

N-DEN에 의한 백서의 간섬유화 병변의 동모양혈관의 미세 구조의 변화

허방, 김경원, 김영옥, 윤명희*, 이충한*

고신대학교 의과대학 병리학교실, 외과학교실*

Ultrastructural Changes of Sinusoid in N-diethylnitrosamine-induced Hepatic Fibrosis of Rat

Bang Hur, Kyung Won Kim, Young Ok Kim, Myung Hee Yoon*, Chung Han Lee*

Department of Pathology, General Surgery*
Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background: Hepatic sinusoid is lined by specialized endothelial cells showing numerous tiny fenestrae, and is not supported by an intact basement membrane, which permit direct transportation of fluid and micromolecules between Disse space and sinusoidal vascular lumen. **Material & Methods:** The purpose of this study is to investigate the ultrastructural changes of hepatic sinusoid during experimentally induced hepatic fibrosis with 12 week-N-diethylnitrosamine (DEN, 200 ppm) oral intake. The rat liver tissues were examined under the light microscope, transmission and scanning electron microscope. **Results:** Comparing with number of sieve plate(10 ± 3) and number of fenestrae(42 ± 15) per a sieve plate in control group, their numbers were reduced in all DEN-treated groups, which were significantly correlated with duration of DEN intake. And also noted were decreased size of fenestrae. Although discontinuous basal lamina around the sinusoidal endothelium and deposition of amorphous material in Disse space were initially noted in 6 week DEN-treated group, intact basal lamina was observed in 12 week DEN-treated group. Ito cells showed decreased fat droplets and well developed RER after 6 week DEN treatment. **Conclusions:** These results suggest that ultrastructural changes of fenestrae in sinusoidal endothelial cells precede the deposition of extracellular matrix in Disse space, leading to development of basement membrane, and that Ito cells are participated in the capillarization process of hepatic sinusoid. It could be speculated that inhibition of Ito cell proliferation might delay the process of hepatic fibrosis in cirrhosis.

Key words : Hepatic sinusoid, N-diethylnitrosamine(DEN), Electron microscopy, Fenestrae, Sieve plate, Ito cell, Basal lamina

서론

간 조직의 섬유화는 각종 간손상과 염증반응 후에 발생하는데 일반적으로 간의 정상 소엽구조가 유지되는

것을 간 섬유화로 분류하며, 간의 정상 구조가 파괴되고 섬유성 격벽에 의해 분리된 비정상적인 결절이 생긴 것을 간 경변증이라고 한다. 그러나 간 섬유화가 일어나는 기전이나 그 결과로 파생되는 임상적 소견과의 구체적인 관련성은 분명하게 밝혀져 있지 않다. 이들 간 섬유화 및 간 경변증 양자의 경우 간실질세포의 손상을 동반하는 염증세포의 침윤 및 이토(Ito) 세포의 섬유모세포로의 전환에 따른 세포간 기질 성분의 축적으로 간 미세혈관계의 투과성의 이상과 실질세포간의 물질 이동의

교신저자 : 허 방
Tel: 051-990-6321, Fax: 051-241-7420
E-mail: hurbang@ms.kosinmed.or.kr

* 이 연구 일부는 고신대학교 의과대학 장기려 기념 간연구소 연구비 일부를 지원 받아 이루어졌음

장애가 초래될 수 있는 것으로 추정된다^{1,2)}. 그러나 간의 염증성 변화나 간세포의 손상이 심하지 않는 경우에서도 섬유화 현상이 초래되며 그 기전 또한 분명하지 않다^{3,4)}. 또한 섬유화에 따른 말기 간 질환자에서 간기능 부전의 기전을 간세포의 대사능력의 장애에 따른 것으로 보기도 하며^{3,6)}, 간섬유화에 따른 순환장애를 근본적인 원인으로 보고 간실질 및 간질조직의 구조적 변화에 더 큰 의의를 두는 사람도 있다⁷⁾.

정상적인 성숙 흰쥐나 사람의 간에서는 동모양혈관 주변에 극히 적은 양의 기질이 있을 수 있으며, 일반적인 모세혈관에서 보는 기저막은 동모양혈관에서는 관찰되지 않는다⁸⁾. 간의 동모양혈관은 독특한 형태의 내피세포로 피복되어 있으며, 흰쥐에서의 이들 내피세포는 0.1 μm 크기의 작은 누공(fenestrae)을 가지며, 일단의 그룹을 형성하여 체판(sieve plate)의 형태를 보여 디세(Disse)강과 동모양혈관강과 직접적으로 연결되는 창구가 된다^{9,10)}. 또한 기저막을 가지지 않는 동모양혈관의 미세구조적 특징과 내피세포의 세포질내 풍부한 함입수포(endocytotic vesicle)등으로 혈장과 간세포와의 물질교환이 이루어질 수 있는 특이한 미세환경을 이루고 있다⁹⁾.

