

햄스터 췌장암 발암 과정의 기원세포로 선방세포의 역할

연세대학교 의과대학 내과학교실, 소화기병 연구소, 두뇌한국 21 의과학 사업단*

박병규 · 정혜원 · 송시영 · 박승우 · 정재복 · 강진경 · 이지은* · 김선아* · 김한수*

Role of Acinar Cell in Hamster Pancreatic Carcinogenesis

Byung Kyu Park, M.D., Hye Won Chung, M.D., Si Young Song, M.D.,
Seung Woo Park, M.D., Jae Bock Chung, M.D., Jin Kyung Kang, M.D.,
Ji Eun Lee*, Sun A Kim*, and Han Soo Kim, PhD.*

Department of Internal Medicine, Institute of Gastroenterology, Brain Korea 21C Project for Medical Science
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background/Aims: Considerable doubts still remain about the earliest lesions and particularly, the cell origin of pancreatic cancer. In this study, we investigated the serial morphologic and cellular changes, and the expression of cyclin D1 in a hamster model with pancreatic carcinogenesis induced by N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP). **Methods:** Twelve Syrian Golden hamsters were administered 15 mg/kg of BOP weekly for 12 weeks. They were serially sacrificed at 16, 20, and 24 weeks. The specimens of the pancreas were examined for pathologic changes and stained with cyclin D1 and BrdU monoclonal antibody. **Results:** The serial morphologic changes were gradual loss of acinar cells, progressively increased tubular complexes, and perilobular and intralobular fibrosis with the lapse of time. These newly developed transformed tubular ductal structures seemed to be originated from the acinar cells. The cyclin D1 overexpression and intense BrdU labeling were observed in the early event of tubular complex formation. **Conclusions:** Pancreatic ductal adenocarcinoma may be originated from the acinar cells via possible transdifferentiation from acinar cell to ductal cell or proliferation of multipotent stem cells located in the acini. The overexpression of cyclin D1 may play a major role in the early stage of carcinogenic process in BOP-induced hamster pancreatic cancer. (*Korean J Gastroenterol* 2003;41:138-144)

Key Words: Hamster; N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP); Cyclin D1; Pancreatic neoplasms

서 론

췌장암은 예후가 극히 불량한 암으로, 진단 당시 근치적 절제가 불가능한 경우가 대부분이다. 주변 림프절 전이 및 혈관 침범이 빈번하며, 절제 부위의 잔여 암 양성률이 높

아 수술 후에도 재발률이 높다. 현재까지 췌장암 동물 모델로는 N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP) 유도 햄스터가 가장 많이 이용되고 있는데, 췌관의 암화 과정으로 제시되는 일련의 단계별 과정이 생화학적, 형태학적으로 인체의 췌장암과 유사하여 가장 많이 이용되고 있다.^{1,4}

접수: 2002년 8월 21일, 승인: 2002년 12월 6일
연락처: 송시영, 120-752, 서울시 서대문구 신촌동 134
연세의료원 내과
Tel: (02) 361-5422, Fax: (02) 393-6884
E-mail: sysong@yumc.yonsei.ac.kr

Correspondence to: Si Young Song, M.D.
Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine
134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel: +82-2-361-5422, Fax: +82-2-393-6884
E-mail: sysong@yumc.yonsei.ac.kr

Mouse, guinea pig, rat 등의 동물에서는 발암물질을 투여하였을 때 선방세포(acinar cell) 기원의 췌장암이 발생하나 햄스터에서는 인체와 유사한 췌관상피세포의 표현형을 보이는 췌장암이 발생하기 때문이다. 그러나 아직까지 췌장암의 암화 과정 중 초기에 핵심적으로 관여하는 기원세포가 정확히 어떤 세포인지는 전혀 알려진 바 없으며 최근 들어 인체 췌장암이 췌관세포에서 기원하지 않았을지도 모른다는 여러 가설들이 제시되고 있다.

