



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

인공지능을 이용한 어류의 간장
조직병리학적 변화 판독 자동화 기술
가능성에 관한 연구



2021년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

이 효 은

이 학 석 사 학 위 논 문

인공지능을 이용한 어류의 간장
조직병리학적 변화 판독 자동화 기술
가능성에 관한 연구

지도교수 허 민 도

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2021년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수산생명의학과

이 효 은

이효은의 이학석사 학위논문을 인준함.

2021년 2월 19일

위 원 장 약학박사 정 준 기 (인)

위 원 이학박사 김 도 형 (인)

위 원 농학박사 허 민 도 (인)

목 차

Abstract	i
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 대상어류 및 채집방법	5
2. 생체량 측정	5
3. 혈액 채취와 GOT, GPT 검사	6
4. 조직학적 분석	6
5. 병리조직학적 평가	6
6. 통계학적 분석	8
7. 병변 판독 인공지능 모델 제작	8
8. 병변 판독 인공지능 모델 검증	9
III. 결과	11
1. 생체량 측정	11
2. GOT, GPT 측정	13
3. 병리조직학적 평가	16
4. 통계학적 분석	19
5. 병변 판독 인공지능 모델 검증	25
IV. 고찰	37
V. 요약	42
VI. 조직사진 및 그림 설명	44

감사의 글.....	47
참고문헌	48



Studies on possibility of automatic reading of histopathological changes in the liver of fish using
artificial intelligence

Hyo-Eun Lee

Department of *Aquatic life medicine*, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Liver function tests through serum are widely used worldwide as indirect indicators to check for liver damage. Among them, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) are most known enzymes that indicate liver damage. The enzymes are in hepatocytes and are released into the blood during the destruction of hepatocytes. AST and ALT are also used in various studies in olive flounder and rainbow trout. However, there is little study of the normal values of the enzymes. And research that correlates AST, ALT values and liver damage in olive flounder and rainbow trout is also minimal. Therefore, it is difficult to use AST and ALT values as indirect indicators of liver failure of olive flounder and rainbow trout for diagnostic purposes. Therefore, in this study, the correlation was investigated by analyzing the pathological lesions of the hepatocytes and by measuring AST and ALT values

by sampling blood serum and liver tissues from eight olive flounder farms and eight rainbow trout farms.

Also, biopsy of liver is very important in diagnosing liver damage. However, biopsy is not common in fish and takes a long time because it has a subjective nature and cannot be analyzed and quantified through automated equipment and programs. Thus, there are attempts to use artificial intelligence for quick, accurate and automated analysis. In order to create AI liver program, pathological lesions in liver sampled in 765 olive flounder, 891 rainbow trout, were classified as circulatory disorders, regressive change and inflammatory lesions. The classified photos of olive flounder and rainbow trout liver tissues were taught using the deep learning artificial intelligence program, Teachable Machine Program. In addition, Fifteen fish in each eight new fish farms, olive flounder and rainbow trout farms, were sampled and analyzed the pathological lesions of liver and compare them with the results of the analysis using the learned program to verify their accuracy. The results of this study could be suggested as basic data for using serum analysis in diagnosis of olive flounder and rainbow trout liver damage and confirm the possibility of applying artificial intelligence to biopsy.

I. 서 론

간은 고등동물에게 매우 중요한 장기 중 하나이다. 간장은 단백질 대사를 통해 알부민 합성, 혈액응고인자 합성, 항응고인자 합성, 섬유소 용해 단백질 합성 보체 합성을 하고, 지방 대사를 통해 지방산 대사, ATP생산, triglyceride 저장 cholesterol 변환을 하며, 탄수화물 대사로 당 신생과정 중 하나의 경로이면서 glycogen을 포도당으로 전환하는 역할을 하고, 호르몬 대사로 갑상선 호르몬, estrogen, cortisol, aldosterone을 대사를 할 뿐만 아니라 해독 및 살균 작용도에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Kumar, Cotran, and Robbins 2004). 간장의 다양한 기능들은 생체의 항상성(homeostasis)을 유지하기에 간장의 기능이상은 심각한 질병을 초래할 수 있으며, 간장의 구조이상으로부터 발생한 질병 중 육상동물 뿐 아니라 어류에서도 발생할 수 있는 대표적인 질병은 비알콜성지방간이다(Non-Alcoholic Fatty Liver Disease(NAFLD)). NAFLD는 interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor(TNF- α), creactive protein(CRP)의 증가로 인한 만성 염증상태를 유발하고, fibrinogen, factor VII, plasminogen activator inhibitor 1이 증가하는 과응고 및 저섬유용해상태와 죽상경화성이상지혈증을 초래하며, 간성 인슐린 저항성을 증가시키며 간기능 장애의 원인이 된다고 알려져 있다(Smith, B. W. 2011). 이러한 간장의 기능장애는 제 2형 당뇨병, 대사증후군, 심혈관 장애 등의 원인으로 밝혀지며 큰 사회적 문제로 대두되고 있다(Marchesini et al. 2003). 이러한 이유와 함께 간장은 외부 물질과 자극에 크게 영향을 받기에 건강을 대표하는 장기 지표로 사용되고 어류에서도 영양 · 생리 · 면역 상태의 지표로 이용되고 있다(Takashima and Hibiya 1995; Bilton and Robins 1973; Segner and Juario 1986; Sheth and Bankey 2001).

생체에서 중요한 역할을 하는 항상성 장기(Sheth 2001)인 간장의 상태와 기능을

검사하기 위해 간기능검사가 많이 이용되고 있다(Thapa, B. R 2007). 간기능검사 항목 중 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)는 간세포 파괴에 의해 혈중으로 유출되는 효소로 GOT는 간, 근육, 신장 등 장기의 세포질과 미토콘드리아 내에 주로 존재하며 GPT는 간세포 내에 주로 존재한다(Huang X. J. 2006). 일반적으로 GOT, GPT 중 GOT 수치가 단독으로 상승할 경우 근육, 신장 질환을 의심할 수 있으며, 모두 상승할 경우 GOT 수치의 상승이 더 크면 간경변, 알코올성 간질환, 허혈성 간손상, 독성 간염을 의심할 수 있고 GPT 수치의 상승이 더 크면 만성 간질환, 비알콜성지방간을 의심할 수 있다(Kamath, P. S. 1996). 그렇기에 GOT, GPT는 간세포의 손상을 알 수 있는 간접적인 지표로 많이 사용되며, 넙치와 무지개송어를 이용한 다양한 연구와 실험에서 사용된다(Cho S. H. 2007, J. G. Racicot, J. G. 1975). 하지만 아직 넙치와 무지개송어에서 GOT, GPT에 대한 정상치 연구가 미미하며, 무지개송어에서 다량의 탄수화물 급이에 따른 간장기능 저하에 대한 연구는 있으나(Hilton, J. W. and Dixon, D. G. 1982) 넙치와 무지개송어 모두에서 간장 이상과 관련한 수치 변화에 대한 연구 또한 미미하여, GOT, GPT 수치를 본래의 목적에 따라 간장의 이상을 판별하기 위한 간접지표로 사용하기에 어려움이 있다. 인의에서도 간질환 이외의 인자들에 의해 수치가 영향을 받으며 또한 간경화, 간암에서도 수치가 정상일 수 있다는 점을 예로 들며(Kim K. A. 2009) 한계를 명확히 밝히기 때문에 양식어류에서도 조직검사를 통해 간장의 병변을 밝히고 GOT, GPT 수치와의 상관관계를 확인하는 연구가 필요할 것으로 사료되어 넙치와 무지개송어를 이용하여 본 연구가 이루어졌다.

또한 병원에서 간장의 질환을 판별하기 위해 조직검사, 초음파검사, MRI검사가 다양하게 이루어진다. 하지만 어류의 특성상 고가의 검사 비용이 발생하는 초음파검사나 MRI검사는 현실적으로 이루어지기 힘들기에 조직검사는 질병진단을

보조하는 매우 중요한 검사이다. 어류에서 간장은 건강 상태를 알 수 있는 대표적인 장기 지표로 이용할 수 있기 때문에 양식장과 어류를 이용한 각종 연구에서 간장의 조직검사가 필수적인 것으로 사료되나 조직검사 결과를 판독하기 위해 숙련된 전문가가 필요하며, 양식환경의 경우 대량의 조직검사를 단시간에 판독해야 하기에 많은 인력과 비용이 필요하며 판독의 결과가 주관적이고 정량적이지 않다는 한계가 있다(Dytch H. E., 1990).

그렇기에 조직에 대한 병리학적 판독에 인공지능을 도입하고자 하는 시도는 1990년도부터 시작되어 계속하여 이루어지고 있다(Dytch H. E., 1990). 인공지능은 신속하고, 정량적이며, 객관적이고, 효율적이면서 사람과 달리 지치지 않고 분석을 실행할 수 있다(Dytch H. E., 1990).

본 연구는 google에서 제공하는 오픈소스 인공지능 Teachable Machine을 이용하여 넙치 간장사진 7,972장, 무지개송어 11,909장을 학습시켜 각 병변에 대한 판독모델을 제작하였다. 제작된 모델은 학습된 사진을 통해 유사도를 판별하는 것으로 새로 주어진 사진에서 나타난 병변이 학습된 어떠한 병변이나 정상조직과 유사한지를 판별하고 결과를 확률로 나타내도록 제작되었다. 또한 넙치 120마리와 무지개송어 120마리의 간장에 적용하여 육안분석 결과와 만들어진 인공지능 모델을 통해 도출된 결과를 비교하는 것으로 검증 하였다. 만들어진 판독 모델을 이용하여 조직검사에 대한 판독을 실시할 경우, 간장 조직과 발생하는 병변에 대해 전문적인 지식이 없더라도 모델의 지도를 받으며 조직 사진 촬영이 가능하며 만들어진 사진에 대한 판독 또한 누구나 쉽게 할 수 있을 것으로 기대한다.

