

Vitamin A 缺乏으로 인한 肝細胞의 微細形態學的 變化

慶北大學校 醫科大學 病理學教室

襄漢益·孫允卿·孫景洛·徐仁壽·孫泰重

서 론

비타민 A는 지용성으로서 간의 실질세포 혹은 소엽 주변대에 있는 Ito 세포(fat-storing cell)에 상당량 저장되어 있다는 것은 많은 연구를 통하여 잘 알려져 있다^{1~3)}. 이 비타민 A는 시각, 생식, 혈액세포의 분비 및 여러 상피조직의 성장과 분화를 조절하고 유지하는데 필수적인 작용을 한다⁴⁾. 1920년대 Wolbach와 Howe⁵⁾, 및 Mori⁶⁾가 비타민 A 결핍을 일으킨 실험동물에서 상피의 각화증, 편평상피 화생 및 육안적 종양상 증식변화등을 일으킨 것을 관찰하여 보고한 이래 형태학적인 측면에서 비타민 A 결핍에 따른 여러 장기변화에 대한 수많은 연구가 있었다. 그러나 간장에 대한 형태학적 연구는 상당히 오랜 기간동안 비타민 A가 고갈된 식이를 제공해야 하며, 결핍시 일반적으로 상피세포에 변화를 일으키고 간장의 변화는 늦게 보여주기 때문에 간장의 관찰은 적은 편이었다. 최근에 이르러 Denk 등⁷⁾이 간세포내 Mallory 체 형성은 심한 비타민 A 결핍으로 인해 간세포가 병적으로 각질화된 현상이라고 주장한 이후 많은 연구가 이루어지고 있다^{8~10)}. Mallory 체는 1911년 Mallory¹¹⁾가 알콜성 간질환 환자의 간세포에서 최초로 발견하여 알콜성 hyaline이라 기술한 이래 알콜성 간질환의 진단에 중요한 형태적 표시로 인정되었으나¹²⁾, 여러 간질환^{13~18)}과 폐질환^{19~20)}에서도 발견됨으로 그 진단적 의의는 감소되었다. 그러나 각종 간질환에서 흔히 나타나는 Mallory 체에 대해서 그 기원, 발생과 운명 및 성분등은 아직까지도 정확하게 밝혀지지 않고 있다. Denk의 주장과 달리 Leo 및 Lieber⁹⁾와 Leo 등¹⁰⁾은 여러실험을 통하여 Mallory 체 형성과 비타민 A 부족과는 유의적인 상관관계가 없다고 결론짓고 대신에 심한 비타민 A 결핍시에는 간세포내에 multivesicular lysosome을 볼

수 있는데 이는 lipoprotein 대사의 이상이 원인이 될 수 있다고 하였다^{8,10)}. 한편 Wolf 등²¹⁾은 이미 glycoprotein 합성에 비타민 A가 관여한다고 보고한 바 있다. 이와같이 비타민 A 결핍은 간세포내 lipoprotein, glycoprotein 등의 대사에 장애를 일으키며 형태학적으로 Mallory 체형성 내지 multivesicular lysosome 형성등 여러 변화들이 보고되어 있지만 아직까지 의견의 일치를 보지 못하고 있는 실정이다. 그리하여 저자는 상기한 문헌적 지견을 토대로 비교적 장기간 동안 비타민 A를 고갈시킨 식이를 제공한 동물에게서 간세포내에 lipoprotein, glycoprotein 등의 대사장애에 따른 여러 간세포내 소기관들의 형태학적인 변화를 알아 보기 위하여 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 체중 45~50 gm 정도의 이유시기에 해당하는 Sprague-Dawley 흰쥐 수컷을 건강이 양호하다고 인정되는 20마리를 골라 실험에 제공하였다.

비타민 A 결핍식이 : Lamb 등²²⁾의 방법에 의해 Table 1과 같이 적절한 단백질, 합수탄소, 광물질 및 지방을 함유하고 있으나 비타민 A가 심하게 결핍된 사료를 사용하였다.

식이방법 : 비타민 A 함유사료나, 결핍사료나 공히 다른 제약없이 일반적인 방법으로 주었다.

실험계획 : 비교군은 아무런 처치를 하지 않은 사료로 사육하여 성장에 따른 변화를 배제하기 위해 20, 40, 60일째 각기 2마리씩 도살하여 관찰하였다.

실험군은 전술한 비타민 A 결핍식이를 먹여 20, 40, 60일째 각각 2, 4, 8마리씩 도살하여 관찰하였다. 사육중 상태가 좋지않고 감염의 의심이 있을 때는 격리시켜 관찰하였고 중간에 사망한 동물은 실험에서 제외시키고 다시 보충하여 실험군으로 사용하였다.

관찰방법 : 실험동물은 먼저 마취하여 양와위로 고정

접 수 : 1984년 10월 25일

Table 1. Vitamin a deficient diet(100 gm)

Corn starch*	63 gm
Skim milk**	18 gm
Sucrose	10 gm
Fat***	5 gm
Thiamine(B 1)	6 mg
Riboflavin(B 2)	6 mg
Pyridoxin(B 6)	3 mg
D-panthenol	15 mg
Nicotinamide	25 mg
Fe heptogluconate	40 mg
Ascorbic acid	550 mg
Cyanocobalamin(B 12)	42 µg
Vitamin E	200 IU

* Corn starch: Junsei Chemical Co., Ltd., Japan

** Skim milk: DIFCO. Lab. Incorporation, U.S.A.

*** Fat: Snowdrift. Hunt-Wesson Foods, Inc., Calif., U.S.A. Less than 2%(0.01 µg/gm) of U.S.-recommended daily allowance of vitamin A.

한후 복부의 정중선을 따라 절개하여 복부 대동맥으로부터 먼저 혈액을 채취하여 원심분리시켜 혈청을 비타민 A 혈중농도의 분석까지 압소에서 -70°C로 저장하였다.

간은 우측 간엽의 일정부위를 절취하여 일부는 10% 중성 포르말린에 고정하여 절편을 만든후 레마톡실린에 오진 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다. 다른 일부는 전자현미경 검색자료로 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M, phosphate buffer, pH 7.4, 온도, 0~4°C)에 1 mm³의 크기로 세절한 조직편을 2시간 동안 전고정하고 1% OsO₄ 용액(0.1 M, phosphate buffer, pH 7.4, 온도 0~4°C)에 2시간동안 후고정을 하였다. 이후 phosphate 완충용액으로 수세하고, 제열 에칠알콜로 탈수하고, propylene oxide에 의해 침투시켜 Luft 방법²³⁾에 의한 epon mixture로 포매하여 Porter-Blum MT-2 B형 ultramicrotome에 Dupont diamond Knife를 부착하여 회백색의 간섭색을 나타내는 초박절편을 만들어 Reynold 법²⁴⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 하여 Hitachi H-600형 및 Jeol JEM-100C X 전자현미경으로 관찰하였다.

혈청 및 간장조직중의 비타민 A 정량: Thompson 등²⁵⁾의 방법에 의해 혈청 100 ml에 acetonitrile 200 ml를 가하여 30초간 혼합한 후 n-hexane 3 ml를 가

하여 5분간 vortex mixture로 혼합하였다. 원심분리한 후 n-hexane 층을 취하여 최대 여기파장 336 nm, 최대 방출파장 450 nm 파장에서 형광을 측정하여 표품의 형광과 비교하여 정량하였다. 간조직중의 비타민 A를 정량하기 위해 간조직 1 gm을 10배액의 생리식염수와 마쇄한 후 마쇄액 10 µl를 취하여 상기 혈청 비타민 A의 측정시와 동일하게 시행하였다.

