대한소화기학회지 2001;37:227-232

□ 종 설 □

간섬유화 실험 동물모델

연세대학교 의과대학 내과학교실

이 관 식

Experimental Animal Models of Hepatic Fibrosis

Kwan Sik Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Excessive production of extracellular matrix(ECM), especially collagen, in the liver can produce hepatic fibrosis, and the repeated hepatic fibrosis by various etiologies may result in liver cirrhosis. Liver cirrhosis is the irreversible and terminal state of chronic liver diseases and thus, it is one of the major causes of death in Korea. To block the progress to liver cirrhosis is the main purpose of management for chronic liver diseases. Hepatic stellate cells (HSC) play a key role in the pathogenesis of hepatic fibrosis by producing ECM. The extent of ECM is dependent on the proliferation and activation of HSCs. Therefore, the inhibition of HSC activation is viewed as one of the main ways to block the progress of hepatic fibrosis. Many kinds of experimental animal model with hepatic fibrosis induced by hepatotoxin, alcohol, bile duct ligation, diet and immunologic activation etc. have been produced to investigate the mechanism of hepatic fibrogenesis including HSC activation, ECM production, cytokines and gene expression. In this article, experimental animal models of hepatic fibrogenesis are briefly reviewed. **(Korean J Gastroenterol 2001;37:227-232)**

Key Words: Animal model, Hepatic fibrosis, Hepatic stellate cell, Extracellular matrix

서 론

만성 간질환은 국내에서 중요한 성인병 및 사망 원인 중의 하나이고 간암에 의한 사망률은 세계 1위를 차지하고 있다. 간질환에 의한 사망 원인은 대개 간경변으로 진행한 후에 발생하는 합병증이나 간암에 의해 유발되고 간암 환자의 약 80%는 간경변 상태이므로, 만성 간염에서 비가역적인 상태인 간경변으로의 진행을 막는 것이 만성 간질환 해결의 가장 중요한 목표이며 숙제라고 할 수 있다.

간염에서 간경변으로 진행되는 과정을 간섬유화(hepatic fibrogenesis)라고 하고 근래 이 과정을 억제하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있다. 일반적으로 바이러스, 알코올 및 여러 가지 독성물질에 의해 간세포가 손상을 받으면 쿠퍼세포가 이를 대식하고 간세포를 대식한 쿠퍼세포는 여러 가지 종류의 사이토카인을 분비하여 간성상세포(hepatic stellate cell, HSC)를 증식 및 활성화시킨다. 활성화된 HSC는 콜라젠과 같은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)을 생성하는데 생성된 ECM은 matrix metalloproteinases (MMP) family에 의해 파괴된다. 급성 간손상과 같이 지속적인 간손상이 아닌 경우는 생성된 콜라젠이 가는 fibril 상태여서 파괴가 가능하지만, 지속적으로 간손상이 유발되는 만성 간질환에서는 콜라젠이 지속적으로 생성되고 굵은 fiber 상태로 간내에 침착하게 되며 쉽게 파괴가 되지 않아 결국 ECM이 간의 상당 부분을 차지하게 되는 비가역적인 간경변으로 진행하게 된다.[1-4]

이 과정을 이해하기 위해 여러 가지 실험 동물모델이 시행되고 있으나 가장 많은 원인 중의 하나인 바이러스를 이용한 모델은 일반적이지 않고, 사염화탄소등의 독성물질, 알코올 및 담도 결찰등을 이용한 모델도 저자에 따라 다양해서 표준화된 간섬유화 모델을 확립하는 것이 바람직하나

접수: 2000년 3월 12일

연락처: 이관식, 135-270, 서울특별시 강남구 도곡동 146-92
영동세브란스병원 내과
Tel: (02) 3497-3314, 3310, Fax: (02) 3463-3882
E-mail: leeks519@yumc.yonsei.ac.kr

각 기관에서 고수하고 있는 방법이 있으므로 현실적으로 쉽지 않은 과제이다.

