

# Murine Colonoscopy

## 이 준 행

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 소화기내과

## 서론

쥐(rat)나 마우스(mouse)를 이용하여 시행한 대장암 발생기전 연구는 무수히 많다. 이러한 연구는 대부분 단면연구(cross-sectional study)로 쥐나 마우스에 어떠한 조작을 가하고 일정시점에 동물을 희생시켜 암 발생여부를 관찰하는 방식이었다. 단면연구로는 특정 시점의 자료는 얻을 수 있지만(single data point) 연구에서 사용한 약물이나 특정 조작에 대한 반응을 통시적으로 관찰하기는 어렵다.<sup>1</sup> 시간에 따른 반응을 보기 위해서는 많은 수의 실험동물을 각각 연구군과 대조군에 할당 한 후, 정해진 시점에 몇 마리씩 희생시켜 여러 시점의 자료를 얻을 수 밖에 없다.<sup>2</sup> 살아있는 한 개체의 내부에서 일어나는 반응을 반복해서 관찰하기 위해서는 새로운 방법이 필요하다.

작은 실험동물의 대장병소를 반복적으로 평가하기 위하여 개발된 방법이 microCT colonography,<sup>3,4</sup> magnetic resonance micro-imaging,<sup>5</sup> 쥐대장내시경(rat colonoscopy),<sup>6,9</sup> 마우스대장내시경(mouse colonoscopy)<sup>10</sup> 등이다. 이 중에서 마우스대장내시경은 (1) 마우스를 이용한 실험동물 질병모델이 많다는 점, (2) 병소의 크기를 비교적 정확히 측정할 수 있다는 점, (3) 조직검사를 할 수 있다는 점 때문에 최근 그 사용빈도가 증가되고 있다. 마우스대장내시경의 방법론은 Becker 등<sup>10</sup>이 상세히 제시한 바 있으므로, 본고에서는 필자의 개인적인 경험을 바탕으로 몇 가지 실험상 주의점을 기술하고자 한다.

**Table 1.** Murine Colonoscopy in the Literature (Selected)

| References                             | Murine models                        | Preparation                        | Instruments                           | Comments                 |
|--|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| Narisawa, et al. (1975) <sup>6</sup>   | MNNG treated rat                     | No mention                         | Bronchoscope                          | First in the literature  |
| Hamilton, et al. (1986) <sup>7</sup>   | Fischer rats with AOM treatment      | No prep                            | 5.2 mm Olympus pediatric bronchoscope | Growth curve             |
| Hull, et al. (1990) <sup>8</sup>       | DMN treated Sprague-Dawley rat       | Saline enema                       | 5 mm Olympus pediatric bronchoscope   |                          |
| Wirtz, et al. (2002) <sup>11</sup>     | SCID, BALB/c mice colitis model      | PBS enema                          | 0.89 mm miniendoscope                 | Colitis scoring system   |
| Huang, et al. (2002) <sup>12</sup>     | C3H/He, C57BL/6, C57BL/6J-Apc mice   | Oral Pedialyte and Golytely gavage | 2.1 mm Karl Storz flexible cystoscope | Serial biopsies          |
| Funovics, et al. (2003) <sup>16</sup>  | Mouse adenomatosis model             | No prep                            | 0.9 mm near infrared endoscope        |                          |
| Becker, et al. (2005) <sup>10,13</sup> | FVB/N mice with AOM & DSS treatment  | No mention                         | 1.9 mm Hopkins telescope (Karl Storz) | Chromoendoscopy          |
| Haughn, et al. (2006) <sup>9</sup>     | Male Sprague-Dawley rat              | Oral Fleet & saline enema          | 5.9 mm Olympus gastroscope            | Therapeutic intervention |
| Funovics, et al. (2006) <sup>17</sup>  | Apcmin(+/-) mice & CT26 mice         | No prep                            | 1.4 mm miniendoscope                  |                          |
| Ravnic, et al. (2007) <sup>14</sup>    | Male Balb/c mice with TNBS treatment | Saline enema                       | 2.7 mm Karl Storz rigid endoscope     |                          |
| Hensley, et al. (2009) <sup>15</sup>   | Apc <sup>+/-</sup> Min-FCCC mice     | 20% glucose oral intake            | 1.5 mm Karl Storz rigid endoscope     | Size measurement         |