성 적

육안적 소견: Table 2와 같이 성장장애와 식욕부진이, 실험시작 10일후와 대부분의 비타민 A 결핍식이 실험동물에서 관찰되었고, 체중증가가 지연되었다. 약 20일경부터 체모가 거칠어지기 시작하였고 40일부터는 탈모현상이 생기기 시작하였으며 60일경에서는 대부분의 동물에서 탈모를 볼 수 있었다. 탈모현상과 비슷한 시기에 눈곱이 증가하였으며 60일경에는 전 실험동물에서 눈곱이 나타났다.

광학현미경적 소견: 대조군에서 간소엽은 중심정맥을 가운데로 하여 간세포의 배열은 규칙적이었으며 간세포는 균질한 과립상의 세포질을 가지고 있었다. 동양혈관은 약간 충혈되어 있었으며 kupffer 세포는 적었다. 문맥에는 간혹 임파구의 침윤을 볼 수 있었다. 실험군 20일째는 대조군에 비하여 큰 변화가 없었으나 40일경부터는 전반적으로 간소엽의 무질서와, 간소엽의 주변대나 동양혈관 주변부 및 문맥에는 임파구와 다형핵 백혈구가 경하게 침윤되어 있었다. kupffer 세포가 숫적으로 약간 증가되어 나타났고 간세포의 지방변성은 나타나지 않았다(Fig. 1). 60일째에는 이러한 소견이 다소 증가한 양상을 보였다(Fig. 2).

전자현미경적 소견: 대조군의 간세포는 다각형을 정하고 서로 접하여 있으며, Disse 강에 면한 자유면에는 다수의 microvilli가 있었다. 핵은 둥글고, 핵소체는 1~2개가 있었으며 비교적 큰 편이었다. Rough surfaced endoplasmic reticulum(RER)은 판상을 정하며 대부분 여러개가 층상으로 배열되어 있었다. Smooth surfaced endoplasmic reticulum(SER)은 세포질의 여기저기에 모여있는 양상이 많았으며 이들 사이에 당원과립이 산재하고 있었다. Golgi 장치는 주로 담세관 부근에 있었으며 lamella, vesicle 및 vacuole 들은 한데 모여 있었다. Mitochondria는 대체로 원형 내지 난원형의 것이 산재해 있었고, 그 수는 많았으며 cristae의 발달은 미약하였다. Lysosome은 주로 담세관 주위에서 관찰되었고 그 형태는 주로 primary

Table 2. Gross changes by vitamin A deficient diet feeding

Gross changes	Group Control	Experimental(Days)		
		20	40	60
Weight deceleration	+	++	+	+
Body hair changes(Hair loss)	-	+	++(+)	+++ (++)
Ocular discharge	-	-	±	+

-, Negative; ±, usually negative; +, positive in 20%~50% of cases; ++, positive in 50%~90% cases; +++, always or nearly always positive.

Table 3. Electron microscopic changes of mitochondria of the hepatocytes by vitamin A deficient diet feeding.

Finding	Group Control	Experimental(Days)		
		20	40	60
Irregularity	-	+	++	+++
Matrix density increase	-	±	+	++
Cristae increase	-	-	±	++
Swelling	-	-	±	+
Toxic effects on membrane	-	-	±	+

-, Negative; ±, usually negative; +, positive in 20%~50% of cases; ++, positive in 50%~90% of cases; +++, always or nearly always positive.

lysosome이었다. 가끔 autophagic vacuole이 관찰되기도 하였다. peroxisome은 그 수가 대단히 적었으며 대체로 그 중앙에 작고 부정형의 core가 있었다. 그밖에 세포에 따라 lipid droplet가 여기저기에서 가끔 관찰되었다.

실험군은 비타민 A 결핍식으로 사육한 후 20, 40, 60 여일에 각각 2, 4, 8마리씩 도살하여 관찰한 군으로 주된 변화는 mitochondria에서 일어났는데 크기가 매우 다양하였고, 모양은 불규칙하였으며, matrix의 전자 밀도가 증가하였고 cristae도 증가하였다. 이러한 변화는 20일부터(Table 3) 경하게 나타나기 시작하여 60일경에 가장 심한 변화를 보였다(Fig. 3, 4, 5, 6 및 8). 전자밀도 증가는 일부 간세포에서는 나타나지 않았다(Fig. 7). 또한 단백질합성과 수송에 관여하는 소기관들도 변성변화가 현저하였는데 이는 40일경부터 SER의 확장 및 숫적감소, RER의 숫적 감소, 확장, 단열 및 ribosome의 탈락, free ribosome의 증가 그리고 Golgi 장치의 위축등이 관찰되었고 60일경에는 더욱 심한 변화를 보였다(Fig. 4, 5, 6, 7, 및 8).

Lysosome에는 큰 변화가 없었다. primary lysosome을 가끔 볼 수 있었으며 가끔 작은 multivesicular

body가 나타났으나 완전히 성숙된 것은 발견되지 않았다(Fig. 4).

핵의 변화는 60일째에 몇개 세포가 경한 변화를 보였는데 그 변연은 일반적으로 불규칙하고 heterochromatin이 많았다(Fig. 6 및 7).

Kupffer 세포에 있어서는 세포질 내에 lysosome이 증가하였는데(Fig. 5) 특히 secondary lysosome에 속하는 것들이 대부분이었다. 이 kupffer 세포의 변화는 숫적 증가가 있을뿐 세포기관의 시간에 따른 변화는 큰 차이가 없었다.

혈청 및 간장조직중의 비타민 A 정량: 아무런 처치를 하지 않은 비타민 A 함유사료를 먹인 대조군에 비해서 비타민 A 결핍식을 먹인 군은 간장내 비타민 A 저장량이 흔적으로만 있었고, 혈중 비타민 A는 심하게 감소되었다(Table 4).

고 찰

본 실험의 결과 vitamin A 결핍에 의한 간세포의 형태학적 변화는 광학현미경적으로는 간세포의 무질서, Kupffer 세포의 증가 및 소수의 단핵세포의 침윤을 동

Table 4. Hepatic and serum vitamin A in rats fed a deficient vitamin A diet

Findings	Group	Control(N.=6)	Experimental(60 days, N.=8)
Serum($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)		51.9 \pm 8.6	8.71 \pm 1.63 *p<0.01
Liver($\mu\text{g}/\text{gm}$ of wet liver)		328.1 \pm 86.7	0.04 \pm 0.01 p<0.01

* Significance

반한 경한 염증변화를 보였다. 전자현미경적으로는 mitochondria의 변화가 가장 현저하였는데 심한 형태적 불규칙성과 전자밀도의 증가 및 cristae의 증가가 일어났으며 RER에는 종창, 단열, 숫적 감소등을 볼 수 있었는데 이러한 변화들은 60일째에 가장 심한 경향을 보였다.