실험 방법은 *in vitro*와 *in vivo*로 나눌 수 있으며, *in vivo*는 다시 급성과 만성 간손상으로, 만성 간손상은 가역적인 간섬유증(hepatic fibrosis)과 비가역적인 간경변(liver cirrhosis) 등으로 나눌 수 있고, 실험 재료는 혈청, 간조직 및 분리한 각종 세포를 이용할 수 있다.

In vitro 모델

1. 간성상세포

간섬유화에 핵심적인 역할을 하는 세포는 타세포의 영향을 받아 ECM을 직접 생성하는 HSC이므로 간섬유화에 대한 연구는 주로 HSC에 초점이 맞춰져 있다.[5,6] HSC는 1896년 Kupffer에 의해 발견되었고 Ito에 의해 기술되었으며 1971년 Wake[7]에 의해 정립되었다. 이 세포는 동모양 혈관내피세포(sinusoidal endothelial cell)와 간세포(hepatocyte) 사이의 딧제강(space of Disse)에 위치한 세포로서 Ito 세포, 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적(lipid droplet)을 갖고 있어 vitamin A storing cell, fat storing cell 또는 perisinusoidal hepatic lipocyte, 별모양을 하고 있어서 stellate cell 등으로 명명되었으나 현재는 HSC로 통일되어 사용되고 있다.

2. HSC의 분리

HSC는 일부에서 세포주를 이용하고 있으나, 일반적으로는 문맥관류법(in situ perfusion)으로 분리하여 얻은 세포를 직접 이용하고 있다. 간략히 기술하면 pronase와 collagenase를 함유한 용액을 간에 관류시켜서 간을 분해하고, pronase가 함유된 용액에서 적출한 간을 잘게 썬 후 37℃ 수조에서 흔들어 다시 분해시킨다. 거즈로 거른 후 원심분리하여 세포를 얻고 수 차례 세척 후 Nycodenz를 이용한 밀도차등법으로 세포를 부유시켜 HSC를 얻을 수 있다. HSC는 지방소적을 갖고 있어 부유성이 있으므로 상기한 방법으로 분리가 가능하다.[8-10]

3. HSC의 배양

HSC는 분리 후 신선한 상태로 배양할 수도 있고, 세포수를 많이 필요로 할 때에는 일정 기간 배양 후 24-48시간 동안 serum deprivation하여 resting 상태로 synchronize시켜 실험을 시작할 수도 있다.

HSC는 plastic 용기에서도 잘 증식하여 활성화되므로 활성시 발현하는 전사인자나 유전자를 관찰시에는 일반적인 plastic 용기를 사용할 수 있지만, 활성화 또는 억제하는 물질에 대한 실험시에는 plastic 용기 바닥을 coating한다.

HSC를 활성화시킬 것으로 추정되는 물질에 대한 실험시에는, HSC가 plastic 바닥에서도 자연적으로 활성화되므로 type IV 콜라젠과 laminin으로 구성된 matrigel을 도포하여 활성화를 억제한 상태에서 대상물질을 투여한다. 반대로 HSC의 활성화를 억제시킬 것으로 추정되는 물질에 대한 실험시에는, plastic 용기를 그대로 사용할 수도 있으나 type I 콜라젠을 도포하여 활성화시킨 상태에서 실험을 시행한다.[11]

상기한 HSC 단독 배양도 시행하지만 타세포와의 관계를 관찰하기 위해 coculture[8] 또는 타세포의 배양액을 이용한 HSC 배양을 시행할 수도 있다.

In vivo 모델

1. 급성 간손상 모델

간세포를 파괴시키는 독성물질을 1-3회 정도 투여하면 급성 간손상을 일으키지만 간섬유증을 유발하지는 않으므로 간 손상후 정상으로 완전히 회복되는 과정에서 HSC의 증식, 활성화 및 사멸과정과 ECM 생성 및 소멸과정을 관찰할 수 있고, HSC의 활성화를 억제할 수 있는 물질의 가능성을 단기간 내에 시험해 보고 이를 토대로 가능성 있는 항 섬유화 물질을 만성 간손상 모델을 이용하여 확인할 수 있다.

