

분화가 억제된 간재생 실험모델에서 PGE1 투여 후 간줄기 세포의 변화

이상호, 이충환

지방공사 부산의료원 내과, 고신대학교 일반외과

Hepatic Stem Cell Behavior after Injection of PGE1 on Proliferatively Impaired Regeneration Model

Sang Ho Lee, Chung Han Lee

Department of Internal Medicine, Busan Medical Center, Department of Surgery,
Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : When hepatocyte regeneration is impaired, facultative stem cells and their descendants, also called oval cells, become activated and produce cell progeny that eventually differentiate. We have analyzed the histological changes in rat liver after 2-acetylaminofluorene(AAF) and PGE1 administration with 70% hepatectomy.

Method : Male Sprague-Dawley rats weighing 200-220g were used. For induction of oval cells, the rats were treated according to the method for the AAF/PH model. Briefly AAF was dissolved in a small volume of dimethylsulfoxide, and suspended in 1% carboxymethylcellulose at a concentration of 1.5 mg/ml. Rats were daily administered AAF by gavage at a dosage of 10 mg/kg body weight for 4 days and underwent a standard 70% partial hepatectomy(PH) on day 5. Starting from the day after PH, the rats were daily administered AAF at the same dosage for 5 days on the impaired regeneration model group. On the PGE1 group, starting from the day after PH, the rats were daily administered PGE1 intravenously 30 μ g/kg for 5 days. They were killed on days 1, 3, 5, 7, 9, and 14 after the last drug administration on both groups.

Results : The BrDU-positive epithelial cells had extensively infiltrated in the periportal areas on days 1, 3, 5, 7 in AAF-treated group. In PGE1 group, BrDU-positive cells were located diffusely in liver parenchyme on days 1, 3, 5, 7. After the last AAF-treated day, small basophilic cells with a high nuclear : cytoplasmic ratio(oval cells) were evident in and around the portal tracts. These cells became more numerous with time and by day 9. Although in PGE1 group, oval cells were located in periportal area on days 1, 3, 5 after the last PGE1 administration, with time small hepatocytes were mainly infiltrated the liver parenchyme.

Conclusion : In the early stages of proliferatively impaired regeneration model, oval cells were mainly proliferated and capable of producing pluripotential progenitor cells. When PGE1 were administered, small hepatocytes were mostly proliferated with time.

Key words : regeneration, stem cell

서론

간세포 소실에 대한 반응으로 간이 재생되며, 휴

지기에 있는 간세포가 정상적인 세포주기를 따라 증식하여 간재생이 완성되는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 그러나, 어떠한 세포가 초기에 분화를 시작하며, 간의 어느 부위에서, 어떤 세포로 분화, 증식되어 간 재생이 완성되는지에 대한 정확한 과정은 밝혀지지 않고 있다.

교신저자 : 이 상 호

주소 : 611-072, 부산광역시 연제구 거제 2동 1330번지
지방공사 부산의료원 2층 소화기내과
TEL : 051-607-2295, FAX : 051-607-2473
E-mail : skysh1@kornet.net

이러한 간재생에 대한 연구 중에서 간세포의 재생이 손상되었을 때 활발하게 증식하는 미분화 세포에 대한 실험들이 진행되고 있다. 간세포의 재생이 손상되었을 때, 상대적으로 미분화된 세포가 문맥주위에서 출현하여 잠재적 재생능력을 가진 줄기세포로서의 역할을 수행하게 되는데 이를 oval cell이라고 하며,³⁾ 이 oval cell에 대한 연구로써, 2-acetylaminofluorene(AAF)과 함께 간절제술을 동반한 실험모델이 흔히 사용되고 있다.⁴⁻⁶⁾ 이는 사람에서 만성 간질환,⁷⁾ 간암,⁸⁾ 괴사성 질환⁹⁾ 에서, 쥐에서는 galactosamine 유도 손상^{10,11)} 등 여러 가지 상황에서 나타나는 것으로 보고되고 있다. 2-acetylaminofluorene과 같은 세포독성 carcinogens은 간세포 재생을 방해하며 문맥주위 지역에서 뚜렷한 세포 증식을 보이며 이는 oval cell의 전구세포로 oval cell의 활성화를 유도하는 것으로 생각된다¹²⁾. 간절제술 전후 AAF를 투여하여 성숙된 간세포의 재생이 억제된 상태에서 oval cell이 biliary ductule에 위치하고 있는 간줄기 세포에서 분화되어 주위 실질 조직으로 분화, 증식되어 가는 것을 볼 수 있다.^{3,13,14)} 이 oval cell은 간세포와 담도상피세포 모두로 분화되는 잠재력을 가지고 있으며, 또한 α -fetoprotein 과 cytokeratin-19 같은 표식자를 발현하는 fetal hepatocytes 와 bile epithelial cells의 양상도 보인다.^{10,15-17)}

