

Reye 증후군에 의한 간세포의 미세형태학적 구조변화 1예

경북대학교 의과대학 병리학교실

김 용 진 · 손 태 중

= Abstract =

Ultrastructural Changes of Hepatocytes in Reye Syndrome

—A Case Report—

Yong Jin Kim, M.D. and Tae Jung Sohn, M.D.

Department of Pathology, Kyungpook National University, School of Medicine, Taegu, Korea

Authors investigated hepatocellular changes in a case of autopsy, 11-month-old female child, dying of Reye syndrome. Light microscopically, microvesicular fatty change of the liver was a characteristic finding. The hepatocytes were packed with small fatty droplets without nuclear form and demonstrated by using lipid stains on frozen sections. There was no cholestasis. The portal tracts had mild lymphocytes infiltration.

Electron microscopically, mitochondria showed conspicuous abnormalities with reduction in number, pleomorphism, swelling and loss of cristae. Vacuolization and increased electron density of mitochondrial matrix were observed. RER were decreased in number and had some vesicular change and SER were dilated. Glycogen particles were rarely seen. Nucleus showed some irregular border and clumping of chromatin along the nuclear membrane. Nucleoli were inconspicuous. Fat vacuoles were located in the central portion of cytoplasm and some were closed to nucleus. The size were 1~2 μm in diameter, relatively. Large concealed forms were also present, but were no over 5.5 μm in diameter. All fat vacuoles were rather solid than empty form.

Biochemically, the compositions of lipids in liver cells revealed 79.6% of triglyceride, 3.8% of cholesterol, and 16.6% of phospholipid. Conclusively, changes of hepatocytes were thought as reversible even in this fatal case and components of fat vacuoles might be triglycerides mostly.

서 론

Reye 증후군은 1963년 Reye 등¹⁾이 일련의 특징적인 증상들로 구성되는 소아의 치사성 질환으로서 보고함에 따라 새로운 질병으로 정의되었다. 즉 갑작스런 발열, 혼수, 경련, 호흡부전, 저혈당증 등을 나타내면서 수일내 사망을 초래하는 질환이다²⁾.

이 질환의 병리학적 변화에 대해서는 이미 1929년

접 수 : 1982년 12월 7일

Brain³⁾이 급성뇌막염의 비전형적인 6세의 부검소견에서 이미 잘 기술하였다. 이에 의하면 뇌막염 및 뇌부종소견 이외에 간조직에서 지방성변화를 특징으로 간주하였다. 이후 간조직의 형태학적 변화는 많은 이들에 의해 보고되고 있다⁴⁾.

저자들은 최근 경북의대 병리학교실에서 부검한 비교적 특징적인 Reye 증후군 1예를 경험하였기에 이를 보고하며 특히 간세포들의 변화를 전자현미경적 및 생화학적으로 관찰하여 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

생후 11개월째 Reye 증후군이란 임상진단으로 치료 중 사망한 여아를 부검하였다.

병력: 38세의 건강한 산모에게서 38주만에 태어난 여섯째 여아로서 산모는 기왕력상 특기할 사항이 없었고 가족력 상에도 이상소견 및 Reye 증후군의 발생이 없었다.

본 환아는 분만시 이상이 없었고 건강하게 태어났으며 출생시 체중은 3.8 kg 이었다. 그 이후 11개월간 건강하게 자랐으며 입원 3일전 갑작스런 발열과 호흡곤란이 발생하였다고 한다. 개인병원에서 1일간 감기증상으로 치료 받던 중 허탈증과 청색증을 동반하면서 반혼수 상태에 빠져서 경북의대 부속병원으로 이송되었다.

입원당시 이학적 소견으로는 피부가 청색증을 나타내며 호흡은 미약했고 반혼수 상태였다. 청진상 천식음이 전반적인 폐영역에서 들렸으며 심음은 미약했으나 이상소견은 없었다. 간장과 비장이 2행정 정도로만 커지는 비대를 보였다.

검사소견상 hemoglobin 15.4 gm/100 ml, W.B.C 39,850/mm³, urine protein \pm , sugar-, RBC 3~5, W.B.C. 1~2, serum protein 7.2 gm/100 ml, albumin 4.6 gm/100 ml, globulin 2.6 gm/100 ml, alkaline phosphatase 29.5 KAU, SGOT 331 units/ml (Sigma Frankel units), SGPT 73.3 units/ml (Sigma Frankel units), total bilirubin 0.8 mg/100ml (direct 0.1, indirect 0.7), cholesterol 112 mg/100 ml, fasting blood sugar 51 mg/100 ml, BUN 36 mg/100 ml, blood ammonia 77 ug/100 ml, prothrombin time 16%, PTT 64.3 sec 로 나타났다.