인체 췌장암의 90% 이상은 췌관세포(ductal cell)의 표현형을 보이고 있으나 실제 조직학적으로 췌장을 구성하는 세포의 90%는 선방세포로 이루어져 있고 나머지 10%만이 췌관세포 및 소도세포(islet cell)가 차지하고 있다는 점은 인체 췌장암의 기원세포에 대한 많은 의문점을 갖게 하는 하나의 배경이 되고 있다. 이에 성체 줄기세포의 개념을 바탕으로 하여 선방세포 또는 소도세포의 췌관세포로의 이행이 발암 과정의 초기 단계일 가능성도 제시되고 있다.⁵⁻⁸

Cyclin은 세포주기에 따라 농도가 변하는 이유로 이름 지워진 단백질로 G1에서 S기로의 전환을 조절하는 G1 cyclin과 G2에서 M기로의 전환을 조절하는 mitotic cyclin으로 구분된다. G1 cyclin 중에서 가장 중요한 역할을 하는 것은 cyclin D1으로 cyclin D1의 과발현은 세포주기의 조절을 상실하고 발암 과정으로 진행하게 하는 것으로 알려져 있다.⁹⁻¹⁰ 최근까지 cyclin D1은 몇몇 종양에서 발암 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었고,⁹⁻¹⁷ cyclin D1의 과발현이 환자의 불량한 예후와 연관된다는 보고도 있다.¹¹⁻¹⁷ 그러나 세포주기 중 G1기를 조절하는 cyclin D1이 췌장암의 발암 과정에서 어떠한 역할을 하며 그 기전은 무엇인지에 대해서는 아직까지 뚜렷하게 밝혀진 바 없다.

저자들은 BOP에 의해 유발된 햄스터 췌장암 모델을 이용하여 췌장암의 단계적 발암 과정의 형태학적인 특성을 알아보고 이를 통한 췌장암의 기원세포를 추정해보고자 하였으며, 면역조직학적 방법을 이용하여 햄스터의 단계적인 췌장암 발암 과정에서 cyclin D1의 발현 변화와의 상관관계를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

80-100 g의 Syrian Golden 햄스터 암컷 24마리(Charles River Lab., Boston, USA)를 대상으로 하였다. 햄스터는 동물위원회 지침에 따라 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 사육실 온도와 $60 \pm 5\%$ 의 상대습도를 가진 표준의 사육 환경에서 사육되었다. 한 사육 상자당 4마리씩 배치하여 12시간마다 빛과 어둠을 바꾸어 주었고, 식사(10-12 g/100 g)와 물(15-20 mg/100 g)은 자

유롭게 공급해 주었다.

2. 방법

1) 햄스터에서 췌장암 유도

24마리의 Syrian Golden 햄스터를 12마리씩 2군으로 나누어, 한쪽 12마리에는 BOP 15 mg/kg를 주 1회씩 총 12회에 걸쳐 피하주사하였고,^{3,18} 나머지 12마리는 생리식염수만을 투여하였다. BOP 투여 시작 시점으로부터 16주, 20주, 24주에 각각의 군에서 4마리씩을 희생하여 췌장 조직을 얻어 파라핀 포맷 절편을 만들었다(Fig. 1).

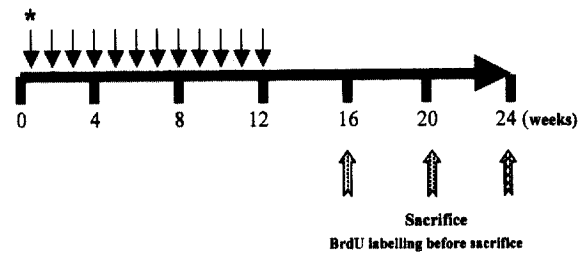


Fig. 1. Scheme of overall experiment. Syrian Golden hamster received BOP 15 mg/kg or saline weekly for 12 weeks, and then were serially sacrificed at 16, 20, and 24 weeks.