정상 및 병적 환경에서 mitochondria의 변화는 광범위하게 연구되어 왔는데²⁸⁻²⁹ Lewis 및 Lewis²⁸와 Roberts²⁹는 종래된 mitochondria의 저명한 불규칙적인 형태는 비정상 상태에서 나타나며 막의 유연성이 비정상적으로 증가된 것을 표현하는 것이라고 하였다. Schwartz³⁰는 이때 나타나는 생화학적 변화는 mitochondria의 막구조물에 존재하는 효소에 관계되는 것으로 세포내 호흡의 감소 그리고 ketogenesis, lipogenesis 및 acetate에서 CO₂로의 산화등의 점진적인 장애에 동반된 산소소비 장애라고 하였다. Leo 등³¹은 실험동물의 급성 비타민 A 중독증에서 간세포에 거대 mitochondria 출현, cytochrome 활성저하 및 cytochrome aa₃의 함량저하등을 관찰하였는데 이는 비타민 A가 mitochondria의 기능에 영향을 미친다는 견해들이라 생각된다. 또 Wolf 등³²은 비타민 A가 glycosylation 반응에 관여한다고 하였는데 이 반응에 의하여 생산된 glycoprotein이 수출성 단백 뿐만 아니라 생체막 형성에도 중요한 작용을 한다는 점을 생각할 때 이는 Leo 등³¹의 성적과 일치하는 것으로 비타민 A가 mitochondria의 막에 어떤 형태로든 영향을 끼친다고 볼 수 있다. 본 실험에서 나타난 또 다른 중요한 특징은 mitochondria matrix의 전자밀도 증가가 현저하였는데(Fig. 6 및 8) 일반적으로 이러한 현상은 간세포 괴사나 사염화탄소 중독 초기에 볼 수 있는 현상이다³³. 그러나 본 실험에서는 mitochondria에 일반적인 세포 괴사에서 볼 수 있는 저명한 원형상 종대나 cristae의 심한 소실등이 없이 전자밀도만 증가하는 현상만 보인 것이다. 이런 현상은 비타민 A 결핍시 나타나는 또 다른 소견으로 생각된다.

또 본 실험에서 mitochondria cristae의 증가가 일

부에서 관찰되었다(Fig. 5, 6, 및 8). 이는 간암세포³⁴나 높은 산화율을 가진 세포^{35,36}에서 보고되었고, 또 Wilson과 Leduc³⁷는 필수지방산이 결핍된 식이를 먹인 백서에서, mitochondria의 matrix에 cristae가 평행상으로 밀집되어 증가된 양상을 관찰하였으며, 동시에 심한 종대와 전자밀도 증가를 관찰하였다. 그러므로 일부 비타민 A 결핍 백서에서 나타난 cristae의 증가는 비타민 A 결핍에서의 특징적인 소견이라고 보기는 어렵고 다른 이차적인 요인 즉 지방산의 결핍등이 요인으로 작용되었으리라고 생각되나 더 연구되어야 할 과제이다.

비타민 A 결핍식이 실험군에서 기간이 지날수록 RER의 종창이 일어났는데(Fig. 4, 5, 6, 7 및 8) 이러한 변화가 일어난 기전에 대해서는 두가지의 가능성을 생각할 수 있다. 첫째는 ER 막을 구성하고 있는 glycoprotein, lipoprotein의 형성장애, 둘째는 mitochondria의 기능장애에 의한 에너지 부족으로 RER기능이 저하되었다고 생각할 수 있으나 본 실험만으로 그 기전을 규명하기는 어렵다.

본 실험에서 lysosome에는 별 변화가 없었다. lysosome은 다수의 가수분해 효소를 함유하여 세포의 파괴된 부분이나 잘못 합성된 여러가지 세포성분들을 소화 처리하는 소기관이기 때문에 비타민 A 결핍으로 간세포는 경한 염증반응이 동반되었으나 lysosome의 증가가 없었으므로 이는 염증으로 인한 간세포의 상해가 일어나지는 않은 것으로 해석된다.

비타민 A 결핍에서 다음에 고려되어야 할 문제는 Mallory체 형성과의 관계이다. Mallory체는 1911년 F.B. Mallory가 알콜성 간경화증 환자의 간세포에서 특징적인 초자양 변성을 관찰하여 alcoholic hyaline이라고 이름 붙인후 여러 연구자들에 의하여 그 기원, 발생과 운명 및 성분들을 연구해 오고 있는데 현재 그 발생은 3가지 가설로 요약되고 있다³⁸. 먼저 "microtubular failure" 가설로, 이는 microtubule의 분해를 수반하여 핵주변부에 intermediate filament가 증가한다는 것으로 이는 griseofulvin, colchicine 및 alcohol에 의해 증가한다고 하였다³⁹. 그러나 몇개 실

험을 통해 이러한 시약의 급성 투여후에도 쉽게 발생하지 않았으므로 French 등³²⁾과 Borenfreund³³⁾는 "preneoplasia" 가설을 주장하였다. 이는 실험적으로 간암 발암물질인 diethylnitrosamine 과 griseofulvin 을 투여하니, protein kinase 에 의해 cytoskeletal filaments 의 phosphorylation 이 증가되어 filament 가 분해되는 것을 발견했고 alkaline phosphatase, Mallory 체 및 세포의 종양성 변화가 butylate 에 의해 변화될 수 있었다. 그러나 이 가설의 약점은 인체내 Mallory 체와 관계된 많은 조건이 암상태나 전암상태가 아니라는 것이다. 그후 주목할만한 가설은 Denk 등^{8,9,11)}이 제시한 "비타민 A 결핍" 가설이다. 이는 Mallory 체 형성이 간세포가 병적으로 각질화되는 현상이라고 주장하는 것인데, 비타민 A가 편평상피 화생을 일으키며 Mallory 체 발생이 일어나는 여러 조건들에서 혼란 요인일 수 있으므로 상당한 근거가 있게 받아들여졌다. 즉 영양실조, 지방흡수장애, 혹은 비타민 A의 환성장애등이 직접, 간접으로 비타민 A 결핍상태를 초래할 수 있고 또한 Mallory 체 형성이 가능한 조건들이기 때문이다. 그러나 Leo 등³⁻¹¹⁾은 여러 비타민 A 결핍동물 실험을 통하여 Mallory 체 형성과 비타민 A 부족과는 유의적인 상관관계가 없다고 결론짓고 대신에 심한 비타민 A 결핍시에는 간세포내에 multivesicular lysosome 을 관찰하였다. 거대 지방축적 lysosome 은 cholesterol 식이 실험동물⁴⁰⁾ 및 steatosis 에서 흔히 관찰되는 소견이나 multivesicular lysosome 에서 보이는 lipoprotein 같은 봉입체는 없었다⁴¹⁾. 따라서 그는 lipoprotein 대사이상이 multivesicular lysosome 의 발생원인이라고 생각했다.

본 연구결과 mitochondria 막성 구조물의 여러 특이한 변화와 더불어 단백질합성과 수송에 관여하는 소기관 즉 ER, ribosome 및 Golgi 장치의 변성성 변화가 현저하였고 가끔 multivesicular lysosome 이 나타났으며 기타 lysosome 의 증가는 발견되지 않으므로 이런 여러 형태학적 변화는 비타민 A 결핍이 막성구조물을 구성하는 lipoprotein 혹은 glycoprotein 대사장애를 초래한다고 생각된다. 그러나 Mallory 체 및 multivesicular lysosome 형성에 어떤 직접적인 작용을 하는지는 더 연구되어야 할 과제로 생각된다.

요 약

비타민 A 결핍이 간세포에 미치는 영향을 알아보고자 Lamb 식단에 의한 비타민 A 결핍식으로 Sprague-

Dawley 종 이유시기의 숫컷 흰쥐를 20, 40, 60일까지 사육하고 각각 2, 4, 8마리씩 도살하여 간장을 적출한 후 광학 및 전자현미경적 검색을 하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

광학현미경적으로는 경한 염증반응, kupffer 세포의 증가 및 간세포 배열의 불규칙성이 관찰되었다.

