

Fischer 344 랫드의 혀 유두종(Lingual papilloma) 자연발생 예

강 부 현·임 창 형*
한국화학연구소 안전성연구센터
서울대학교 수의과대학*
(1992년 7월 20일 접수)

Spontaneous lingual papillomas in Fischer 344 rats

Boo-hyun Kang, Chang-hyeong Lim*
Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology
College of Veterinary Medicine, Seoul National University*
(Received June 20, 1992)

Abstract : Two cases of lingual masses were observed among 500 Fischer 344(F344) rats which were used as control and treated animals in a 2 year carcinogenicity study in Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology. The masses grossly appeared as tan, pedunculated, fungiform on the dorsal aspect of the base of the tongues. They were approximately $1.5 \times 1.2 \times 0.3$ cm in size. The microscopic features consisted of acanthosis, hyperkeratosis, papillary projection with connective tissue cores and multifocal chronic active inflammation with hair shafts. The results observed support the epigenetic mechanism of tumorigenesis which is caused by physical stimuli of foreign bodies. Both of the masses were diagnosed as papillomas with the incidence rate of 0.4% (1/250) in each sex on the basis of the gross and microscopic features.

Key words : Fischer 344 rat, papilloma, spontaneous, tongue, histopathology.

서 론

자연적으로 발생하는 구강유두종(oral papilloma)은 어린개와 소에서 주로 나이든 말이나 개에서 드물게 발생한다.¹ 이 종양은 실험동물중 랫드²⁻⁵와 마우스^{6,7}에서 보고된 바 있으며 비교적 낮은 발생율을 나타내었다.

개에 있어서 구강유두종은 다발적이고 구강점막, 혀, 구개, 인두 및 후두개의 상피로부터 발생한다.¹ 이 종양은 육안적으로 한계가 명료하며 납작하고 결표면이 매끈한 수 mm정도 크기의 결절이거나 회색조의 줄기(peduncle)를 갖는 배추꽃 모양(cauliflower-like appearance)을 나타낸다. 조직학적으로는 초기의 단순한 상피의 과다형성(hyperplasia)으로 시작하여 시간이 흐름에 따

라 각질층(cornified layer)과 함께 상피층이 증가한다. 기저층(basal layer)의 세포들은 크기가 정상이나 유극층(prickle cell layer)의 세포들은 크기가 증가하고 핵들은 호염기성으로 짙게 나타난다. 상피가 증식함에 따라 표면은 추벽을 형성하고 그 추벽 중심에는 결합조직이 위치한다.

구강내의 종양중 혀에 발생하는 유두종(papilloma)은 보고를 거의 찾아보기 어려우나 악성종양인 편평상피세포암(squamous cell carcinoma)은 개⁸⁻¹⁰, 고양이^{8,5}, 소⁹, 말^{9,11,12}, 양¹³, 랫드^{2,3,14}, 마우스^{2,14}등 여러 동물에서 보고되었으며 이들중 고양이에서 그 발생율이 가장 높았다.¹⁵

랫드 혀의 자연발생 편평상피세포암은 2년동안 실시된 먹이시험(feed test)에 공시된 Sprague-Dawley(SD)

랫드와 F344 랫드에서 관찰되었으며 그 발생율은 SD랫드가 암컷 1.2~2.8%, 수컷 1.2~3.2%였으며, F344 랫드가 암컷 0.8~2.0%, 수컷 0.8%를 나타내었다.¹⁴ 한편 마우스의 입술에 4-nitroquinolone N-oxide를 propylene glycol에 녹인 0.25%용액을 여러차례 도포함으로써 180일 이상 생존한 마우스의 입술과 혀에 편평상피세포암을 유발시켰는데 그 발생율은 47%(16/34)였다.¹⁶ 또한 마우스의 아랫입술에 철사로 상처를 내고 같은 시험물질을 도포하였을 때에는 180일 이상 생존한 마우스의 구강상피세포암 발생율이 77.2%(61/79)로 높게 나타났다. 이 시험성적을 종합해볼 때 혀에 나타난 편평상피세포암의 발생율은 4.5%(5/111)였고 그중 설근에 위치한 것은 1.8%(2/111)였다.

랫드 혀의 유도종은 국내외로 보고예가 거의 없었으므로 본 예를 보고하여 관련 연구자들에게 참고자료가 되게 하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물 : 한국화학연구소 안전성연구센터의 barrier system에서 사육된 SPF F344 랫드 암·수 각각 250마리로 24개월 만성/발암성 병용시험에 이용된 동물을 이용하였다.