본 연구를 통해 간장에 나타나는 병변에 대한 판독에 인공지능 학습 프로그램을 도입하여 병변 자동 판독 모델을 제작하고 적용하는 가능성을 확인하고자 하였다.

제작된 모델을 이용하면 단시간 대량의 간장 조직검사가 누구나 손쉽게 할 수 있는
보편적인 검사가 될 수 있을 것으로 기대한다.



II. 재료 및 방법

1. 대상어류 및 채집방법

가. 넙치

-1차 채집: 경북, 울산, 전남, 제주 지역 넙치 양식장 5곳에서 27회에 걸쳐 645마리 넙치를 채집하였으며, 현장에서 생검하였다.

-2차 채집: 경남, 부산, 제주 지역 넙치 양식장 8곳에서 각 15마리 씩 총 120마리 넙치를 채집하였으며, 현장에서 생검하였다.

나. 무지개송어

-1차 채집: 강원, 경북, 충북 지역 무지개송어 양식장 6곳에서 33회에 걸쳐 771마리 무지개송어를 채집하였으며, 현장에서 생검하였다.

-2차 채집: 강원, 경남, 경북, 충북 지역 무지개송어 양식장 8곳에서 각 15마리 씩 총 120마리 무지개송어를 채집하였으며, 현장에서 생검하였다.

2. 생체량 측정

미량저울(ISO 9001, Sartorius AG., Germany)을 이용하여 체중과 간장 무게를 측정하였고 condition factor(CF)와 hepatosomatic index(HSI)를 다음 식과 같이 계산하였다.

$$CF = \text{체중(g)} / \text{체장(cm)}^3 \times 100$$

$$\text{HSI}(\%) = \text{간장무게(g)} / \text{체중(g)} \times 100$$

3. 혈액 채취와 GOT, GPT 검사

2차 채집한 넙치와 무지개송어에 대해 MS-222(Sigma)를 이용하여 마취 후, 미부정 맥에서 주사기를 이용하여 정맥혈을 채혈하고, 원심분리기에서 4℃ 15분간 6500rpm으로 원심분리 후 혈청분석기 (FUJI DRI-CHEM 3000, Fuji film Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase (GPT) 필름을 넣고 앞서 분리한 혈청 10 μ l를 필름의 중앙에 분주하여 측정하였다.

4. 조직학적 분석

간장조직을 절취하여 10% Neutral buffered formalin(BBC biochemical, USA)에 24시간 전고정 하고 동일용액에 24시간 후고정하였다. 고정이 완료된 샘플은 30분간 수세를 실시한 뒤 70%, 80%, 90%, 100% 알코올에 순차적으로 탈수하고, xylene을 이용하여 투명화를 거쳐 파라핀 친화 시킨 다음 파라핀을 이용하여 포매하였다. 이후 microtome (Reichert-Jung 820, Leica)을 사용하여 박절하고 4 μ m두께의 조직절편을 얻었다. 조직절편은 통상적인 방법을 이용하여 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 하고 광학현미경 (Olympus DX50, Japan)으로 관찰하였다.

5. 병리조직학적 평가

간장의 병리조직학적 병변의 평가를 객관화하기 위하여 수산생물 동성평가에서 사용되는 Bernet et al. (1999)의 방법을 이용했다. 간장은 순환장애(IC, Circulatory disturbance), 퇴행성 변성(IR, Regressive change), 진행성 변성(IP, Progressive change), 염증성 병변(II, Inflammation)의 항목으로 나누고 나타나는 병변에 대한 세부적인 항목(울혈, 간세포위축, MMC증가, 지방간, 괴사, 염증, 담관주위염)을 두어 병변의 심도별 점수치를 추산하였고 무변화 0, 경도 변화 1, 중등도 변화 2, 심도 변화 3으로 구분하여 점수를 수치화하였다(Table 1).

Table 1. Histopathological assessment tools for liver, (Bernet et al. 1999)

Reaction pattern	Alteration	Score value	Index
Circulatory disturbances	Congestion	Alc1	Ilc
Regressive changes	Atrophy	Alr1	
	Increase of MMC	Alr8	
	Fatty liver	Alr2	Ilr
	Necrosis	Alr6	
Inflammation	Hepatitis	Ali3	
	Pericholangitis	Ali6	Ili

6. 통계학적 분석

SPSS statistics(IBM)을 이용하여 95% 유의수준에서 pearson 상관관계 분석과 K-평균 군집분석 그리고 일원배치 분산분석을 실시하였고 유의성 검정을 Tukey's Multiple Range Test로 실시하였다.

7. 병변 판독 인공지능 모델 제작

Google에서 제공하는 딥러닝 인공지능 프로그램 Teachable Machine(2020)을 이용하여 1차 채집을 통해 얻은 넙치 간장사진 7,972장 무지개송어 간장사진 11,909장을 울혈, 간세포위축, MMC증가, 지방간, 괴사, 염증, 담관주위염 병변에 대해 정상, 경도, 중등도, 심도로 나누어 학습시켜 각 병변에 대한 판독 인공지능 모델을 제작하여 tensorflow javascript를 이용 코딩함으로 병변 자동 판독 프로그램을 개발하였다.

8. 병변 판독 인공지능 모델 검증

2차 채집을 통해 얻은 넓치와 무지개송어 간장에 대하여 만들어진 자동 판독 프로그램을 적용하여 검증하고, 정확도, 재현율(민감도), 정밀도, F1 Score, 특이도를 산출하고 코헨의 상관계수(카파 상관계수, K)를 산출하였다.

Table 2. Histopathological reading result

		Reading result	
		Positive	Negative
Model result	Positive	True Positive	False Positive
	Negative	False Negative	True Negative

정확도는 전체 모델의 예측에서 정답들 맞힌 건의 비율이며 도출은 다음의 식과 같다.

$$\text{정확도} = \frac{\text{True Positive} + \text{True Negative}}{\text{True Positive} + \text{True Negative} + \text{False Positive} + \text{False Negative}}$$

재현율은 정답이 양성인 건에 대해 모델이 양성으로 예측한 비율이며 도출은 다음의 식과 같다.

$$\text{재현율(민감도)} = \frac{\text{True Positive}}{\text{True Positive} + \text{False Negative}}$$

정밀도는 모델이 양성으로 분류한 건에 대해 실제 양성으로 나타나는 비율이며 도출은 다음의 식과 같다.

$$\text{정밀도} = \text{True Positive} / (\text{True Positive} + \text{False Positive})$$

F1 Score는 정밀도와 재현율의 조화평균으로 도출은 다음의 식과 같다.

$$F1\ Score = 2 * (\text{Precision} * \text{Recall}) / (\text{Precision} + \text{Recall})$$

특이도는 음성인 건에 대해 모델이 맞춘 음성의 비율이며 도출은 다음의 식과 같다.

$$\text{특이도} = \text{True Negative} / (\text{False Positive} + \text{True Negative})$$

카파상관계수는 2개의 평가에 대한 일치성을 확인하는 계수로 $K \leq 0.20$ 일치안함, $0.21 \leq K \leq 0.40$ 낮음, $0.41 \leq K \leq 0.60$ 중간, $0.61 \leq K \leq 0.80$ 높음, $0.81 \leq K \leq 1.00$ 매우 높음 (매우 일치함)으로 구분하며 도출은 다음의 식과 같다.

$$K = \frac{p_{\text{observed}} - p_{\text{chance}}}{1 - p_{\text{chance}}}$$

Ⅲ. 결과

1. 생체량 측정

2차 채집한 넙치와 무지개송어에서 측정된 생체지수는 전장 20.64~36.99츠와 29.23~42.57츠로 다소 고른 분포를 보였고, 전장, 체장, CF, HIS는 table 3, 4와 같이 조사되었다(table 3, 4).



Table 3. Total length, Standard length, Condition factor (CF), Hepatosomatic index of olive flounders, Values are means $\pm$ SD, n=15

	전장(cm)	체장(cm)	CF	HSI(%)
1군	36.7 $\pm$ 1.69	30.62 $\pm$ 1.65	1.84 $\pm$ 0.35	1.96 $\pm$ 0.62
2군	34.49 $\pm$ 1.18	29.51 $\pm$ 1.15	1.59 $\pm$ 0.17	1.65 $\pm$ 0.71
3군	36.99 $\pm$ 2.07	31.98 $\pm$ 1.94	1.79 $\pm$ 0.17	1.3 $\pm$ 0.25
4군	23.9 $\pm$ 1.35	20.38 $\pm$ 1.14	1.75 $\pm$ 0.24	1.45 $\pm$ 0.37
5군	20.64 $\pm$ 1.25	16.95 $\pm$ 1.19	1.85 $\pm$ 0.24	2.24 $\pm$ 3.18
6군	30.43 $\pm$ 2.61	24.93 $\pm$ 2.39	1.93 $\pm$ 0.34	1.54 $\pm$ 0.46
7군	25.88 $\pm$ 1.59	21.84 $\pm$ 1.43	1.82 $\pm$ 0.18	1.45 $\pm$ 0.49
8군	28.65 $\pm$ 1.05	24.3 $\pm$ 0.93	1.81 $\pm$ 0.12	1.58 $\pm$ 0.38

Table 4. Total length, Standard length, Condition factor (CF), Hepatosomatic index of rainbow trouts, Values are means $\pm$ SD, n=15

	전장(cm)	체장(cm)	CF	HSI(%)
1군	32.24 $\pm$ 2.44	28.88 $\pm$ 1.57	1.6 $\pm$ 0.22	1.01 $\pm$ 0.23
2군	29.23 $\pm$ 4.2	25.65 $\pm$ 4.04	1.63 $\pm$ 0.3	0.88 $\pm$ 0.08
3군	42.57 $\pm$ 7.12	37.33 $\pm$ 7.77	1.57 $\pm$ 0.37	0.97 $\pm$ 0.11
4군	33.01 $\pm$ 5.17	28.55 $\pm$ 4.58	1.55 $\pm$ 0.14	1.2 $\pm$ 0.16
5군	30.88 $\pm$ 2.24	26.45 $\pm$ 1.84	1.42 $\pm$ 0.14	0.91 $\pm$ 0.26
6군	38.28 $\pm$ 2.44	33.07 $\pm$ 2.29	1.78 $\pm$ 0.15	0.97 $\pm$ 0.14
7군	39.18 $\pm$ 3.24	34.7 $\pm$ 2.88	1.66 $\pm$ 0.21	1.12 $\pm$ 0.16
8군	34.79 $\pm$ 1.74	30.54 $\pm$ 1.77	1.65 $\pm$ 0.1	0.93 $\pm$ 0.07

2. GOT, GPT 측정

2차 채집된 넙치에서 측정된 GOT, GPT는 다소 고른 분포를 보였으나, 무지개송어에서 GOT 값의 변동 폭이 상당히 크게 나타났다(table 5, 6).