2) 세포의 증식도 측정

세포 증식의 정도를 알아보기 위하여, 햄스터를 희생시키기 2시간 전에 75 mg/kg BrdU (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 phosphate buffered saline (PBS)에 녹여서 복강 내로 주사하였고,¹⁹ BrdU의 발현은 면역조직화학염색법을 이용하여 관찰하였다.

3) BOP주입군의 햄스터에서 형태학적 변화

각각의 파라핀 포맷 절편으로 조직표본 슬라이드를 만들어 H & E로 염색한 후에 세포병리학적인 특성을 조사하였으며, 생리식염수만을 주입하였던 정상 대조군과 비교하여 그 차이점을 조사하였다.

4) 면역조직화학염색법에 의한 cyclin D1과 BrdU의 발현 검색

파라핀 포맷 절편을 탈파라핀화하고 에탄올(ethanol)에서 재함수화(rehydration)하였다. PBS 용액(pH 6.0)에 2분씩 3번 담근 후 메탄올(methanol)에 용해된 3%의 과산화 수소소(hydrogen peroxide)에 담가 실온에서 10분간 방치해 두었다. 이후 PBS로 2분씩 3회 세척한 후 PBS가 들어있는 용기에 넣고 마이크로파 오븐에서 3분간 두었다. PBS로 씻은 후 blocking antibody로 10분간 처치한 후 PBS로 2분씩 3회 세척하고, cyclin D1의 검사를 위해서는 1차 항체

(생쥐 단클론 항체, Novocastra Laboratory Ltd., Newcastle upon Tyne, UK)로, BrdU의 검사를 위해서는 rat anti-BrdU monoclonal antibody (Sera Laboratory, Susses, England)로 처치하여 4℃에서 밤새 방치하였다. 다음날 PBS로 세척한 후 2차 항체로 30분간 처치하고 PBS로 2분씩 3회 세척하였고, streptavidin-peroxidase conjugate에 부화(incubation)한 후 AEC kit (Dako A/S, Glostrup, Denmark)로 현미경하에서 발색을 하고 PBS로 세척 후 Mayer's hemaloxylin으로 대조염색을 하고 봉입하였다. 조직표본은 현미경하에서 관찰하여 cyclin D1의 발현 정도를 분석하였으며 3개의 400배 확대 시야에서 500개의 췌관세포 중 양성 세포 수를 세어 백분율로 표시하였고, 관찰한 전체 췌관 상피세포에 대한 염색된 췌관 상피세포의 백분율로 구하였고, BrdU의 발현은 발현된 세포의 특성을 관찰하였다.

5) 통계 처리

통계학적인 의의를 알아보기 위하여 Student t test와 Cox-ranked regression test를 시행하였으며 p값이 0.05 미만을 의의가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 햄스터에서의 조직학적 진단

BOP를 투여하지 않은 12마리의 대조군에서 조직학적으로 이상 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 2A). BOP를 투여받은 햄스터 중, 투여 후 16주에 희생한 햄스터는 4마리 모두에서 과형성이 관찰되었고, 20주에 희생된 햄스터에서는

Fig. 2. Serial changes of pancreatic histopathology of BOP treated hamster. (A) Normal pancreas was obtained from control (H&E stain, ×200). (B) Acini were replaced with newly developed tubular structures in 16 weeks BOP treated hamster (H&E stain, ×200). (C) A newly developed tubular structure is noted to be limited focally to some lobules in 16 weeks BOP treated hamster (H&E stain, ×200). (D) With time, more acini were replaced with newly developed tubular structures and at last near total pancreas parenchyma were replaced (H&E stain, ×200). (E) Proliferation and distention of newly developed ductal structures in peri- and intra- islet of Langerhans are observed in 20 weeks of BOP treated hamster (H&E stain, ×200). (F) Ductal hyperplasia is observed in existing main pancreatic duct in 16 weeks (H&E stain, ×200). (G) Marked papillary hyperplasia and metaplasia are noted in a newly developed tubular structure in 20 weeks hamster (H&E stain, ×200). (H) Metaplastic duct lined with tall columnar epithelium and adenocarcinoma is noted in 24 weeks BOP treated hamster pancreas (H&E stain, ×200). (I) Well differentiated adenocarcinoma is noted in 24 weeks BOP treated hamster pancreas (H&E stain, ×400).