대개는 사염화탄소[12-15]와 dimethylnitrosamine (DMN) 등[16]이 이용되고 있고 allyl alcohol 또는 bromobenzene 등을 투여한 보고도 있다.[17]

2. 만성 간손상 모델

각종 독성물질 또는 알코올의 투여 기간 및 담도 결찰 후 기간 등을 조절하여 간섬유증 또는 간경변을 유도할 수 있다. 간경변을 유도하지 않고 간섬유증까지만 유도해도 간세포의 파괴, HSC의 활성화, ECM의 생성과 파괴 및 항섬유화제의 기능 등을 관찰할 수 있으므로 간경변보다 간섬유증을 유발한 동물모델을 이용한 보고가 오히려 더 많다.

1) 간독성물질

(1) 사염화탄소(CCl_4)

사염화탄소는 간섬유화에 가장 많이 사용되고 있는 물질로서 간내 microsomal cytochrome p450에 의해 CCl_3를 형성하고 산소와 결합하여 CCl_3O_2를 형성하게 되는데, CCl_3는 세포내 macromolecule과 결합하고 CCl_3O_2는 세포막의 지질과산화를 유발하여 세포에 손상을 주게 된다. 따라서 cytochrome p450의 작용을 유도하는 phenobarbital,[18]

acetone[19] 및 알코올 등[20]은 사염화탄소의 간독성을 심화시킬 수 있다. 사염화탄소는 흡입,[18,21,22] 구강 또는 위내 투여,[23-26] 피하 주사[27-29] 및 복강내 주사[30-32]가 가능하고, 사염화탄소 투여 2주 전부터 phenobarbital (300-350 mg/L)을 음용수에 타서 복합투여하면 일정한 간섬유화를 더 빨리 유도하고 치사율을 줄일 수 있다. 그러나 phenobarbital을 사용하지 않고 피하 주사만을 통해 유도된 간손상은 phenobarbital을 사용한 경우보다 병리학적으로 보다 명확히 구분되어진다.[27-29] 즉 1-5주에는 소엽 중심 부위(centrilobular area)의 괴사와 fatty metamorphosis, 4-15주에는 nonseptal fibrosis후 septal fibrosis, 10-30주에는 간경변의 소견을 보이는데[29] 이는 알코올성 간질환의 진행과 유사하다. 구강 투여는 타방법에 비해 사망률이 높고 간섬유화 유도가 일정치 않은 점이 있다.[18]

주사는 100-300 g 정도의 흰쥐에 1-2 μL/g을 동량의 oil과 혼합하여 주 2-3회 투여하는 것이 일반적이고 단독투여로는 12-15주 후에 간경변이 유도된다.[29] 위내 투여는 20-40 μL로 시작하여 600-1,200 μL까지 증량하여 주 1회 투여할 수 있고 phenobarbital과 복합투여하는 경우가 많으며 10-12주 후에 간경변이 유도된다.[24,25] 흡입도 주 2회 시행하고 phenobarbital과 복합투여하여 4주 이상이면 간경변이 유도된다고 한다.[18,21,22]

(2) Dimethylnitrosamine (DMN)

DMN은 대사되어 아세트알데하이드를 형성하고, 핵산 및 단백질을 methylation시키는 물질을 형성하여 간세포의 괴사를 유발한다.[33] 사염화탄소와는 달리 지방변성은 유발하지 않고 투약을 중단해도 간손상이 진행하는 경향을 보인다.

