

Diethylnitrosamine을 투여한 rat 간장의 tumorigenesis에 관하여

3. 간장조직의 전자현미경적 관찰

곽수동 · 김종섭 · 고필옥 · 양재훈 · 서득록

경상대학교 수의과대학 동물의학연구소
(1999년 4월 26일 접수)

Diethylnitrosamine-induced hepatic tumorigenesis in rats

3. Electron microscopic observation of liver tissue

Soo-dong Kwak, Chong-sup Kim, Phil-ok Koh, Je-hoon Yang, Deuk-lok Seo

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University
(Received Apr 26, 1999)

Abstract : The study was designated to investigate the electron microscopic findings following diethylnitrosamine (DEN) treatment in rats. Forty four male (Sprague Dawley) rats were continuously given water containing 0.01% DEN for 13 weeks and livers of five rats with more tumor lesions at 16 and 17 weeks after initial treatment were used as EM materials.

In transmission electron microscopic findings, most small-sized hepatocytes were active cells containing large amount of organelles, but light (pale staining) hepatocytes among small-sized hepatocytes were injured cells containing disorganized organelles. Tumor cells among small-sized hepatocytes were irregularly arranged and have pleomorphic nuclei containing electron dense chromatin but the organelles in cytoplasm were swelled.

Large-sized hepatocytes were active cells with condensed chromatin but the cytoplasm of these cells were pale due to be injured and dilated organelles. Dark hepatocytes were apoptotic cells with homogenous pyknotic nuclei and cytoplasm, and the cytoplasm of these cells contained dilated smooth endoplasmic reticulum (sER) but these sER were non-vesiculated. Cholangiocarcinoma cells were crowded and were pale by far less number of organelles in cytoplasm and nuclei.

In scanning electron microscopic findings, the lumens of portal veins, bile canaliculi, bile ductules, bile ducts and sinusoids were dilated and have irregular folded inner surface by protruded parenchyma.

Key words : diethylnitrosamine, tumorigenesis, TEM, SEM, liver, rat.

이 연구는 1996년도 한국과학재단의 특정기초연구과제(96-04-02-11-01-3)에 의해 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Soo-dong Kwak, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Republic of Korea.

서 론

종양이 많이 발생하는 기관은 주위의 환경 개체의 소인에 따라 차이가 있으나 일반적으로 간, 폐, 소화관 및 생식기관 등에서 많이 발생되며 특히 간은 위장관에서 섭취하는 모든 물질의 저장, 분해, 해독 등을 하며 복잡한 기능에 관련하기 때문에 종양이 가장 많이 발생하는 기관이다¹⁻⁸. 발암물질(carcinogen)중에 1,2-diethylnitrosamine (DEN)은 유전자 독성물질로 다른 기관에는 거의 영향이 없이 간장에만 종양을 발생시키므로 실험적 간암유발물질로 많이 이용하고 있다⁷⁻¹⁰.

저자 등은 DEN을 rat에 장기간 투여하여 간장에 암을 발생시켜 간장의 육안적 소견, 종양세포의 apoptosis와 증식에 관한 조직학적 소견, 항암제 cyclophosphamide가 간암에 미치는 조직학적 영향 등에 대하여 보고한 바 있다¹¹⁻¹³. 저자 등은 또한 DEN을 투여한 랫드의 간에서 소형화 또는 대형화한 간세포가 나타났고 일부 간세포들은 암세포화가 발달하기 시작하였으며, 담관암이 형성되었고 Disse강과 담관 및 담세관은 확대되었고 간세포의 미세용모는 짧고 수가 적어졌었다고 보고한 바 있다¹².

그러나 정상 또는 DEN에 의한 간장의 여러 조직학적 소견에 대하여는 조사된 바^{7,8,10,14,15}가 많은데 DEN에 의해서는 어떠한 세포들이 종양세포화하였는지에 대하여서는 명확히 제시된 바가 없이 단지 소형화, 대형화, oval cell화 간암세포 담관암세포 등으로 변형하였다고 제시하고 있으나 구체적으로 미세구조의 차이를 제시한 바가 없다^{1-3,7,8,10,16}. 더욱이 담관, 담세관, 동양혈관 등은 혈장과 간세포간의 물질교환 담즙의 분비통로로 중요한 역할을 하므로 정상소견에 대하여는 조사된 바^{1,7,8,17,18}가 많으나 간세포의 증식 종양세포화와 담관상피세포의 담관암세포화로 인한 이들 관광벽에 변화에 대하여는 조사된 바가 없다.