1마리에서 과형성, 3마리에서 화생이, 24주에 희생된 햄스터에서는 1마리에서 화생, 3마리에서 선암이 각각 관찰되었다.

2. 햄스터의 췌장암 발암 과정의 형태학적 특징

햄스터에서 췌장암이 발생하는 일련의 과정을 H&E 염색하에서 관찰한 특징으로는, 시간이 경과함에 따라 소엽주위(perilobular)와 소엽 내(intralobular)에서 섬유화가 점차 진행되었으며, 섬유화 진행 정도와 병행하여 선방세포의 수는 점차 감소하였고, 선방세포가 위치해야 할 부위에서는 새롭게 췌관세포로 구성된 신생 관복합체(tubular complex)가 형성되었다(Fig. 2B-D). 신생 관복합체는 초기에는 소엽 내에 국한되어 나타나(Fig. 2B, C) 시간이 경과함에 따라 췌장 전체로 확산되며 기존의 선방세포가 위치하였던 대부분의 췌장을 신생 관복합체로 대체하는 양상을 보였다(Fig. 2D). 비록 드물기는 하지만 이와 같은 관상구조는 소도 내에서도 관찰되며 시간이 경과함에 따라 소

도세포 사이에서 관상구조를 구성하는 세포가 증식하는 소견을 보였다(Fig. 2E). 물론 기존의 췌관 상피세포에서도 시간 경과에 따라 과형성이 진행되고 일부 화생으로 진행되는 양상도 관찰되었으나(Fig. 2F), 췌장내 췌관구조로 생각되는 대부분은 신생 관복합체가 차지하였으며 시간 경과에 따라 상피세포들의 점차적인 비전형적 증식과 아울러 화생(metaplasia), 악성화(intraductal carcinoma, carcinoma in situ, invasive carcinoma)의 단계적 변화를 보였다(Fig. 2G-I).

3. Cyclin D1의 발현

Cyclin D1이 염색된 세포는 췌관세포로 생각되는 대부분 입방형(cuboidal)의 상피세포이었고 세포핵에 강하게 염색되었다(Fig. 3). 대조군에서는 선방세포와 소도세포에서는 발현되지 않았고, 극히 일부분에서 췌관세포에 발현이 되는 경우도 있었으나 그 정도는 극히 미미하였다(Fig. 3A). BOP 투여군에서는 신생 췌관구조의 상피세포 핵에서 cyclin D1의 현저한 과발현이 관찰되었다(Fig. 3B-F). Cyclin D1의 과발현은 암화 과정의 매우 초기 단계에서부터 관찰되기 시작하여, 선방세포가 소실되기 시작하며 새로운 관상구조가 형성되는 극히 초기 단계에서부터 뚜렷한 cyclin D1의 과발현이 관찰되었다(Fig. 4). 시간이 경과하며 관상구조를 구성하는 췌관세포가 증식함에 따라 cyclin D1은 관상구조를 구성하는 대부분의 췌관세포에서 과발현이 관찰되었다. 16주군에서는 발현율이 18%, 20주군에서는 29%, 24주군에서는 52%로 시간이 경과할수록 췌관세포가 과형성, 화생을 거쳐 선암으로 진행될수록 cyclin D1의 발현이 현저히 증가하였고 매우 강한 반응을 보였다(Fig. 4).

