

## 2-아세틸아미노플루오렌과 페노바르비탈을 리용하여 간콩팔증후군모형을 만들기 위한 실험적연구

장은정, 리영

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《진단을 바로하는것은 병치료를 잘하기 위한 선결조건입니다. 진단을 바로하여야 치료대책을 똑똑히 세우고 병치료를 잘할수 있습니다.》(《김정일선집》증보판 제7권 441페이지)

간콩팔증후군(Hepatorenal syndrome: HRS)은 중증간질병때 생기는 콩팔부전의 한 형태로서 간경변때 나타나는 치사적인 합병증이며 일단 진단되면 2주일만에 절반이상의 환자들이 사망하기때문에 립상실천에서 무시할수 없는 질병의 하나이다.[3, 7]

간경변환자들에서 간콩팔증후군의 년간발생률은 8~40%이다.[4, 6]

현재 중독성간손상모형중에서 흔히 쓰이고있는  $\text{CCl}_4$ 은 간장애와 동시에 콩팔장애를 유도하기때문에 HRS모형만들기에는 적합하지 않다.[8] 따라서 간에 대하여 특이적인 손상을 일으키는 인자선택이 HRS모형만들기에서 선차적인 문제로 나선다.

선행연구에서는 담관결찰에 의한 급성간손상으로 콩팔장애를 유도[9]하였으나 이 모형은 전형적인 HRS모형으로는 되지 못하며 또 그 치사률이 높은것으로 하여 광범히 쓰이지 못하고있다.

2-아세틸아미노플루오렌(2-Acetylaminofluorene: 2-AAF)은 사립체에 작용하여 세포의 아포토시스와 재생성증식을 일으켜 간경변모양으로 간소엽을 변화시킨다.[5]

우리는 2-AAF와 페노바르비탈을 리용하여 간콩팔증후군모형을 흰쥐에서 재현하고 이때 나타나는 간 및 콩팔기능형태학적지표들의 변화를 확증하여 그 장애물림새와 치료대책적문제를 해결하기 위한 연구를 하였다.

### 대상과 방법

연구대상 실험동물로는 김일성종합대학 평양의학대학 동물과에서 사육한 몸질량이 110~210g인 흰쥐 140마리를 암수구별없이 리용하였다.

실험약물로는 2-아세틸아미노플루오렌(2-Acetylaminofluorene)과  $\text{CCl}_4$ , 페노바르비탈을 리용하였다.

간장애모형만들기 급성간장애모형은 2-AAF용액을 20mg/kg 용량으로, 50%  $\text{CCl}_4$ 콩기름액을 0.12mL/100g용량으로 2일에 한번씩 세번 복강주사하여 만들었다. 마지막주사후 하루 지나서 혈청, 간장 및 콩팔조직을 채취하여 검사에 리용하였다.

아급성간장애모형은 2-AAF용액을 20mg/kg 용량으로, 50%  $\text{CCl}_4$ 콩기름액을 0.12mL/100g 용량으로 3일에 한번씩 10회 복강주사하여 만들었다. 마지막주사후 하루 지나서 혈청, 간장 및 콩팔조직을 채취하여 검사에 리용하였다.

간기능형태학적검사지표와 검사방법 혈청ALT, AST활성은 라이트만-프랑켈법, 혈청알부민/글로불린검사는 한천겔전기영동법, 혈청ZTT는 류산아연반응으로 검사[1]하였다.

병리조직학적검사는 간장의 조직절편을 떼내어 10% 포르말린에 고정한 후 파라핀포매박절표본을 만들고 H-E염색하여 10×10배에서 세포삭문란, 수종성변성, 세포괴사정도를 관찰하였다.

콩팥기능형태학적지표와 검사방법 혈청 및 오줌크레아티닌(SCr, UCr)함량은 Popper-Mander-Mayer법, 혈청노소질소(BUN)함량은 우레아제-인디아페놀법으로 측정[2]하였다.

기타 오줌단백함량, 오줌나트륨(UNa)함량, 콩팥부전지수를 측정하였다.

콩팥조직의 병리조직학적검사는 H-E염색을 진행하고 400배 현미경상에서 검사하였다.

