sub>1</sub>의 測定에 관한 研究. 서울大學校獸醫大論文集 1984 : 9 (1) : 27-40
- 28) Newberne PM : *Carcinogenicity of aflatoxin-contaminated peanut meal : in mycotoxins in foodstuffs*, Wogan GN(ed). Cambridge Mass MIT Press 1965 : 187-208
- 29) Svoboda D, Grady HJ and Higginson J : *Aflatoxin B<sub>1</sub> injury in rat and monkey livers*. Am J Pathol 1966 : 49 : 1023-1038
- 30) Newberne PM and Butler WH : *Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals : a review*. Cancer Res 1969 : 29 : 236-250
- 31) 정경숙 · 민홍기 · 전계식 : 간흡충감염 마우스에 있어 담관상피세포의 병리조직학적 변화에 대한 Aflatoxin B<sub>1</sub>의 영향. 梨花醫大誌 1987 : 10(2) : 69-81
- 32) Johannessen JV : *Electron microscopy in human medicine, Vol 8 : the liver, the gallbladder and biliary ducts*. McGraw-Hill Inc 1979 : pp271
- 33) Tormey JM and Diamond JM : *The ultrastructural route of fluid transport in rabbit gallbladder*. J Gen Physiol 1967 : 50 : 2031-2060
- 34) Lee HL : *Personal communication*
- 35) Ma MH and Webber AJ : *Fine structure of liver tumors induced in the rat by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene*. Cancer Res 1966 : 26 : 935-946
- 36) Ghardially FN : *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. Butter-Worths Md(ed.) London 1982 : 46
- 37) Swann PF and Magee PN : *Nitrosamins-induced carcinogenesis : the alkylation of nucleic acids of the rats by N-methyl-N-nitrosourea, dimethylnitrosamine, dimethylsulphate and methylmethanesulphonate*. Biochem J 1968 : 110 : 39-47
- 38) Craddock VM : *Liver carcinomas induced in rats by single administration of dimethylnitrosamine after partial hepatectomy*. J Natl Cancer Inst 1981 : 47 : 899-907
- 39) Thamavit W, Bhamarapavati 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
- 40) Craddock VM : *Induction of liver tumors in rats by a single treatment with nitrosocompounds given after partial hepatectomy*. Nature 1973 : 245 : 386-388
- 41) Morson BC, Sobin LH, Grundmann E, Johasen A, Nagayo T and Serck-Hassen A : *Precancerous conditions and epithelial dysplasia in the stomach*. J Clin Pathol 1980 : 33 : 711-721
- 42) Kim YI : *Liver carcinoma and liver fluke infection*. Arzneimittel Forschung 1984 : 34(2) : 1121-1126

## EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1. Electron microscopic findings of normal epithelial cells of bile ductule(BD). Cells are solidly attached to the adjacent cells, partly by interdigitations and partly by desmosomes(Ds). In general, cells have an ovoidal nucleus(N), and nucleoli are small in size, Scanty mitochondria, endoplasmic reticulum, Golgy bodies, and lysosome-like dense bodies are visible in the cytoplasm ( $\times 10,000$ ).
- Fig. 2. Most epithelial cells of *Clonorchis*-infected rats(group I) at the 4th week are columnar in shape. The appearance of elaborate interwoven folds(IF) of lateral cytoplasm forming labyrinths of interconnected intercellular space is characteristic. Nucleus(N) appears to be elongated and irregular in shape and shows slightly enlarged nucleoli along the inner membrane( $\times 10,000$ ).
- Fig. 3. In epithelial cells of the rats in group I at the 12th week, extensive proliferation and swelling of RER are prominent. In some cells two nucleoli are visible. Somewhat greater variety in nuclear or nucleolar shape, increase of electron dense granules along the inner membrane of nuclei and separation of nuclei from the cytoplasmic component( $\uparrow$ ) are demonstrated( $\times 6,000$ ).
- Fig. 4. Epithelial cells in 0.03% 3'-MeDAB-treated rats(group II-a) at the 4th week are cuboidal in shape. Marked enlargement of nucleus(N), increase of nucleolar margination and dispersion of chromatin granules are noted. Slight proliferation of mitochondria and RER are revealed in the cytoplasm( $\times 8,000$ ).
- Fig. 5. The nuclear and cytoplasmic alterations of epithelial cells in 1.0ppm aflatoxin B<sub>1</sub>-treated rats (group II-b) at the 4th week are essentially similar to those(Fig. 4) in group II-a( $\times 10,000$ ).
- Fig. 6. Most cells in group II-b at the 28th week become flattened cuboidal in shape. Nucleus(N) is elongated in general( $\times 10,000$ ). Similar alterations are revealed 8 weeks later in group II-a.
- Fig. 7. In epithelial cells of the rats treated with *Clonorchis* plus 0.03% 3'-MeDAB(group III-a) at the 4th week, separation of interdigitation forming a labyrinth, enlargement of nucleus(N), dispersion of chromatin granules, nucleolar margination, slight proliferation and dilatation of mitochondria and RER are seen( $\times 6,000$ ). Very similar alterations are also demonstrated in the rats in group III-b.
- Fig. 8. In group III-a at the 20th week, single layered or stratified cuboidal epithelial cells show greatly enlarged and elongated nuclei(N), while in some cells nucleus is absent. In most cells partially sequestered mitochondria(Mit) showing bleb-like evaginations which lacked cristae and dense matrix are found( $\times 10,000$ ). In group III-b, those changes are noted 8 weeks earlier.
- Fig. 9. In group III-a at the 40th week, nuclei are varying in shape and show numerous and irregularly angled electron dense granules. Separation of nuclei from the cytoplasmic component( $\uparrow$ ) is revealed. The cytoplasmic organelles and microvilli are considerably poor. Some neoplastic epithelial cells invaded the surrounding tissue are noted( $\times 8,000$ ).
- Fig. 10. In group III-b, epithelial cells show very similar alterations to those(Fig. 9) in group III-a so earlier at the 28th week( $\times 4,000$ ).