성숙한 간세포 재생이 억제된 상태에서의 간재생은 어떤 세포가 주도하여 간재생을 완성하는가? 간세포의 손상을 회복시켰을 때 간재생에 관여하는 줄기 세포는 어떻게 변화될 것인가?

이에, 저자는 AAF 투여와 간절제술을 동반한 간재생 유도군에서 성숙한 간세포와 다른 줄기세포에서의 분화, 증식 과정을 관찰하고, 간세포의 손상 방지 및 간혈류 개선을 유도하는 prostaglandin E1을 투여하여 간재생에 관여하는 줄기세포의 변화를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

몸무게 200~220g 의 수컷 Sprague-Dawley 백서를 이용하였다. 모든 시술은 Ethyl Ether 흡입 마취 하에 시행하였으며, 시술 12시간 전에 금식시켰다. 분화를 억제시킨 간재생군 18마리, PGE1을 투여한 비교군 18마리가 실험대상이 되었으며, 실험 도중 위도관 소실, 간절제술로 인한 사망 쥐는 제외하였다.

2. 실험군

1) 분화를 억제시킨 간재생 실험 모델군

Ether 흡입 마취 하에 양와위 자세에서 좌측 상복부에 절개를 가하여 위 내에 23 gauge 나비 바늘을 이용하여 도관을 설치하였다. 위도관을 통해 1% carboxymethyl cellulose에 희석하여 용액 1 ml 당 2-acetylaminofluorene(AAF)가 1.5mg 되도록 하여 10mg/kg 을 연속 4일 동안 주입하였다. 5일째 되는 날 70% 간절제술을 시행하였으며, 이 후 연속 5일 동안 다시 AAF 10mg/kg을 주입하였다. 70% 간절제술은 상복부 중앙 절개 후 간의 median lobe 과 left lateral lobe을 각각의 혈관과 담관을 절찰한 후 절제하였다.

2) PGE1 투여군

분화를 억제시킨 간재생 실험 모델군과 동일하게, 위도관을 설치하여 연속 4일 동안 AAF 10mg/kg을 주입하였으며 5일째 되는 날 70% 간절제술을 시행하였다. 이 후 연속 5일 동안 음경정맥을 통해 PGE1을 30 μ g/kg 주입하였다. 양군 모두에서 마지막 투약 후 1일, 3일, 5일, 7일, 9일, 14일째 되는 날, 동물을 희생시키기 1시간 전 복강내로 BrDU 100mg/kg 를 주입하였으며, 1시간 뒤 회복하여 문맥을 통해 생리 식염수 10CC 로 perfusion 후 간조직을 얻었다.

3. 사용된 시약 및 조직학적 검사

1) 2-acetylaminofluorene(AAF)의 제조

소량의 dimethylsulfoxide(DMSO; Sigma, Lou, MS, USA)에 2-acetylaminofluorene(AAF; Sigma, Lou, MS, USA)을 용해시켜 1% carboxymethyl cellulose(Sigma, Lou, MS, USA)에 희석하여 용액 1 ml 당 AAF 가 1.5mg 이 되도록 만들었다.