## 결과 및 논의

### 1) 2-AAF에 의한 간콩팥증후군모형작성의 합리적인 조건

2-AAF의 용량에 따르는 간기능과 콩팥기능지표의 변화 2-AAF를 10, 20, 30, 40mg/kg 용량으로 1회 복강주사하였을 때 간기능과 콩팥기능지표의 변화를 보기 위하여 혈청ALT, AST활성과 SCr 및 BUN함량을 측정하고 CCl<sub>4</sub>(50% CCl<sub>4</sub>용기름액 0.12mL/100g)을 복강주사하였을 때와 비교한 결과는 표 1과 같다.

표 1. 2-AAF 1회 주입때 간기능과 콩팥기능지표의 변화

구분	용량	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	SCr/(mg·dL <sup>-1</sup> )	BUN/(mg·dL <sup>-1</sup> )
정상무리	—	32.5±2.2	43.2±2.7	0.87±0.08	44.7±1.8
2-AAF주입 무리	CCl <sub>4</sub> 주입 무리	76.5 <sup>**</sup> ±5.3	85.3 <sup>**</sup> ±5.7	1.20 <sup>*</sup> ±0.09	48.6±1.4
	10mg/kg	46.1 <sup>*</sup> ±4.3	62.5 <sup>*</sup> ±6.4	0.90±0.08	47.2±1.9
	20mg/kg	82.3 <sup>**</sup> ±7.3	90.4 <sup>**</sup> ±5.3	0.91±0.06	47.5±2.4
	30mg/kg	104.6 <sup>**</sup> ±8.5	116.3 <sup>**</sup> ±9.5	0.93±0.08	48.2±3.3
	40mg/kg	116.4 <sup>**</sup> ±9.3	132.4 <sup>**</sup> ±9.9	0.94±0.09	49.0±2.5

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$

표 1에서 보는바와 같이 CCl<sub>4</sub>, 2-AAF를 1회 주입하였을 때 혈청ALT, AST활성은 모든 용량에서 정상무리보다 유의하게 증가하였고 SCr함량은 CCl<sub>4</sub>를 주입하였을 때에만 유의하게 증가하였다.

2-AAF에 의한 급성 및 아급성간장애때 간 및 콩팥기능지표의 변화 급성간장애모형에서 간 및 콩팥기능지표의 변화를 보기 위하여 2-AAF를 20mg/kg 용량으로 2일에 한번씩 3회 복강주사하였을 때 혈청ALT, AST활성과 SCr 및 BUN함량을 측정하고 CCl<sub>4</sub>(50% CCl<sub>4</sub>용기름액 0.12mL/100g)을 복강주사하였을 때와 비교한 결과는 표 2와 같다.

표 2. 급성간장애를 유도하였을 때 간장기능과 콩팥기능의 변화

구분	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	SCr/(mg·dL <sup>-1</sup> )	BUN/(mg·dL <sup>-1</sup> )
정상무리	32.5±2.24	43.2±2.68	0.87±0.08	44.7±1.82
CCl <sub>4</sub> 주입 무리	88.3 <sup>**</sup> ±5.64	103.5 <sup>**</sup> ±5.35	1.33 <sup>*</sup> ±0.11	54.8 <sup>*</sup> ±1.72
2-AAF주입 무리	91.6 <sup>**</sup> ±6.33	104.6 <sup>**</sup> ±6.78	1.12±0.13	49.0±1.88

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$

표 2에서 보는바와 같이 CCl<sub>4</sub>, 2-AAF를 하루건너 한번씩 3회 주입하여 급성간장애를 유도하였을 때 혈청ALT, AST활성은 모두 정상무리보다 유의하게 증가하였으나 SCr 및 BUN함량은 CCl<sub>4</sub>무리에서만 유의하게 증가하

였다.

아급성간장애모형에서 간 및 콩팥기능지표의 변화를 밝히기 위하여 2-AAF를 20mg/kg 용량으로 3일에 한번씩 10회 주입하였을 때 혈청ALT, AST활성과 SCr 및 BUN함량을 측정하고 CCl<sub>4</sub>(50% CCl<sub>4</sub>콩기름액 0.12mL/100g)을 주입하였을 때와 비교한 결과는 표 3과 같다.