100-200 g 정도의 흰쥐에 생리식염수를 이용해 1%로 희석한 DMN 1 μL/g을 1주일 중 3일간 연속하여 복강내 주사하여 간손상을 유발시키는 것이 일반적인 방법이다.[34-37] 투여 1주 후에는 소엽 중심 부위에 광범위한 출혈성 괴사와 염증세포의 침윤 및 HSC의 증식을 관찰할 수 있고, 2주 후에는 괴사 소견은 감소하나 소엽 중심부-소엽 중심부 및 소엽중심부-문맥 주위부을 연결하는 섬유성 중격이 생성되고 HSC가 주로 이 부위에서 발견되며, 3주 후에는 섬유성 중격이 뚜렷해지고 소결절을 형성하게 된다.[35] 대개 4-6주 후에 간경변이 유도된다.[38,39]

(3) Thioacetamide (TAA)

TAA는 DMN과 함께 간섬유화 유발에 많이 사용되는 carcinogen으로서 단지 음용수에 타서 간섬유화를 유발시킬 수 있다는 장점이 있다.

100-200 g 정도의 흰쥐에 TAA 300 mg/L (0.03%)을 음용수에 타서 투여하는데 주로 문맥 주위부에 손상을 주고 약 3개월 후에 간경변이 유도되지만[40,41] 약 30주 후에 간경변이 유도되었다는 보고도 있다.[42]

(4) Allyl alcohol

Allyl alcohol은 많이 사용되고 있지는 않으나 주로 문맥 주위부에 손상을 주므로 바이러스성 간질환과 유사한 병변을 유도한다는 장점이 있다.

200 g 정도의 흰쥐에 0.62 mmole/kg을 주 2회 복강내에 투여하여 8주에 중등도 이상의 간섬유증, 16주에 약 50%에서 간경변을 유도했다는 보고가 있다.[43]

2) 담도 결찰법(bile duct ligation, BDL)

BDL은 담도 이상시 유발되는 간섬유화를 연구하는 데 유용하고, 십이지장 상방 3 cm와 5 cm의 담도를 묶고 사이를 절단하는 방법을 사용한다.[44]

150-300 g 정도의 흰쥐에서 약 4주 후에 간경변이 유도되는데, 주로 문맥 주위부에 손상을 유발한다.[45-47] 담즙이 침착되고 침습적이며 사망률이 약 50%로 높다는 문제점이 있으나 한번의 시술로 간편하고 단기간에 간섬유화가 유도된다는 장점도 있다.

3) 알코올 및 식이유도법

알코올은 지방간을 유발하지만 간세포의 괴사나 간섬유화를 유발하기는 쉽지 않다. 흰쥐의 경우 알코올에 대한 거부감이 있어서 전체 칼로리의 36% 이상을 투여하기 어렵고 대사가 빨라 혈중치를 고농도로 유지하기가 힘들다.[48,49] 이를 극복하기 위해 baboon(개코원숭이)을 사용하는데 전체 칼로리의 50% 정도를 투여하여 1-3년 후에 약 1/3에서 간경변이 유도되었다고 한다.[50]

쥐의 알코올에 대한 거부감을 해결하기 위해 300-400 g 정도의 Wistar rat에 위 내 삽관을 통한 알코올 투여를 전체 칼로리의 42-49%까지 증량하여 간섬유화를 유도했다는 보고가 있고, 대개는 corn oil 등의 고지방 식이(25% 이상)와 병합투여하는 경우가 많으며 이 경우 약 3개월 후에 간섬유증이 유도된다.[51-53]

저단백, 저콜린(choline) 및 고지방(35% 이상) 식이로 약 6주에 지방 침착, 6-12주에 섬유중격 형성, 12-24주에 간경변으로 진행할 수 있다.[51,54,55] 알코올 및 고지방식이 모두 주로 소엽 중심부에 손상을 유발한다.

4) 면역유도법

(1) 이종혈청(heterologous serum)

돼지 혈청, 말혈청, 돼지 알부민, 돼지 글로불린 및 인간의 감마 글로불린 등이 사용되어 왔으나 이중 돼지 혈청을

반복적으로 복강내에 투여하는 것이 가장 효과적이고,[56,57] 간세포의 괴사 없이 면역학적 기전에 의해 간섬유화가 유도되므로 바이러스성 간질환과는 차이가 있으나 주로 문맥 주위부에 손상이 유발된다.