Fig. 3. Cyclin D1 expression in pancreatic tissue of control and BOP treated hamster. (A) Cyclin D1 immunoactivity is not observed in control (cyclin D1, $\times 200$). (B)-(D) Cyclin D1 is noted in the nucleus of newly developed tubular epithelium in 16 weeks BOP treated hamster (immunohistochemical stain, $\times 100$, $\times 200$, and $\times 400$, respectively). (E) Nuclear cyclin D1 immunoactivity is stronger in 20 weeks BOP treated hamster than in 16 weeks BOP treated hamster (immunohistochemical stain, $\times 200$). (F) Numerous and stronger immunoactivity is noted in well differentiated adenocarcinoma in 24 weeks BOP treated hamster (immunohistochemical stain, $\times 200$).

Fig. 4. The percentage of cyclin D1 positive cells in the pancreas of BOP treated hamsters. Expression of cyclin D1 in BOP treated hamster increased with time ($p < 0.05$).

4. BrdU의 발현

췌장암으로 진행되는 과정 중 세포증식도가 증가되는 것과, 이 부위가 cyclin D1의 발현과 일치하는지를 알아보기 위해 희생 2시간 전 BrdU를 햄스터 복강에 주입하였다. BrdU는 특징적으로 증식하는 세포의 DNA 합성 기간에 DNA에 결합되는 특징이 있어서 세포증식도를 알아보는 데 이용되는 물질이다.¹⁹ BrdU를 표지한 햄스터에서 대조군에서는 미약하게 발현되었고, 비록 BOP 투여군의 기존의 췌관 구조에서도 BrdU 면역 활성도를 보이기는 하였으나 그 정도가 미약한 반면, 선방세포에서 이행된 것으로 추정되는 관상구조의 췌관 상피세포의 핵에는 매우 강한 면역 활성도를 보였다(Fig. 5). 이와 같은 BrdU 면역 활성도 역시 신생 관복합체의 크기가 증가하고, cyclin D1 발현이 점차 증가하는 것과 비례하여 증가하였다(Fig. 5).

Fig. 5. BrdU positivity in the pancreas of control and BOP treated hamster. (A) BrdU immunoreactivity is not noted in control (BrdU stain, $\times 100$). (B) Weak BrdU immunoreactivity is noted in existing ductal structure in 16 weeks BOP treated hamster (BrdU stain, $\times 100$). (C) Acini were replaced with newly developed tubular ductal structures and scattered strong BrdU immunoreactivity is noted in the epithelium (BrdU stain, $\times 200$). (D) Numerous strong BrdU positivity is noted in the ductal epithelial cells of huge cystic structures in 20 weeks BOP treated hamster (BrdU stain, $\times 200$).

고 찰

췌장암은 *K-ras* 암유전자, p16, p53 및 DPC4 등의 암유전자 및 종양억제유전자의 변이가 매우 빈번히 관찰되는 암으로 이들 유전자 모두가 세포주기 중 G1 주기의 checkpoint 역할에 관여한다는 점으로 미루어, G1기의 변화가 췌장암

발암 과정에 있어 주된 역할을 할 것으로 생각된다. Cyclin은 세포주기의 진행을 조절하는 단백질로, 이 중 G1기에 관여하는 cyclin D1은 G1기에서 S기로 전환을 조절하는 가장 중요한 단백질로 알려져 있다. Cyclin D1은 cdk4/6 (cyclin-dependent kinase)과 함께 retinoblastoma (Rb) 단백질을 인산화시켜 G1-S기 전환에 필요한 요소인 E2F를 Rb 단백질로부터 유리케 하여 핵 내의 전사 유도인자와의 결합을 유도하여 전사 유도인자가 활성화되어 G1-S기 전환을 촉진한다. Cyclin D1의 과발현은 G1-S기 전환을 짧게 하고, 세포의 증식과 분화를 촉진하여 궁극적으로는 세포주기의 조절 능력을 잃게 되어 종양 형성을 초래하게 된다고 생각되고 있다.^{9,10}