입원 첫날부터 Reye 증후군 제 3기로 생각하고 glucose 및 steroid 를 정맥투여하는 치료 중 제 3병일째 사망하였으며, 약 16시간 경과후 부검하여 관찰하였다. 관찰방법: 법식에 따른 부검을 통하여 육안적으로 전신장기를 관찰한 후 각장기의 조직일부를 채취하여 일부를 동결절편용으로 제공하고 일부는 광학현미경적 관찰에 제공하였다. 간조직의 일부는 전자현미경적 관찰재료 및 생화학적 검사의 자료로 제공하였다.

영하 25°C 로 동결한 조직절편들은 10 μ m 으로 박절하여 알콜고정한 후 지방질 염색을 위해 oil red O 로 염색하여 관찰하였다.

광학현미경적 관찰을 위해 채취된 각장기들의 조직

절편을 10% 중성 formalin 용액에 고정하고 계일알콜을 통한 탈수과정을 거쳐 paraffin 포매한 후 hematoxylin-eosine 염색을 시행하였다. 필요에 따라 PAS, silver methenamine 염색도 실시하였다.

전자현미경적 관찰을 위해서는 간조직의 일부를 채취후 즉시 1mm³ 정도의 절편을 만들어 phosphate buffer 용액 (0.1 M, pH 7.4) 에 희석한 2.5% glutaraldehyde 용액으로 2시간 전고정을 한 후 phosphate buffer 용액을 사용한 1% OsO₄ 로 2시간 동안 후고정을 하고 계일 ethanol 용액으로 탈수, propylene oxide 로 침투, Luft⁹⁾ 방법에 의해 epon 혼합물로 포매하고 Porter-Blum MT-2B 초박절기로 박절, Reynolds¹⁰⁾ 방법에 의해 uranyl acetate 와 lead nitrate 로 이중 전자염색하여 Hitachi HU-11C 전자현미경으로 검색하였다.

생화학적으로 간조직에 함유된 지방질 성분의 분석을 위하여 부검시 적출한 간조직 약 50 gm 을 이용하여 glass homogenizer 를 사용하여 0.15 M 식염수로서 10% (W/V) 마세액을 만든 후 마세액을 chloroform methanol (2:1) 혼합액으로써 지질을 추출하는 Folch 법¹¹⁾에 의하여 지질을 추출하고 이 추출액을 사용하여 각종 지질을 정량하였다.

Triacylglycerol 의 정량에는 상기 chloroform methanol 추출액 0.5 ml 를 hot plate 로 온도 85°C 이하에서 건조시킨 후 이것을 glycerokinase 및 glycerol-3-phosphate oxidase 를 촉매로 하여 4-amino-antipyrine 과 chlorophenol 을 촉합시켜서 생기는 quinone 화합물의 적색을 505 nm 에서 흡광도를 측정하여 정량하는 榮研社 (日本, 東京) 의 kit 시약인 Triglyzyme-GP¹²⁾ 를 사용하였다.

총 cholesterol 정량은 상기 chloroform methanol 추출액 2 ml 를 건조한 후 Zak 등의 법¹³⁾에 의해 정량하였다.

인지질의 정량은 상기 chloroform methanol 추출액 0.5 ml 에 과염소산을 가하여 습성탄화시켜 유리되어 나오는 인을 Eiske-Subba Row 법¹⁴⁾으로 비색하는 Naito 법을 응용한 榮研社의 Kit 시약을 사용하였다.

부 검 소 견

육안소견: 부검당시 사체의 체중은 10 kg 이었고 신장 (crown heel) 은 56 cm 로 왜소한 편이고 야위었다. 외견상 피부는 창백하며 기형상이나 특기할 사항이 없었다.

법식에 따라 적출된 간장은 무게가 250 gm이었으며 크기는 정상범위였다. 표면은 매끈하며 가장자리가 둔한 편이었다. 표면의 색깔은 연한 황갈색이었으며 단면이 밝은편이었다. 탐침저류의 징후는 없었으며 심한 지방변성은 인지되지 않았다.

다른 장기들도 기형상이나 특기소견이 없었으나 뇌수는 심한 부종을 보였으며 무게는 1,200 gm이었다.