150-200 g 정도의 흰쥐에 500 μL의 돼지 혈청을 주 2회 복강내 투여로 약 5주 후에 간섬유증, 10주 후에 간경변이 유도된다.[36,56-58]

(2) Schistosomiasis

대개 생쥐(20 g)를 대상으로 Schistosoma mansoni 50 cercariae 정도를 피하 주사하면 granulomatous 반응에 의해 주로 문맥 주위부가 손상을 받고 6-8주 후에 간섬유증이 유발된다.[59,60]

5) 기타

(1) Pyrrolizidine alkaloid

주로 혈관 이상 즉 hepatic veno-occlusive disease (HVOD)를 유발하는 물질로서 monocrotaline, senecionine, retrorsine 등이 알려져 있고 혈관 이상에 의한 간섬유화를 연구하는 데 주로 사용되고 있다.

200-250 g 정도의 흰쥐를 대상으로 500 μL의 물에 monocrotaline 160 mg/kg을 위내 투여하면 간세포보다 주로 동모양 혈관내피세포가 손상을 받아 소엽 중심부에 이상이 오고, 초기 HVOD는 3-5일 후에 후기 HVOD는 6-7일 후에 유발된다.[61]

(2) 유전자

유전자 조작을 이용하여 해당 유전자가 간섬유화에 미치는 영향을 관찰할 수 있고, 간섬유화를 유도할 수도 있다.

MMP의 기능을 억제하여 생성된 ECM의 파괴를 막아 간섬유화를 유발하는 데 관여하는 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)나,[62] HSC의 활성화 및 ECM 파괴 억제에 관여하는 중요한 사이토카인인 transforming growth factor (TGF) beta 1 등을 유전자이식하여 간섬유화를 유발시킬 수 있고,[63-65] 반면에 telomerase 유전자를 이식하여 간섬유화를 억제할 수도 있다.[66]

또한 interleukin 6 (IL-6)는 간의 재생에 관여하는 사이토카인으로, IL-6 null mice (IL-6 -/-)의 경우에는 IL-6가 있는 쥐에 비해 사염화탄소에 의한 간섬유화가 더 심하게 유발되어 IL-6가 간섬유화의 억제에 관여한다는 보고가 있다.[67]

이상적인 실험 동물모델은 인간의 질환과 유사해야 하고, 병리학적으로 명확히 진행하는 과정을 보여야 하며, 재시행시 동일한 병변을 얻을 수 있고 사망률은 낮아야 한다. 실험 동물을 이용한 간섬유화 연구의 대상은 상기한 실험동물모델을 이용하여 간섬유화에 관여하는 세포들, 이 세포들이 분비하는 활성화 물질 및 ECM 등이고 구체적으로는 (1) 콜라젠을 포함한 ECM 및 이를 파괴하는 MMP family의 생성 및 파괴 과정 (2) HSC의 활성화에 관여하는 각종 사이토카인의 특성 (3) HSC의 활성화시 전사인자 및 유전자의 발현 (4) HSC와 간내 타세포인 간세포(hepatocyte), 쿠퍼세포 및 동모양 혈관내피세포와의 상관관계 (5) 항섬유화제의 개발 등을 비롯한 여러 가지 분야의 연구가 진행되고 있다.

참 고 문 헌

1. Rojkind M, Giambrone M-A, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. Gastroenterology 1979; 76:710-719.
2. Gressner AM, Bachem MG. Cellular sources of noncollagenous matrix protein: role of fat storing cells in fibrogenesis. Semin Liver Dis 1990;10:30-46.
3. Bissel DM. Cell matrix interaction and hepatic fibrosis. Prog Liver Dis 1990;9:143-155.
4. Maher JJ, Friedman SL, Roll FJ, Bissel DM. Immunolocalization of laminin in normal rat liver and biosynthesis of laminin by hepatic lipocytes in primary culture. Gastroenterology 1988;94:1053-1062.
5. Takahara T, Kojima T, Miyabayashi C. Collagen production in fat storing cells after CCl_4 intoxication in the rat: immunoelectron microscopic observation of type I, type III collagens and prolyl hydroxylase. Lab Invest 1988;59: 509-521.
6. Friedman SL, Roll JF, Boyles J. Hepatic lipocytes: the principal collagen producing cells of normal rat liver. Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:8681-8685.
7. Wake K. Sternzellen in the liver: perisinusoidal cells with special reference to storage of vitamin A. Am J Anat 1971;132:429-462.
8. Bedossa P, Houglum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen alpha1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis. Hepatology 1994;19:1262-1271.
9. Houglum K, Buck M, Alcorn J, Contreras S, Pornstein P, Chojkier M. Two different cis-acting regulatory regions direct cell specific transcription of collagen alpha1(I) gene in the hepatic stellate cells and in skin and tendon fibroblasts. J Clin Invest 1995;96:2269-2276.
10. Schafer S, Zerbe O, Gressner A. The synthesis of proteoglycans in fat-storing cells of rat liver. Hepatology 1987;7:680-686.