Cyclin D1은 유방암,¹¹ 식도암,¹² 두경부암,¹³ 대장암,¹⁷ 전립선암,¹⁴ 그리고 췌장암^{15,16} 등에서 발현이 증가되며, 유방암, 대장암, 췌장암 등에서는 cyclin D1의 과발현이 불량한 예후와 연관된다고 보고된 바 있다.¹¹⁻¹⁷ 현재까지 cyclin D1은 여러 암종에서 과발현을 보이고, *myc*, *ras* 등 암유전자에 의해 유도되며,^{20,21} cyclin D1을 발현하는 백서의 배아 섬유아세포 세포계(embryo fibroblastic cell line)를 주입하였을 때 섬유육종(fibrosarcoma)이 유도된 점 등을 볼 때, cyclin D1은 암유전자로서 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.²² 그러나 아직까지 cyclin D1이 췌장암 발암 과정의 초기단계에서 정확히 어떠한 역할을 하는지에 대해서는 밝혀진 바가 없다. 췌장암의 전암 병소인 만성 췌장염에서 cyclin D1의 발현이 정상 췌장에서보다 증가되어 있어 만성 췌장염에서의 cyclin D1의 과발현은 최종적으로는 과증식을 일으켜 췌장의 암화 과정에 기여할 것이라는 보고가 있다.²³ 대장선종에서는 cyclin D1과 cdk4의 발현 증가는 전암 병소에서의 세포증식도(proliferative activity)의 증가와 이형성(dysplasia) 발생에 관여되며 대장의 발암 과정의 비교적 초기 단계에 관여한다는 보고도 있다.¹⁹ 또한 cyclin D1의 과발현이 췌장의 조기 암과 진행 암에서 차이가 없음을 통해 cyclin D1의 과발현은 췌장암 발암 과정의 초기 단계에 일어난다는 연구 결과도 있다.¹⁵

본 연구에서는 햄스터 췌장암 모델을 사용하였는데 이는 형태학적 생화학적인 측면에서 인체의 췌장암과 가장 유사한 양상을 보여 일반적으로 췌장암 연구에 널리 이용되는 동물 모델이다. 본 연구 결과, 실험 시작 16주경, 비교적 발암 과정 초기에 관찰되는 대표적인 특징은 선방세포의 수적 감소 및 이와 병행해서 선방세포가 위치한 부위에서 새롭게 형성된 췌관세포로 구성된 관상구조의 증식이다. 반면에 기존의 췌관 상피세포에서는 별다른 변화가 관찰되지 않았다. 이후 과형성, 화생, 그리고 악성 변화로의 일련의 변화가 선방세포에서 이행된 것으로 추정되는 신생 췌관구조의 내부에서 관찰되었다. 이와 같은 형태학적 변화는

새롭게 형성된 관상구조를 보이는 췌관세포는 선방세포가 위치한 곳의 세포가 변화하여 새롭게 형성되었음을 의미하며, 형성 과정이 선방세포로부터 췌관세포로의 이행분화(transdifferentiation)에 기인하거나 또는 선방세포가 위치한 곳에 존재하는 분화잠재능력을 갖고 있는 세포 즉 췌장내 존재할 것으로 짐작되는 성체 줄기세포의 췌관세포로의 분화 증식에 기인함을 의미한다. 즉 이와 같은 햄스터에서 관찰된 일련의 발암 과정으로 볼 때 췌장암의 기원세포는 지금까지 알려져 왔던 기존의 췌관세포에서 유래한 것이 아닌 선방세포와 같이 다른 유형의 세포에서 유래할 수 있음을 강력히 시사한다.

햄스터 췌장 실질내 선방세포의 췌관 구조로의 이행과 이후 발생한 일련의 단계적 발암 과정에 있어 암화 과정으로 진행될수록 cyclin D1의 발현은 증가되었고, BrdU를 통해 평가한 세포증식도 역시 신생 췌관 구조의 상피세포에서 증가되어 있어, 선방세포에서 췌관세포로의 이행이 췌장암 발생에 있어 필수적이고 또한 초기 단계이며 동시에 cyclin D1의 발현 증가가 이와 같은 암화 진행 과정에 중요한 역할을 할 것으로 추정해 볼 수 있다.