## 대장내시경

쥐나 마우스를 이용한 대장내시경은 1975년 Narisawa 등<sup>6</sup>이 MNNG로 처리한 쥐의 대장을 기관지내시경으로 관찰하였다고 보고하면서 시작되었다. 기관지내시경이나 세경내시경은 5~6 mm 미만의 삽입부 외경을 가지고 있으므로, 쥐의 대장을 관찰하는데 이용할 수 있으며 충분한 양의 조직 채취도 가능하다. 그러나 쥐를 이용한 대장암 혹은 대장염 동물모델이 많지 않다는 단점이 있다.

마우스를 이용한 대장내시경은 2002년 Wirtz 등<sup>11</sup>과 Huang 등<sup>12</sup>에 의하여 최초로 보고되었다. Wirtz 등<sup>11</sup>은 Intralux vision light source와 함께 길이 65 mm, 외경 0.89 mm의 특수한 miniendoscope (Volpi, Schlieren, Zurich, Switzerland)를 사용하였다. Huang 등<sup>12</sup>은 외경 2.1 mm 소아용 굴곡방광경(flexible pediatric cystoscope, Karl Storz, Germany)을 사용하였는데, Wirtz 등이 사용한 모델과 달리 조직검사를 할 수 있었다. Huang 등에 따르면 마우스 대장(전체길이 9 cm)의 6 cm까지는 내시경이 비교적 쉽게 삽입되었으나, 간굽이(hepatic flexure)를 무리해서 통과한 경우 모든 쥐에서 천공이 발생하였다. 따라서 연구자들은 마우스 항문에서 평균 3 cm까지만 관찰하였다.<sup>12</sup> 최근 Haughn 등<sup>9</sup>이 내시경을 맹장까지 삽입하여 치료내시경을 할 수도 있다는 것을 보여주었지만, 대상은 마우스가 아니고 쥐였다. 아직 마우스 대장 전체를 내시경으로 관찰하기는 어려운 단계로 보인다.

Huang 등<sup>12</sup>이 보여준 바와 같이 굴곡경을 사용하더라도 마우스 대장을 3 cm 정도만 관찰할 수 있다면, 구태여 길고 조작이 어려운 굴곡경 사용을 고집할 이유가 없다. 이러한 관점에서 Becker 등<sup>10,13</sup>은 Karl Storz사 제품인 외경 1.9 mm의 경직성 요도경(rigid urethroscope)을 이용하여 마우스 대장을 관찰하는 방법론을 확립하였고 Coloview 시스템으로 명명하였다. Coloview 시스템에서는 경직성 내시경이 이용되므로 마우스 대장을 3 cm 정도만 관찰할 수 있다는 한계점이 있지만, 조작이 간편하고 정확한 부위에서 조직을 얻을 수 있다는 장점이 있다. 이후의 연구들<sup>14,15</sup>에서는 대부분 경직성 내시경이 이용되고 있다.

## 장정결

일반적인 경우 마우스 대장에는 약간 단단한 대변 덩어리들이 들어있다. 대장 일부의 종양 발생 여부만 관찰하고자 한다면 장정결 없이도 어느 정도 검사가 가능하다. 그러나 상세히 관찰한 후 크기를 측정하고 조직검사까지 하기 위해서는 장정결은 필수적이다. Fleet나 Pedialyte를 섭취하게 한 후 Golytely gavage를 하거나 PBS 혹은 생리식염수 관장을 하는 방법이 널리 사용되고 있다.<sup>9,12</sup> 그러나 필자의 경험으로는 끝이 뾰족하지 않은 관장용 카테터(soft-tipped catheter)를 이용하여 생리식염수 5~6 mL 정도를 항문으로 2-3회 나누어 주입하고 마우스 복부를 가볍게 눌러주는 것으로 만족할만한 장정결을 얻을 수 있었다. 내시경 도중 약간의 대변 덩어리가 발견되면 내시경 끝으로 살짝 밀어 넣으면 된다.