Table 5. GOT, GPT and GOT/GPT ratio of olive flounders, Values are means $\pm$ SD, n=15

	GOT	GPT	GOT/GPT
1군	27.13 $\pm$ 7.73	7.6 $\pm$ 1.45	3.6 $\pm$ 0.84
2군	26.67 $\pm$ 14.3	7.93 $\pm$ 1.79	3.35 $\pm$ 1.4
3군	40.8 $\pm$ 9.99	13.73 $\pm$ 4.53	3.1 $\pm$ 0.67
4군	43.21 $\pm$ 22.23	14.71 $\pm$ 5.58	2.9 $\pm$ 0.94
5군	31.73 $\pm$ 13.12	11.53 $\pm$ 6.3	3.03 $\pm$ 1.28
6군	38.73 $\pm$ 14.69	11.53 $\pm$ 5.94	3.6 $\pm$ 1.17
7군	37.07 $\pm$ 16.94	11.87 $\pm$ 7.47	3.53 $\pm$ 1.49
8군	37.67 $\pm$ 13.02	15.2 $\pm$ 9.47	2.98 $\pm$ 1.21

Table 6. GOT, GPT and GOT/GPT ratio of rainbow trouts, Values are means $\pm$ SD, n=15

	GOT	GPT	GOT/GPT
1군	392.73 $\pm$ 115.55	13.2 $\pm$ 3.8	30.47 $\pm$ 8.3
2군	323.73 $\pm$ 68.51	19.13 $\pm$ 6.73	18.05 $\pm$ 5.06
3군	564.2 $\pm$ 296.08	37.47 $\pm$ 77.31	31.37 $\pm$ 17.03
4군	196 $\pm$ 82.03	9.07 $\pm$ 2.58	21.47 $\pm$ 6.46
5군	167.2 $\pm$ 53.27	8.6 $\pm$ 1.3	19.75 $\pm$ 6.5
6군	247.93 $\pm$ 83.07	9.4 $\pm$ 2.82	27.03 $\pm$ 8.27
7군	158.07 $\pm$ 76.98	7.27 $\pm$ 2.43	22.11 $\pm$ 8.76
8군	463.07 $\pm$ 127.14	12.8 $\pm$ 2.6	36.13 $\pm$ 6.12

3. 병리조직학적 평가

넙치와 무지개송어 간장에서 나타나는 병리조직학적 병변을 순환장애(IC; 울혈), 퇴행성 병변(IR; 간세포 위축, 지방간, 간괴사, MMC축적), 염증성 병변(II; 간염, 담관주위염)으로 분류를 두었으며, 1차 채집한 넙치 간장사진 7,972장, 무지개송어 간장사진 11,909장을 각 병변에 대하여 정상, 경도, 중등도, 심도로 분류하였다.

2차 채집한 넙치와 무지개송어 간장에 대하여 병변에 대해 정상 0점, 경도 1점, 중등도 2점, 심도 3점으로 평가하였다.

2차 채집한 넙치에서 괴사와 담관주위염은 1개 군에서만 나타났으며 MMC축적 소견은 보이지 않았다. 무지개송어에서 울혈과 괴사는 1개 군에서만 나타났으며 담관주위염이 넙치에서보다 높은 빈도로 나타나고 이로 인해 MMC 축적도 높은 비율로 나타나는 것으로 사료된다(table 7, 8).

또한 지방간 병변이 높은 빈도로 두 어종 모두에서 나타났으며, 넙치 60%, 무지개송어 80%에서 지방간 출현이 조사되었다(table 9).

Table 7. Histopathological changes in liver of olive flounders, Values are means $\pm$ SD, n=15

	울혈	간세포위축	지방간	괴사	간염	담관주위염
1 군	0	1.4 $\pm$ 1.12	0.2 $\pm$ 0.41	0	0	0
2 군	0.73 $\pm$ 1.1	1.27 $\pm$ 1.33	0.13 $\pm$ 0.35	0	0	0
3 군	0.07 $\pm$ 0.26	0.73 $\pm$ 1.03	0.73 $\pm$ 1.1	0	0.13 $\pm$ 0.35	0
4 군	0.07 $\pm$ 0.26	1.27 $\pm$ 1.1	0.33 $\pm$ 0.62	0	0	0
5 군	0.07 $\pm$ 0.26	2.73 $\pm$ 0.59	0.8 $\pm$ 0.68	0	0.07 $\pm$ 0.26	0
6 군	0.27 $\pm$ 0.46	1.33 $\pm$ 1.35	1.27 $\pm$ 0.8	0	0	0
7 군	0.6 $\pm$ 0.51	2 $\pm$ 0.93	1.13 $\pm$ 0.52	0.27 $\pm$ 0.8	0.2 $\pm$ 0.41	0.33 $\pm$ 0.82
8 군	0.2 $\pm$ 0.41	1.6 $\pm$ 0.74	1 $\pm$ 0.76	0	0.27 $\pm$ 0.46	0

Table 8. Histopathological changes in liver of rainbow trouts, Values are means $\pm$ SD, n=15

	울혈	간세포위축	지방간	괴사	MMC	간염
1 군	0	2.4 $\pm$ 0.63	0.93 $\pm$ 0.59	0.07 $\pm$ 0.26	0.4 $\pm$ 0.51	0.47 $\pm$ 0.74
2 군	0	2.73 $\pm$ 0.46	0.6 $\pm$ 0.51	0	0.4 $\pm$ 0.51	0
3 군	0.07 $\pm$ 0.26	2.2 $\pm$ 0.77	1.27 $\pm$ 0.59	0	0.6 $\pm$ 0.51	0
4 군	0	1.93 $\pm$ 0.26	1.53 $\pm$ 0.52	0	0.53 $\pm$ 0.52	0.2 $\pm$ 0.41
5 군	0	2.87 $\pm$ 0.35	1.2 $\pm$ 0.94	0	0.6 $\pm$ 0.51	0.27 $\pm$ 0.46
6 군	0	2.8 $\pm$ 0.41	0.8 $\pm$ 0.77	0	0.27 $\pm$ 0.46	0.27 $\pm$ 0.8
7 군	0	2.6 $\pm$ 0.51	1.47 $\pm$ 0.52	0	0.53 $\pm$ 0.52	0.2 $\pm$ 0.41
8 군	0	2.73 $\pm$ 0.46	0.93 $\pm$ 0.8	0	0.73 $\pm$ 0.46	0.27 $\pm$ 0.46

Table 9. Ratio of fatty liver of olive flounder and rainbow trouts

	넙치	무지개송어
지방간 비율	60/120 (50%)	96/120 (80%)

4. 통계학적 분석

2차 채집한 넙치와 무지개송어 간장에서 나타나는 병변 점수와 카테고리 점수 그리고 간장 전체 병변 합계점수를 GOT, GPT, HSI, CF와의 상관관계를 Pearson 상관계수를 이용하여 분석한 결과, 넙치에서 간세포 위축과 CF가 음의 상관관계를 보였고, 무지개송어에서 세포 위축이 HSI와 음의 상관관계, 지방간이 양의 상관관계, 간세포 괴사와 양의 상관관계를 보였다. 하지만 간장의 병변과 GOT, GPT와의 상관관계는 나타나지 않았다.(table 10, 11, 12, 13)

다만, 넙치에서 GOT, GPT, GOT/GPT ratio를 이용하여 K-평균 군집분석 3개 군집으로 분류하였을 때 혈청학적 수치의 변화로부터 1번 군집의 경우 비알콜성 지방간을 의심할 수 있었으며 2번 군집에서 허혈성 간염을 의심할 수 있었다(table 14).

각 군집에 대해 병변에 따른 차이를 일원배치분산분석을 실시한 결과 1번 군집에서 비알콜성지방간이 유의적으로 높은 수치를 보였으며, 2번 군집에서 울혈이 유의적으로 높은 수치를 보였다(table 15).

실제 1번 군집에서 비알콜성지방간이 나타난 비율은 68%, 울혈은 60%로 조사되었다.