광학현미경적 소견 : 간의 소엽들은 규칙적으로 배열되어 있었으며 Kupffer세포들의 경한 증식이 관찰되었다. 문맥부위에는 소수의 임파구 침윤이외에는 특기할 사항이 없었으며 바이러스성 간염, 선천성 변화 및 담즙색소의 침윤등은 인정되지 않았다. 고배율상 각각의 간세포들에서 미세한 지방성 공포들이 보였으며 가장 큰것들도 핵크기 보다 작았다. 이들의 세포내배열은 핵을 중심으로 회전모습으로 배열되어 있었다. 어느 세포에 있어서도 핵의 위치를 밀어내는 변화를 일으키는 지방공포 배열은 없었다. 이들 세포의 지방변성은 문맥주위의 간세포들에서 가장 뚜렷했으며 중심정맥으로 갈수록 희박하였다.

동결절편에서 얻은 oil red O 염색에서 이들 지방성 공포는 모두 양성반응을 보였으며 평균크기는 1~2 μ m 정도를 넘지않았다. PAS 염색으로서 간세포질내의 당원은 현저히 줄어들어 있었으며 몇몇세포의 핵막주변과 세포막주변에서 미약하게 관찰될 뿐이었다.

다른 실질장기들에서도 세포질내 지방공포들이 잘 관찰되었다. 특히 신장에서는 사구체들은 건전하였으나 요세관 세포들에서 다수의 지방공포들이 관찰되었다. 이들은 근위부요세관에서 더욱 현저하였으며 원위부로 갈수록 희박하였다.

폐장에는 폐포내에 지방성 탐식세포들이 다수 밀집해 있는 소견이 보였다. 우측폐중엽에는 염성폐염이 관찰되었다.

심장, 위장, 부신에서도 지방성 공포의 출현이 뚜렷하였으나 뇌, 비장, 임파절 등에는 인정되지 않았다.

뇌수에는 심한 부종이 인정되며 신경세포들의 변성 및 경한 출현이 보였다.

비장, 임파절, 흉선에서는 탐식작용이 현저히 증가된 것을 볼 수 있으며 이들을 PAS, silver methenamine 등으로 염색하여 검색한 결과 진균, pneumocystis carinii, spore 등은 인정되지 않았다.

전자현미경적 소견 : 간세포들은 사후 부패현상에 의한 자가용해 현상을 나타내었으나 세포질내의 미세구조들의 관찰은 용이하였다.

핵은 비교적 작아지고 그 변연은 다소불규칙하였다.

핵질은 핵변연에 주로 엉켜져 나타나며 핵중심부에서는 고르게 분산되어 나타났다. 핵인은 뚜렷한 것이 나타나지 않았다. Mitochondria가 가장 심한 변화를 보였으며 종창, cristae 상실, 실질내전자밀도가 높은 물질의 출현등을 나타냈다. 그러나 내막 및 외막은 잘 보존되어있었으며 myelin형성은 보이지 않았다.

RER에도 중등도의 종창이 인정되며 심한 ribosome의 탈락을 보였다. 정상 간조직에서의 풍부한 RER과는 달리숫적으로 심한 감소가 인정되었다. SER은 상대적으로 증식된 양상을 보이며 이 또한 중등도의 종창을 나타냈다. Golgi장치들도 숫적으로 감소되었으며 vacuole들이 증가되어 있었다. Lysosome은 숫적으로나 형태학적으로 뚜렷한 변화가 인정되지 않았다.

간세포질내에서 많이 관찰되는 당원입자(glycogen particle)는 거의 발견되지 않았다.

지방성 공포들은 광학현미경에서 관찰한 소견과 유사했으며 공간이 빈 공포상(empty form)보다는 전자밀도가 다소높은 물질들이 들어있는 공포(solid form)들로 주로 구성되어 있었다. 이들은 한세포내에서 5개에서 15개 정도로서 나타났으며 평균 10개정도되었다. 공포의 크기는 직경 0.5 μ m 정도의 작은 것에서 5.5 μ m 정도의 큰 것까지 다양했으나 보통 1~2 μ m 정도이었다. 이들 공포들의 위치는 대개 세포질의 중간대에 위치하고 있었으나 핵막쪽으로 다소 가까운 편이었다.

생화학적 소견 : 간조직 1 gm 당 지방성분을 triglycerides, cholesterol, phospholipid로 나누어 정량한 결과 triglycerides 28.35 mg(79.6%), cholesterol 3.74 mg(3.8%), phospholipid 16.4 mg(16.6%)로 나타났다.

고 찰

Reye 증후군은 Reye 등¹⁾이 보고한 이래 전세계적으로 많은 보고례가 있었으며 한국에서도 흔히 임상적으로 관찰되고 있다²⁾.