만성 간질환에서 동모양혈관 내피세포의 변화를 관찰하기에는 투과전자현미경적 검색으로 곤란하나 혈액을 제거하고 관류 고정하여 내피세포를 노출시킨 다음 주사 전자현미경으로 입체적 관찰을 하게되면 내피세포 누공의 분포와 수 및 크기의 감소를 보다 쉽게 알수 있어 동모양혈관의 미세구조와 디세강의 변화에 대한 관심이 증가되고 있다⁹⁻¹³⁾. 누공의 크기와 수는 보고자에 따라 다르며 특히 소엽의 위치에 따라 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 알코올 섭취, 간내압력의 증가 및 사염화탄소 투여, 방사선 조사 및 내독소 투여후 누공이 커지는 것으로 보고되어 있으며, 세로토닌 및 에피네프린등은 그 크기를 감소시키는 것으로 알려져 있으며, 특히 알코올 섭취 후 크기는 증가하나 수는 감소한다고 한다⁹⁾. 따라서 간손상의 원인에 따른 누공의 변화와 그 기전에 대하여 명확히 규명된 바는 없다. 특히 Ogawa 등에 의하면 간경변증의 재생성 결절에서 동모양혈관의 내피세포에는 누공이 소실되며 이러한 점은 동모양혈관의 모세혈관화(capillarization)과 관련이 있다고

보고한바 있으나 구체적인 관련성에 대하여는 기술된바가 없다¹⁴⁾.

N-디에틸나이트로자민(diethylnitrosamine, DEN)은 간세포암종을 일으킬 수 있는 발암물질로 그 중간 대사산물이 간세포 손상을 야기하고 전적으로 간에서 대사가 이루어지기 때문에 어떠한 투여 방법으로도 간세포에만 독성이 있는 것으로 알려져 있으며, DEN을 일정 기간동안 반복적으로 투여하게 되면 간경변증이 야기되고 그 형태학적 조건이 인간의 간경변증과 유사하기 때문에 간경변증의 실험 모델로서 흔히 이용되고 있다¹⁴⁻¹⁶⁾.

이에 저자는 DEN 투여로 실험적으로 유발된 백서 간섬유화 과정에서 동모양혈관의 초미세 구조의 변화, 특히 동모양혈관의 내피세포 누공의 변화와 기저막의 형성 유무 및 이토(Ito) 세포의 동태에 관한 투과 및 주사전자 현미경적 변화를 조사하여 동모양혈관의 모세혈관화의 기전을 조사하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 실험 대상

체중 200-300 gm 정도의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 일정 기간 동안 사육한후 건강이 양호한 것을 실험에 사용하였다. 간섬유화를 유발 시키기 위해 N-디에틸나이트로자민(N-diethylnitrosamine, DEN; Sigma Chemical Co., St Louis, MO)를 사용하였다.

실험은 DEN 200 ppm을 생리식염수에 섞어 식수로 마시게 하였으며, 실험군은 최초 투여부터 3 주 간격으로 3 마리씩 희생시켜 3 주, 6 주, 9 주 및 12 주의 4 군으로 나누었으며 대조군으로는 생리 식염수만을 섭취한 2 마리를 이용하였다.

2. 실험 방법

각 실험군 동물을 에테르 마취 후 복강 및 흉강을 열고 대동맥을 노출시키고 해파린 0.3 ml를 심장내 주입하였다. 복부 대동맥을 결찰한 후 22-24 G 폴리에틸렌관을 복강 동맥을 통해 삼관의 끝이 간동맥의 입구까지 도달하게 한 다음 생리 식염수를 주입과 동시에 하대정맥을 절개하여 유동혈을 깨끗이 제거한 다음 0.5% 글루타르

알데하이드와 0.5% 파라포름알데하이드 혼합액으로 10 분 정도 관류 고정하였다. 그후 간조직을 채취하여 광학현미경, 투과 전자현미경 및 주사전자현미경 관찰에 이용하였다.

(1) 광학현미경적 검색

대조군 및 각 실험군의 간조직 일부를 세절하여 10% 중성 포르말린에 4시간 더 고정하였다. 그후 탈수 및 파라핀으로 포매하고 헤마톡실린-에오진(Hematoxylin-eosin; HE) 염색으로 염증세포의 침윤 및 간세포 손상의 부위 및 정도를 관찰하고, Masson-trichrome 염색 및 레티쿨린 염색을 실시하여 섬유화의 유무를 관찰하였다.

(2) 투과 전자현미경적 검색

간조직으로 1 mm³ 크기로 자른후 2.5% 글루타르알데하이드(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 2시간 동안 전고정을 하고 완충액으로 세척하였다. 1% osmium tetroxide 용액으로 2 시간 동안 후고정하고 완충액으로 세척하였다. 세척한 조직은 계열 알코홀로 탈수하고 propylene oxide로 치환한후 epon 혼합물에 포매하였다. 중합이 끝난 조직을 1 µm의 두께로 박절하여 alkaline toluidine blue에 염색하여 동모양 혈관이 잘 유지되어 있는 부위를 중심으로 선정하였다. 선정된 부위를 40-60 nm로 초박절하고 uranyl acetate 및 lead citrate로 이중 전자염색하여 가속전압 75 kV 에서 Hitachi-600 투과 전자현미경으로 관찰하였다.