전자현미경적으로는 mitochondria 의 대소부동과 모양의 현저한 불규칙성, cristae 의 증가 및 matrix 전자밀도의 증가를 보였다. mitochondria 의 여러 특이한 변화와 더불어 단백질합성과 수송에 관여하는 소기관 즉 ER, ribosome 및 Golgi 장치의 비가역성 및 가역성 변화가 현저하였고, 가끔 multivesicular lysosome 이 나타났으며 기타 lysosome 의 증가는 발견되지 않았다.

이상의 연구성적으로 보아 비타민 A 결핍은 선택적으로 mitochondria 의 변화를 야기시킬 수 있고 multivesicular body 형성을 유도할 수 있다고 믿어진다. 또한 Mallory 체 형성은 일어나지 않았으며 다른 세포내 막성 구조물의 변화들은 이차적인 것이라고 생각된다.

이 논문을 위해 수고해 주신 경북대학교 의과대학 중앙전자현미경실의 김종길 선생님의 여러분께 감사드립니다.

REFERENCES

- 1) Arias IM, Popper H, Schachter D, Shafritz DA: *The liver. Biology and Pathobiology*, New York, Raven Press Books, Ltd, 1982, p502
- 2) Popper H: *Histologic distribution of vitamin A in human organs under normal and pathologic conditions. Arch Pathol* 31:776, 1941
- 3) Nakane PK: *Ito's fat-storing cell of the mouse liver. Anat Rec* 145:265, 1963
- 4) Gilman AG, Goodman LS, Gilman A: *The pharmacological basis of therapeutics. Volume 2*, New York, Academic Press, London, 1961, p299
- 5) Wolbach SD, Howe PR: *Tissue changes following deprivation of fat-soluble vitamin A. J Exp Med* 42:753, 1925
- 6) Mori S: *The changes in the para-ocular glands which follow the administration of diets low in fat-soluble vitamin A; with notes of the effects of the same diets on the salivary glands and*

- the mucosa of the larynx and trachea. Johns Hopkins Hosp Bull* 33:357, 1922
- 7) Denk H, Franke WW, Kerjaschki D, Schmid E, Osborn M, and weber K: *Experimental mallory bodies("alcoholic hyaline")*: New findings on evolution, structure and pathologic significance. In *the liver quantitative aspects of structure and function*, edited preising R, Paumgartner G and Bircher JB, 1979, p43
 - 8) Leo MA, Lieber CS: *Hepatic vitamin A depletion in alcoholic liver injury. N Engl J Med* 37:597, 1982
 - 9) Sato M, Lieber CS: *Hepatic vitamin A depletion after chronic ethanol consumption in baboons and rats. J Nutr* 111:2015, 1981
 - 10) Leo MA, Sato M, Lieber CS: *Effect of hepatic vitamin A depletion on the liver in humans and rats. Gastroenterol* 84:562, 1983
 - 11) Mallory FB: *Cirrhosis of the liver: Five different types of lesions from which it may arises. Bull Johns Hopkins Hosp* 22:69, 1911
 - 12) Gerber MA, Orr W, Denk H, Schaffner F, popper H: *Hepatocellular hyaline in cholestasis and cirrhosis: its diagnostic significance. Gastroenterol* 64:89, 1973
 - 13) Monroe S, French SW, Zamboni L: *Mallory bodies in a case of primary biliary cirrhosis: An ultrastructural and morphological study. Am J Clin Pathol* 59:254, 1973
 - 14) Levi AJ, Sherlock S, Sheur PJ: *Presymptomatic Wilson's disease. Lancet* 2:575, 1967
 - 15) Nayak NC, Sagreiya K, Ramalingaswami V: *Indian childhood cirrhosis. Arch Pathol* 88: 631, 1969
 - 16) Norkin SA, Campagna-Pinto D: *Cytoplasmic hyaline inclusions in hepatoma: Histochemical study. Arch Pathol* 86:25, 1968
 - 17) Keeley AF, Iseri OA, Gottlieb LS: *Ultrastructure of hyaline cytoplasmic inclusions in a human hepatoma: Relationship to Mallory's alcoholic hyaline. Gastroenterol* 62:280, 1972
 - 18) Pessayre D, Bichara M, Feldmann G, Degott C, Potet F, Benhamou JP: *Perhexiline maleate-induced cirrhosis. Gastroenterol* 76:170, 1976
 - 19) Kuhn III C, Kuo TT: *Cytoplasmic hyaline in asbestosis. Arch Pathol* 95:190, 1973
 - 20) Michel RP, Limacher JJ, Kimott RJ: *Mallory body in scar adenocarcinoma of the lung. Human Pathol* 13:81, 1982
 - 21) Wolf G, Kiorpes TC, Masushige S, Schreiber JB, Smith MJ, Anderson RS: *Recent evidence for the participation of vitamin A in glycoprotein synthesis. Fed Proc* 38:2540, 1979
 - 22) Lamb AJ, Apiwatanaporn P, Olson JA: *Induction of rapid synchronous vitamin A deficiency in the rat. J Nutr* 104:1140, 1974
 - 23) Luft JH: *Improvement in epoxyresin embedding method. J Biophys Biochem Cytol* 9:409, 1961
 - 24) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol* 17:208, 1963
 - 25) Thompson JN, Erdody P, Brien R, Murray TK: *Fluorometric determination of vitamin A in human blood and liver. Biochem Med* 5:67, 1971
 - 26) Rouiller C: *Physiological and pathological changes in mitochondrial morphology. Internat Rev Cytol* 9:227, 1960
 - 27) Novikoff AB: *Mitochondria(chondriosomes). In: The cell. Brgchet J, Mirsky AE(eds.). New York Academic Press London Vol 2, 1961, p299*
 - 28) Lewis MR, Lewis WH: *Mitochondria(and other cytoplasmic structures) in tissue cultures. Am J Anat* 17:339, 1915
 - 29) Roberts HS: *Changes in mitochondrial form. Anat Rec* 104:163, 1949
 - 30) Schwarz K: *Development and status of experimental work on factor 3-selenium. Fed Proc* 20:666, 1961
 - 31) Leo MA, Arai M, Sato M, Lieber CS: *Hepatotoxicity of vitamin A and ethanol in the rat. 82:194, 1982*
 - 32) Franke WW, Denk H, Schmid E, Osborn M, weber K: *Ultrastructural, biochemical and immunological characterization of Mallory bodies in livers of griseofulvin-treated mice: fimbriated rods of filaments containing prekeratin-like polypeptides. Lab Invest* 40:207, 1979
 - 33) Borenfreund E, Higgins PJ, Bendich A: *In*

vivo-in vitro rat liver carcinogenesis: Modification in protein synthesis and ultrastructure. Ann NY Acad Sci 349:357, 1980

- 34) Howatson AF, Ham AW: *Electron microscope study of sections of two rat liver tumors. Cancer Res 15:62, 1955*
- 35) Howatson AF, Ham AW: *The fine structure of cells. Canad J Biochem Physiol 35:549, 1957*
- 36) Dempse T EW: *Variations in the structure of mitochondria. J Biophys and Biochem Cytol 2 (No4 Suppl): 305, 1956*
- 37) Wilson JW, Leduc EH: *Mitochondrial changes in the liver of fatty acid-deficient mice. J Cell Biol 16:281, 1963*
- 38) Svoboda DJ, Higginson J: *Ultrastructural hepatic changes in rats on a necrogenic diet. Am J Pathol 43:477, 1963*
- 39) Denk H, Frank WW, Kerjaschki D, Eckerstorfer R: *Mallory bodies in experimental animals and man. Int Rev Exp Pathol 20:77,*
- 40) Nehemiah JL, Novikoff AB: *Unusual lysosomes in hamster hepatocytes. Exp Mol Pathol 21:398, 1974*

=Abstract=

An Ultrastructural Study on the Changes in Hepatocyte of Rat Induced by Vitamin A Deficiency

Han Ik Bae, M.D., Yun Kyung Sohn, M.D.
Kyung Rak Sohn, M.D., In Soo Suh, M.D.
and Tae Joong Sohn, M.D.