Ogawa *et al*⁷은 DEN을 투여한 랫드 간세포에서 과형성된 소절(hyperplastic nodules)이 형성되었으며 이들 소절은 증대된 간세포들로 구성되었다고 하였고, Jack *et al*³은 화학적 물질에 의한 간세포의 비대는 sER과 지방적, 나선체(whorls) 구조 등의 세포질내 증가로 인하여 간세포가 비대해진다고 보고한 바 있다.

본 연구는 DEN을 투여한 랫드 간조직에서 위의 광학현미경적 소견의 결과를 근거로 하여 여러 형태의 간세

포에 대하여 미세구조의 변화를 투과전자현미경적으로 관찰하고 담세관, 담관, 동양혈관 등의 벽면의 소견을 주사전자현미경적으로 관찰하였던 바를 보고코자 한다.

재료 및 방법

Sprague Dawley(삼육실험동물 연구소) 랫드 수컷 44수를 사육실내 온도 $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 상대습도, 환기, 조명 등의 조건이 구비된 사육환경에서 사육하면서 5-6주령(120-150gm)정도 되었을 때 DEN 제재인 N-nitrosodiethylamine (Sigma, USA)을 음수에 0.01% 되게 하여 무제한 자유롭게 13주간 공급하였다. 처음 투여를 시작한 후 8주째부터 17주째까지 매주별로 2-5두씩 임의로 선택하여 부검하여 병리조직학적으로 관찰하는 한편 16주째와 17주째에서 간장에 육안적으로 종양이 가장 많이 발생된 5두를 선택하여 전자현미경적 재료로 선택하였다.

투과전자현미경적 관찰은 간조직을 1-2mm³ 크기로 잘라 2.6% glutaraldehyde에 4°C에서 2시간 전고정하고 0.2 M phosphate buffer(pH 7.2)로 같은 시간 수세한 다음, 1% osmium tetroxide에 1시간동안 후고정하였다. 그리고 alcohol의 농도의 단계에 따라 탈수하고 epon 812에 포매하여 ultratome을 이용하여 70nm 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead nitrate로 염색하여 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

주사전자현미경 관찰은 절제한 간조직편을 phosphate buffered 2.5% glutaraldehyde(pH 7.4) 용액에 4°C에서 고정하여 냉장고에 보관하고 보관된 일부 조직편은 0.1M pH 7.2 sodium phosphate buffer 용액에 1시간 간격으로 3회 수세하였다가 70, 80, 90, 95% ethanol로 2시간씩 탈수하고 임계점건조기(critical point dryer, CP-5A) 내에서 건조시켰다. 건조된 조직편을 양면 테이프를 이용하여 stub에 옮기고 ion sputter coater 내에서 순금으로 100Å 두께로 표면처리하여 주사전자현미경(DS-130, 한국 ISI사)으로 가속전압 10KV 하에서 관찰하였다.

결 과

DEN을 13주간 투여하고 처음 투여시작 후 16주째와 17주째에 종양이 가장 많이 형성된 랫드 간의 광학현미경적 소견을 근거로 하여 투과전자현미경적 소견을 조사한 바 대부분의 소형 간세포들(small-sized hepatocytes,

Fig 1)은 세포질에 과립형질내세망의 발달은 적었으나 사립체는 발달되어 수가 많고 밀집되어 있었고 핵의 형태는 원형이고 핵염색질은 분산되었고 당원(glycogen)과립, 지방과립, 공포 등은 아주 적은 편이며 전반적으로 활성화한 세포의 형태를 하였다.

한편 소형 간세포들 중에 명세포화한 간세포들(light small-sized hepatocytes, Fig 2, 3)은 사립체가 종대되거나 농축되는 경우가 많았고 무과립형질내세망이 경계명확하면서 원형을 이루며 종대되었고 세포질에나 핵내는 전자밀도가 투명하거나 치밀한 포함체나 또는 나선체(whorls) 구조를 함유하는 것도 있어 소기관의 손상이 진행된 것을 알 수 있었다.

소형 간세포들 중에 암세포화한 세포들(tumor cells, Fig 4)은 크기는 작고 배열이 불규칙한 집단을 이루었고 핵은 형태가 불규칙하고 염색질이 농축되고 전자밀도가 치밀하며 세포질에는 무과립형질내세망이 종대되었다.