결론적으로 본 연구에서의 BOP 유도 햄스터 췌장암 모델에서 관찰되는 췌장암 발암 과정의 초기 변화는 인체의 췌장암 발암 과정에서도 적용이 가능한 변화일 가능성이 높으며, 성체 줄기세포가 암화 과정의 핵심적인 역할을 할 것이라는 많은 가정들을 입증할 수 있는 새로운 가능성을 시사하고 있는 소견으로 생각되어 향후 성체 줄기세포와 암화 과정에 대한 보다 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

목적: 인체의 췌장암은 일반적으로 췌관 상피세포에서 기원한 것으로 인식되고 있으나 아직까지 명확히 밝혀지지 않은 채 최근 들어 그 기원세포에 대한 논란이 많이 제시되고 있다. 화학 발암제인 BOP 유도 햄스터 췌장암 모델은 형태학적으로 췌관상피 선암으로 인체의 췌장암과 유사하여 췌장암 연구에 널리 이용되는 동물 모델이다. Cyclin D1은 세포주기 중 G1기에서 S기로 진행되는 과정을 조절하는 가장 중요한 단백질로 이미 여러 종양에서 발현 증가가 보고된 바 있으며 발암 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 아직까지는 그 구체적인 역할에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 본 연구는 햄스터 췌장암 모델을 이용하여 발암 과정의 형태학적 변이를 단계적으로 알아봄과 동시에 각 단계별로 cyclin D1과의 상관관계를 알아보고자 하였다. **대상 및 방법:** Syrian Golden 햄스터 24마리 중 12마리는 대조군으로 생리식염수만 주입하고, 다른 12마리에 BOP 15 mg/kg를 주 1회씩 총 12회를 피하주사 후 시작

시점으로부터 16주, 20주, 24주에 각각 군당 4마리씩 췌장 조직을 얻어 파라핀 포맷 절편을 만들었다. H&E 염색을 시행하여 췌장암이 발생하는 단계적 과정을 형태학적으로 분석하였고, cyclin D1에 대한 단클론 항체로 면역조직화학 염색을 시행하여 cyclin D1 발현과 췌장암 발암 과정의 관련성을 살펴보았다. **결과:** 시간 경과에 따른 췌장의 단계적인 형태학적 변화로는 점진적인 선방세포의 감소와 소엽주위 또는 소엽내 새로운 췌관 구조의 발생, 선방세포의 췌관세포로의 이행 및 이에 따른 췌관세포의 증식, 췌관세포의 과형성 및 화생, 선암의 단계적 변화가 관찰되었다. Cyclin D1은 대조군에서 미미하게 발현되었고 BOP 주사군에서는 선방세포에서 이행되었을 것으로 추정되는 췌관세포의 과형성, 화생 및 선암의 단계적 진행에 따라 cyclin D1의 발현이 현저히 증가되었다. **결론:** BOP 유도 햄스터 췌장암 모델에 의한 췌장암은 선방세포에서 이행분화된 췌관세포에서 기원할 가능성이 높으며, 이와 같이 신생된 췌관세포에서 G1기 조절인자인 cyclin D1의 발현 증가가 암화 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다. 아울러 향후 유전자의 단계적인 변이와의 상관관계 규명이 필요할 것으로 생각된다.