(3) 주사 전자현미경적 관찰

동모양혈관 내피세포를 관찰하기 위하여 간조직을 1x1x5 mm로 세절한 다음 0.5% 글루타르알데하이드와 0.5% 파라포름알데하이드의 혼합액으로 24 시간 전고정하고 완충액으로 세척한 다음 1% osmium tetroxide로 후고정하였다. 그 후 2% 탄닌산으로 2 시간 동안 침투시킨 후 완충액으로 수세한 다음 1% osmium tetroxide로 2 시간 동안 도전 염색한 후 CPD 030 임계 건조기(Bal-Tek)에서 액화 이산화 탄소로서 임계 건조하였다. 건조된 시료를 metal stub위에 부착시킨 뒤 SOD 005 ion sputter(Bal-Tek)에서 금이온으로 코팅하여 가속 전압 3-20 kV 하에서 DSM A-940(Zeiss) 주사 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 육안 및 조직학적 소견

DEN 3 주 투여군의 간은 육안상 거의 정상으로 보였으며, 6 주 투여군부터 간은 다소 작아져 있으며 과립상 표면을 보였다(Fig 1). 3 주 투여군의 간조직은 광학 현미경적으로는 문맥역 및 간 소엽내 미미한 단핵구 침윤이 관찰되었다. 문맥역 단핵구의 침윤은 실험 6 주 투여군 이후부터는 현저하였으며 12 주 투여군에 이르러서는 다소 감소되는 양상을 보였다. 간소엽내 염증 세포 침윤은 간세포의 호염성 변성과 동반되어 나타났으며, 세포 침윤은 6 주 투여군에서 가장 현저하였으나 9 주 투여군과 12 주 투여군에서는 감소되었다. 문맥주위의 조각괴사(piecemeal necrosis)는 6 주 투여군부터 관찰되었으며 9 주 투여군에서는 다소 증가된 반면 교각괴사(bridging necrosis)는 9 주 투여군까지 지속적으로 관찰되었다. 간실질의 위소엽(pseudolobule) 형성 또는 재생성 결절(regenerative nodule)은 레티쿨린 염색의 중첩과 문맥주위의 교원질 침착을 동반하였다(Fig 2). 즉, 3 주 투여군에서는 레티쿨린 염색의 정상적인 배열 양상을 보였으나 6 주 투여군부터 레티쿨린 염색의 중첩과 위소엽의 형성이 관찰되기 시작하였으며 9 주 투여군과 12 주 투여군에서는 위소엽 뿐만 아니라 재생된 결절을 충분히 둘러싸고 있었으며 약간의 교원질의 침착을 보였다. 위소엽의 격벽 및 교각괴사 부위에는 섬유모세포로 추정되는 방추형세포의 침윤을 동반하고 있었다. 문맥역내 혈관의 증식 및 확장과 담관 및 담세관의 증식은 6 주 투여군에서는 경하게 관찰되었으나 9 주 투여군에서는 현저하였으며 12 주 투여군에서는 다소 감소된 경향을 보여주었다(Table 1).

Table 1. Light microscopic findings of DEN-induced hepatic lesions

LM findings	Control	3wks	6wks	9wks	12wks
Portal infiltration	-	-/+	+	+	+
Periportal infiltration	-	-/+	+	++	+
Lobular infiltration	-	-/+	+/+	+	-/+
Bridging necrosis	-	-	+/+	++	++
Bridging fibrosis	-	-	-/+	+	++
Pseudolobule/nodule	-	-	-/+	+	+
Bile duct proliferation	-	-	+	++	+
Vascular dilatation/proliferation	-	-/+	+	++	+

-: absent, -/+; minimal, +; mild to moderate, ++; moderate to severe



Fig 1. Smooth surface of normal liver of control group (Left), and granular appearance of 9 week DEN-treated liver (Right).

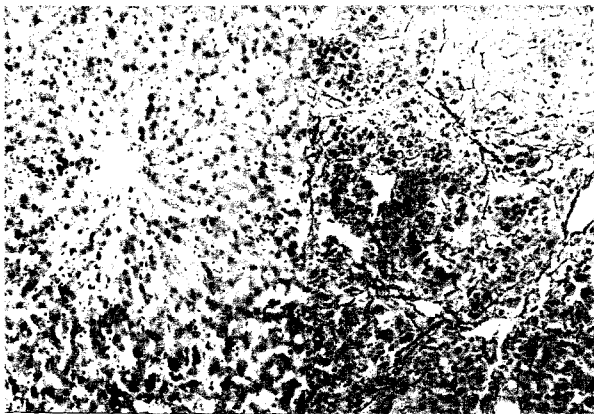


Fig 2. Histologic features of normal rat liver showing regular pattern of lobular architecture (Left, HE, x200), and regenerative nodules evidenced by silver reticulin stain (Right, reticulin x200).