## 내시경의 삽입, 크기측정 및 조직검사

마우스를 마취시킨 후 내시경을 항문으로 삽입할 때에는 매우 섬세한 동작이 필요하다. 조금 급하게 삽입하면 장천공이 발생할 수 있기 때문이다. 통상 경직성 내시경으로 3 cm까지 삽입할 수 있다. 마우스 대장에서 종양이 발견되면 외경 1 mm 인 조직검자와 비교하여 크기를 어렵짐작해야 한다. 조직검자의 끝과 병소의 사진을 분석하여 보다 정확한 크기측정을 할 수도 있다.<sup>15</sup> 마우스대장내시경에서 조직검사로 얻은 표본은 소아용내시경을 통하여 얻은 조직과 비슷한 정도의 조직학적 관찰을 하는데 충분하다. 필자가 시험해 본 바에 의하면 마우스대장내시경 생검검자로 얻을 수 있는 한 점의 조직으로 약 2 microgram의 DNA를 얻을 수 있었다. 보통의 유전학적 검사에 충분한 양이다.

## 참고문헌

1. Yan M, Myung SJ, Fink SP, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase inactivation as a mechanism of resistance to celecoxib chemoprevention of colon tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:9409-9413.
2. Biswas S, Chytil A, Washington K, et al. Transforming growth factor beta receptor type II inactivation promotes the establishment and progression of colon cancer. *Cancer Res* 2004;64:4687-4692.

3. Pickhardt PJ, Halberg RB, Taylor AJ, et al. Microcomputed tomography colonography for polyp detection in an in vivo mouse tumor model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:3419-3422.
4. Durkee BY, Weichert JP, Halberg RB. Small animal microCT colonography. *Methods* 2009 (in press).
5. Hensley HH, Chang WC, Clapper ML. Detection and volume determination of colonic tumors in Min mice by magnetic resonance micro-imaging. *Magn Reson Med* 2004;52:524-529.
6. Narisawa T, Wong CQ, Weisburger JH. Evaluation of endoscopic examination of colon tumors in rats. *Am J Dig Dis* 1975;20:928-934.
7. Hamilton SR, Zhang SZ, O'Ceallaigh D, McAvinchey D. Growth characteristics of autochthonous experimental colonic tumors as assessed by serial colonoscopic measurement in rats. *Gastroenterology* 1986;91:1511-1520.
8. Hull CC, Stellato TA, Ament AA, Gordon N, Galloway P. Endoscopic and radiographic evaluation of the murine colon. *Cancer* 1990;66:2528-2532.
9. Haughe C, Uchal M, Raftopoulos Y, et al. Development of a total colonoscopy rat model with endoscopic submucosal injection of the cecal wall. *Surg Endosc* 2006;20:270-273.
10. Becker C, Fantini MC, Neurath MF. High resolution colonoscopy in live mice. *Nat Protoc* 2006;1:2900-2904.
11. Wirtz S, Becker C, Blumberg R, Galle PR, Neurath MF. Treatment of T cell-dependent experimental colitis in SCID mice by local administration of an adenovirus expressing IL-18 antisense mRNA. *J Immunol* 2002;168:411-420.
12. Huang EH, Carter JJ, Whelan RL, et al. Colonoscopy in mice. *Surg Endosc* 2002;16:22-24.
13. Becker C, Fantini MC, Wirtz S, et al. In vivo imaging of colitis and colon cancer development in mice using high resolution chromoendoscopy. *Gut* 2005;54:950-954.
14. Ravnich DJ, Konerding MA, Huss HT, Wolloscheck T, Pratt JP, Mentzer SJ. Murine microvideo endoscopy of the colonic microcirculation. *J Surg Res* 2007;142:97-103.
15. Hensley HH, Merkel CE, Chang WC, Devarajan K, Cooper HS, Clapper ML. Endoscopic imaging and size estimation of colorectal adenomas in the multiple intestinal neoplasia mouse. *Gastrointest Endosc* 2009;69:742-749.
16. Funovics MA, Alencar H, Su HS, Khazaie K, Weissleder R, Mahmood U. Miniaturized multichannel near infrared endoscope for mouse imaging. *Mol Imaging* 2003;2:350-357.
17. Funovics MA, Alencar H, Montet X, Weissleder R, Mahmood U. Simultaneous fluorescence imaging of protease expression and vascularity during murine colonoscopy for colonic lesion characterization. *Gastrointest Endosc* 2006;64:589-597.