대형 간세포들(large-sized hepatocytes cells, Fig 5)은 핵은 염색질이 농염되고 균집되거나 분산되고 핵의 경계는 원형을 유지하며 활성화한 소견이 었으나 반대로 세포질에는 rER의 발달은 역시 미약한 편이었고 당원과과립이나 지방과립은 거의 관찰되지 않았고 sER가 종대되고 더 종대된 sER들은 소기관들의 사이에서 경계 불명확한 많은 공포화를 이루었고 사립체 등의 소기관은 경계막은 유지하면서 공포와 같이 종대되어 있었다. 이들 소견으로 인하여 세포전체가 종대되어 세포질의 전자밀도가 낮아지고 투명하게 보인 것으로 확인되었다.

농염된 간세포들(dark hepatocytes, Fig 6)은 sER는 종대되었으나 세포질에 공포화는 형성되지 않았고 미세용모는 보존되었으나 세포질과 핵이 농염되어 apoptosis가 일어나는 세포였다.

담관암세포들(cholangiocarcinoma cells, Fig 7)은 핵은 원형이며 담명하고 소포상이고 세포질은 무과립형질내세망이 종대되고 담명하고 크기는 작아 소기관의 발달이 미약하였고 세포들이 집단을 이루며 때로는 선모양의 구조를 하였다.

Ito cells은 지방적이 크기가 대소부동하고 경계가 명확하고 세포질은 간세포보다 전자밀도가 더 치밀하며 수종의 소견은 없었다.

문맥, 담소관 등과 간세포간의 담세관, 동양혈관 등을 주사현미경적으로 관찰한 바, 관광이 확대되었고, 확대된 관광에서 정상에 가까운 부위(Fig 8)는 평활한 편이

나 세포중식이 많아 과형성된 부위(Fig 9-11)는 벽면은 추벽화 또는 돌출 등으로 불규칙하게 형성되었고, 관광이 고도로 확대되고 미세용모는 짧아지고 수가 적어져 거의 관찰할 수 없었다.

고 찰

DEN 투여에 의한 랫드에서 간세포의 세포소기관의 변화에 관하여는 Lauren *et al*¹⁶은 DEN 투여 24시간째에 간세포의 피사, 48시간째에 사립체 농축과 길이의 발달 모양의 변화, 용해소체와 잔류소체의 증가, ER의 종대와 전자밀도의 치밀 등을 보고하였고, Ogawa *et al*⁹은 2주째는 sER 증가, rER, 사립체의 붕괴, 4주째는 사립체의 위축 등을 보고하였고, Jack *et al*³은 30주째는 sER가 과다 형성되었다고 하였고, Tamano *et al*¹⁰은 23주째 간암이 100% 발생하였는데 간암세포는 핵막이 불규칙하고 핵염색질이 치밀하였다고 하였다.

본 조사에서는 소기관의 발달은 소형 간세포에서 나타났고, 대형 간세포에서는 핵은 활성화한 소견이었으나 반대로 세포질은 소기관이 종대, 붕괴, 소멸 등으로 인하여 밝게 나타났고, 암세포들은 핵염색질이 농축되고 핵형태가 불규칙하였으나 세포질내 소기관들은 종대되었다. 이와같이 세포의 형태에 따라 다른 소견을 나타내었다.

세포질내 나선체(whorls) 구조의 출현에 관하여는 김등¹⁹은 cyclohexamide를 투여 12시간 후에 관찰었고, Ogawa *et al*⁹와 Feldman *et al*²은 랫드에 sod phenobarbital을 투여한 바 여러 기간에 걸쳐서 공포와 동양혈관 담세관내 수초(myelin) 형태가 많이 출현하고 sER에 의한 나선체가 가끔 출현하였고 특히 중앙형의 간세포에서 출현한다고 하였고, Jack *et al*³은 30주간 DEN 투여후 가장 현저한 변화는 나선체 구조의 형성, 지방과립과 sER의 과다생산 등으로 인해 간세포가 종대되었다고 하였고, Ogawa *et al*⁹은 나선체 구조와 유사한 수초형태는 정상적인 타종류의 세포에서 관찰되나 정상적인 간세포에서는 관찰되지 않는다고 하여 간암세포에 대하여 연관성을 제시한 바 있다.

본 조사에서는 나선체 구조는 중앙세포화 하지 않는 진행성 변화를 일으키는 일부의 세포에서도 극히 미약하게 관찰되었다.