11. Lee KS, Buck M, Houglum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression. J Clin Invest 1995;96:2461-2468.
12. Lee KS, Buck M, Houglum K, Watson DB, Carson D, Chojkier M. Pentoxifylline blocks hepatic stellate cell activation independently of phosphodiesterase inhibitory activity. Am J Physiol 1997;273:G1094-G1100
13. Elsisi AED, Hall P, Sim WW, Earnest DL, Sipes IG. Characterization of vitamin A potentiation of CCl_4 induced liver injury. Toxicol and Applied Pharmacol 1993;119: 280-288.
14. Edwards MJ, Keller BJ, Kauffman FC, Thurman RG. The involvement of Kupffer cells in CCl_4 toxicity. Toxicol and Applied Pharmacol 1993;119:275-279.
15. Maher JJ, McGuire RF. Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis *in vivo*. J Clin Invest 1990;86:1641-1648.
16. Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effect of estradiol on DMN induced fibrosis of the liver in rats. Hepatology 1999;29:719-727.
17. **송일한, 정영화, 김정아 등. 구역선택적 간세포손상에 의한** TGF beta1**의 발현 양상. 대한소화기학회지** 1998;31:196-210.
18. McLean E, McLean AEM, Sutton PM. Instant cirrhosis. An improved method for producing cirrhosis of the liver in rats by simultaneous administration of CCl_4 and phenobarbitone. Br J Exp Pathol 1969;50:502-506.
19. Charbonneau M, Tuchweber B, Plaa G. Acetone potentiation of chronic liver injury induced by repetitive administration of CCl_4. Hepatology 1986;6:694-700.
20. Bosma A, Brouwer A, Seiferi WF, Knock DL. Synergism between ethanol and CCl_4 in the generation of liver fibrosis. J Pathol 1988;156:15-21.
21. Lopez-Novba JM, Martinez-Maldonado M. Impaired renal response to splanchnic infusion of hypertonic saline in conscious cirrhotic rats. Am J Physiol 1982;242:F390-F394.
22. Fernandez D-Munoz D, Caramelo C, Santos JC, et al. Systemic and splanchnic hemodynamic disturbances in conscious rats with experimental liver cirrhosis without ascites. Am J Physiol 1985;249:G316-G320.
23. Recknagel RO, Ghoshal AK. Quantitative estimation of peroxidative degeneration of rat liver microsomal and mitochondrial lipids after CCl_4 poisoning. Exp Mol Pathol 1966;5:413-426.
24. Mathie RT, Ralevic V, Moore KP, Burnstock G. Mesenteric vasodilator responses in cirrhotic rats: a role for nitric oxides? Hepatology 1996;23:130-136.
25. Perez-Paramo M, Munoz J, Albillos A, et al. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. Hepatology 2000;31:43-48.
26. Macintosh E, Gauthier T, Pettigrew NM, Minuk GY. Hepatic fibrosis as a predictor of hepatic regenerative activity after partial hepatectomy in the rat. Hepatology 1992;17:307-309.
27. Cameron GR, Karunaraine WAE. CCl_4 cirrhosis in relation to liver regeneration. J Pathol Bacteriol 1936;42:1-21.
28. Rubin E, Hutterer F, Popper H. Cell proliferation and fiber formation in chronic CCl_4 intoxication. Am J Pathol 1963;42:715-728.
29. Martinez-Hernandez A. The hepatic extracellular matrix II. Electron immunohistochemical studies in rats with CCl_4 induced cirrhosis. Lab Invest 1986;53:166-186.
30. Iredale JP, Benyon C, Arthur MJP, et al. TIMP-1 messenger RNA expression is enhanced relative to interstitial collagenase messenger RNA in experimental liver injury and fibrosis. Hepatology 1996;24:176-184.
31. Jonassen TEN, Sorensen AM, Petersen JS, Andreasen F, Christensen S. Increased natriuretic efficiency of furosemide in rats with CCl_4 induced cirrhosis. Hepatology 2000;31:1224-1230.
32. Zhu J, Wu J, Frizell E, et al. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation *in vitro* and limits fibrogenesis in an *in vivo* model of liver fibrosis. Gastroenterology 1999;117:1198-1204.
33. Magee PN. Toxic liver necrosis. Lab Invest 1966;15: 111-131.
34. **이선경, 박도윤.** DMN **유발 백서 간섬유증에 있어서 염증세포의 표현형 분석과 성장인자의 국재부위. 대한소화기학회지** 1997;29:497-505.
35. **손현이, 이창훈, 서강석.** DMN**에 의한 백서 간손상에서 간성상세포의 면역조직화학적 표지자 발현에 관한 연구. 대한소화기학회지** 1999;34:479-488.
36. Matsuda Y, Matsumoto K, Yamada A, et al. Preventive and therapeutic effects in rats of hepatocytes growth factor infusion on liver fibrosis/cirrhosis. Hepatology 1997;26: 81-89.
37. Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of TGF beta prevents progression of liver fibrosis and enhance hepatocyte regeneration in DMN treated rats. Hepatology 2000;32:247-255.
38. Risteli J, Kivirikko KA. Intracellular enzymes of collagen biosynthesis in rat liver as a function of age and in hepatic injury induced by DMN. Biochem J 1976;158:361-367.
39. Ala-Kokko, Pihlajaniemi T, Myers JC, et al. Gene expression of type I, III and IV collagens in hepatic fibrosis