2) BrDU incorporation

실험 동물을 희생시키기 1시간 전에 복강 투여 (100 mg/kg) 한 5-bromo-2-deoxyuridine(BrDU; Sigma chemicals, St Louis, MO, USA)에 대한 incorporation 은 각 파라핀 절편 을 대상으로 BrDU 단클론 항체 (Zymed, San Francisco, CA, USA)를 이용한 면역조직화학적 염색을 이용하였으며, 그 발현 방법은 항 BrDU 일차항체가 포함된 Zymed BrDU staining kit (Zymed, San Francisco, CA, USA)를 사용하여 avidin-biotin complex 법을 이용하였다. 파라핀에 포매된 조직을 4 um로 박절하여 probe-on 슬라이드 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA)에 부착시켜 탈파라핀 과정과 함수 과정을 거쳐 증류수로 세척하였다. 내인성 peroxidase를 억제하기 위해 30% 과산화수소를 100 % methanol 에 잘 혼합하여 반응(10분, 실온)시킨 다음 인산 완충액으로 3차례 (각 2 분) 세척한 다음 트립신을 처리(5분, 실온)하고 세척하였다. denaturing (20분)과 blocking (10분)은 kit내 준비된 시약으로 시행한 다음 biotin이 부착

된 항 BrDU 항체를 반응(1시간, 실온)시킨 후 인산 완충액으로 세척하고, streptavidin-peroxidase를 반응 (10분, 실온)시킨 후 2~3회 인산 완충액으로 세척하였다. DAB 혼합액으로 약 5분간 반응시키고 D/W로 수세한 다음 hematoxylin으로 대조 염색한 후 histomount로 봉입하였다. 평가 방법으로 간 구성 세포의 핵에서 갈색과립으로 발현한 것을 양성으로 판독하였으며, 복강 내 투여로 인한 확산에 의해 간 표면에서의 반응을 제외하였다. 각 절편에서 문맥역이 거의 원형에 가까운 모습을 한 대표적인 문맥 주변영역을 중심으로 양성 세포의 수를 40배 시야에서 실계수 하여 평균치를 구하였다.

3) 조직학적 검사

실험군 동물의 문맥을 통하여 생리식염수로 순환 혈액을 관류하고 4% 중성 formaldehyde 액으로 관류 고정을 시킨 뒤 재생된 간을 얻어 대표적인 간엽을 선택하여 평균 3 절편씩 제작하였다. 통상적인 조직 제작과정을 거쳐 헤마톡실린-에오진 염색을 실시하였으며, 저배율 시야에서 탐색한 후 문맥역의 절단면이 직각으로 잘 횡단된 부위를 선정하고 이 부위를 광학 현미경 400 배 배율(x40 objective and x10 ocular, American Optical micro star, 0.28 mm2(r=0.3mm) per field)에서 각 세포구성과 증식 분획에 대한 준 정량적 분석을 시행하였으며, 구체적인 기준은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. BrDU incorporation and Criteria of Semiquantitative Morphologic Analysis and Proliferating Cellular Components

Components Criteria	
BrDU uptake	Positive nucleus No/periportal area(x 400)
Oval cell	+/- no or a few cells in portoperiportal area + a few cells a few branching cords in periportal area ++ periportal expansion of branching cords within zone 1 +++ lobular expansion of branching cords within zone 2
Basophilic cell	- no basophilic small hepatocyte +/- a few isolated cells within zone 1 + a few clusters within zone 1 ++ several islands or lobular expansion within zone 1 +++ wide expansion within zone 2 and/or zone 3

결 과

1. 간절제술 후 시기별 재생에 따른 간 우측엽 무게의 변화

실험에 사용한 동물의 평균 몸무게는 200-220g 이었으며, 70% 간절제술 후 시기별로 측정된 간우측엽의 평균 무게는 AAF를 투여한 군에서는 1일째 5.4 g, 3일째 4.3 g, 5일째 4.9 g, 7일째 4.0 g, 9일째 6.6 g, 14일째 10.4 g이었다. PGE1을 투여한 군에서의 간우측엽의 무게는 1일째 5.9 g, 3일째 7.9 g, 5일째 15.9 g, 7일째 8.1 g, 9일째 10.9 g, 14일째 11.2 g이었다(Table 2).