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

In order to investigate the morphologic changes of hepatocyte by vitamin A deficiency, the author fed vitamin A deficient diet by Lamb's formula to male weanling Sprague-Dawley rats. Twenty rats were divided into two groups (14 as experimental group and the rest 6 as control). Two rats of control groups and 2, 4 and 8 rats of experimental groups were sacrificed 20th, 40th and 60th days and each hepatic tissue was observed by the light and electron microscopes.

The results were summarized as follows:

Light microscopically, hepatocytes of experimental group showed mild inflammatory reactions accompanied by Kupffer cell hyperplasia and disarray of hepatic cords. Electron microscopically, mitochondria showed marked variability in size and shape with increased distorted cristae as well as increase of matrix densities. Degenerative changes of the cellular organelles participating in protein synthesis and transports were noted, such as dilatation and fragmentation of RER, shedding of ribosomes, increase of free ribosomes, atrophy of Golgi complex, and decrease of SER. Lysosome was not increased but multivesicular lysosomes were occasionally found.

From the above results, vitamin A deficiency may specifically alter the morphology of mitochondria and induce multivesicular body formation. Mallory body formation is not noted. Changes on the other endomembranous structures are believed to be secondary.

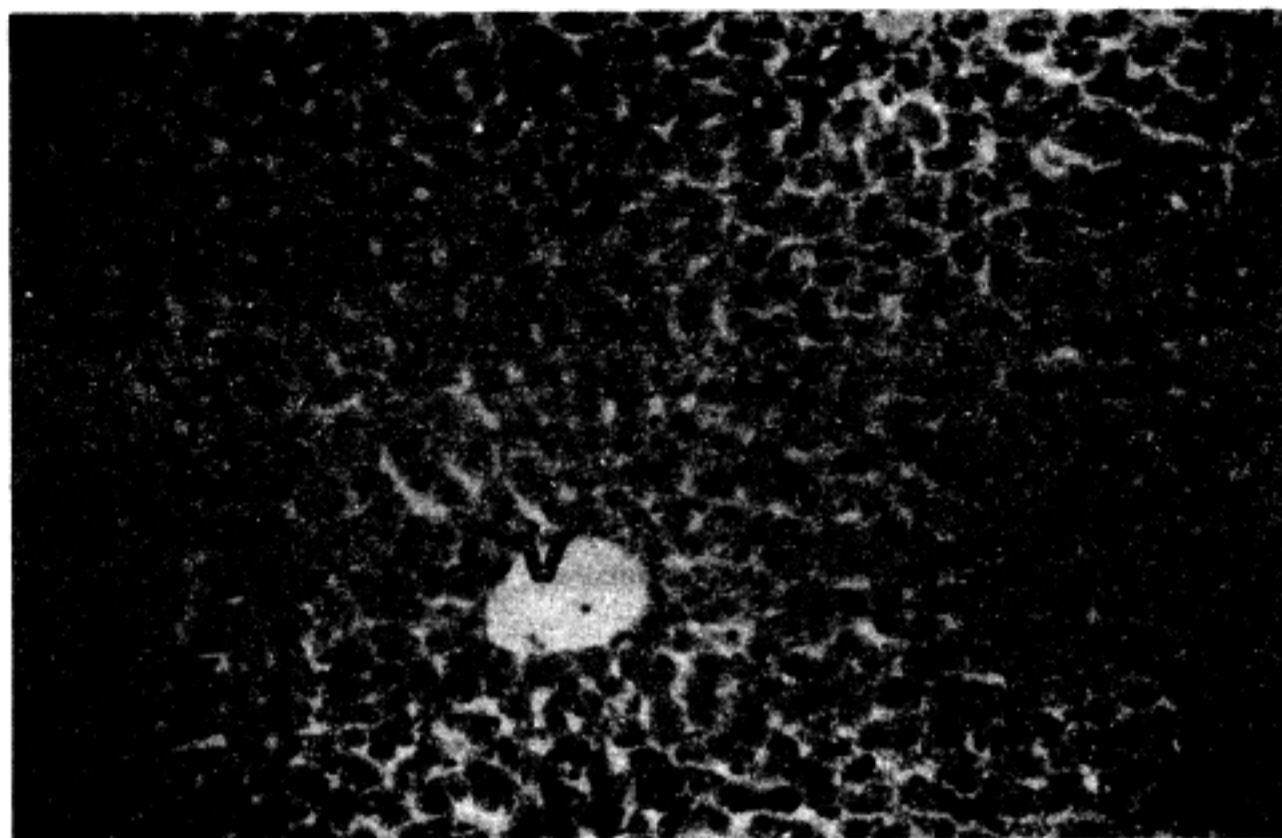


Fig. 1. Liver, rat, fed vitamin A deficient diet for 40 days. The hepatic lobules show mild disarray and enlargement of hepatocytes with mild Kupffer cell hyperplasia. Central vein(CV) and portal tract(PT) are unremarkable.(H-E stain, $\times 100$)