임상적으로 주로 생후 6개월에서 15세 사이에서 잘 발생하며 의식장애, 발열, 경련, 구토, 호흡이상, 근육경직 및 반사기능이상을 나타낸다. 검사소견상 저혈당증, 혈중 ammonia치상승, 혈중, transaminase치 증가등을 보인다³⁾. 부검소견상 전신장기들의 지방성 변화와 뇌부종을 특징으로 하고 있다³⁾.

이질환의 원인은 아직 잘 밝혀져 있지않으나 바이러스감염이 주요 원인일 것이라고 생각하고 있다⁴⁾.

대사장애를 초래하는 병리기전으로서는 mitochon-

dria의 손상에 기인된 것으로 생각하고 있다¹³⁾. 간에서의 요소회로에 필요한 효소중 carbonyl phosphate synthetase와 ornithine transcarbamylase의 활동이 떨어짐으로써 혈중 ammonia치를 올리게 된다. 또한 당대사, 단백질생, 유리지방산 대사등의 이상으로 저혈당증, 혈중 유리지방산증가등이 초래된다¹³⁾.

간세포의 형태적 변화는 특징적이어서 최근에는 간생검으로서 확진율이 올라가고 있는 경향이다²⁾.

즉 간세포질에 미세공포로서 출현하는 지방공포들은 핵을 밀어내지 않고 핵주변으로 나열되는 것을 특징으로 하고 있는데, 이는 Hartroft가 분류한 지방간세포 변화형태중 B형에 속한다¹⁴⁾.

Hartroft의하면 지방간의 시작은 어떤 형태이던 미세한 세포질내의 공포로부터 시작하여 이들 공포가 점차 커져서 서로 융합되어 큰 공포를 만들어 핵을 밀게 하는 형태를 A형이라 칭하고, 서로 융합하지 않고 세포중심부에 위치되는 것은 B형이라 하였다¹⁴⁾. 이에 따르면 A형 경우는 지방질형성 부전에 기인하고 영양상태 및 독성인자에 관여된다고 하며 type B형 경우는 지방성분의 과다형성, 특히 Reye 증후군에서 특징적으로 출현한다고 한다.

그래서 특히 소아간조직 생검에서 지방변성의 형태를 구분하는 것은 지방간의 원인을 알 수 있는 좋은 지표가 된다고 하였다.

지방변성의 정도에 따라 세포내 당결핍현상이 따라오는데 이들을 PAS 염색으로 그 정도를 정하면 증상이 악화되는 정도와 비례한다고 한다¹⁵⁾. 담즙저류나 세포괴사는 일반적으로 없는것을 특징으로 하고 있다¹⁵⁾. 문맥제에도 치상성인 경우에만 단핵세포들의 경한침윤을 보일뿐이라고 하며 일반적인 경우에는 별다른 소견이 없다고 한다¹⁵⁾.

이들 간세포의 변화는 임상증상의 회복후에는 상흔을 남기지 않고 없어져 버린다고 한다¹⁶⁾.

Schubert 등이 전자현미경적으로 관찰한 소견들로는 지방공포출현외에 mitochondria가 주된 상해를 받은 것으로 보고되고 있다¹⁶⁾. 즉 숫적 감소, 기형상 및 증장을 보인다고 하며 SER, peroxisome 등이 증가된다고 한다.

저자들이 관찰한 예에서는 다른 사인이 될만한 인자가 없었고 심한 뇌부종과 간을 비롯한 실질장기의 지방변성을 주로 보였기에 Reye 증후군에 의한 사망으로 판단했다.

본 예 즉 사망을 초래한 정도의 Reye 증후군에 의한 간세포 미세구조의 변화도 상기한 생체 및 회복한 예

에서의 보고자들^{15,16)}의 소견들과 그 정도의 증대외에는 아직도 가역적 변화를 보이고 있다고 생각되었다. 즉 mitochondria의 심한 종창 및 광범위한 cristae의 소실은 있지만 아직도 막구조가 잘 보존되어 있다는 점과 그리고 myelin형성이 없는점등이 그 증거로 생각된다.

간세포질에서 출현된 지방공포의 성분으로는 문헌상 참고는 불가능하였으나 Curtis 등¹²⁾의 분석에 의하면 간세포내 지방질중 triglyceride가 대조군에서 보다 높은 것으로만 보고했다.