Table 10. Pearson correlation coefficient between histopathological changes and GOT, GPT, HSI, CF of olive flounder

		울혈	간세포 위축	지방간	간 괴사	염증	담관주위염
GOT	상관계수	0.118	-0.005	0.104	0.028	0.03	0.019
	유의확률 (양쪽)	0.201	0.955	0.259	0.759	0.748	0.835
	N	119	119	119	119	119	119
GPT	상관계수	0.003	-0.03	0.007	-0.065	0.056	-0.079
	유의확률 (양쪽)	0.975	0.746	0.942	0.478	0.541	0.389
	N	120	120	120	120	120	120
HSI	상관계수	0.002	-0.018	-0.015	0.097	-0.04	0.09
	유의확률 (양쪽)	0.979	0.848	0.872	0.294	0.661	0.327
	N	120	120	120	120	120	120
CF	상관계수	-0.039	-.289**	0.034	0.037	0.027	0.048
	유의확률 (양쪽)	0.673	0.001	0.715	0.686	0.769	0.604
	N	120	120	120	120	120	120

Table 11. Pearson correlation coefficient between IC, IR, II, Liver total score and GOT, GPT, HSI, CF of olive flounder

		IC	IR	II	Liver
GOT	상관계수	0.118	0.052	0.032	0.09
	유의확률 (양쪽)	0.201	0.572	0.731	0.328
	N	119	119	119	119
GPT	상관계수	0.003	-0.03	-0.019	-0.031
	유의확률 (양쪽)	0.975	0.743	0.839	0.741
	N	120	120	120	120
HSI	상관계수	0.002	-0.003	0.036	0.007
	유의확률 (양쪽)	0.979	0.976	0.695	0.939
	N	120	120	120	120
CF	상관계수	-0.039	-.188*	0.05	-0.166
	유의확률 (양쪽)	0.673	0.04	0.589	0.07
	N	120	120	120	120

Table 12. Pearson correlation coefficient between histopathological changes and GOT, GPT, HSI, CF of rainbow trouts

		울혈	간세포 위축	지방간	핵변화	간괴사	MMC	간염	담관주위염
GOT	상관계수	0.049	-0.07	-0.056	0.058	-0.008	0.166	-0.101	0.117
	유의확률 (양쪽)	0.598	0.447	0.546	0.53	0.933	0.069	0.273	0.205
	N	120	120	120	120	120	120	120	120
GPT	상관계수	0.034	0.057	-0.051	-0.005	-0.009	0.108	-0.062	-0.044
	유의확률 (양쪽)	0.714	0.535	0.578	0.953	0.927	0.241	0.501	0.635
	N	120	120	120	120	120	120	120	120
HSI	상관계수	0.13	-.357**	.423**	-0.072	.327**	-0.053	0.036	-0.059
	유의확률 (양쪽)	0.158	0	0	0.434	0	0.565	0.693	0.522
	N	120	120	120	120	120	120	120	120
CF	상관계수	.195*	-0.004	-0.082	-0.03	-0.076	-0.032	0.069	0.061
	유의확률 (양쪽)	0.033	0.966	0.371	0.748	0.412	0.733	0.454	0.51
	N	120	120	120	120	120	120	120	120

Table 13. Pearson correlation coefficient between IC, IR, II, Liver total score and GOT, GPT, HSI, CF of rainbow trouts

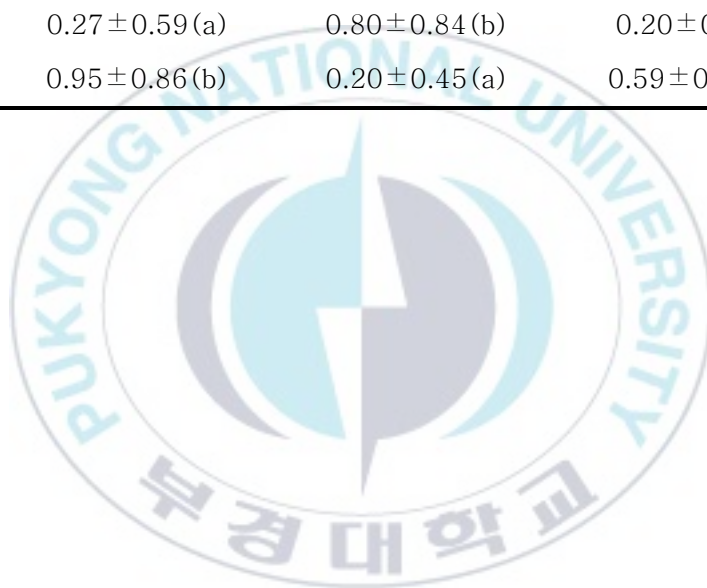
		IC	IR	II	Liver
GOT	상관계수	0.049	0.012	0.024	0.03
	유의확률 (양쪽)	0.598	0.895	0.795	0.745
	N	120	120	120	120
GPT	상관계수	0.034	0.053	-0.066	-0.005
	유의확률 (양쪽)	0.714	0.567	0.475	0.956
	N	120	120	120	120
HSI	상관계수	0.13	0.099	-0.02	0.069
	유의확률 (양쪽)	0.158	0.284	0.825	0.453
	N	120	120	120	120
CF	상관계수	.195*	-0.097	0.082	0
	유의확률 (양쪽)	0.033	0.292	0.375	0.997
	N	120	120	120	120

Table 14. K means cluster analysis of GOT, GPT, GOT/GPT ratio of olive flounder, Values are means $\pm$ SD

군집	1 (n=44)	2 (n=5)	3 (n=70)
GOT	46.55 $\pm$ 7.85	77.60 $\pm$ 7.64	25.23 $\pm$ 6.57
GPT	15.93 $\pm$ 7.18	20.80 $\pm$ 7.46	8.46 $\pm$ 2.13
GOT/GPT	3.45 $\pm$ 1.37	4.27 $\pm$ 1.92	3.08 $\pm$ 0.87

Table 15. Histopathological changes score of congestion and fatty liver of olive flounder, Values are means $\pm$ SD

군집	1 (n=44)	2 (n=5)	3 (n=70)
울혈	0.27 $\pm$ 0.59 (a)	0.80 $\pm$ 0.84 (b)	0.20 $\pm$ 0.50 (a)
지방간	0.95 $\pm$ 0.86 (b)	0.20 $\pm$ 0.45 (a)	0.59 $\pm$ 0.71 (ab)



5. 병변 판독 인공지능 모델 검증

2차 채집한 넙치와 무지개송어에 각 군별 발생한 병변에 대한 분석을 점수화하여 합계하였다(table 16, 17, 18, 19). 직접 분석하여 얻은 결과와 병변 판독 인공지능 모델을 이용하여 도출한 결과가 유사한 수치를 나타냄을 확인 했고, 해당 결과를 병변 유무에 따라 0과 1로 비교하여 정확도, 재현율, 정밀도, F1 Score, 특이도 그리고 카파계수를 산출하였다.

카파 계수(K) 값은 $K < 0.20$ 은 불일치, $0.21 \sim 0.40$ 약간 일치함, $0.41 \sim 0.60$ 보통 일치함, $0.61 \sim 0.80$ 높게 일치함, $0.81 \sim 1.00$ 매우 높게 일치함으로 구분한다.(Altman DG 1991; Cohen J 1960; Cohen J 1968; Fleiss JL, Levin B and Paik MC 2003)

무지개송어에서 간 괴사와 간세포 위축 항목에 대한 모델 검증은 불일치로 나타났으나, 그 외에 항목은 넙치와 무지개송어 모두 0.21 보다 높은 수치를 보였다.(table)

Table 16. Combined liver score of olive flounder, congestion, atrophy and fatty liver

	간 울혈		간세포 위축		지방간	
	분석	모델	분석	모델	분석	모델
1군	0	0	21	25	3	4
2군	11	11	19	19	2	2
3군	1	3	11	17	11	4
4군	1	1	19	17	5	5
5군	1	1	41	42	12	9
6군	4	4	20	16	19	11
7군	9	8	30	26	17	12
8군	3	2	24	23	15	10

Table 17. Combined liver score of olive flounder, necrosis, hepatitis and peri cholangitis

	간괴사		임파구 활성화		담관주위 염증	
	분석	모델	분석	모델	분석	모델
1군	0	0	0	0	0	0
2군	0	0	0	0	0	0
3군	0	0	2	2	0	0
4군	0	0	0	0	0	0
5군	0	0	1	0	0	0
6군	0	0	0	0	0	0
7군	4	3	3	2	5	5
8군	0	0	4	5	0	0