Table 2. Weight of regenerating right lobe of liver after 70% hepatectomy

	AAF 투여군	PGE1 투여군
POD 1	5.4 g	5.9 g
POD 3	4.3 g	7.9 g
POD 5	4.9 g	15.9 g
POD 7	4.0 g	8.1 g
POD 9	6.6 g	10.9 g
POD 14	10.4 g	11.3 g

POD : postoperative day

2. BrDU uptake cell 의 분포 및 수

모든 실험 동물을 희생시키기 1시간 전 BrDU를 복강 내 주사하여 1시간 뒤 관류 후 얻은 간조직에서의 BrDU 섭취 정도를 관찰하였다. PGE1을 투여한 군에서는 BrDU 섭취 세포가 문맥 주위 지역인 zone 1에서 시술 후 1일째 35~40개, 3일째 60~70개, 5일째 5~10개, 7일째 3-5, 9일째부터는 거의 관찰되지 않았다. zone 2와 zone 3에서의 BrDU 섭취 세포는 zone 1과 비교하여 다소 감소되었다. AAF를 투여한 군에서는 BrDU 섭취 세포는 문맥 주위 지역인 zone 1에서 시술 후 1일째 5~63개, 3일째 37~82개, 5일째 20-93개, 7일째 22~65개, 9일째 17-47개, 14일째 7~17개 정도로 관찰되었다. zone 2에서

는 BrDU 섭취 세포는 거의 관찰되지 않았으며, zone 3에서 3일째 2~14개, 5일째 5~24개, 7일째 6~20개, 9일째 12~32개, 14일째 3~7개 관찰되었다(Table 3, Fig. 1).

Table 3. BrDU uptake cell location and number

	BrDU-zone 1	BrDU-zone 2	BrDU-zone 3
PG-POD1	35-40	5-10	1-5
AAF-POD1	5-63	-	0-1
PG-POD3	60-70	25-40	10-20
AAF-POD3	37-82	-	2-14
PG-POD5	5-10	10-15	1-5
AAF-POD5	20-93	-	5-24
PG-POD7	3-5	5-10	1-3
AAF-POD7	22-65	-	6-20
PG-POD9	0-1	0-1	0-1
AAF-POD9	17-47	-	12-32
PG-POD14	0-1	0-1	0-1
AAF-POD14	7-17	-	3-7

PG : Prostaglandin E1

AAF : 2-acetylaminofluorene

POD : postoperative day

3. Oval cells and small hepatocytes 의 분포 정도

Oval cell은 세포질이 거의 없으며, 핵이 뚜렷한 세포로서 문맥주위 지역에서 주로 나타난다. AAF를 투여한 군에서는 oval cell 이 시술 후 9일째까지 증식이 활발하게 이루어지며 14일째 거의 보이지 않았다. PGE1 투여군에서는 oval cell 이 시술 후 5일까지 증식이 뚜렷하나 차츰 감소되면서 small hepatocytes 들이 관찰되었다.

Small hepatocytes는 성숙된 간세포와는 구별되게 보이며 AAF를 투여한 군에서는 small hepatocytes 시술 후 5일째까지 거의 발견되지 않았다. 시술 후 9일째 다소 보이는 하나 14일째 관찰되지 않았다. PGE1을 투여한 군은 투약이 끝난 후 3일째부터 small hepatocyte가 보이기 시작하면서 5, 7일째는 증식이 뚜렷하며 9일째 감소되었다(Table 4, Fig. 2,3).

Table 4. Distribution of oval cells and small hepatocytes

	Oval cell	SmH-Zone 1	SmH-Zone2	SmH-Zone3
PG-POD1	+~ ++	-	-	-
AAF-POD1	±	-	-	-
PG-POD3	+~ +++	-	+	-
AAF-POD3	+	-	-	-
PG-POD5	+~ ++	~+++	+	-
AAF-POD5	+~ ++	~	±	+
PG-POD7	+~ ++	+	+~ ++	+~ ++
AAF-POD7	+~ ++	±	+	+
PG-POD9	±	-	±	±
AAF-POD9	+~ ++	±	+	++
PG-POD14	±	-	±	±
AAF-POD14	+	-	-	-