색인단어: 햄스터, BOP, Cyclin D1, 췌장암

참 고 문 헌

1. Pour P, Althoff J, Kruger FW, Mohr U. A potent pancreatic carcinogen in syrian hamster: N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *J Natl Cancer Inst* 1977;58:1449-1453.
2. Takahashi M, Pour P, Althoff J, Donnelly T. Sequential alteration of the pancreas during carcinogenesis in syrian hamsters by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Cancer Res* 1977;37:4602-4607.
3. Cerny WL, Mangold KA, Scarpelli DG. K-ras mutation is in an early event in pancreatic duct carcinogenesis in the syrian golden hamster. *Cancer Res* 1992;52:4507-4513.
4. Longnecker DS, Memoli V, Pettengill OS. Recent results in animal models of pancreatic carcinoma: histogenesis of tumors. *Yale J Biol Med* 1992;65:457-464.
5. Takahashi M, Arai H, Kokubo T, Furukawa F, Kurata Y, Ito N. An ultrastructural study of precancerous and cancerous lesions of the pancreas in Syrian golden hamsters induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Gann* 1980;71:825-831.
6. Wagner M, Gretten FR, Weber CK, et al. A murine tumor progression model for pancreatic cancer recapitulating the genetic alterations of the human disease. *Genes Dev* 2001;15:286-293.

7. Pour PM, Weide L, Liu G, et al. Experimental evidence for the origin of ductal-type adenocarcinoma from the islets of Langerhans. *Am J Pathol* 1997;150:2167-2180.
8. Flaks B, Moore MA, Flaks A. Ultrastructural analysis of pancreatic carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1980;1:693-706.
9. Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993;73:1059-1065.
10. Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994;79:551-555.
11. McIntosh GG, Anderson JJ, Milton I, et al. Determination of the prognostic value of cyclin D1 overexpression in breast cancer. *Oncogene* 1995;11:885-891.
12. Naitoh H, Shibata J, Kawaguchi A, Kodama M, Hattori T. Overexpression and localization of cyclin D1 mRNA and antigen in esophageal cancer. *Am J Pathol* 1995;146:1161-1169.
13. Pignataro L, Pruneri G, Carboni N, et al. Clinical relevance of cyclin D1 protein overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:3069-3077.
14. Jeong JS, Rha SH, Yoon JH, Park JI. Cyclin D1 overexpression in prostate adenocarcinoma with immunohistochemistry. *Dong-A J Med* 1996;8:209-218.
15. Gansauge S, Gansauge F, Ramadani M, et al. Overexpression of cyclin D1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1997;57:1634-1637.
16. Kornmann M, Ishiwata T, Itakura J, Tangvoranuntakul P, Beger HG, Korc M. Increased cyclin D1 in human pancreatic cancer is associated with decreased postoperative survival. *Oncology* 1998;55:363-369.
17. Maeda K, Chung YS, Kang SM, et al. Cyclin D1 overexpression and prognosis in colorectal adenocarcinoma. *Oncology* 1998;55:145-151.
18. Chang KW, Laconi S, Mangold KA, Hubchak S, Scarpelli DG. Multiple genetic alterations in hamster pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res* 1995;55:2560-2568.
19. Zhang T, Nanney LB, Lamps L, Heppner KJ, DuBois RN, Beauchamp RD. Concurrent overexpression of cyclin D1 and cyclin-dependent kinase 4 (Cdk4) in intestinal adenomas from multiple intestinal neoplasia (Min) mice and human familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1997;57:169-175.
20. Filmus J, Robles AI, Shi W, Wong MJ, Colombo LL, Conti CJ. Induction of cyclin D1 overexpression by activated ras. *Oncogene* 1994;9:3627-3633.
21. Daksis JJ, Lu RY, Facchini LM, Marhin WW, Penn LJ. Myc induces cyclin D1 expression in the absence of de novo protein synthesis and links mitogen-stimulated signal transduction to the cell cycle. *Oncogene* 1994;9:3635-3645.
22. Jiang W, Kahn SM, Zhou P, et al. Overexpression of cyclin D1 in rat fibroblasts causes abnormalities in growth control, cell cycle progression and gene expression. *Oncogene* 1993;8:3447-3457.
23. Kornmann M, Ishiwata T, Arber N, Beger HG, Korc M. Increased cyclin D1 expression in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1998;17:158-162.