사육환경 : 공시동물은 철망사육상자(200mm×220mm×410mm)에서 2~3마리씩 배치하여 온도 20~26°C, 상대습도 45~65%, 환기횟수 13~18회/시간, 조도 150~300Lux에서 하루 12시간(7:00~19:00) 조명하는 조건에서 사육하였다.

사료 및 음수 : 마우스, 랫드용 분말사료(제일사료주식회사)를 방사선 멸균(2.5Mrad)하여 자유섭취하게 하였으며 수도물을 여과한후 자외선 유수멸균기(Dynamics, M600, USA)를 통하여 멸균시켜 자유섭취하게 하였다.

체중측정 : 체중은 6주령부터 19주령까지는 매주 1회 측정하고 22주령 이후부터는 4주간격으로 측정하였으며, 혀에 종괴가 관찰된 랫드의 체중과 계획도살시까지 생존한 각 소속군 랫드의 평균체중을 8주 단위로 각각 비교하였다.

병리학적 검사 : 육안적 소견이 관찰된 랫드의 혀를 10%중성완충 포르말린용액에 고정하여 일반적 조직처리 순서에 따라 처리한후 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

2년동안 수행된 발암성시험에 사용된 F344 랫드 암·

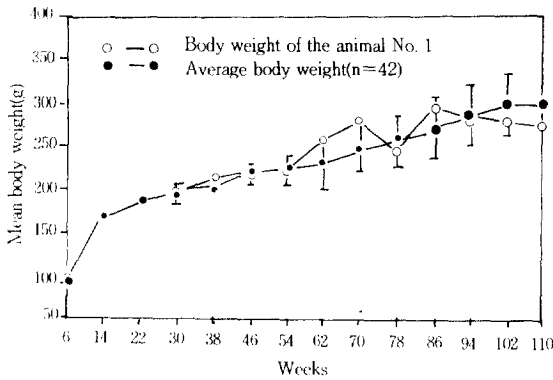
수 각각 250마리를 부검한 결과 2마리의 혀의 배측 설근 부위에서 종괴가 관찰되었다. 종괴 1번은 암컷 대조군 랫드(랫드 1번)에서, 종괴 2번은 수컷 중간농도 투여군 랫드(랫드 2번)에서 나타났다.

체중변화 : 종괴가 관찰된 두 랫드의 체중변화 경향은 비교군의 평균치와 별 차이를 보이지 않았다.(Text-figs 1, 2)

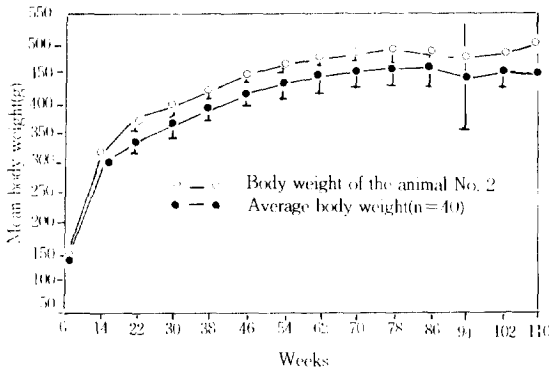
육안적 소견 : 종괴 1번은 크기가 약 1.5×1.2×0.3cm였고 모양은 납작하였다(Figs 1, 2). 혀의 표면위로 융기하여 표면과 종괴사이에 줄기(peduncle)로 연결되어 있었으며 부위에 따라 줄기의 폭은 달랐으나 대체로 상당히 넓직한 편이었다. 종괴의 표면은 옅은 황갈색조를 띠었고 편평한 편이었으나 많은 작은 돌기들로 인해 거칠게 느껴졌다. 이 돌기들 사이사이에 피모가 박혀있는 것도 자주 관찰되었다. 종괴의 횡단면은 유백색이었고 경도가 단단한 버섯모양의 구조가 혀의 정상조직위로 융기하여 넓게 덮고 있는 모양이 관찰되었다.

종괴 2번은 직경이 0.5cm가량이었고 둥근 버섯의 갓모양을 나타내었으며 혀의 정상조직과 종괴사이에 버섯처럼 뚜렷한 줄기로 연결되어 있었다(Fig 3). 이런 버섯모양은 횡단면에서 더욱 명료하게 나타났다. 다른 육안적 소견은 종괴 1번과 유사하였으나 피모가 종괴표면의 돌기 사이에서 아주 드물게 관찰된 점이 달랐다.