PG : Prostaglandin E1
POD : postoperative day

AAF : 2-acetylaminofluorene
SmH : small hepatocyte

고 찰

약한 발암물질인 2-acetylaminofluorene(AAF)을 투여하면 간세포의 유사분열을 억제하며 간절제술과 동반하여 쥐에서 실험하였을 때, 간세포의 반응이 저하되어 간재생이 억제되는 것을 관찰할 수 있다.¹⁸⁻²¹⁾ 그러나, 병적 상태에서 어떤 세포가 간재생을 유도하는 줄기세포가 되며, 그 줄기세포는 어떤 세포로 분화되어 간재생을 완성하는지는 명확히 밝혀져 있지 않다. PGE1은 long-chained 불포화 지방산으로서, 강력한 혈관이완 작용과 혈소판 응집 저해제로서의 역할을 한다. 간에 있어서는 직접적으로 간세포보호 기능을 가지고^{22,23)} 간접적으로는 간혈류를 증가시켜 간기능을 회복시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²⁴⁾

본 실험에서는 AAF를 투여하고 간절제술을 한 군에서 문맥주위 zone 1에서 분화 증식을 활발히 시작하는 BrDU 섭취가 많은 세포들을 관찰하였다. 이 세포들은 zone 2로 이행하면서 감소하는 추세였으나, zone 3에서 다시 BrDU 섭취가 활발한 세포들이 나타났다. zone 3에서의 세포들이 zone 1에서의 세포와 동일한 세포인지, 다른 세포에서 기인하여 이동한 세포인지는 정확히 알 수 없으나, zone 2에서는 거의 발견되지 않으면서 zone 3에서 시간이 지날

수록 시술 후 7~9일까지 유사분열이 활발한 세포가 다시 나타나는 것으로 보아 기원이 다른 세포가 시간이 지남에 따라 zone 3로 이동하여 세포증식 능력도 zone 3로 이행하는 것이 아닌가 생각되었다.

간절제술 후 PGE1을 투여한 군에서는 시술 후 1일, 3일, 5일째까지 zone 1에서 BrDU 섭취가 많은 세포들이 뚜렷하고, 차츰 zone 2, zone 3로 가면서 차츰 감소되는 양상을 보였다. 이는 AAF를 투여한 군과 비교하여 PGE1 투여군에서 간혈류 개선과 간세포 손상을 회복시켜 zone 1에서 분화 증식능력이 뚜렷하고 시기별로, zone 2,3 부위별로 이행하면서 다소 감소되기는 하나, 증식이 계속되어 간재생 능력이 더 활발하게 진행되는 것으로 생각되었다.

이러한 간재생 정도의 차이는 70% 간절제술 후 남은 간우축엽의 무게로 비교하였을 때 PGE1 투여군에서 재생 정도가 우세하였다.

분열이 활발한 BrDU 섭취 세포들을 특수염색 및 광학 현미경 소견으로 구별하여, 핵이 크고 둥글며, 세포질이 작은 oval cell과 정상 간세포와는 구별되는 세포질이 선명하며 핵이 작은 간세포(small hepatocyte)를 발견할 수 있었다. AAF와 PGE1을 투여한 두 군 모두에서 이 세포들을 관찰할 수 있었고, 이 두 세포가 병적 상태에서 간재생을 유도하는 줄기세포로 생각되었다.

먼저, oval cell은 AAF를 투여한 군에서 시술 후 9일까지 활발하게 분화 증식을 계속하고 14일 경에는 거의 발견되지 않는 것으로 보아 재생이 계속되는 동안 oval cell이 대부분의 역할을 담당하는 것으로 생각된다. AAF를 투여한 군에서는 시간이 지날수록 small hepatocyte는 거의 관찰되지 않았다. 반면, PGE1을 투여한 군에서는 oval cell은 시술 후 3~5일까지 뚜렷이 나타나다가, 시간이 경과할수록 small hepatocytes가 더 우세하게 나타났다. 이는 PGE1 투여군에서는 oval cell의 증식은 빨리 끝내고 간세포의 증식능력을 회복시켜 간재생을 활발하게 하는 것이 아닌가 생각된다. 또한, PGE1이 oval cell에 작용하기 보다는 간세포에 직접 작용하여 간재생 능력을 간세포로 이동시키는 것으로 생각된다.