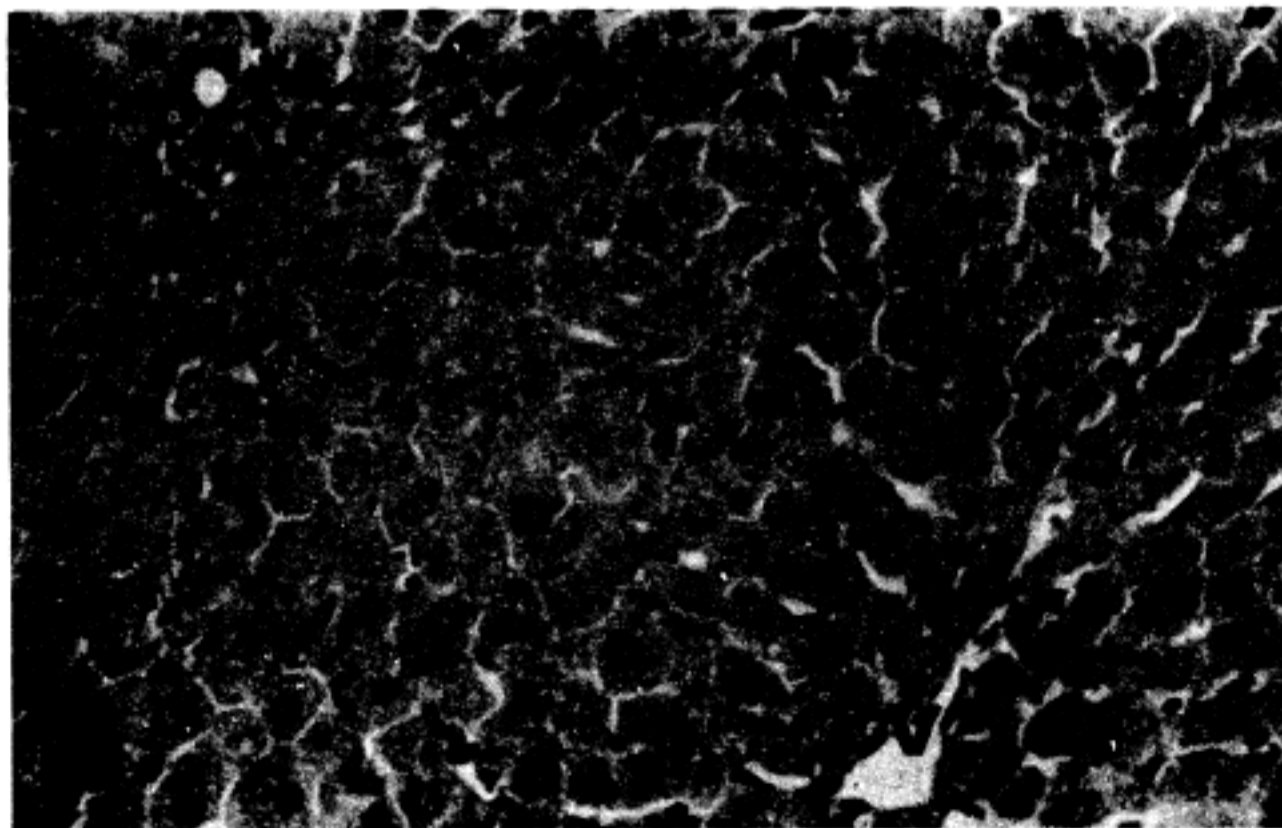


Fig. 2. Liver, rat fed vitamin A deficient diet for 60 days. The hepatic lobules show mild disarray and moderate enlargement of hepatocytes with marked kupffer cell hyperplasia(arrow). Central vein (CV) and portal tract(PT) are unremarkable.(H-E stain, $\times 400$)

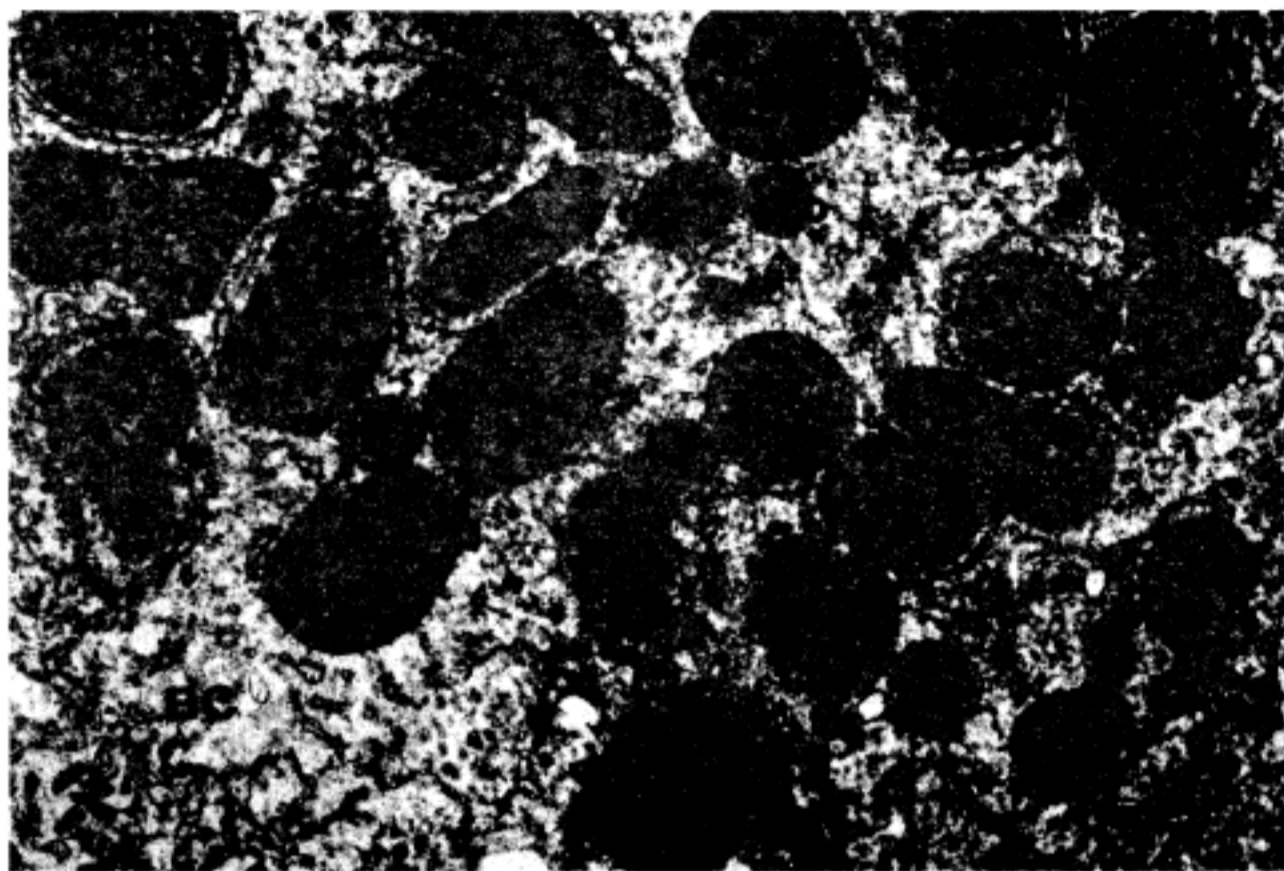


Fig. 3. Hepatocyte, rat, 20 days after feeding of vitamin A deficient diet. Increased mitochondria(M) show mild irregularities and mild increase of matrix density around bile canaliculus(BC), uranyl acetate and lead citrate.($\times 15,000$)