induced by DMN in the rat. Biochem J 1987;244:75-79.
40. 현동우, 이재태, 천경아 등. ^{99m}Tc-Galactosylated serum albumin을 이용한 간 asialoglycoprotein 수용체 영상술: Thioacetamide에 의한 급성 간손상 생쥐에서의 분포상. 대한간학회지 1998;4:151-161.
41. Zimmerman T, Muller A, Macknik G, et al. Biochemical and morphological studies on production and regression of experimental liver cirrhosis induced by thioacetamide in Uje:WIST rats. Z Versuchstierkd 1987;30:165-180.
42. 장기택, 김미란, 정인평 등. Thioacetamide에 의한 실험적 간경변증에서 pentoxifylline이 섬유화와 세포주기에 미치는 영향. 대한간학회지 2000;6(suppl):S53.
43. 정성애, 정영화, 박능화 등. Allylalcohol 투여에 의한 반복적 문맥주위부 간세포 괴사에 따른 간섬유화 동물모델. 대한소화기학회지 1999;34:619-631.
44. Krahenbuhl S, Brass EP, Hoppel CL. Decreased carnitine biosynthesis in rats with secondary biliary cirrhosis. Hepatology 2000;31:1217-1223.
45. Fort J, Oberti F, Pilette C, et al. Antifibrotic and hemodynamic effects of the early and chronic administration of octreotide in two models of liver fibrosis in rats. Hepatology 1998;28:1525-1531.
46. Ackermann D, Vogt B, Escher G, et al. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase by bile acids in rats with cirrhosis. Hepatology 1999;30:623-629.
47. Liu H, Ma Z, Lee SS. Contribution of nitric oxide to the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in bile duct ligated rats. Gastroenterology 2000;118:937-944.
48. Lieber CS, Jones DP, Mendelson J, DeCarli LM. Fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia produced by prolongrd alcohol consumption, despite adequate dietary intake. Trans Assoc Am Physicians 1963;76:289-300.
49. Lieber CS, Jones DP, DeCarli LM. Effect of prolonged ethanol intake: production of fatty liver despite adequate diets. J Clin Invest 1965;44:1009-1021.
50. Rubin E, Lieber CS. Fatty liver, alcoholic hepatitis and cirrhosis produced by alcohol in primates. N Engl J Med 1974;290:128-135.
51. Tsukamoto H, Matsuoka M, French SW. Experimental models of hepatic fibrosis: a review. Semin Liver Dis 1990;10:56-65.
52. Iimuro Y, Gallucci RM, Luster MI, Kono H, Thurman RG. Antibodies to TNF alpha attenuate hepatic necrosis and inflammation caused by chronic exposure to ethanol in the rat. Hepatology 1997;26:1530-1537.
53. Kamimura S, Gaal K, Britton RS, Bacon BR, Triadafilopoulos G, Tsukamoto H. Increased 4-hydroxynonenal levels in experimental alcoholic liver disease: association of lipid peroxidation with liver fibrogenesis. Hepatology 1992;16:448-453.