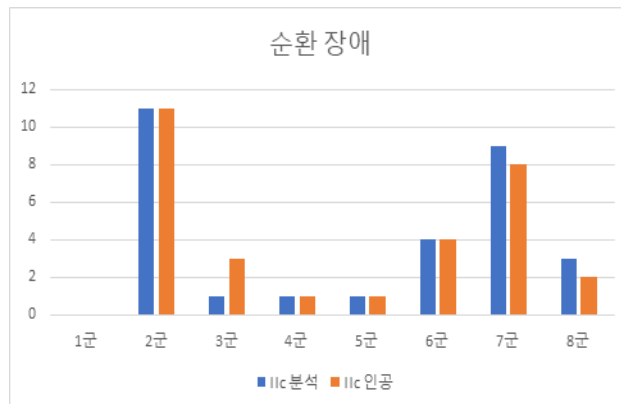


Figure 1. Olive flounder's liver circulatory disturbances score of each 8 group

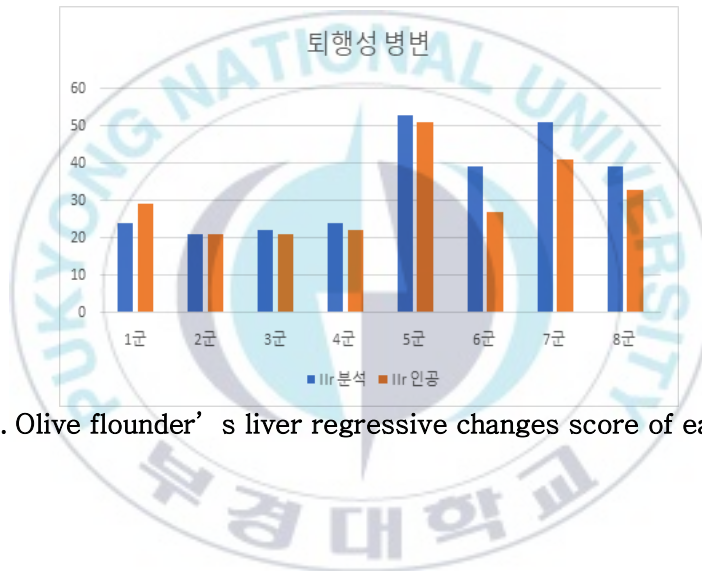


Figure 2. Olive flounder's liver regressive changes score of each 8 group

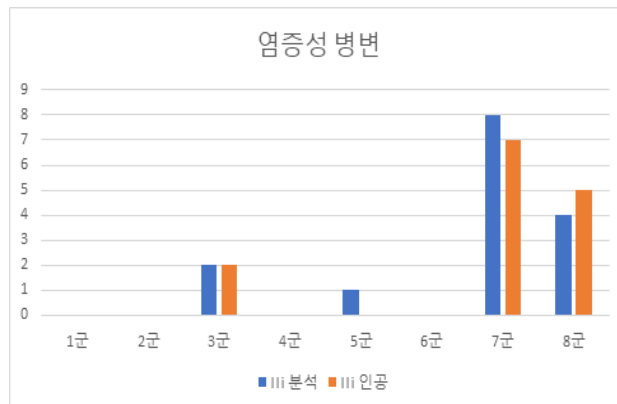


Figure 3. Olive flounder' s liver inflammation score of each 8 group

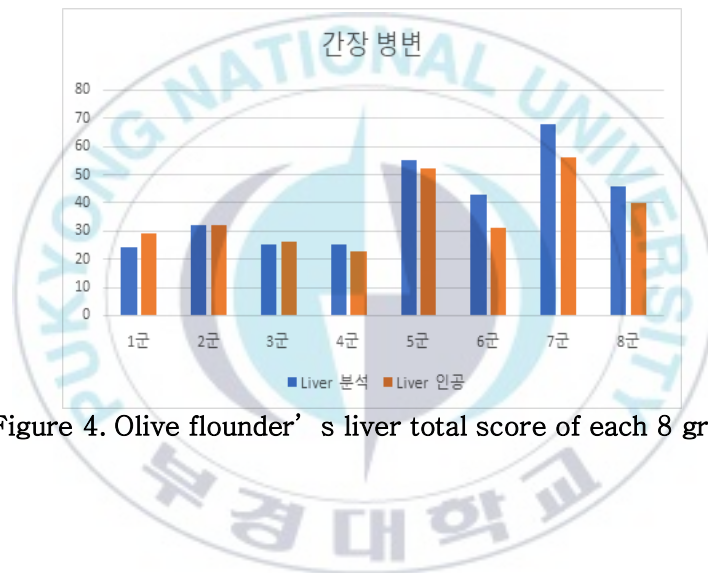


Figure 4. Olive flounder' s liver total score of each 8 group

Table 18. Combined liver score of rainbow trout, congestion, atrophy and fatty liver

	간 울혈		간세포 위축		지방간	
	분석	모델	분석	모델	분석	모델
1군	0	0	36	31	14	13
2군	0	0	41	24	9	10
3군	1	1	33	20	19	21
4군	0	0	29	17	23	21
5군	0	0	43	30	18	20
6군	0	0	42	28	12	16
7군	0	0	39	29	22	21
8군	0	1	41	31	14	13

Table 19. Combined liver score of rainbow trout, increase of MMC, hepatitis and peri cholangitis

	MMC		임파구 활성화		담관주위염	
	분석	모델	분석	모델	분석	모델
1군	6	6	7	5	5	4
2군	6	5	0	0	1	0
3군	9	7	0	0	5	6
4군	8	11	3	2	5	7
5군	9	7	4	4	2	2
6군	4	4	4	4	5	6
7군	8	11	3	4	0	3
8군	11	11	4	7	12	17

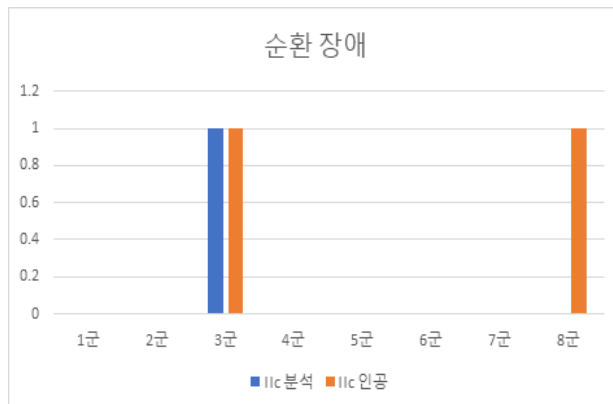


Figure 5. Rainbow trout' s liver circulatory disturbances score of each 8 group

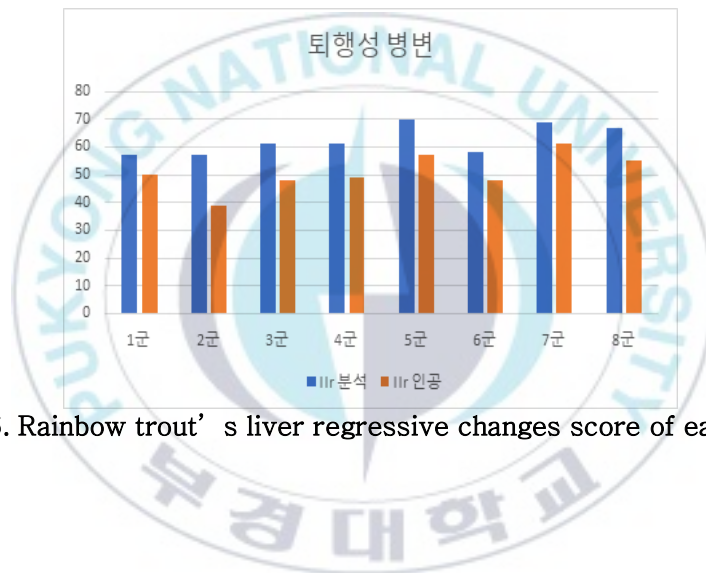


Figure 6. Rainbow trout' s liver regressive changes score of each 8 group

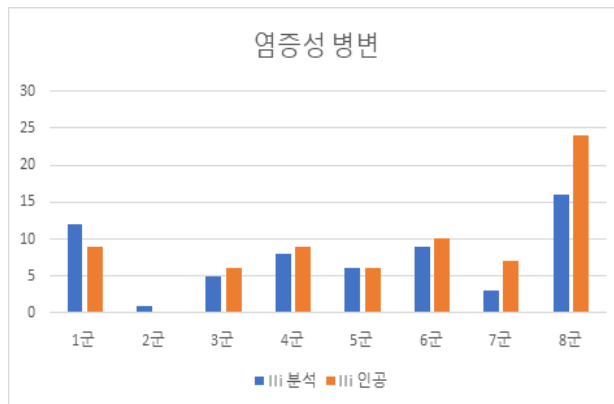


Figure 7. Rainbow trout' s liver inflammation score of each 8 group

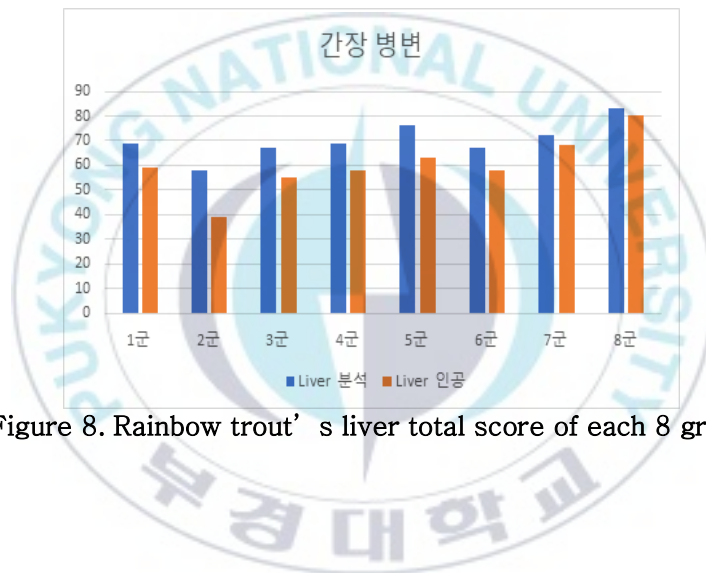


Figure 8. Rainbow trout' s liver total score of each 8 group

Table 20. Appraisal of histopathological changes reading AI model of olive flounder

	간 울혈	간세포 위축	지방간	간괴사	임파구 활성	담관주위 염증
정확도	0.93	0.83	0.78	0.99	0.90	0.98
재현율 (민감도)	0.72	0.84	0.70	0.50	0.30	0.67
정밀도	0.90	0.91	0.87	1.00	0.38	0.50
F1 Score	0.80	0.87	0.78	0.67	0.33	0.57
특이도	0.98	0.79	0.88	1.00	0.95	0.98

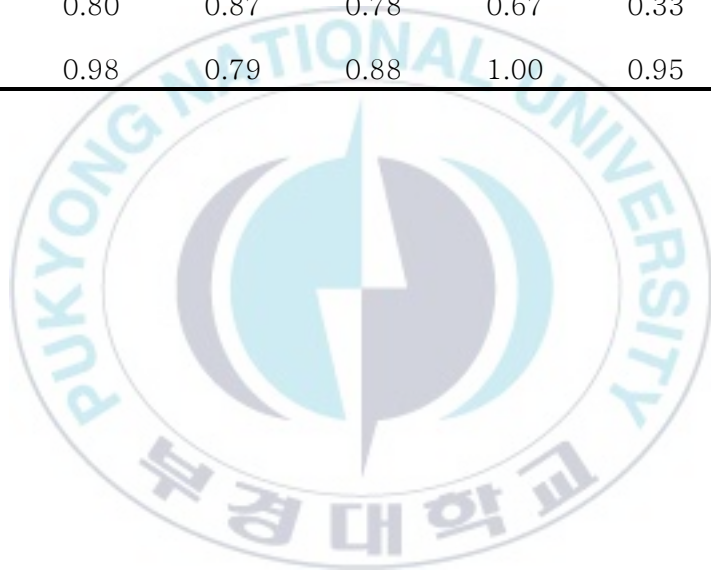


Table 21. Appraisal of histopathological changes reading AI model of rainbow trout