병리조직학적 소견 : 종괴 1번에서는 정상조직과 연결되는 경의 폭이 부위에 따라 달랐다. 종괴의 줄기를 중심으로 하여 종양조직이 버섯모양으로 갓을 형성하였다(Fig 4). 종양조직의 점막상피는 유극세포층이 과형성(acanthosis)되고 각질층(hyperkeratosis)을 동반하여 주벽(fold)을 형성하였다(Fig 5). 점막상피층은 세포가 대략 15~20층에 이르는 두께를 나타냈다(Fig 6). 기저층의 세포들은 대체로 잘 정렬되어 점막하직과 명료하게 경계를 이루었고 핵분열상을 자주 보였다. 주벽과 추벽사이의 공간에서는 여러 모양으로 잘린 피모, 피사된 상피세포와 염증세포, 주로 호중구가 충만해 있는 것이 자주 관찰되었다. 이러한 부위의 상피세포들은 피사 내지 변성을 일으켜 박리되어 세포층이 얇아졌고, 피모가 종종 점막하직을 관통하여 점막하직을 부분적으로 단절하였다. 이 부위에도 염증세포, 주로 호중구가 피모 주변에 집적되어 있었다(Fig 7). 이러한 염증 주변 점막하직에는 호중구, 단핵구, 림프구, 대식세포 등의 염증세포들이 침윤하고, 섬유세포와 섬유아세포의 수적 증가를 볼 수 있었다(Fig 8). 피모와 함께 호중구가 집적해 있는 부위의 변두리나 피모와 점막하직이 접해있는 부위에는 유상피세포(epitheloid cell), 대식세포(macrophages), 다핵거세포(multinucleated giant cell)



Text-fig 1. Comparison of the body weight of the rat with the lingual tumor No. 1 with the mean body weight of the other female rats without oral tumor in the control group.



Text-fig 2. Comparison of the body weight of the rat with the lingual tumor No. 2 with the mean body weight of the other male rats without oral tumor in the treated group.

등이 출현하여 이물질 반응(foreign body reaction)을 보이고 있었다. 유극층(prickle cell layer)의 외층의 어떤 부위에서는 세포들이 수종성 변성(hydronic degeneration)을 일으키고 심한 경우에는 균질의 호산성 물질이 차 있는 낭포양의 공간도 관찰되었다. 이러한 침윤부위에는 호중구가 다수 침윤되어 있었다.

종괴 2번은 추벽과 추벽사이의 공간에서 피모로 인하여 기원 염증반응을 거의 관찰할 수 없었으나 점막하직내에서 피모를 둘러싼 경미한 육아종(granuloma)이 관찰된 뿐이었다. 그밖의 변화는 종괴 1번과 유사하였다.

고 찰

본 보고서의 2예의 종양은 각각 음성 대조군과 중간 농도 투여군에서 관찰되었다는 면에서 서로 다르지만 그 발생율이 지극히 낮고 시험물질 투여로 인한 용량상

관성이나 이형성 변화(atypia)가 없는 점으로 미루어 보아 자연적으로 발생하였다고 생각된다. 두 종양조직은 육안적, 조직학적으로 정도의 차이는 있으나 유사소견을 보였고 그 유래가 혀의 점막상피임을 알 수 있었다. 점막상피로부터 유래하는 증식성변화로써 본 종양의 소견과 감별할 필요가 있는 것은 상피세포의 과형성(hyperplasia), 유두종(papilloma)과 편평상피세포암(squamous cell carcinoma)이다.¹⁷ 상피세포의 과형성은 편평상피가 두꺼워지고 넓은 판(plaque)같이 용기하거나 단연의 유두돌기를 형성하기도 하며 각질화가 자주 나타난다. 세포의 크기, 잘된 분화상태(well differentiated appearance)와 추벽중심의 간질조직이 현저하게 형성되지 않은 점들이 유두종과 감별할 수 있는 소견들이다. 유두종은 중심의 섬유혈관성 줄기(fibro-vascular stalk)로부터 뻗어나가는 손가락 모양의 돌기들이 종종 심하게 각질화된 다층의 편평상피로 둘러싸여 있는 구조로 특징지어 진다. 일반적으로 상피세포 과형성보다 크기가 크나 세포는 잘 분화되었고 균질한 모양을 나타내며 종양세포가 기저막을 뚫고 침입(invasion)하는 소견은 관찰되지 않는다.