저자들의 간세포 1gm 당 지방질 분석에 의하면 triglyceride가 가장 많은 양인 78.35 mg으로 나타났고 이는 전체지방량의 79.6%에 달했다. 간세포의 지방질 분석에 대한 정상통계는 인용할 수 없겠으나 대개 혈담치와 동일하다고 하며 전체 지방질의 약 30%정도를 triglyceride가 차지한다고 한다¹⁷⁾. 이에 의하면 본 증례에서는 triglyceride가 정상보다 2배이상 증가된 소견으로 생각되며 따라서 간세포내에서 형성된 지방공포의 성분중 대부분은 triglyceride로 추정된다.

요 약

저자들은 생후 11개월된 여아의 부검에서 비교적 특징적인 Reye 증후군을 발견하였기에 간세포의 광학현미경적, 관찰 및 생화학적 지방질 분석을 시행하여 그 결과를 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다. 그 결과로 Reye 증후군으로 사망한 예에서도 사인은 심한 뇌부종이 원인이 되며 간세포의 변화는 핵 및 소기관 특히 mitochondria의 광범위한 손상이 인정되지만 이들 변화는 아직도 가역적인 변화로 생각된다. 특히 간세포 지방분석에 따라 지방공포들의 성분은 triglyceride가 대부분일 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

- 1) Reye RD, Morgan G, Boral J: *Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: A disease entity in childhood. Lancet* 2:749, 1963
- 2) Paul B. Beeson, Walsh McDermott, James B. Wyngaarden: *Textbook of medicine. 15th edition. Philadelphia, WBSaunders 1979, p 839*
- 3) BrainWR, Hunter D and Turnbull HM: *Acute meningo-encephalomyelitis of childhood. Lancet* 1:221, 1929

- 4) Bove KE, HcAdams AJ, Partin JC, Partin, JS, Hug G and Schubert WK: *The hepatic lesion in Reye's syndrome. Gastroenterology* 69:685, 1975
- 5) Luft JH: *Improvement in epoxyresin embedding method. J Biophy Biochem Cytol* 9:409, 1961
- 6) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as and electron opaque stain in electron microscopy, J Cell Biol* 17:204, 1968
- 7) Folch J, Lee M and Solane Stanley GH: *A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. J Biol Chem* 226:497, 1957
- 8) Triglyzyme-GP: '榮研': 榮研化學株式會社, 日本, 東京.
- 9) Zak B and Dickeman RC: *Rapid estimation of free and total cholesterol. Am J Clin Pathol* 24:1807, 1954
- 10) Fiske CH and SubbarowY: *The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem* 66: 375, 1925
- 11) 강위임, 이순용, 박종우: 급성 중독성 뇌증 및 Reye's 증후군에 관한 임상적 고찰. 소아과, 23: 33, 1979
- 12) Curtis B, Lloyd O, Dhira C, Hilary E, Niyom K, Robert C, Richard G and Thomas S: *Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: A clinicopathologic analysis of 40 cases. Am J Clin Path* 56:558, 1971
- 13) Devivo DC, Keating JP: *Reye's Syndrome. Advance in Pediatrics* 22:175, 1976
- 14) Hartroft WS: *The liver-nutritional guardian of the body. In Gall EA, and Mostofi FK editors: The liver. Baltimore, Williams and Willsins, Company 1974, p 131*
- 15) Roderick NM, MacSween, Peter P Anthony, Peter J Scheuer: *Pathology of the liver. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1979, p.217*
- 16) Gall DG, Cutz E, McCleeng HJ and Greenberg ML: *Acute liver disease and encephalopathy mimicking Reye syndrome: A report of three cases: Journal of Pediatrics* 87:869, 1975
- 17) David W Martin, Peter A Mayes and Victor W Rodwell: *Harper's review of biochemistry. 18th edition. Los Altos, LANGE Medical Publications, 1981, p 193*

Legends for Figures

- Fig. 1. Fatty change of hepatocytes in Reye syndrome is marked on the periportal area. The lobular architectures are not disrupted. (H-E, $\times 400$)
- Fig. 2. The hepatocytes are packed with small fatty droplets without nuclear displacement. (H-E, $\times 1,000$)
- Fig. 3. Hepatocytes in Reye syndrome. The cells show many swollen mitochondriae(M) and solid form of fat vacuoles(V). The bile canaliculi are well preserved(arrow). ($\times 4,300$)
- Fig. 4. Hepatocytes in Reye syndrome. The cells shows large fat vacuoles(V) and swollen mitochondria (M). RER shows dilating and vesicular change(arrow). ($\times 10,000$)
- Fig. 5. Hepatocytes in Reye syndrome. Large fat vacuoles adjacent to nuclear mambrane are seen. ($\times 11,000$)