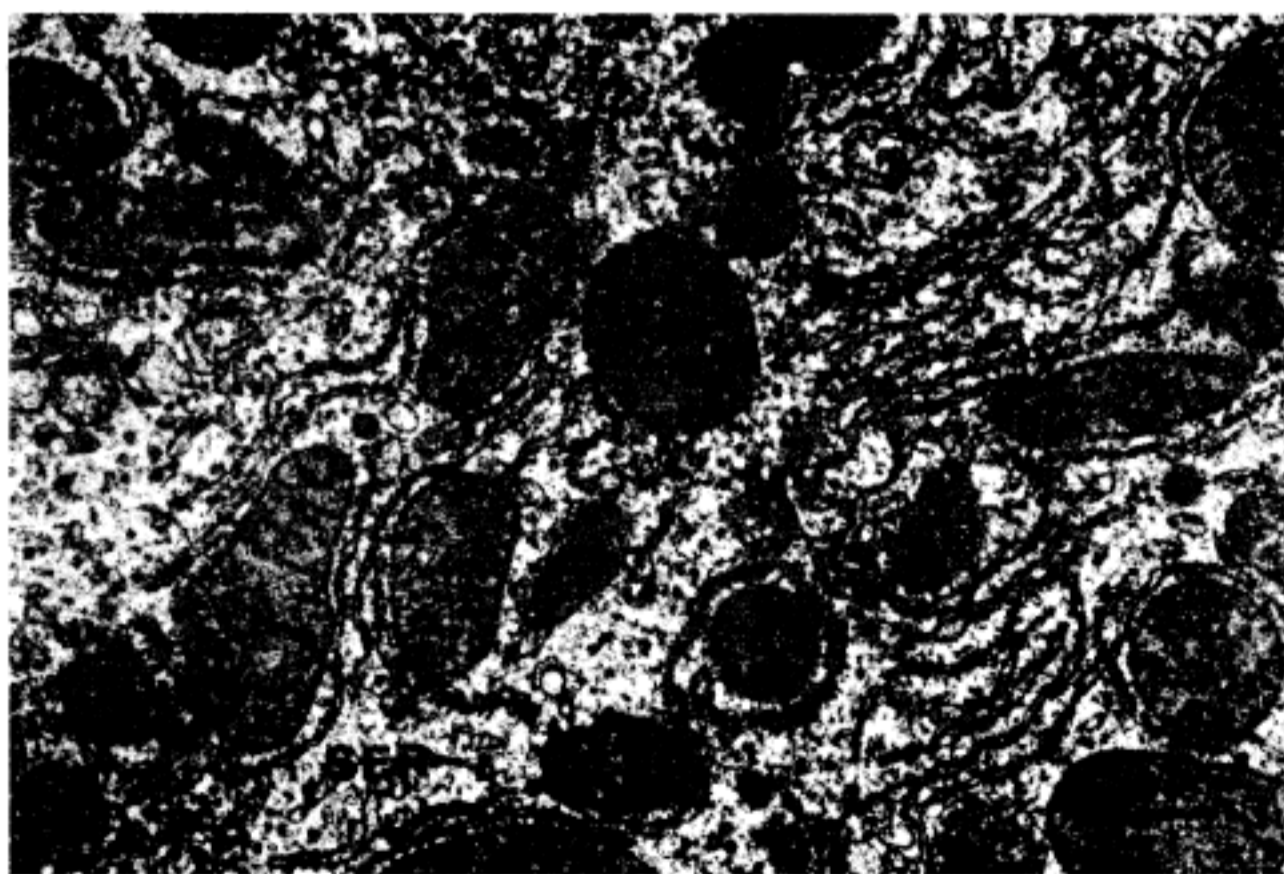


Fig. 4. Hepatocyte, rat, 40 days after feeding of vitamin A deficient diet. Mitochondria(M) are irregular appearances of hepatocytes with mild increase of matrix density. SER and RER are swollen and mild fragmentation is seen. Poorly formed multivesicular lysosomes(MV) are occasionally found, uranyl acetate and lead citrate.($\times 15,000$)

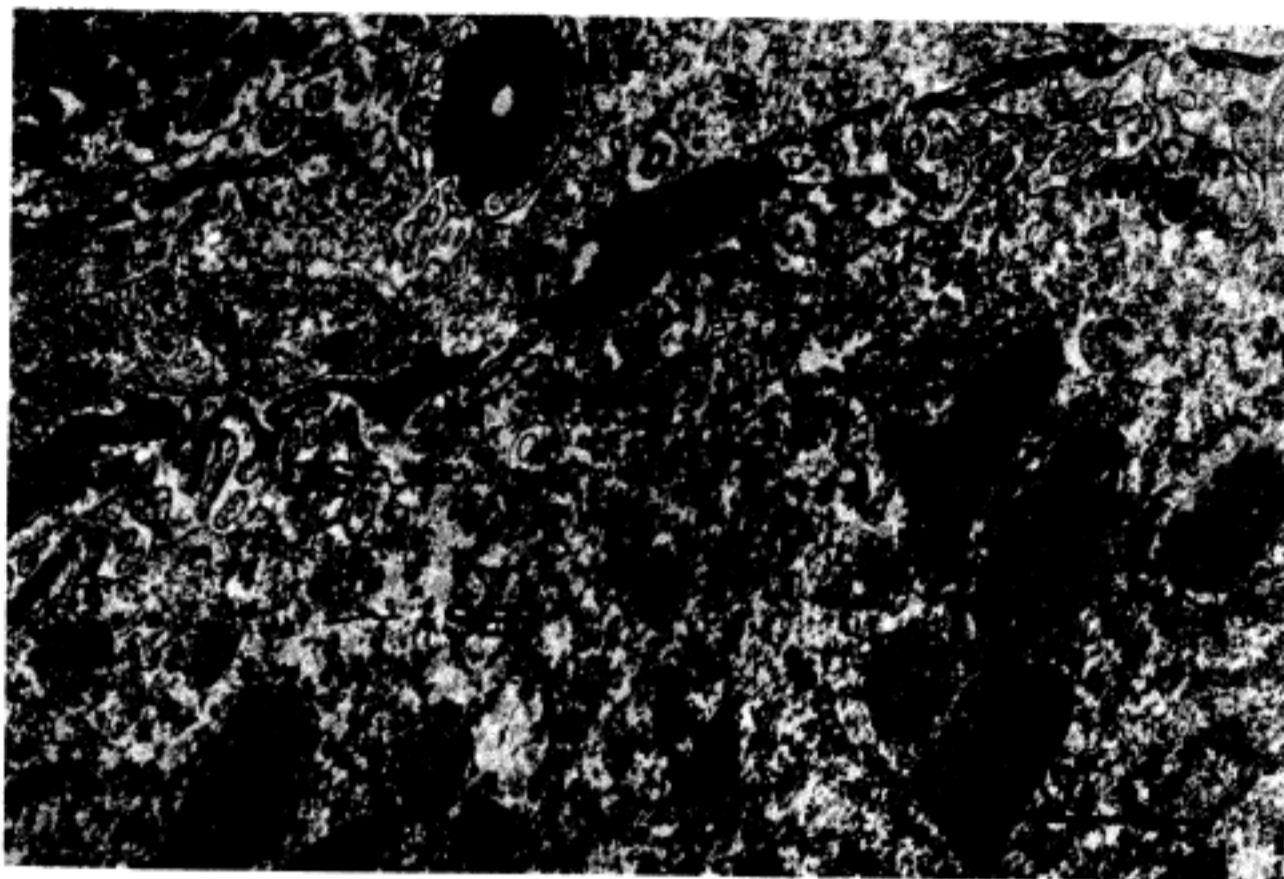


Fig. 5. Hepatocyte, rat, 40 days after feeding of vitamin A deficient diet. Mitochondria(M) show irregular shape and size with moderate increase of matrix density. RER and SER are markedly swollen and fragmented. Cytoplasm of a kupffer cell(K) is seen. Cytoplasm of endothelial cell (arrow) have fenestrated pores. A myelin figure(MF) is exocytosed in sinusoid, uranyl acetate and lead citrate. ($\times 22,000$)