편평상피세포암은 유두종과 유사한 소견인 상피세포의 과형성, 각질화 등을 보이지만 상피세포의 이형성 변화(atypia), 세포의 다형성(pleomorphism), 기저층의 붕괴(disorganization)와 인접조직으로의 침입(invasion)이 특징적인 감별소견이다. 본 보고서의 두 종양은 육안적, 조직학적 소견을 바탕으로 하여 형태학적으로 유두종으로 진단하였다.

랫드 혀의 종양중 유두종의 발생에는 Keyes et al¹¹이 SD랫드를 사용하여 실시한 2년 먹이 시험에서 발생율이 암컷에서만 0.7%(1/150)가 나타났고, 수컷에서는 나타나지 않았지만 그 발생율이 본 보고서와 유사하였다.

편평상피세포암은 Kociba et al¹²과 Keyes et al¹³이 SD랫드를 이용하여 실시한 2년 먹이 시험에서 보고된 바 있는데 그 발생율이 암컷 0.4%(1/236), 수컷 2.5%(6/236)와 암컷 0.7%(1/148), 수컷 2.1%(3/150)로 각각 나타났다. 또한 F344 랫드를 사용하여 실시한 2년 먹이 시험에서는 암컷 0.8~2%, 수컷 0.8%의 발생율을 보였다.¹⁴ 본 보고서의 혀 유두종의 발생율인 암·수 각각 0.4%(1/250)와 비교해 볼 때 종양의 종류는 다르지만 동일상피세포로부터 유래한 종양으로서 본 보고서의 발생율이 다소 낮은 편에 속하였다.

한편 랫드의 구강상피성 종양으로서 혀 이외의 위치나 구체적인 위치가 언급되지 않은 종양은 SD랫드를 사용한 한 시험에서 12~38개월령을 대상으로 분석한

결과 구개 (palate)의 유두종인 0.9% (1/113), 편평상피암이 1.4% (1/72)의 발생율을 나타내었다.⁴ 또한 SD랫드를 사용한 2년 먹이 시험에서 구강유두종이 수컷 0.4% (1/236), 경구개의 편평상피세포암이 수컷 1.2% (3/236)의 발생율을², F344 랫드를 33개월가량 사육하여 실시한 시험에서 구강 유두종이 암컷 0.6% (3/529), 수컷 0.2% (1/529), 구강 편평상피 세포암이 암컷 0.4% (2/529), 수컷 1.1% (6/529)의 발생율을 보였다.⁵

혀의 종양을 가지고 있는 랫드는 임상증상으로서 대체로 체중감소를 나타내었고 이것은 사료를 정상적으로 삼킬 수 없어서인 것으로 풀이되고 있는데¹⁴, 본 보고서에서는 두 예 모두 같은 군의 랫드의 체중평균치와 각각 비교하여 별차이를 나타내지 않아 본 예에서 관찰된 종양의 크기는 사료섭취에 별 영향을 주지 못했던 것으로 사료된다. 혀의 종양이 악성종양이라면 종양조직이 인접조직으로 침입함으로써 혀의 기능에 장애를 일으켜 사료섭취에 영향을 미칠 수 있으리라 생각된다.

개나 집토끼의 구강 유두종은 papovavirus에 의해 야기되고 전염성이 있다고 알려져 있고, 고양이 혀의 편평상피세포암은 고양이가 혀로 피모를 핥을 때 발암물질이 섭취됨으로써 야기될 수 있다고 한다.¹ 그러나 랫드 혀의 편평상피암은 바이러스나 발암물질이 아닌 물리적 자극으로 인한 후성적 기전(epigenetic mechanism)에 의해 야기된다고 Kociba et al¹⁴은 제안했다. 그의 연구에 의하면 유벽유두(vallate papilla)부위에 형성된 병변주위의 반월형 구(semilunar groove), 점막하의 선조직이나 선조직의 배출관(excretory duct)내에서 모간