표 3. 아급성간장애를 유도하였을 때 간장기능과 콩팥기능의 변화

구분	주입방법	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	SCr/(mg·dL <sup>-1</sup> )	BUN/(mg·dL <sup>-1</sup> )
정상무리		32.5±2.24	43.2±2.68	0.87±0.08	44.7±1.82
CCl <sub>4</sub> 주입무리	복강	83.6 <sup>**</sup> ±4.56	90.2 <sup>**</sup> ±5.67	1.96 <sup>**</sup> ±0.17	68.5 <sup>**</sup> ±4.65
	피하	76.4 <sup>**</sup> ±3.28	81.3 <sup>**</sup> ±4.52	1.24 <sup>*</sup> ±0.12	57.7 <sup>*</sup> ±3.82
2-AAF주입무리	복강	88.5 <sup>**</sup> ±5.45	94.8 <sup>**</sup> ±5.89	2.18 <sup>**</sup> ±0.18	73.2 <sup>**</sup> ±5.32
	피하	79.7 <sup>**</sup> ±4.31	86.5 <sup>**</sup> ±4.32	1.32 <sup>*</sup> ±0.14	54.2±4.36

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ (정상과 비교),  $n=5$

표 3에서 보는바와 같이 CCl<sub>4</sub>, 2-AAF를 3일에 한번씩 10회 주입하여 아급성간장애를 유도하였을 때 복강주사한 무리에서 혈청ALT, AST활성은 모두 정상무리보다 유의하게 증가하였다. 한편 SCr, BUN함량은 2-AAF를 복강주사한 무리에서 정상무리보다 유의하게 증가하였으며 피하주사한 무리에서는 SCr함량은 유의하게 증가하였으나 BUN함량에서는 유의차가 없었으며 CCl<sub>4</sub>을 복강 및 피하주사한 무리에서는 모두 SCr 및 BUN함량의 유의한 증가가 인정되었다.

2-AAF주입경과에 따르는 SCr함량의 변화 2-AAF를 20mg/kg 용량으로 복강주사하였을 때 어느 경과시점에서부터 콩팥기능이 장애되는가를 평가하기 위하여 아급성간장애를 유도하고 경과기일에 따르는 SCr함량의 변화를 관찰한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 2-AAF주입때 경과기일에 따르는 SCr함량의 변화

구분	SCr/(mg·dL <sup>-1</sup> )				
	12d	21d	24d	27d	30d
정상무리	0.88±0.07	0.90±0.12	0.89±0.09	0.91±0.11	0.90±0.13
2-AAF주입무리	1.12±0.08	1.15±0.13	1.26±0.14	1.58 <sup>*</sup> ±0.12	2.18 <sup>**</sup> ±0.18

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ (정상과 비교),  $n=5$

표 4에서 보는바와 같이 SCr함량은 27일부터 정상무리보다 유의하게 증가되었다. 이로부터 우리는 2-AAF를 20mg/kg 용량으로 3일에 한번씩 10회 복강주사하여 간장애에 의한 콩팥장애를 일으키려고 하였다.

## 2) 간콩팥증후군모형흰쥐에서 간 및 콩팥기능지표들의 변화

간기능지표들의 변화 페노바르비탈첨가가 간기능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 2-AAF, 2-AAF+페노바르비탈주입때 몇가지 간기능검사지표의 변화를 비교한 결과는 표 5와 같다.

표 5에서 보는바와 같이 2-AAF, 2-AAF+페노바르비탈주입 28일 때 모든 간장기능지표들은 정상무리보다 유의하게 변화되었으며 특히 2-AAF+페노바르비탈주입무리에서 더 뚜렷하게 변화되는 경향성이 나타났다.

표 5. 2-AAF+페노바르비탈주입 28d때 몇가지 간장기능지표의 변화

구분	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	A/G	ZTT/(U·L <sup>-1</sup> )
정상무리	32.5±2.24	43.2±2.68	1.32±0.08	4.68±0.32
2-AAF주입 무리	83.4 <sup>**</sup> ±4.74	92.6 <sup>**</sup> ±6.02	0.84 <sup>**</sup> ±0.07	18.4 <sup>**</sup> ±1.24
2-AAF+페노바르비탈주입 무리	88.5 <sup>**</sup> ±5.38	96.8 <sup>**</sup> ±5.94	0.67 <sup>**</sup> ±0.06	24.3 <sup>**</sup> ±1.46

\*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$ 

콩팥기능지표들의 변화 2-AAF+페노바르비탈을 주입할 때 어느 경과시점에서부터 콩팥 기능이 장애되는가를 평가하기 위하여 아급성간장애를 유도하고 경과기일에 따르는 SCr, BUN함량의 변화를 관찰하였다.(표 6)