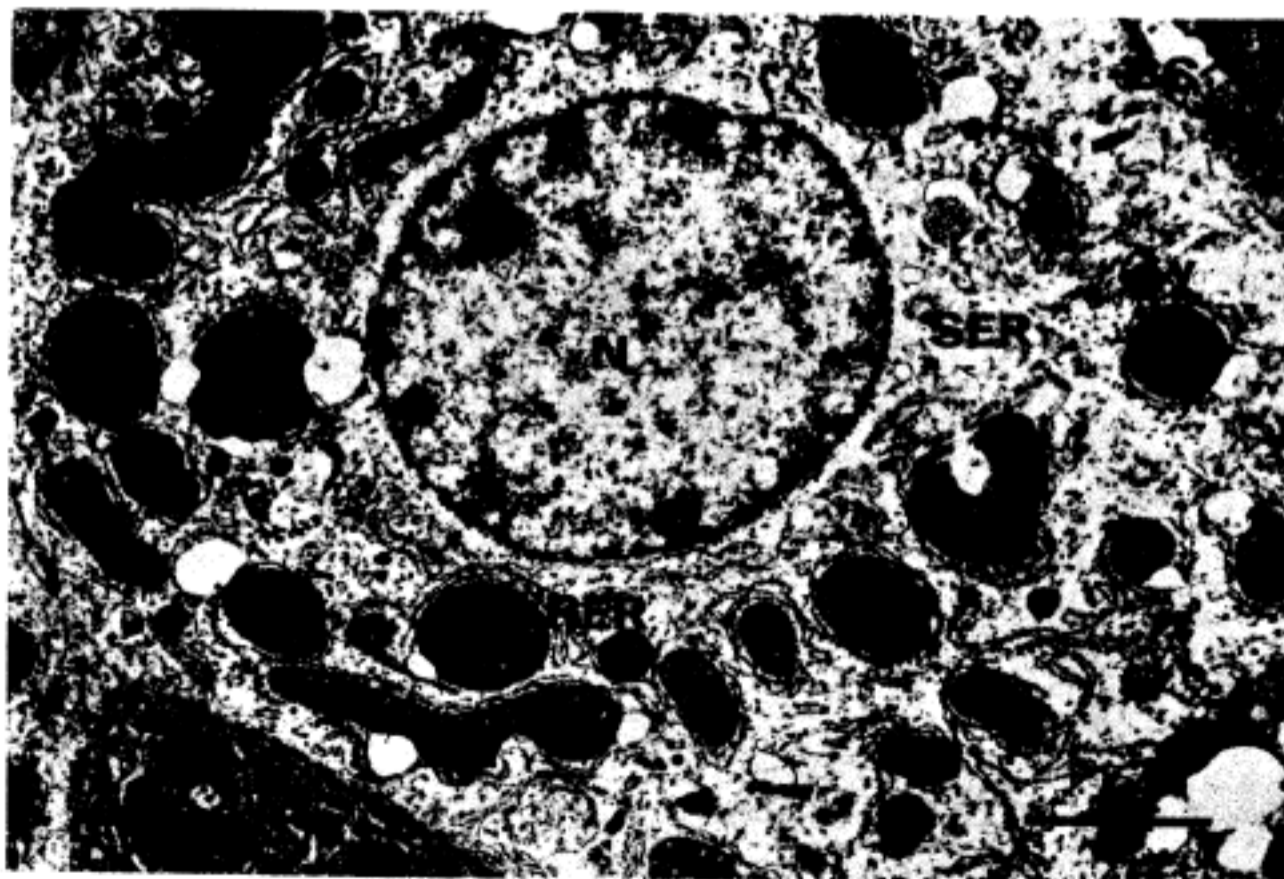


Fig. 6. Hepatocyte, rat, 60 days after feeding of vitamin A deficient diet. Mitochondria(M) show marked irregularity, and increase of cristae and matrix density. Swollen SER is found around bile canaliculus. Lysosomal increase(Ly) is not noted, uranyl acetate and lead citate. ($\times 22,000$)



Fig. 7. Hepatocyte, rat, 60 days after feeding of vitamin A deficient diet. Mitochondria(M) show marked irregularities with variabilities of size and shape. Increase of matrix density is relatively minimal. Nucleus show large amount of heterochromatin(Hch). RER and SER are fragmented and swollen, uranyl acetate and lead citrate. ($\times 22,000$)

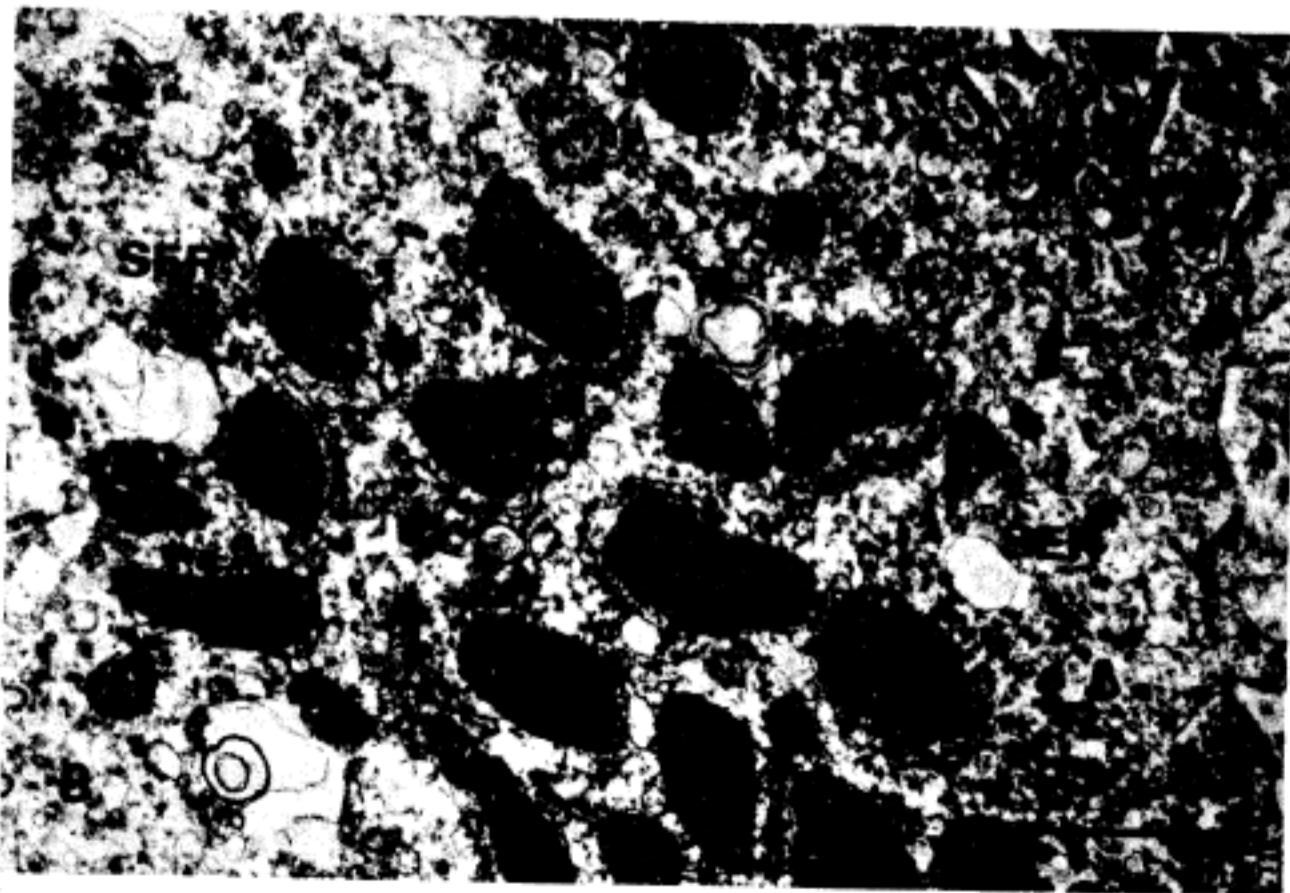


Fig. 8. Hepatocyte, rat, 60 days after feeding of vitamin A deficient diet. Mitochondria(M) show extremely increased matrix density. SER and RER are fragmented and swollen but the number is markedly decreased, uranyl acetate and lead citrate. ($\times 22,000$)