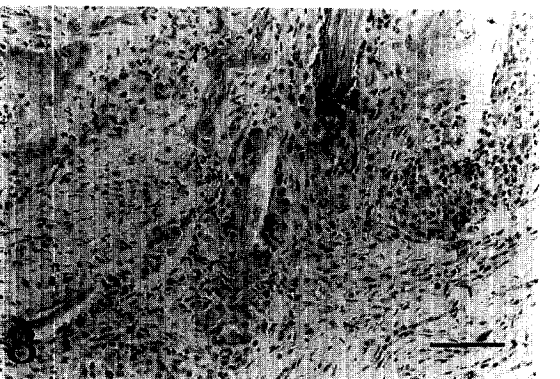
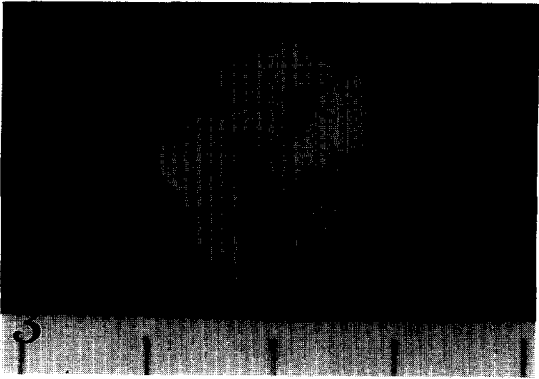
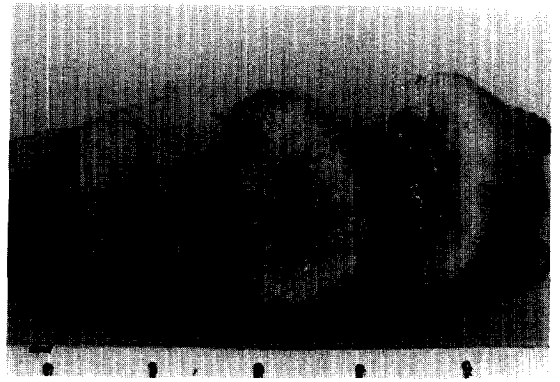
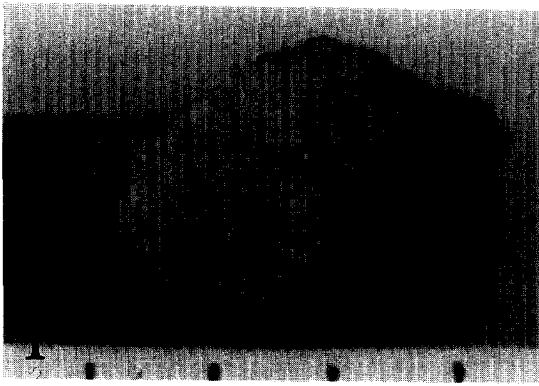
(hair shaft)과 사료 등의 이물질(foreign body)이 자주 관찰되었다. 이러한 점이 이물질의 자극으로 인한 후성적 기전을 뒷받침해 주고 있다. 본 보고서에도 혀의 배측 설근부위에 종괴가 형성되었고, 종양조직이나 인접 조직내에서 정도차이는 있으나 두 예 모두 모간으로 인한 이물질 반응(foreign body reaction)을 관찰할 수 있었다. 이러한 점은 혀종양의 빈발부위가 유벽유두가 위치한 혀의 배측 설근부위이고 발생은 후성적 기전에 의한다는 제안을 지지해 준다.

결 론

1. 한국화학연구소 안전성연구센터에서 수행한 2년 만성/발암성 병용시험에 사용된 F344 랫드 암·수 250마리씩 도합 500마리에서 혀의 유두종이 암·수 각각 1예씩 (0.4%) 발생하였다.
2. 두 예의 종양은 발생율이 낮은 점, 시험물질 상관이 없는 점과 조직학적으로 이형성 변화가 없었다는 점에서 시험물질의 투여와 관계없이 자연적으로 발생했다고 사료된다.
3. 두 예의 종양은 체중감소에 별 영향을 미치지 않았다.
4. 조직학적 소견은 모간과 같은 이물질의 자극으로 인하여 종양이 발생한다는 후성적 기전을 지지해 주었다.
5. 두 예의 종양은 육안적 및 조직학적 소견을 바탕으로 하여 형태적으로 혀의 유두종으로 진단하였다.