2. 투과 전자현미경적 소견

DEN 3 주 투여군은 정상 대조군에서와 같이 동모양 혈관 주변 간세포의 세포질에는 발달된 미세 용모가 잘 유지되고 있으며, 동모양혈관의 내피세포는 약간의 공포 변성의 특이한 변화는 없었으며 관강을 피복하고 있는 확장된 세포질에는 잘 발달된 누공에 의해 디세(Disse) 강과 직접적으로 교통하고 있었다. 또한 디세강 내에는 기질 성분의 분명한 침착이나 기저막의 형성은 관찰되지 않으며, 이토(Ito) 세포의 세포질은 대부분 지방적으로 채워져 있었다(Fig 3), 6 주 투여군에서는 디세강으로 돌출한 동모양 혈관 주변의 간세포 미세용모의 심한 공포성 변성과 내피세포의 심한 종창과 함께 부분

적으로 누공의 소실이 관찰되었다. 또한 내피세포의 기저부에 무구조성 물질의 침착과 함께 선상의 분명한 기저막의 형성이 부분적으로 관찰되었으며, 이토 세포의 세포질에는 지방적이 풍부히 함유되어 있으나 대부분에서 감소되어 있었다(Fig 4). 9 주 투여군에서는 6 주 투여군과 유사한 소견을 보이나 확장된 디세강에는 방추형의 세포의 증식이 있으며, 이 세포는 지방적의 소실을 보이는 대신 내형질세망의 발달을 보이는 섬유모세포의 소견을 보였다(Fig 5). 12 주 투여군은 동모양혈관의 내피세포는 누공의 소실이 현저하였으며, 기저부에는 선상의 분명한 기저막과 풍부한 무구조성 물질이 확장된 디세강에 침착되어 있었다(Fig 6)(Table 2).

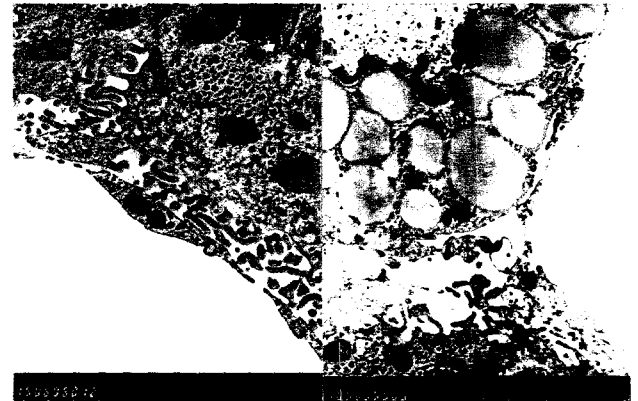


Fig 3. Relatively well preserved fenestrae of endothelial cell surface (Left, x15,000), and Ito cell showing numerous fat droplets compressing nucleus (Right, x10,000) in 3 week DEN-treated group.

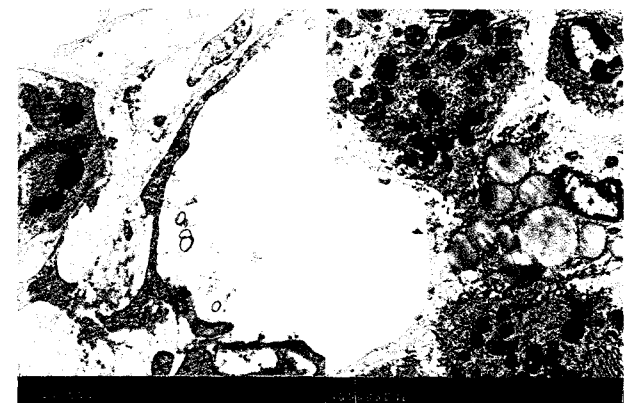


Fig 4. Deposition of amorphous material in widened Disse space with loss of endothelial fenestrae (Left, x11,000), and slight loss of fat droplets of Ito cell (Right, x6,000) in 6 week DEN-treated group.

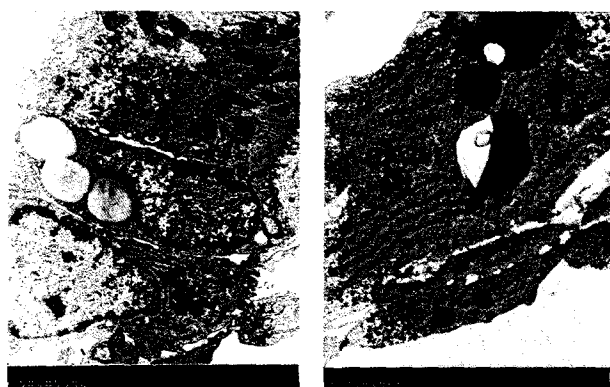


Fig 5. Marked loss of fat droplets (Left, x9,000), and well-developed rough endoplasmic reticulum of Ito cell cytoplasm (Right, x11,000) in 9 week DEN-treated group.