DEN을 랫드에 투여하였을 때 미세용모의 변화에 관

하여는 Lauren *et al*¹⁶은 48시간째는 길이가 증가되었고, 2주째는 수가 감소한다고 하였고, Ogawa *et al*⁷⁻⁹은 4-6주째는 수가 많았고 4주째는 길어지거나 짧고 굵어졌다고 하여 보고자에 따라 상반된 소견을 제시한 바 있다.

본 조사에서는 위 보다 더 많이 경과된 16주와 17주째에서 조사한 바 일부에서는 길게 보존된 부위도 있었으나 대부분의 부위에서 미세용모는 짧아지거나 소실되었다.

당원과립의 출현에 관하여는 김 등¹⁹은 정상간세포에서는 산재해 있다고 하였고, Lauren *et al*¹⁶은 DEN 투여 48시간내에 당원과립이 감소하며 초기에 축적된 것은 차차 지방적으로 변화한다고 하였고, Jack *et al*³은 30주간 투여후 지방적이 증가되었다고 하였다. 본 조사에서 16주와 17주째는 당원과립이나 지방과립이 거의 관찰되지 않았다.

농염된 세포(dark cell)의 출현에 관하여는 Chadially²⁰은 정상 또는 암조직 모두에서 나타나므로 진단적 가치는 없고 형태가 납작하게 수축되었기 때문에 켜기세포(peg cells)이라고도 하며 불활화한 세포(inactive cells) 또는 변성하거나 변성된 세포라고 하였다.

본 조사에서는 담세포 주위의 소수의 간세포에서 관찰되었는데 미세용모가 보존되고 있는 것으로 보아 변성되기 전의 불활화하고 apoptosis가 일어나는 간세포로 간주되었다.

담세포와 동양혈관과 Disse강, 세정맥에 관하여는 Motta *et al*¹⁷는 정상의 rat 담세포의 구조는 굴곡되고 낭상의 함몰부가 있다고 하였고, Ogawa *et al*^{7,8}은 DEN 투여후 4-6주째는 확장되고 6-8주째는 담세포가 동양혈관 보다 더 크고 무수한 계실이 형성되고 동양혈관의 유창성이 소실되고 Kupffer cells이 소실되었다고 하였고, Lauren *et al*¹⁶은 DEN 투여 48시간째에 Disse강의 낭상의 공간이 Ito cells의 돌기로 싸여 있었고 간세포간격이 증대되었다고 하였고, Ogawa *et al*⁹은 초기에 간세포 사이 공간의 넓어지고 담세포의 불규칙하고 세포막의 여러 함몰부가 형성되었고 4주째는 담세포의 확대되고 세포간의 공간의 넓어졌다고 하였고, Jack *et al*³은 30주째 Disse강과 동양혈관의 크기의 변화가 없고 담세포만이 확대되었다고 하였다.

본 조사에서 주사전자현미경적 소견에서 문맥, 담소관 등과 간세포 간의 담세포, 동양혈관 등이 확장되었고, 확장된 문맥이나 담소관의 관강벽에서 정상에 가까운 부위는 평활한 편이나 벽면이 추벽화 또는 돌출 등의 불

규칙하게 형성된 부위는 세포증식에 의한 변화로 간주되었고, 관강은 고도로 확대되고 미세용모는 짧아지고 수가 적어져 거의 관찰할 수 없었다. 이러한 소견은 간 실질질의 종양세포화 하여 증식으로 인하여 불규칙하게 돌출된 소견으로 인정되었다.

종양세포의 소견에 관하여는 Lauren *et al*¹⁶은 DEN에 의해 간종양세포는 핵윤곽의 불규칙하였다고 하였고, 이 등²¹은 랫드에 acethylaminofluorene 투여시 간에서 담명한 병소(clear foci)나 염기성 병소(basophilic foci)를 형성한 세포는 oval cells이 었다고 하였는데 Jeong *et al*²²은 oval cells 은 간암의 전구세포라고 하였다.

본 조사에서는 oval cells과 같은 형태에 속하는 간세포는 소형 간세포들 중에 활성화한 간세포에 해당되나 암세포화 소견은 인정되지 않았고, 소형 간세포들 중에서 암세포화한 세포들은 크기는 작고 배열이 불규칙하고 핵은 형태가 불규칙하고 염색질이 농축되고 전자밀도가 치밀하며 세포질에는 무과립형질내세망이 종대되었다. 이로 보아 암세포화한 세포들은 이들 형태의 세포들과 담관상피세포가 암세포화한 것으로 인정되었다.