	간 울혈	간세포 위축	지방간	MMC	임파구 활성	담관주위 염증
정확도	0.99	0.85	0.72	0.66	0.93	0.93
재현율 (민감도)	1.00	0.85	0.74	0.66	0.81	0.89
정밀도	0.50	1.00	0.89	0.67	0.77	0.83
F1 Score	0.67	0.92	0.81	0.66	0.79	0.86
특이도	0.99	—	0.63	0.66	0.95	0.95

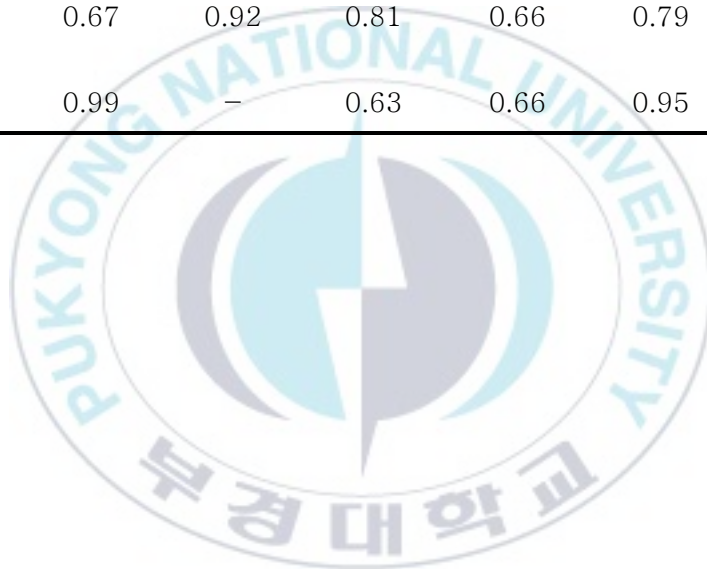


Table 22. Cohen's Kappa Coefficient of histopathological changes reading AI model of olive flounder

	간 울혈	간 괴사	간세포 위축	담관주위 염증	임파구 활성화	지방간
가중 K	0.75	0.66	0.59	0.56	0.28	0.57
표준오차	0.08	0.32	0.08	0.23	0.15	0.07
95%	0.60	0.04	0.44	0.11	-0.01	0.43
신뢰구간	~0.91	~1.00	~0.75	~1.00	~0.57	~0.71

Table 23. Cohen's Kappa Coefficient of histopathological changes reading AI model of rainbow trout

	MMC	간 울혈	간 괴사	간세포 위축	담관주위염증	임파구 활성화	핵변화
가중 K	0.32	0.66	0.00	0.00	0.81	0.74	0.29
표준오차	0.09	0.32	0.00	0.00	0.06	0.08	0.09
95%	0.15	0.04	0.00	-0.00	0.69	0.59	0.11
신뢰구간	~0.49	~1.00	~0.00	~0.00	~0.94	~0.90	~0.47

IV. 고찰

본 연구를 통해 양식장 넙치와 무지개송어 간장에서 나타나는 각종 병변을 확인하고 혈청을 통해 각 병변이 나타난 간장의 GOT, GPT 수치를 조사하고 상관관계를 파악할 수 있었으며, 넙치와 무지개송어 간장에서 나타나는 조직병리학적 병변을 판독해주는 인공지능 모델을 개발하고 검증할 수 있었다.

두 어종의 간장에서 간 울혈, 간세포 위축 지방간, 괴사, MMC 축적, 간염, 담관주위염을 주요 조직병리학적 병변으로 판독하였으며 2차 채집을 통해 현장에서 지방간 소견이 넙치에서 50%, 무지개송어에서 80%로 높은 비중을 차지하는 것을 확인했다.

두 어종에서 나타나는 지방간은 비알코올성 지방간으로 만성 지방간에서 확인할 수 있는 대소포성 지방간(Li M 2011)과 급성 지방간에서와 최근 연구에서 NAFLD와 연관성이 확인되는 소소포성 지방간(Tandra S. 2011)이 모두 나타났다.

2차 채집한 넙치와 무지개송어의 혈청으로부터 GOT, GPT 수치와 이로부터 GOT/GPT ratio를 산출하였다. GOT, GPT, GOT/GPT ratio는 간기능검사에 사용되는 대표적인 간수치 지표로(Hubscher, S. G. 2006) 특히, 이들 지표는 간세포의 파괴를 알려주는 간접지표로 사용된다(LaDue, J. S. 1954; Wroblewski, F. and Ladue, J. S. 1956). 이 수치들과 간장에서 나타난 병변 점수 그리고 생체지수들과의 상관관계를 pearson 상관계수를 구하여 확인했다.

넙치에서는 간세포의 위축이 심화되면 CF가 감소하는 약한 음의 상관관계를 보였다. 무지개송어에서는 간세포의 위축이 실제 간장의 위축으로 나타나는 상관관계를 보였으며 지방이 찰수록 HSI가 높아지는 양의 상관관계를 보였다. 하지만 혈청학적 수치와 간장의 병변에서는 상관관계를 보이지 않았다.

이는 최근 연구에서 간기능검사시 간질환 이외의 인자들이 결과에 영향을 미치며 진

행된 간질환 환자에서도 간기능검사 수치가 정상일 수 있음이 알려지며(Kim, K. A. 2009) 간장질환의 진단에 있어 보조적인 수단으로만 이용되고 있어 본 연구의 결과와 부합함을 알 수 있었다.

다만 넵치에서 K-평균 군집분석을 통해 3가지 군으로 분류한 결과(table 14, 15), 혈청학적 수치가 간장병변을 다소 설명해줄 수 확인 했다. 1번 군집은 모든 수치가 낮은 3번 군집에서 보다 GOT와 GPT의 상승이 있으나 GOT/GPT ratio가 소폭 상승한 것으로 비알코올성 지방간을 의심할 수 있다. 실제 지방간 병변에서 1번 군집이 지방간 점수가 유의적으로 높을 것을 확인할 수 있었다. 또한 2번 군집은 GOT와 GPT 수치가 모두 증가했지만 GOT/GPT ratio가 크게 상승한 것으로 허혈성 간염을 의심할 수 있고 조직검사를 통해 2번 군집이 다른 군집보다 유의적으로 울혈 점수가 높은 것을 확인 했다.

반면 무지개송어에서는 이와 같은 분석에서 유의적인 관계를 확인하지 못했다.

이를 통해 일부 혈청학적 수치가 간장의 병변을 설명할 수 있으나 전체 개체에 대해 판단할 경우 GOT, GPT 수치가 간장의 병변을 대변하지는 않는 결과를 얻었다.

이러한 결과는 사람의 혈청에서 간장 질환을 진단할 때 GOT의 sensitivity는 74% specificity는 92%, cholestasis의 경우 28%이며, GPT는 sensitivity 56% specificity 90%, cholestasis의 경우 26%로 알려져 있으며(table 24), 또한 현장에서 혈청을 채취하고 수치를 산출할 때 필연적으로 발생하는 실험적인 한계와 더불어 다양한 요인들이 GOT, GPT의 수치에 영향을 줄 수 있기 때문에 판단하며(Korones, D. N. 2001), 또한 수치의 증가 폭이 병변의 심도를 설명하지 못하는 것으로 사료된다.

Table 24. Sensitivity and Specificity of liver function test *Ferraris R. 1983, **Rondana M 1987

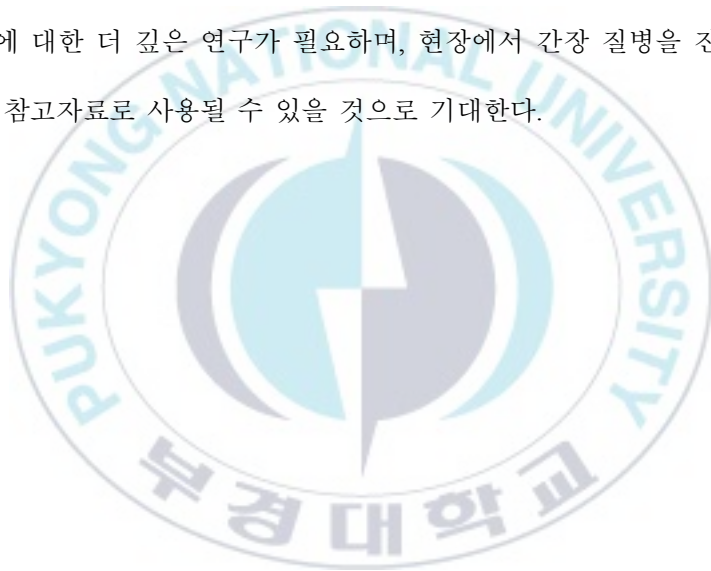
Finding	Sensitivity	Specificity	Comments
Serum bile acids*	78%	93%	Sensitivity for Cholestasis: 54% (mild), 98% (severe) Sensitivity for Parenchymal dz: 42% (mild), 90% (severe)
AST*	74%	92%	Sens for Cholestasis: 28% (mild), 88% (severe) Sens for Parenchymal: 70% (mild), 85% (severe)
Total bilirubin*	56%	91%	Sens for Cholestasis: 26% (mild), 85% (severe) Sens for Parenchymal: 18% (mild), 68% (severe)
ALT*	56%	90%	Sens for Cholestasis: 26% (mild), 77% (severe) Sens for Parenchymal: 58% (mild), 58% (severe)
Pre albumin**	84%	89.2%	
Prothrombin activity**	63%	89.2%	
Apolipoprotein A**	53.4%	86.1%	
Albumin**	41.6%	85.9%	
GGT*	75%	85%	Sens for Cholestasis: 54% (mild), 84% (severe) Sens for Parenchymal: 70% (mild), 82% (severe)
Alkaline phosphatase*	65%	83%	Sens for Cholestasis: 53% (mild), 92% (severe) Sens for Parenchymal: 29% (mild), 72% (severe)
Seudocholin esterase**	69.8%	69.8%	

본 연구에서 사용된 GOT와 GPT 수치를 비롯하여 다양한 간기능검사에 사용되는 혈청학적 수치에서도 낮은 sensitivity를 보이기에 넙치와 무지개송어에서 정상치를 구축하기 위해 더욱 많은 개체에 대해 철저한 선별과 이상수치에 대한 판별이 있어야 하며 이렇게 도출된 결과 또한 현장에 적용하기에 table 10, 11, 12, 13에서의 결과와 같이 한계를 지남을 알 수 있었다. 그렇기에 간장의 질병을 진단하기 위해서는 다른 검사방법의 도입이 필요할 것으로 판단되며, 어류에 있어서는 경제성에 입각하여 조직검사를 통한 병변의 확인이 필수적일 것이라 사료된다.