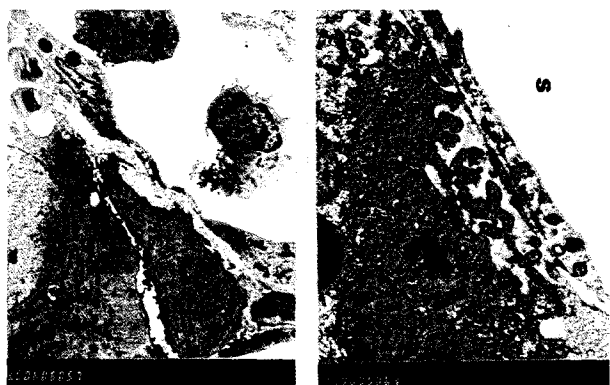


Fig 6. Loss of fenestrae (Left, x3,500), and linear basal lamina surrounding the sinusoidal endothelial cell (Right, x25,000) in 12 week DEN-treated group.

Table 2. Transmission electron microscopic findings of DEN-induced hepatic lesions

TEM findings	Control	3wks	6wks	9wks	12wks
Sinusoidal endothelium					
cytoplasmic ruffling	absent	absent	mild	moderate	marked
loss of fenestrae	absent	mild	moderate	marked	marked
Perisinusoidal cells					
Ito cell lipid droplet	>50%	>50%	<50%	20-50%	<20%
Spindle cells	absent	absent	absent	sparse	sparse
Basal lamina	absent	absent	discont.	iscont.	cont.
Amorphous material	absent	absent	present	present	present

discont.; discontinuous basal lamina, cont.; continuous basal lamina

동모양혈관은 간조직의 절단면에서 간소엽의 zone II를 중심으로 혈관내면이 잘 노출되어 있는 5 부위를 선정하여 내피세포의 누공이 제일 잘 관찰되는 내표면을 관찰하였다. 누공이 모여 형성된 체판(sieve plate)의 수를 내피세포 관찰 표면의 15,000 배율 시야를 단위로 계산하여 체판의 수적 변화를 관찰하고 아울러 1개의 체판 당 누공의 수 및 크기의 변화와 소실 유무를 관찰하였다. 정상 대조군에서 체판의 수는 10 ± 3 였으며, 각 체판 당 누공의 수는 42 ± 15 였고 그 크기는 100-150 nm정도였으며, 어떤 체판의 누공은 심하게 확장되어 간세포의 미세융모의 돌출도 관찰되었다(Fig 7). DEN 투여 기간이 길어짐에 따라 체판의 수는 부위에 따라 정도의 차이는 있으나 감소되었으며, 누공의 크기 및 수는 부위에 따라 심한 차이를 보였으나 수가 적아지며 그 크기 또한 감소되는 경향을 보였다(Fig 8)(Table 3).

Table 3. Scanning electron microscopic findings of DEN-induced hepatic lesions

SEM findings	Control	3wks	6wks	9wks	12wks
No. of sieve plate	10 ± 3	11 ± 4	8 ± 3	3 ± 2	2 ± 2
No. of fenestrae	42 ± 15	37 ± 18	30 ± 17	23 ± 11	12 ± 9
Size of fenestrae(nm)	100-150	100-150	<100	<100	50-100

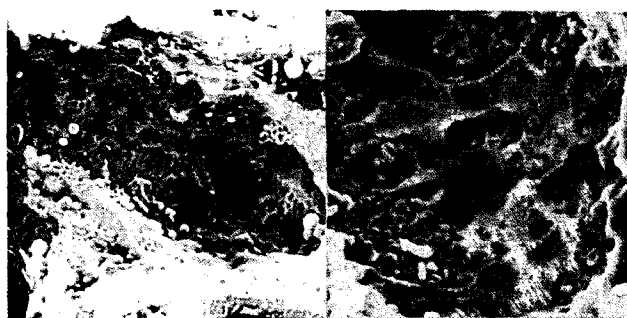


Fig 7. Scanning electron microscopic findings showing sieve plate of numerous tiny fenestrae(Left, x5,000), and occasionally dilated large fenestrae with exposure of underlying microvilli of hepatocyte(Right, x15,000) in normal control group.