결 론

랫드에 diethylnitrosamine을 13주간 투여하고 처음 투여시작후 16주와 17주째에 간장의 광학현미경적 소견을 근거로 하여 전자현미경적 소견을 조사하였다.

투과전자현미경적 소견에서 소형 간세포의 대부분은 세포소기관들이 발달하여 활성화한 세포였고, 소형화한 간세포들 중에 명세포화한 간세포들은 소기관의 종대 등으로 인한 손상이 진행된 세포였고, 소형화한 간세포들 중에 암세포화한 간세포들은 크기는 작고 배열이 불규칙한 집단을 이루며 핵의 형태가 불규칙하고 염색질이 농축되고 전자밀도가 치밀하고 세포질내 소기관은 종대되었다.

대형 간세포들은 핵은 염색질이 농염되고 활성화한 소견이었으나 반대로 세포질은 손상되고 종대되어 전자밀도가 낮아 투명하였고, 농염된 간세포들(dark hepatocytes)은 sER는 종대되었으나 공포화는 형성되지 않고 핵과 세포질만이 농염되어 apoptosis화 하는 세포였고, 담관암 세포들은 집단화하고 핵과 세포질에는 소기관의 발달이 미약하고 담명하였다. 주사전자현미경적 소견에서 문맥, 담소관, 담세포 및 동양혈관은 확대되고 벽면이 추벽화

또는 돌출 등으로 불규칙하였다.

Ligends for figures

- Fig 1. Three small-sized hepatocytes with a markedly increased number of mitochondria and a cell (lower right, probably a endothelial cell) with a large lipid droplet in dense cytoplasm are seen in a rat liver. TEM, $\times 6,800$.
- Fig 2. A light small-sized hepatocytes with numerous vesiculated sER, some vesicles containing electron-dense round matrix or a myelin figure matrix (arrow) and dilated mitochondria in cytoplasm are seen in a rat liver. TEM, $\times 22,800$.
- Fig 3. A light small-sized hepatocyte with many swollen mitochondriae, numerous dilated sER in cytoplasm and two large vacuoles containing electron-dense or lucent round matrix inclusions in nucleus are seen in a rat liver. TEM, $\times 15,200$.
- Fig 4. Many pleomorphic carcinoma cells possessing an irregular-shaped nuclei with dense chromatin and two apoptotic carcinoma cells (arrows) with pyknotic chromatin are seen in a rat liver. TEM, $\times 3,800$.
- Fig 5. Two large-sized hepatocytes in a rat liver show to be lucent by many vacuoles and dilated mitochondriae. TEM, $\times 4,250$.
- Fig 6. Some light cells (low area) and a dark cell is seen. Light cells have lucent nuclei, cytoplasm, and dilated sER. Dark cells have slender compressed cytoplasm, long microvilli, and detached cytoplasmic mass (right upper) in Disse space of a rat liver. TEM, $\times 3,500$.
- Fig 7. Several proliferated cholangiocarcinoma cells in the peripheral area of a hepatic lobule formed a gland-like structure. These cell cytoplasm are pale appearance and lucent by dilation of sER. A cell with the pyknotic nucleus and dense cytoplasm (probably a apoptotic cell, arrow) in the low right basal area are seen. TEM, $\times 3,800$.
- Fig 8. A venule with flattened internal wall surface in relatively unchanged peripheral area of a hepatic lobule possessed dilated lumen and erythrocytes. SEM, $\times 4,000$.
- Fig 9. The internal surface of a venule lumen in a rat liver shows irregular contour by proliferated parenchymae. SEM, $\times 3,500$.
- Fig 10. The irregular internal surface and its processes (arrows) by proliferated parenchymae on a venule lumen in a rat liver are seen. SEM, $\times 2,000$.
- Fig 11. Higher power in the arrow area of Fig 10. A process (probably proliferated tumor cell mass, arrow) is seen. SEM, $\times 7,500$.