한편 양식 어류에서 간장의 조직검사를 실시하기에는 전문 인력의 부족으로 어려움이 있다. 따라서 단시간에 많은 양의 자료를 학습할 수 있는 인공지능의 도입이 하나의 대안이 될 수 있으며, 의학에서 인공지능을 도입하려는 시도는 계속 이루어지고 있다(Dytch H. E., 1990).

이미지를 분석하고 학습하여 유사도를 이용하여 새로운 이미지에 대한 분류를 가능하게 해주는 딥러닝 방식의 인공지능 오픈소스(google, teachable machine)를 이용하여 만든 간장에 대한 조직병변 자동 판독 모델을 만들고 html javascript를 이용하여 프로그램을 제작하여, 앞서 2차 채집한 넙치 120마리와 무지개송어 120마리에 적용하여 분석한 결과 군별 병변에 대한 합계 점수에서 상당히 유사한 결과를 얻을 수 있었고, 넙치에서 정확도 최대 99% 최소 0.78%, 무지개송어에서 정확도 최대 99% 최소 66%의 결과를 얻으며 프로그램을 완성했다.

본 연구의 결과로 얻은 프로그램을 이용하여 양식 현장에서 간장 상태에 대한 조직검사 결과를 누구나 쉽게 접할 수 있도록 해주며 어류의 건강에 큰 영향을 미치는 간장의 상태를 관리하여 생산량 증대로 이어지기를 기대한다. 또한 넙치와 무지개송어를 이용한 연구에서 간장의 상태가 연구결과에 미치는 영향을 배제할 수 있도록 통제하는 사전검사로 매우 유용할 것으로 사료되며, 추후 어류에서 간기능 검사와 간장의 병변에 대한 더 깊은 연구가 필요하며, 현장에서 간장 질병을 진단하기 위한 참고자료로 사용될 수 있을 것으로 기대한다.



V. 요약

지금까지 넙치와 무지개송어를 이용한 많은 실험에서 혈청학적 지표로 GOT와 GPT수치를 이용하고 있다. GOT와 GPT수치는 간장의 세포 파괴로 인해 혈청으로 노출 되며, 혈청에서 두 효소를 측정하는 것으로 간장에서 발생한 병변에 대해 간접적으로 알 수 있게 된다. 하지만 인의에서 GOT와 GPT를 이용한 검사는 병변 판독이 어렵다는 보고가 다수 이루어짐에 따라 초음파검사, MRI검사 조직검사 등 다양한 검사를 시행하며 보조적인 수단으로 혈청검사가 이루어지고 있다. 넙치와 무지개송어에서는 혈청 수치에 대한 정상수치에 대한 연구가 부족하며 각종 병변에 대한 변동 연구가 부족함에도 다양한 연구에서 혈청학적 수치를 이용하고 있다. 따라서 현장에서 나타나는 넙치와 무지개송어의 병변에 따른 GOT와 GPT 수치를 조사하고 상관관계를 확인하고자 하였다.

또한 이미 많은 보고와 연구를 통해 간장의 병변에 혈청학적 수치를 이용하는 것에 한계가 있음이 밝혀져, 양식어류에서 간장 기능에 대한 평가와 간장 병변을 정확하게 확진하기 위해 조직학적 평가가 매우 중요하다. 그렇기에 양식의 특수성에 의해 다량의 간장에 대한 조직검사가 신속하게 이루어져야할 필요성이 있다. 하지만 기존의 조직검사는 숙련된 전문가에 의해 이루어지며 긴 시간이 필요하고 다량의 조직검사를 실시하기에 어려움이 있다. 따라서 본 연구를 통해 넙치와 무지개송

어의 간장에서 나타나는 다양한 병변에 대해 학습하고 판독해주는 인공지능 모델을 제작하여 대량의 조직검사를 신속하게 할 수 있도록 하는 것에 목적이 있었으며 인공지능 모델 제작과 병변 자동 판독 프로그램 제작의 가능성을 확인하고자 하였다. 대량의 병변 조직사진을 이용하여 병변에 대한 학습이 이루어졌으며 대규모의 현장 적용을 통해 검증이 이루어졌고 그 결과 높은 정확도를 나타냄을 확인할 수 있었다.

본 연구의 결과는 간장병변을 확인함에 있어 혈청학적 접근에 상당한 한계가 있으며 이를 보완하기 위해 간접지표를 이용한 검사가 아닌 직접적인 검사가 이루어져야할 필요가 있음을 시사하며 또한 딥러닝 방식을 이용한 학습을 통해 병변에 대한 판독을 자동으로 실시하여, 비숙련자에 의한 대량의 조직검사를 신속하게 할 수 있는 가능성이 높다는 데 의의가 있다.

본 연구의 결과가 넓치와 무지개송어의 간장 상태에 대한 혈청학적 수치의 정상치와 이상에 따른 변화를 연구하고 인공지능을 이용한 조직 검사 판독에 선행자료로 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 조직사진 및 그림 설명

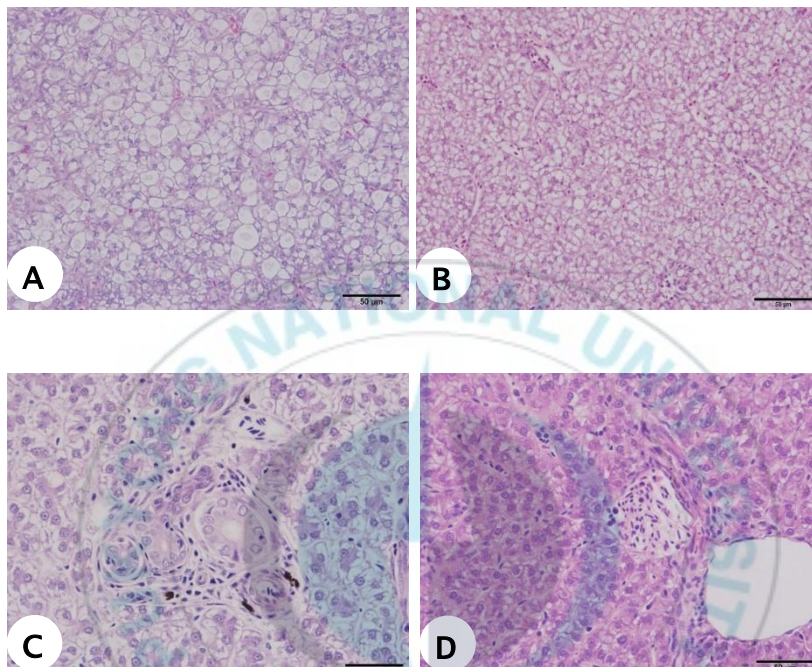


Figure 9. Fatty liver change in olive flounder and rainbow trout. (A) Macrovesicular fatty liver in olive flounder. (B) Microvesicular fatty liver in olive flounder. (C) Macrovesicular fatty liver in rainbow trout, (D) Microvesicular fatty liver in rainbow trout. Hematoxylin and eosin (H&E) staining

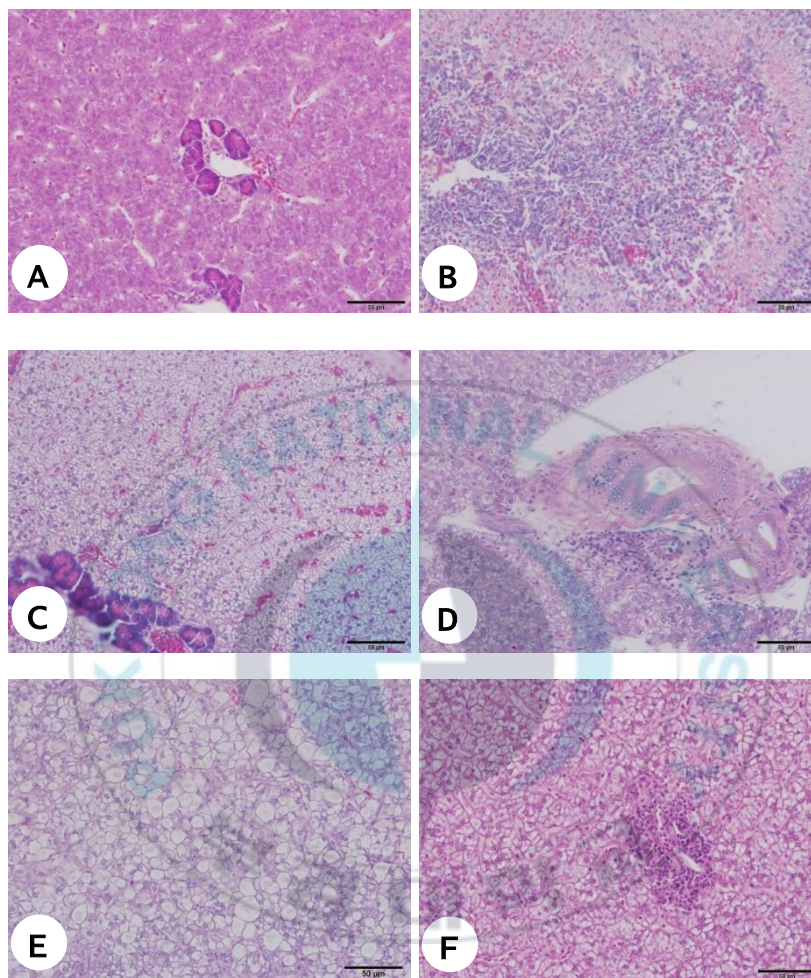


Figure 10. Histopathological changes in the liver of olive flounder. (A) Atrophic hepatocyte. (B) Necrosis of hepatocyte (C) Hepatic vascular congestion. (D) Pericholangitis. (E) Fatty degeneration. (F) Hepatitis. Hematoxylin and eosin (H&E) staining