3. 주사 전자현미경적 소견

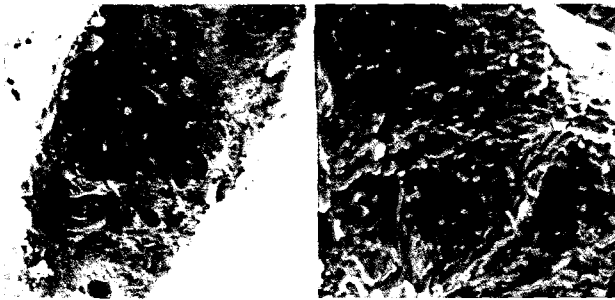


Fig 8. Marked loss of sieve plate in 6 week DEN-treated group(Left, 00), and sparse fenestrae mimicking capillary endothelial cell in 12 week DEN-treated group(Right, x15,000).

고 찰

간의 동모양혈관은 일반적인 모세혈관과는 다른 형태 학적인 특징이 가지고 있다. 즉 이 혈관강을 피복하는 내피세포는 세포질내 누공(fenestrae) 또는 창(window) 이 나 있어 내피세포 내외의 물질 교환이 용이할 뿐만 아니라 일반 모세혈관에서는와 같은 주변 세포의 성분과 경계를 짓는 기저막이 없다는 점이 그것이다. 또한 간조 직에서 보는 특이한 세포, 즉 쿠퍼(Kupffer) 세포, 이토 (Ito) 세포, 및 기타 대식세포 등이 동모양혈관 주변에서 관찰된다는 점도 간의 미세순환계가 가지는 특이한 환경이다^{9,17)}. 아울러 간 실질을 구성하는 간세포의 미세용 모들이 잘 발달되어 디세강과 동모양혈관의 누공을 통 해 동모양혈관과 간세포 사이의 물질교환이 더욱 용이 하게 이루어질 수 있다^{8,9)}.

만성적인 간 질환의 진행과 더불어 간의 미세구조적 환경은 많은 변화를 가져오며, 그 결과로 인한 간세포의 대사이상이 초래되고 나아가서는 임상적인 이상 소견을 나타낼 수 있을 것으로 추정된다. 즉, 섬유화를 동반하는 만성 간질환에서 동모양혈관의 누공의 변화가 항상 예상 될 수 있다.

누공의 변화를 투과전자현미경에서는 누공의 소실 유 무는 알 수 있으나 수적인 변화 또는 크기의 변화를 구 체적으로 관찰하기에는 그 범위가 너무 적고, 또한 이차 원적인 구조만을 확인 할 수밖에 없기 때문에 투과 전자 현미경적 관찰보다 주사 전자현미경적 관찰이 보다 효 율적인 방법으로 이용되고 있다⁹⁻¹³⁾. 특히 누공의 변화뿐

만 아니라 주변 세포의 동태까지도 동시에 관찰할 수 있 는 주사 전자현미경적 방법의 개선도 진행되어 동모양 혈관계의 미세환경에 대한 관심이 증가되고 있다¹⁸⁾.

본 실험에서 DEN 투여 3 주 투여군 부터 주사전자 현 미경상 내피세포 누공의 수적인 변화 및 크기의 변화가 나타나기 시작하여 6 주 투여군부터 현저하게 체판 (sieve plate)의 수 및 누공의 수 및 크기가 감소하였다. 9 주 투여군에서 누공의 수는 점차 작아져 12 주 투여군 에서는 체판은 거의 사라졌다. 이와 같은 변화는 투과 전자현미경 관찰에서도 인지되었다.

누공의 전자현미경적 변화는 thioacetamide나 사염화 탄소를 투여한후 간의 염증성 변화 및 섬유화를 초래하 는 과정이나 사람의 간경변증 재생결절 주변에서도 관 찰되는 소견이다^{17,19,21)}. 내피세포 누공의 크기는 알코올 성 병변, 혈관내 압력의 증가, 사염화탄소 중독, 저산소 증, 방사선 노출 및 내독소 등에 의해서는 커지는 반면 에 세로토닌 또는 에피네프린등에 의해서는 작아지는 것으로 보고되어 있다⁹⁾. 또한 누공의 숫자는 알코올성 간경변증, 간암, 유전분증, 담즙 울체증, 급성 거부반응 등에서 감소되는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 따라서 동모양 혈관의 누공의 크기 및 수적 변화는 원인에 따라 달라질 수 있다는 것을 알 수 있다.

누공의 변화를 일률적으로 설명하기는 어렵기는 하나 해부학적인 측면에서 고려할 때 간세포의 기능과 밀접 하게 관련될 것으로 추정할 수는 있다. 또한 간경변증에 서 간기능의 이상이 초래되는 기전은 완전히 밝혀져 있 지는 않으나 누공의 변화가 그 기전의 일부로서 설명될 수 있을 것으로 해석된다. 즉, 간 섬유화에 따른 내피세 포 누공의 폐쇄나 감소는 혈액과 간세포 사이의 물질 교 환이 부적절하게 되며 아울러 영양 및 산소의 공급의 불 균형을 초래하여 간기능 이상을 초래할 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 본 실험에서는 DEN 투여에 따라 간의 염증반응과 함께 섬유화 현상이 분명해지기 전부터 누 공의 크기 감소 및 수적 감소가 현저해지는 것으로 보아 만성 간 질환자의 간 기능 장애는 간 미세 혈관계의 순 환장애와 밀접히 연관되어 있다고 생각된다.