참 고 문 헌

1. Faa G, Ledda-Columbano GM, Ambu R, *et al.* An electron microscopic study of apoptosis induced by cycloheximide in rat liver. *Liver*, 14:270-278, 1994.
2. Feldan D, Swarm RL, Becker J. Ultrastructural study of rat liver neoplasms after long-term treatment with phenobarbital. *Cancer Research*, 41:2151-2162, 1981.
3. Jack EM, Staubli W, Waechter F, *et al.* Ultrastructural changes in chemically induced preneoplastic focal lesions in the rat liver: a stereological study. *Carcinogenesis*, 11(9):1531-1538, 1990.
4. James SJ, Muskhelishvili L. Rates of apoptosis and proliferation vary with caloric intake and may influence incidence of spontaneous hepatoma in C57BL/6 x C3HF1 mie. *Cancer Reserach*, 54:5508-5510, 1994.
5. Lagopoulos L, Sunahara GI, Wurzner H, *et al.* The effect of alternating dietary restriction and as libitum feeding of mice on the development of diethylnitrosamine-induced liver tumours and its correlation to insulinaemia. *Carcinogenesis*, 12:311-315, 1991.
6. Mills JJ, Chari RS, Boyer IJ, *et al.* Induction of apoptosis in liver tumors by the monoterpene perillyl alcohol. *Cancer Research*, 55:979-983, 1995.
7. Ogawa H. Scanning electron microscopy of rat liver hyperplastic nodules induced by diethylnitrosamine. *Scan Electron Microsc*, 4:1793-1798, 1982.
8. Ogawa H, Itoshima T, Ukida M, *et al.* Scanning electron microscopy of experimentally induced hepatocellular carcinoma. *Scan Electron Microsc*, 1:359-368, 1984.
9. Ogawaa K, Medline A, Farber E. Sequential analysis of hepatic carcinogenesis. A comparative study of the ultrastructure of preneoplastic, malignant, prenatal, postnatal. and regenerating liver. *Lab Invest*, 41:22-35, 1979.
10. Tamano S, Merlino GT, Ward JM. Rapid development of hepatic tumors in transforming growth factor α transgenic mice associated with increased cell proliferation in precancerous hepatocellular lesions initiated by N-nitrosodiethylamine and promoted by phenobarbital. *Carcinogenesis*, 15(9):1791-8, 1994.
11. 박수동, 강정부, 하우송. Diethylnitrosamine을 투여한 rat 간장의 tumorigenesis에 관하여. 1. 간장의 육안적 소견. 대한수의학회지, 38(2):379-385, 1998.
12. 박수동, 강정부, 고필옥. Diethylnitrosamine을 투여한 rat 간장의 tumorigenesis에 관하여. 2. 종양세포의 apoptosis와 증식에 관한 조직학적 소견. 대한수의학회지, 38(2):386-393, 1998.
13. 박수동, 강정부, 고필옥, 김종섭. 항암제 cyclophosphamide가 diethylnitrosamine에 의한 rat간암에 미치는 조직학적 영향. 대한수의학회지, 39(1):인쇄중, 1999.
14. 김경옥, 신영철. Suncus Murinus 간장의 미세구조적 관찰. 한국전자현미경학회지, 23(2):41-52, 1993.
15. 김향, 신영철. Biligrafin 투여 마우스 간세포의 미세구조적 및 세포화학적 연구. 한국전자현미경학회지, 23(2):53-77, 1993.
16. Lauren DJ, Teh SJ, Hinton S. Cytotoxicity phase of diethylnitrosamine-induced hepatic neoplasia in medaka. *Cancer Res*, 50(17):5504-5514, 1990.
17. Motta P, Fumagalli G. Structure of rat bile canaliculi as revealed by scanning electron microscopy. *Anat Rec*, 182(4):499-513, 1975.
18. Ogawa H, Itoshima T, Ukida M, *et al.* Scanning electron microscopy of experimentally induced sequential alterations of rat liver hyperplastic nodules. *Scan Electron Microsc*, 1:369-374, 1984.
19. 김희진, 유창규, 최인순. Cycloheximide가 흰쥐 간세포의 미세구조 및 약물대사 효소의 활성화에 미치는 영향. 한국전자현미경학회지, 16(1):31-46, 1986.
20. Chadially FN. *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. 3th ed, Butterworths, London, pp 954-960, 1988.
21. 이재현, 조경자, 장원석 등. Oval cell의 간세포 분화에 관한 병리기전. 한국수의병리학회 1998년도 추계학술대회 및 정기총회지, p 21, 1998.
22. Jeong Su-Yong, Yoon Byung-Il, Kim Jeong-Rae, *et al.* Isolation and differentiation of oval cells from preneoplastic liver of hamsters uninfected and infected with Clonorchis sinensis. 한국수의병리학회 1998년도 추계학술대회 및 정기총회지, p 20, 1998.