표 6. 2-AAF+페노바르비탈주입때 경과기일에 따르는 SCr, BUN함량의 변화

지표	구분	경과기일				
		12d	21d	24d	27d	30d
SCr	정상무리	0.88±0.07	0.90±0.12	0.89±0.09	0.91±0.11	0.90±0.13
/(mg·dL <sup>-1</sup> )	2-AAF+페노바르비탈주입 무리	1.18±0.09	1.24±0.11	1.62 <sup>*</sup> ±0.14	2.21 <sup>**</sup> ±0.15	2.73 <sup>**</sup> ±0.19
BUN	정상무리	44.7±1.82	44.6±1.34	44.9±1.56	45.0±1.20	44.9±1.47
/(mg·dL <sup>-1</sup> )	2-AAF+페노바르비탈주입 무리	47.6±1.92	49.4±1.68	56.6 <sup>*</sup> ±2.32	83.3 <sup>**</sup> ±3.68	92.5 <sup>**</sup> ±5.64

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$ 

표 6에서 보는바와 같이 2-AAF+페노바르비탈주입때 SCr, BUN함량은 24일부터 정상 무리보다 유의하게 증가되었다.

표 7. 2-AAF+페노바르비탈 10회주입때  
오줌단백함량과 UCr함량의 변화

구분	오줌단백함량 /(mg·dL <sup>-1</sup> )	UCr /(mg·dL <sup>-1</sup> )
정상무리	3.0±0.3	108.6±10.4
2-AAF주입 무리	53.6 <sup>*</sup> ±6.3	68.5 <sup>*</sup> ±6.13
2-AAF+페노바르비탈주입 무리	64.7 <sup>**</sup> ±7.8	54.3 <sup>**</sup> ±6.52

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$ 

량은 정상무리보다 유의하게 변화되었으며 그것은 2-AAF+페노바르비탈무리에서 더 뚜렷하게 변화되는 경향성이 나타났다.

2-AAF+페노바르비탈을 10회 주입하였을 때 오줌나트륨(UNa)함량과 콩팥부전지수 변화를 28일에 측정한 결과는 표 8과 같다.

표 8에서 보는바와 같이 2-AAF와 2-AAF+페노바르비탈을 10회 주입하였을 때 UNa함량은 정상무리보다 유의하게 감소하였고 콩팥부전지수는 유의하게 증가하였으며 그것은 2-AAF+페노바르비탈무리에서 더 뚜렷하게 변화되는 경향성이 나타났다.

표 8. 2-AAF+페노바르비탈 10회주입때  
UNa함량과 콩팥부전지수의 변화

구분	UNa /(mEq·L <sup>-1</sup> )	콩팥부전지수 /(mmol·L <sup>-1</sup> )
정상무리	72.4±4.72	0.91±0.09
2-AAF주입 무리	22.5 <sup>**</sup> ±1.92	1.33 <sup>*</sup> ±0.12
2-AAF+페노바르비탈주입 무리	13.4 <sup>**</sup> ±9.42	1.54 <sup>**</sup> ±0.11

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ (정상과 비교),  $n=5$

### 3) 2-AAF와 페노바르비탈주입때 간 및 콩팥조직의 병리조직학적소견

간장조직에서의 병리조직학적소견 HRS모형 흰쥐에서 간장병리조직학적소견을 관찰하기 위하여 2-AAF, 2-AAF+페노바르비탈주입때 병리조직학적소견을 비교한 결과는 표 9와 같다.

표 9. 2-AAF+페노바르비탈주입 28d때 병리조직학적소견의 변화

구 분	세 포삭문란	수 종성변성	세 포괴사
정상무리	0	0	0
2-AAF주입 무리	3.0±0.2	3.1±0.4	2.7±0.2
2-AAF+페노바르비탈주입 무리	3.7±0.1	3.8±0.2	3.1±0.3

표 9에서 보는바와 같이 2-AAF, 2-AAF+페노바르비탈주입 28일 때 간조직의 병리조직학적소견들이 나타났으며 특히 2-AAF+페노바르비탈주입무리에서 더 뚜렷하게 변화되는 경향성이 나타났다.