동모양혈관은 정상상태에서는 이들의 둘레에 기저막 이 없으나 만성 간질환에서는 섬유화의 진행과 함께 동 모양혈관의 모세혈관화 현상이 일어나는데 이러한 변화

는 누공의 소실, 이토 세포의 근섬유모세포로의 변화, 쿠퍼 세포의 소실 및 디세강 내 무구조성 물질의 침착 등 간 미세혈관계의 변화를 동반한다¹⁴⁾.

만성 간질환에서 디세강의 기저막 성분의 세포의 기질과 이와 연관된 단백질의 축적이 일어나는데 여기에는 주로 라미닌, 제4형 교원질 및 파이브로넥틴 등이 주로 관계한다^{8,22,23)}. 그 중에서도 라미닌은 신생혈관 형성을 촉진시키는 물질로, 정상적인 상태에서는 이토 세포와 동모양혈관의 내피세포에 소량 존재하지만 간병변이 지속되면 손상된 간세포에서 생성 촉진인자가 분비되어 근섬유모세포로 변화된 이토 세포로 하여금 많은 량의 라미닌을 생성케 하며, 손상된 간세포 자체에서도 라미닌 등의 세포의 기질이 생성되는 것으로 알려져 있다^{24,25)}.

본 실험에서 DEN 6 주 투여군에서는 디세 강내 무구조성 물질의 침착과 함께 불연속적이기는 하지만 분명한 선상의 기저막이 투과 전자 현미경검색에서 관찰되었다. 이러한 기저막의 형성은 9 주 및 12 주 투여군에서는 보다 현저하였으며 이러한 변화는 간세포의 괴사와 함께 이토 세포의 세포질내 지방적의 감소와 내형질세포의 증가가 동반되어 있어 라미닌 등의 기저막 단백질의 합성에는 적어도 이토 세포의 작용이 있을 것으로 추정된다. 더구나 이와 같은 기저막 물질의 축적은 내피세포 누공의 변화와 동반되어 나타나기 때문에 동모양혈관의 구조적 변형을 일으키는 하나의 원인으로 생각된다.

이상의 문헌 고찰과 실험 결과로 미루어 DEN에 의한 실험적 간섬유화 과정에서 동모양혈관의 누공의 변화 및 주변의 기저막의 형성으로 동모양혈관과 간세포 사이의 물질 이동의 장애가 초래될 것으로 믿어지며, 결론적으로 누공의 변화 및 기저막의 형성은 간경변증 환자의 간 기능이상을 초래하는 하나의 기전으로 추측된다.

결론

간섬유화 과정에서 동모양혈관 내피세포의 변화를 알아보고자 Sprague-Dawley계 흰쥐에게 N-디에틸나이트로자민(N-diethylnitrosamine, DEN) 200 ppm을 생리식염수에 섞어 12 주간 식수로 마시게 하는 방법으로 간섬유

화 병변을 유도하였다. 최초 투여로부터 3 주 간격으로 3 마리씩 도살하여 동모양혈관 내피세포, 동모양혈관 주변 세포 및 세포의 기질의 변화 등에 대한 광학현미경적 관찰, 투과 및 주사 현미경적 관찰을 시행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. 광학 현미경상 DEN 투여 3 주 투여군에서부터 간세포의 괴사와 염증세포의 침윤이 시작되었으며 9 주부터는 섬유화에 의한 위소엽 및 소결절성 재생결절이 형성되었다. 주사 전자현미경상 누공의 수 및 크기의 감소는 DEN 투여 3주부터 관찰되었으며, 12 주에 이르러서는 누공이 거의 소실되어 있었다. 또한 광학 현미경상 섬유화 현상이 나타나기 전부터 누공의 변화가 있었을 뿐만 아니라, 투과전자 현미경상 6 주부터는 무구조성의 기저막 물질의 디세(Disse) 강 축적과 함께 불연속적인 기저막의 형성이 동반되었으며, 12 주군에서는 연속적인 기저막이 관찰되었다. 이토(Ito) 세포의 지방적 감소와 내형질 세포의 발달은 6 주 투여군에서부터 인지되기 시작하였다. 따라서 간세포의 괴사로 시작된 간병변에서 동모양혈관의 내피세포 누공의 변화는 세포의 기질 성분의 침착에 선행하여 나타나며, 이토 세포가 관련된 동모양혈관의 기저막 생성을 조장하여 동모양혈관의 모세혈관화 현상을 유발시키는 것으로 추정된다. 따라서 간섬유화의 진행을 지연시킬 수 있는 기전으로 이토세포의 증식 억제가 고려될 수 있다.