54. Daft FS, Sebrell WH, Lillie RD. Production and apparent prevention of a dietary liver cirrhosis in rats. Proc Soc Exp Biol Med 1941;48:228-229.
55. Nakano M. Morphogenesis of septa in hepatic fibrosis induced by choline deficiency in rats. Correlation between Ito cells, pericellular fibrosis and septa. Acta Pathol Jpn 1988;36:1643-1652.
56. Ballardini G, Degli ES, Bianchi FB, et al. Correlation between Ito cells and fibrogenesis in an experimental model of hepatic fibrosis. A sequential stereological study. Liver 1983;3:58-63.
57. Yokoi Y, Namihisu T, Matsuzaki K, et al. Distribution of Ito cells in experimental hepatic fibrosis. Liver 1988;8:48-52.
58. Paronetto F, Popper H. Chronic liver injury induced by immunological reactions. Am J Pathol 1966;49:1087-1101.
59 Dunn MA, Rojkind M, Warren KS, et al. Liver collagen synthesis in murine schistosomiasis. J Clin Invest 1977;59:666-674.
60. Czaja MJ, Weiner FR, Flanders KC, et al. *In vitro* and *in vivo* association of TGF beta1 with hepatic fibrosis. J Cell Biol 1989;108:2477-2482.
61. Deleve LD, McCuskey RS, Wang X, et al. Charaterization of a reproducible rat model of hepatic veno-occlusive disease. Hepatology 1999;29:1779-1791.
62. Yoshiji H, Kuriyama S, Miyamoto Y, et al. TIMP-1 promotes liver fibrosis development in a transgenic mouse model. Hepatology 2000;32:1248-1254.
63. Kanzler S, Lohse AW, Keil A, et al. TGF beta1 in liver fibrosis: an inducible transgenic mouse model to study liver fibrogenesis. Am J Physiol 1999;276:G1059-G1068.
64. Kovalszky I, Nagy P, Szende B, et al. Experimental and human liver fibrogenesis. Scand J Gastroenterol Suppl 1998;228:51-55.
65. Clouthier DE, Comerford SA, Hammer RE. Hepatic fibrosis, glomerulosclerosis, and a lipodystrophy-like syndrome in PEPCK-TGF beta transgenic mice. J Clin Invest 1997;100:2697-2713.
66. Rudolph KL, Chang S, Millard M, Schreiber-Agus N, DePinho RA. Inhibition of experimental liver cirrhosis in mice by telomerase gene delivery. Science 2000;287:1253-1258.
67. Kovalovich K, DeAngelis RA, Li W, Furth EE, Ciliberto G, Taub R. Increased toxin-induced liver injury and fibrosis in interleukin-6-deficient mice. Hepatology 2000;31:149-159.