Kurokawa 등²⁵⁾은 간경화를 유도한 쥐에서 PGE1이 간세포 내의 ATP를 증가시켜 미토콘드리아의 호흡 기능을 호전, 간으로의 혈류가 감소한 간경화 상태에서 간혈류 개선도 함께 동반하여 간세포 손상을 회복한다고 한다. 또한 간절제술 후 간재생 정도에 따라 재생된 간의 Kupffer cells에서의 PGE2 생성이 증가 되며, 간재생을 촉진한다는 주장도 있다.²⁶⁾ 같은 연구자들에 의해 Kupffer cell에서 기인하는 PG의 생성이 간세포 증식에는 필수적인 것으로 주장한다.²⁷⁾ Guarner 등²⁸⁾은 carbon tetrachloride(CCl4)를 처치한 쥐의 간세포를 분리하여 간세포 손상은 lactic dehydrogenase (LDH)를 측정하였으며, PGE2를 투여한 군에서 간세포 손상이 적은 것으로 보고하였다.

정상 성숙된 간세포와는 구별되는 세포질이 선명하며, 핵이 작은 간세포(small hepatocyte)가 PGE1을 투여한 군에서 시술 후 시간이 지나면서 zone 1보다는 zone 2,3에서 차츰 더 활발하게 나타나는데 이는 문맥주위 지역에서 oval cell 의 분포가 우세한 것과 구별된다. 그러나 oval cell 이 small hepatocyte 로 분화되는지, 담관 상피세포로 분화되는지는 이 실험에서는 관찰되지 않았으며, zone 3에서의 small hepatocytes 우세가 또 다른 줄기세포의 존재를 의미하는지 각 세포에 대한 특이적인 면역화학적 방법으로 분화되는 과정을 추적 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

결 론

AAF를 투여한 군에서는 AAF 로 인해 간세포의 분열이 억제된 상태에서의 간재생은 줄기세포로 여겨지는 oval cell이 분화 증식하여 간재생을 완성하는 것으로 생각된다. 또한, PGE1을 투여한 군에서는 초기에는 oval cell이 간재생에 관여하나, PGE1의 간세포 회복 기능으로 인해 small hepatocytes들에 주로 작용하여 간재생을 진행시켜 완성하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Wright NA, Alison MR : The biology of epithelial cell populations, Oxford, UK, Clarendon Press, 873-980, 1985
2. Alison MR : Regulation of liver growth. *Physiol Rev* 66 : 499-541, 1986
3. Sell S : Is there a liver stem cell ? *Cancer Res* 50 : 3811-3815, 1990
4. Evarts RP, Nagy P, Nakatsukasa H, Marsden E, Thorgeirsson SS : In vivo differentiation of rat liver oval cells into hepatocytes. *Cancer Res* 49 : 1541-1547, 1989
5. Thorgeirsson SS, Evarts RP, Bisgaard HC, Fujio K, Hu Z : Hepatic stem cell compartment : activation and lineage commitment. *Proc Soc Exp Biol Med* 204 : 253-260, 1993
6. Sarraf C, Lalani E, Golding M, Anilkumar TV, Poulsom R, Alison M : Cell behavior in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver. Light and electron microscopic observations. *Am J Pathol* 145 : 1114-1126, 1994
7. De Vos R, Desmet V : Ultrastructural characteristics of novel epithelial cell types identified in human pathologic liver specimens with chronic ductular reaction. *Am J Pathol* 140 : 1441-1450, 1992
8. Hsia CC, Evarts RP, Nakatsukasa H, Marsden ER, Thorgeirsson SS : Occurrence of oval cells in hepatitis B virus associated human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 16 : 1327-1333, 1992
9. Gerber MA, Thung SN, Shen S, Stromeyer FW, Ishak KG : Phenotypic characterization of hepatic proliferation. *Am J*