콩팥조직에서의 병리조직학적소견 HRS모형 흰쥐에서 콩팥의 기질적변화정도를 평가하기 위하여 2-AAF+페노바르비탈을 10회 주입하였을 때 피질과 수질에서의 병리조직학적검사를 진행한 결과는 표 10, 11과 같다.

표 10. 세뇨관상피세포의 병리조직학적소견

소견	변화정도			
	—	+	++	+++
변성	9(60.0%)	5(33.3%)	1(6.7%)	—
위축	10(66.7%)	5(33.3%)	—	—
괴사	10(66.7%)	4(26.6%)	1(6.7%)	—

n=15

표 11. 콩팥조직의 울혈 및 출혈소견

소견	변화정도			
	—	+	++	+++
울혈	9(60.0%)	6(40.0%)	—	—
간질의 출혈	12(80.0%)	3(20.0%)	—	—

표 10에서 보는바와 같이 2-AAF+페노바르비탈을 10회 주입하였을 때 세뇨관상피세포의 변성소견은 양성(+)인것이 33.3%였으며 최강양성(+++)인것은 한례도 없었다. 한편 세뇨관상피세포의 위축소견은 양성(+)인것이 33.3%였으며 강양성(++), 최강양성(+++)인것은 한례도 없었다. 그리고 세뇨관상피세포의 괴사소견은 양성(+)인것이 26.6%였으며 최강양성(+++)인것은 한례도 없었다.

표 11에서 보는바와 같이 2-AAF+페노바르비탈을 10회 주입하였을 때 콩팥조직의 울혈소견은 양성(+)인것이 40%였으며 강양성(++), 최강양성(+++)인것은 한례도 없었다. 한편 콩팥간질조직의 출혈소견은 양성(+)인것이 40%였으며 강양성(++), 최강양성(+++)인것은 한례도 없었다.

## 맺 는 말

흰쥐에서 간콩팥증후군모형은 2-AAF 20mg/kg+페노바르비탈 35mg/kg과 섞어서 3일에 한번씩 10회 복강주사하는 방법으로 만든다.

간콩팥증후군모형흰쥐에서 혈청크레아티닌함량, 혈청노소질소함량, 오줌단백량과 콩팥부전지수는 증가하고 오줌크레아티닌함량, 오줌나트륨함량은 감소하며 간장에서의 수종성변성, 세 포삭문란, 세 포괴사 그리고 세뇨관상피세포의 변성, 위축, 괴사소견과 콩팥울혈과 콩팥간질에서의 출혈이 인정된다.

## 참 고 문 헌

- [1] 김응빈; 약리학기초실험 2, 고등교육도서출판사, 95~98, 1992.
- [2] 맹주성; 림상생화학검사법, 과학백과사전종합출판사, 298~300, 1981.
- [3] J. Fernandez et al.; Gastroenterology, 133, 818, 2007.
- [4] A. Gines et al.; Gastroenterology, 105, 229, 1993.
- [5] J. S. Kang et al.; Cancer Lett., 203, 1, 91, 2004.
- [6] S. Mitchell et al.; Med. Clin. Neur. Am., 92, 813, 2008.
- [7] G. C. Nguyen et al.; Clin. Gastroenterol. Hepatol., 5, 1092, 2007.
- [8] M. Ogeturk et al.; Cell. Biochem. Funct., 23, 2, 85, 2005.
- [9] H. S. Rivera et al.; Exp. Toxicol. Pathol., 58, 2, 185, 2006.

주체104(2015)년 10월 5일 원고접수

### **Experimental Study of Making Up a Model of Hepatorenal Syndrome with 2-Acetylaminofluorene and Phenobarbital**

*Jang Un Jong, Ri Yong*

We performed study to make a reproduction of HRS and investigate its functional, morphological changes of liver and kidney.

We made HRS model in rats by using abdominal inject of 2-AAF 20mg/kg 10 times every 3<sup>rd</sup> day with combining phenobarbital 35mg/kg.

SCr, BUN, urine protein and index of renal insufficiency were increased in the model of HRS rats. And UCr, UNa were decreased. It showed edematous degeneration, cellular bundle disorder and cellular necrosis in the livers and degeneration, atrophy, necrosis of tubulus renalis epithelium and nephrohemorrhage and hemorrhage.

Key words; hepatorenal syndrome, 2-acetylaminofluorene