Legends for Figures

- Fig 1. Tongue ; 2-year old F344 rat, tumor mass No.1. A fungiform squamous cell papilloma is located on the dorsal posterior aspect of the base of the tongue. H-E, Scale=0.5cm.
- Fig 2. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.1. Cross section with papilloma. H-E, Scale=0.5cm.
- Fig 3. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.2. Cross section with a cauliflower-like or fungiform papilloma. H-E, Scale=0.5cm.
- Fig 4. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.2. Papilloma showing a cauliflower-like or fungiform structure. H-E, Bar=1.4mm.
- Fig 5. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.1. Squamous cell papilloma showing prominent finger-like papillae with acanthosis and hyperkeratosis. Note well arranged basal cell layer of the epithelium. H-E. Bar =350 μm.
- Fig 6. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.1. Squamous cell papilloma depicting inflammatory reaction to hair shafts in the semilunar groove and submucosa. H-E, Bar=180 μm.
- Fig 7. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.1. Higher magnification of an area of Fig. 5. Note suppurative inflammatory reaction to hair shafts. The exudate is surrounded by the thin, remaining epithelium. A long section of hair shaft is present in the submucosa. H-E, Bar=70 μm.
- Fig 8. Tongue ; 2-year-old F344 rat, tumor mass No.1. Higher magnification of an area of Fig. 5. Note granulomatous reaction to hair shafts in the submucosa. Epithelial cells and multinucleated giant cells are present around hair shafts. H-E, Bar=70 μm.



참 고 문 헌

1. Head KW. 8. Tumors of the Alimentary Tract. In : Moulton JE, ed : *Tumors in Domestic Animals* 3rd ed. Berkeley and Los Angeles University of California press 1990 ; 347~353.
2. Kociba RJ, Keyes DJ, Lisowe RW, et al. : Results of a two-year chronic toxicity and oncogenic study of rats ingesting diets containing 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid(2, 4, 5-T). *Fd Cosmet Toxicol* 1978 ; 17 : 205~221.
3. Keyes DG, Kociba RJ, Schwetz RW, et al. : Results of a two year toxicity and oncogenic study of rats ingesting diets containing dibromoneopentyl glycol (FR-1138). *J Combustion Toxicol* 1980 ; 7 : 77~98.
4. Anver MR, Cohen BJ, Lattuada CP, et al. : Age-associated lesions in barrier-reared male Sprague-Dawley rats : a comparison between Hap : (SD) and CrI : COBS^(R) CD^(R) (SD) stocks. *Experimental Aging Research* 1982 ; 8 : 3~24.
5. Solleveld H, Haseman JK, McConnell EE. : Natural history of body weight gain, survival and neoplasia in the F344 rat. *JNCI* 1984 ; 72 : 929~940.
6. Rowlatt C, Chesterman FC, Sheriff MU. : Lifespan, age changes and tumor incidence in an aging C₅₇BL mouse colony. *Lab Ani* 1976 ; 10 : 419~442.
7. Maita K, Hirano M, Harada T, et al. : Mortality, major cause of moribundity and spontaneous tumors in CD-1 mice. *Toxicol Pathol* 1988 ; 16(3) : 340~349.
8. Brodey RS. : The biological behaviour of canine oral and pharyngeal neoplasms. *J Small Animal Pract* 1970 ; 11 : 45~53.
9. Dom CR, Priester WA. : Epidemiologic analysis of oral and pharyngeal cancer in dogs, cats, horses and cattle. *JAVMA* 1976 ; 169 : 1202~1206.
10. Todoroff RJ, Brodey RS. : Oral and pharyngeal neoplasia in the dog : A retrospective survey of 361 cases. *JAVMA* 1979 ; 175 : 567~571.
11. Henson WR. : Carcinoma of the tongue in a horse. *JAVMA* 1939 ; 94 : 124.
12. Baker JR, Leyland A. : Historical survey of tumors of the horse, with particular reference to those of the skin. *Vet Rec* 1975 ; 96 : 419~422.
13. McCrea CT, Head KW. : Sheep tumors in north-east Yorkshire. I. Prevalence on seven moorland farms. *Brit Vet J* 1978 ; 134 : 454~461.
14. Kociba RJ, Keyes DG. : The gastrointestinal tract. 1. Oral cavity. Squamous cell carcinoma, tongue, rat. In : Jones TC, Mohr U, Hunt RD, ed. *Monographs on pathology of laboratory animals*. vol 3. Digestive system. 1st ed. Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 1985 ; 255~259.
15. Gorlin RJ, Peterson W. : Oral disease in man and animals. *Arch Dermat* 1967 ; 96 : 390~403.
16. Fusino H, Chino T, Imai T. : Experimental production of labial and lingual carcinoma by local application of 4-nitroquinoline N-oxide. *JNCI* 1965 ; 35 : 907~918.
17. Brown HR, Hardisty JF. : 3. Oral cavity, esophagus and stomach. In : Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, et al, ed. *Pathology of the Fischer rat*. 1st ed. San Diego : Academic Press Inc. 1990 ; 18.