- Pathol 110 : 70-74, 1983
10. Lemire JM, Shiojiri N, Fausto N : Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine. *Am J Pathol* 139 : 535-552, 1991
11. Dabeva MD, Shafritz DA : Activation, proliferation, and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regeneration. *Am J Pathol* 143 : 1606-1620, 1993
12. Bisgaard HC, Nagy P, Santoni-Rugiu E, Thorgeirsson SS : Proliferation, apoptosis and induction of hepatic transcription factors are characteristics of the early response of biliary epithelial (oval) cells to chemical carcinogens. *Hepatology* 23 : 62-70, 1996
13. Thorgeirsson SS : Hepatic stem cells in liver regeneration. *FASEB J* 10 : 1249-1256, 1996
14. Grisham JW, Thorgeirsson SS : Liver stem cells. In : Potten CS, ed. *Stem cells*. London, Academic press 233-282, 1997
15. Fausto N, Lemire JM, Shiojiri N : Cell lineages in hepatic development and the identification of progenitor cells in normal and injured liver. *Proc Soc Exp Biol Med* 204:237-241, 1993
16. Golding M, Sarraf CE, Lalani EN, Anilkumar TV, Edwards RJ, Nagy P, Thorgeirsson SS, et al : Oval cell differentiation into hepatocytes in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver. *Hepatology* 22 : 243-253, 1995
17. Sarraf CE, Lalani EN, Golding M, Anilkumar TV, Poulsom R, Alison M : Cell behavior in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver. *Am J Pathol* 145 : 1114-1126, 1994
18. Evarts RP, Nagy P, Marsden E, Thorgeirsson SS : A precursor-product relationship exists between oval cells and hepatocytes in rat liver. *Carcinogenesis* 8 : 1737-1740, 1987
19. Evarts RP, Nakatsukasa H, Marsden ER, Hu Z, Thorgeirsson SS : Expression of transforming growth factor- α in regenerating liver and during hepatic differentiation. *Mol Carcinogenesis* 5 : 25-32, 1992
20. Alison MR, Hully JR : Stimulus dependent phenotypic diversity in the resistant hepatocyte model. *Chemical Carcinogenesis 2 : Modulating Factors*. Edited by Columbano A, Feo F, Pascale R, Pani P. New York, Plenum, 1991, 563-577
21. Alison MR, Poulsom R, Jeffery R, Anilkumar TV, Jagoe R, Sarraf CE : Expression of hepatocyte growth factor mRNA during oval cell activation in the rat liver. *J Pathol* 171(4) : 291-9, 1993
22. Stachura J, Tarnawski A, Ivey K et al : Prostaglandin protection of carbon tetrachloride induced liver cell necrosis in the rat. *Gastroenterol* 81 : 211-217, 1981
23. Masali N, Ohta Y, Shirataki H et al : Hepatocyte membrane stabilization by prostaglandin E1 and E2 favorable effects on rat liver injury. *Gastroenterol* 102 : 572-576, 1992
24. Geumei A, Bashour FA, Swamy BV, Nafrawi AG : Prostaglandin E1 : its effects on hepatic circulation in dogs. *Pharmacol* 9 : 336-347, 1973
25. Kurokawa T, Nonami T, Harada A, Nakao A, Sugiyama S, Ozawa T, Takagi H : Effects of prostaglandin E1 on the recovery of ischemia-induced liver mitochondrial dysfunction in rats with cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 26(3) : 269-74, 1991
26. Callery MP, Mangino MJ, Flye MW : Kupffer cell prostaglandin E2 production is amplified during hepatic regeneration. *Hepatology* 14 : 368-372, 1991
27. Gross JA, Mangino MJ, Flye MW : Prostaglandin E2 producing during hepatic regeneration downregulates Kupffer cell IL-6 production. *Ann Surg* 215 : 553-560, 1992
28. Guarner F, Fremont-Smith M, Prieto J : Cytoprotective effect of prostaglandins on isolated rat liver cells. *Liver* 5(1) : 35-9, 1985