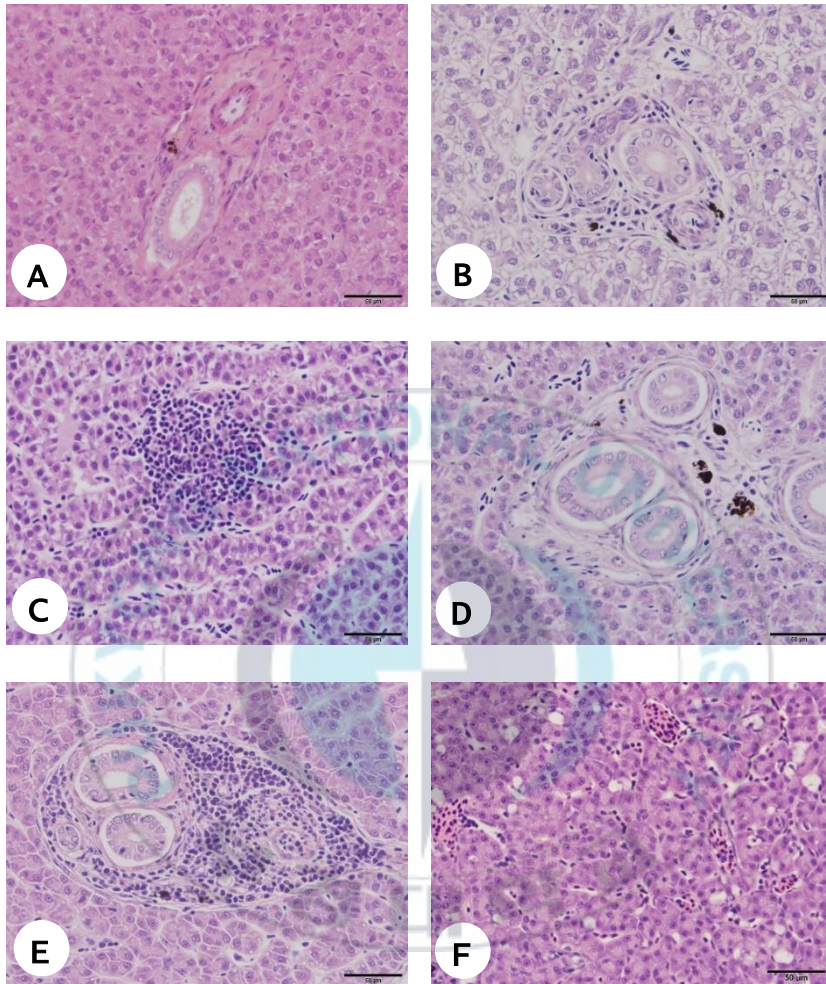


Figure 19. Histopathological changes in the liver of rainbow trout. (A) Atrophic hepatocyte. (B) Pericholangitis (C) Hepatitis. (D) Increase of MMCs. (E) pericholangitis. (F) Hepatic vascular congestion. Hematoxylin and eosin (H&E) staining

감사의 글

부푼 꿈을 안고 대학에 입학하고 더욱 학문에 정진하기 위해
어패류 병리학 실험실에 입방 했습니다. 입방하며 목표로 삼았었던
목표들을 하나씩 이루며 석사 졸업을 할 수 있기까지 성장할 수
있었습니다. 졸업논문을 작성하기까지 많은 기회와 도움을 주신
분들께 고마운 마음을 전하고자 합니다.

석사기간 보살펴 주시고 응원해주신 허민도 교수님, 논문심사를
해주시고 부족한 부분을 조언해주신 정준기 교수님, 김도형 교수님께
감사의 인사를 드립니다. 또한 대학과정과 석사과정 동안 많은
가르침을 주신 정현도 교수님, 강주찬 교수님, 김기홍 교수께도
감사의 마음을 전합니다.

다양한 연구 과제에 참여할 기회를 주시고 지도해주신 이무근
선배님과 김보성 선배님 그리고 병리방 식구들 박지원, 정다혜,
노을빛, TLO 를 통해 도움을 준 박준용, 김성환, 유성연 감사합니다

마지막으로 학업 과정을 지지해 주시고 응원해주신 사랑하는
부모님과 가족들에게 가장 큰 감사의 말을 올립니다.

참고문헌

- Altman, D. G. (1991) Practical statistics for medical research. London: Chapman and Hall.
- Bernet, D, H Schmidt, W Meier, P Burkhardt□Holm, and T Wahli. (1999). 'Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution', *Journal of fish diseases*, 22: 25-34.
- Bilton, H., and G. Robins. (1973). The effects of starvation and subsequent feeding on survival and growth of Fulton channel sockeye salmon fry (*Oncorhynchus nerka*). *Journal of the Fisheries Board of Canada* 30 (1):1-5.
- Cho, S. H., Lee, S. M., Park, B. H., Ji, S. C., Lee, J., Bae, J., & Oh, S. Y. (2007). Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(1), 49-57.
- Cohen, J. (1960) A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 20:37-46.
- Cohen, J. (1968) Weighted kappa: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychological Bulletin* 70:213-220. PubMed
- Dytch, H. E., & Wied, G. L. (1990). Artificial neural networks and their use in quantitative pathology. *Analytical and quantitative cytology and histology*, 12(6), 379-393.
- Ferraris, R., Colombatti, G., Fiorentini, M. T., Carosso, R., Arossa, W., & De La Pierre, M. (1983). Diagnostic value of serum bile acids and routine liver function tests in hepatobiliary diseases. *Digestive diseases and sciences*, 28(2), 129-136.
- Fleiss, J.L., Levin B, Paik, M. C. (2003) Statistical methods for rates and

- proportions, 3rd ed. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Hilton, J. W., & Dixon, D. G. (1982). Effect of increased liver glycogen and liver weight on liver function in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: recovery from anaesthesia and plasma 35S-sulphobromophthalein clearance. *Journal of Fish Diseases*, 5(3), 185-195.
- Huang, X. J., Choi, Y. K., Im, H. S., Yarimaga, O., Yoon, E., & Kim, H. S. (2006). Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. *Sensors*, 6(7), 756-782.
- Hubscher, S. G. (2006). Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology*, 49(5), 450-465.
- Kamath, P. S. (1996, November). Clinical approach to the patient with abnormal liver test results. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 71, No. 11, pp. 1089-1095). Elsevier.
- Kim, K. A. (2009). Understanding and application of liver function tests. *The Korean Journal of Medicine*, 76(2), 163-168.
- Korones, D. N., Brown, M. R., & Palis, J. (2001). "Liver function tests" are not always tests of liver function. *American journal of hematology*, 66(1), 46-48.
- Kumar, V, RS Cotran, and SL Robbins. (2004). "Robbin's basic pathology (pp. 641- 655)." In.: Philadelphia: Saunders: An Imprint of Elsevier.
- LaDue, J. S., Wróblewski, F., & Karmen, A. (1954). Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science*, 120(3117), 497-499.
- Li, M., Song, J., Mirkov, S., Xiao, S. Y., Hart, J., & Liu, W. (2011). Comparing morphometric, biochemical, and visual measurements of macrovesicular steatosis of liver. *Human pathology*, 42(3), 356-360.
- Marchesini, Giulio, Elisabetta Bugianesi, Gabriele Forlani, Fernanda Cerrelli, Marco Lenzi, Rita Manini, Stefania Natale, Ester Vanni, Nicola Villanova, and Nazario Melchionda. (2003). 'Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis,

- and the metabolic syndrome', *Hepatology*, 37: 917-23.
- Racicot, J. G., Gaudet, M., & Leray, C. (1975). Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: Study of CCl₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection. *Journal of fish Biology*, 7(6), 825-835.
- Rondana, M., Milani, L., Merkel, C., Caregaro, L., & Gatta, A. (1987). Value of prealbumin plasma levels as liver test. *Digestion*, 37(2), 72-78.
- Segner, H., and J. V. Juario. (1986). Histological observations on the rearing of milkfish, *Chanos chanos*, fry using different diets. *Journal of Applied Ichthyology* 2 (4):162-172.
- Sheth, K., and P. Bankey. (2001). The liver as an immune organ. *Current opinion in critical care* 7 (2):99-104.
- Smith, B. W., & Adams, L. A. (2011). Non-alcoholic fatty liver disease. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 48(3), 97-113.
- Takashima, F., and T. Hibiya. (1995). An atlas of fish histology: normal and pathological features.
- Tandra, S., Yeh, M. M., Brunt, E. M., Vuppalanchi, R., Cummings, O. W., Ünalp-Arida, A. & Chalasani, N. (2011). Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*, 55(3), 654-659.
- Thapa, B. R., & Walia, A. (2007). Liver function tests and their interpretation. *The Indian Journal of Pediatrics*, 74(7), 663-671.
- Wroblewski, F., & Ladue, J. S. (1956). Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 91(4), 569-571.