참고문헌

1. Geerts A, Rauterberg J, Burt A, Schelineck P, Wisse E: In vitro differentiation of fat-storing cells parallels marked increased of collagen synthesis and secretion. *J. Hepatol* 9: 59-68, 1989
2. Weiner FR, Giambrone M, Czaja MJ, Shah A, Annoni G, Takahashi S, Eghbali M, Zern MA: Ito cell gene expression and collagen regulation. *Hepatology* 11: 111-7, 1990
3. Abdel-Aziz G, Rescan P, Clemant B, Lebeau G, Rissel M, Grimaud D, Guillouzo A: Cellular sources of matrix proteins in experimentally induced cholestatic rat liver. *J Pathology* 164: 167-74, 1991
4. Popper H, Lieber CS: Histogenesis of alcoholic cirrhosis in the baboon. *Am J Pathol* 98: 695-716, 1980
5. Reichen J, Hoilien C, Le M, Jones RH: Decreased uptake of taurocholate and quobain by hepatocytes isolated from cirrhotic rat liver. *Hepatology* 7: 67-70, 1987
6. Pessayre D, Lebrec D, Descatoire V, Peignoux M, Benhamou

- JP. Mechanism for reduced drug clearance in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 74: 556-71, 1978
7. Gross JB, Reichen J, Zeltner TB, Zimmermann A: The evolution of changes in qualitative liver function tests in a rat model of biliary cirrhosis; Correlation with morphometric measurement of hepatocyte mass. *Hepatology* 7: 457-63, 1987
8. Rojkind M, Extracellular matrix. In: *The liver: Biology and pathobiology*, 2nd ed., Arias IM, Jackoby WB, Popper H, Schachter D, Shafritz DA, eds. Raven Press Ltd, New York, 1988; 707-16
9. Weisse E, De Zanger RB, Charels K, Van der Smissen P, McCuskey RS. The liver sieve: Considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology* 5: 683-92, 1985
10. Wisse E, De Zanger RB, Jacobs R et al: Scanning electron microscope observation on the structure of portal veins, sinusoids and central veins in rat liver. *Scanning electron microscopy III*, SEM Inc., AMF O'Hare, Chicago, 1983; 1441-1452
11. Wisse E: An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver. *J Ultrastruct Res* 31: 125-150, 1970
12. Wisse E, De Wille A, De Zanger: Perfusion fixation of human and rat liver tissue for light and electron microscopy; a review and assessment of existing methods with special emphasis on sinusoidal cells and microcirculation. *Science of Biological Specimen Preparation*, Chicago: SEM Inc AMF O'Hare, 1984; 31-38
13. Mak KM, Lieber CS: Alterations in the endothelial fenestrations in liver sinusoids of baboon fed alcohol; a scanning electron microscopic study. *Hepatology* 4: 386-391, 1984
14. Ogawa H: Scanning electron microscopy of rat liver hyperplastic nodules induced by diethylnitrosamine. *Scanning Electron Microsc* 4: 1793-8, 1982
15. Magee PN, Toxic liver injury; The metabolism of diethylnitrosamine. *Biochem J* 64: 676-83, 1956
16. Madden JW, Gertman PM, Peacock Jr EE: Dimethylnitrosamine induced hepatic cirrhosis: A new canine model of an ancient human disease. *Surgery* 62: 260-8, 1970
17. Bail BL, Biolac-Sage P, Senuita R, Quinton A, Saric J, Balaboud C: Fine structure of hepatic sinusoidal cells in disease. *J Electron Microscopy Technique* 14: 257-82, 1990
18. Tanaka K, Mitsushima A: A preparation method for observing intracellular structure by scanning electron microscopy. *J Microsc* 133: 213-22, 1984
19. Mori T, Okanoue T, Sawa Y, Hori N, Ohta M, Kagawa K: Defenestration of sinusoidal endothelial cell in a rat model of cirrhosis. *Hepatology* 17: 891-7, 1993
20. Martinez-Hernandez A, Martinez J: The role of capillarization in hepatic failure; Studies in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 14: 864-74, 1991
21. Okazaki I, Tsuchiya M, Kamegaya K et al: Capillarization of hepatic sinusoids in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis. *Bibl Anat* 12: 476-483, 1973
22. Seyer JM, Hutcheson ET, Kang AH: Collagen polymorphism in normal and cirrhotic human liver. *J Clin Invest* 59: 241-8, 1979
23. Rojkind M, Giambrone MA, Biempica L: Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterology* 2: 151-75, 1979
24. Loreal O, Levavasseur F, Fromaget C, Gross D, Guillouzo A, Clement B: Cooperation of Ito cells and hepatocytes in the deposition of an extracellular matrix in vitro. *Am J Pathol* 143: 538-44, 1993
25. Clement B, Rescan PY, Baffet G, Loreal O, Lehry D, Campion JP, Guillouzo A: Hepatocytes may produce laminin in fibrotic liver and in primary culture. *Hepatology* 8(4): 794-803, 1988