

중피세포의 증식에 관한 형태학적 연구

전남대학교 의과대학 병리학교실

최 찬 · 이 민 철 · 조 규 혁

서 론

중피세포는 태생학적으로 중배엽에서 기원하여 흉막, 심막 및 복막을 피복하는 단층편평상피세포이다. 정상적으로 중피세포는 장막내강에서 발견되지 않지만 간경변, 울혈성 심부전증, 폐결핵, 폐경색 등이 있을 때 반응성증식을 하고 많은 세포가 탈락하여 장액내에 부유한다^{1,2)}.

중피세포의 반응성증식은 병적인 상태외에 장막강내에 탈크나 전분, 일회용 수술복에서 떨어져 나온 섬유소, 광물성유류(mineral oil), 파라핀, 난소에 생긴 낭성 기형종의 파열후와 같이 이물질이 있을 때도 초래된다^{1,3,4)}.

저자는 백서의 복강에 탈크부유액을 주입하여 중피세포의 증식성변화를 일으켰고, 이들을 각종 암세포 및 대식세포와 형태적으로 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

체중 150 g에서 200 g 사이의 외관상 건강한 Wistar 계 백서에 2% 탈크부유액(3 Mg, 0.4 SiO₂, H₂O) 2.5 ml 및 생리식염수 대조군 2.5 ml 를 각각 복강내 주사한 후 6시간, 12시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일, 14일, 28일에 탈크부유액 주사군은 세마리씩, 생리식염수 주사군은 한마리씩 ether 마취하에 도살후 복강을 개방하여 탈크육아종(talcum granuloma)이 형성된 주위의 복막(parietal peritoneum)에서 touch print 를 하였고, 복막의 육아종으로부터 1 cm 되는 곳의 복막조직을 채취하였다. Touch print 한 표본은 95% 에틸알콜에 12시간에서 24시간 고정한 후 Papanicolaou 염색을 하였다. 얻어진 조직의 일부는 10% 중성 완충포르

말린용액에 고정한 후 파라핀 절편을 만들어 헤마톡실린-에오신 염색을 하였고, 나머지 조직은 약 1.5 mm³의 조직편을 만들어 4°C Karnovsky 씨 용액에 12시간 전고정한 다음 cacodylate buffer 용액으로 수세후 4°C Millonig-Osmium 산(1%)용액⁵⁾에 1시간 동안 후고정하였다. 이들 조직편은 Luft 법⁶⁾에 따라 propylene oxide 및 propylene oxide-epon 혼합액에 침윤하여 epon 혼합액으로 포매하였다. 포매된 조직은 35°C, 45°C, 60°C 오븐에 각각 24시간씩 방치하여 중합시켰다. Epon block 을 Sorvall MT-5,000 초박절기로 1 μm 내외의 박절편을 만들어 toluidin-blue 염색을 하였다. 이상의 염색표본을 광학현미경으로 관측하였고 전자현미경 검사가 필요한 부위는 80 nm 내외의 epon 절편을 만들어 Reynolds 법⁷⁾으로 염색하여 JEM 100 CX 전자현미경으로 가속전압 75 KV 하에서 관찰하였다.

성 적

육안소견

생리 식염수를 주사한 정상대조군에서는 시간의 차이에 따르는 변화가 없었으나, 탈크부유액을 주입한 실험군에서는 모든 군에서 장관의 장막, 간장표면 및 복막에 하나 또는 여러개의 하얀 육아종이 형성되었으며, 육아종 주위의 복막은 더 희게 보였다.

광학현미경 소견

정상 대조군에서는 시간의 변화와 상관없이 중피세포는 평편하며 한층으로 배열하여 정상구조를 보였다 (Fig. 1).

6시간 및 12시간군 : 중피세포의 크기 및 배열은 정상대조군과 유사하였으며, 중피세포층의 하부는 정상보다 약간 두꺼워졌고, 대식세포의 침윤이 저명하였다 (Fig. 2).

3일 및 5일군 : 중피세포는 1층이었고 정상 대조군보

접 수 : 1985년 3월 30일

* 본 논문은 1984년 추계 학술대회에서 발표한 내용임.

다 세포질이 더 풍부해지며, 입방형으로 변하였고 핵은 더 뚜렷해졌고 망상(vesicular)이며, 2개의 핵을 갖는 경우도 관찰되었다. 중피세포의 하부는 대부분이 대식세포이고 가끔 섬유모세포가 출현하였다(Fig. 3).

10일 및 14일군 : 중피세포는 1층이며 세포질은 정상 대조군 보다는 더 풍부하나 3일 및 5일군 보다는 더 평편하였고, 2개의 핵을 갖는 세포의 수도 더 감소되었다. 중피세포의 하부는 주로 섬유모세포 및 교원질로 구성되고, 소수의 대식세포가 관찰되었다.

28일군 : 중피세포는 한층으로 정상대조군과 비슷하였고, 중피세포의 하부는 세포질의 양이 적은 섬유세포 및 교원질로 구성되며 대식세포는 거의 관찰되지 아니하였고 어느군보다 더 비후되었다(Fig. 4).

세포학적 소견

정상대조군 : 세포는 다각형 또는 원형이며, 세포질의 경계는 뚜렷하였고 cyanphilic 또는 eosinophilic 하게 염색되었다. 핵은 원형으로 세포의 중앙에 위치하고 크기는 일정하며, 핵의 중앙에 핵소체가 관찰되었다(Fig. 5).

6시간군 : 정상대조군과 비슷하였다(Fig. 6).

12시간 및 1일군 : 세포는 다각형 또는 원형이며 세포질의 양은 정상 대조군보다 더 풍부하고, 균일하였다. 핵은 더 커졌고 염색질은 응집되며 핵막은 뚜렷해지고, 핵과 세포질의 비율(N/C)은 정상대조군보다 더 감소되었다(Fig. 7).

3일 및 5일군 : 세포들이 독립되어, 또는 5~7개가 함께 모여서 나타났으며, 세포는 둥글고 세포질은 매우 풍부하였다. 세포의 경계는 뚜렷하며, 가장자리는 중심부에 비하여 열게 염색되고, 크기는 정상에 비해서 훨씬 커졌다. 핵은 크기가 균일하며, 정상보다 더 커졌고 염색질의 응집 및 2~3개의 염색중심립(chromocenter)이 관찰되었다. 핵막은 뚜렷하며 핵과 세포질의 비율(N/C)은 다른 어느 군보다 낮았다(Fig. 8, 9).

10일 및 14일군 : 세포는 다각형 또는 원형이며 세포질 및 핵은 12시간군 및 1일군과 비슷하였다.

28일군 : 세포는 원형 또는 다각형이며 핵 및 세포질은 정상대조군과 비슷하였다(Fig. 10).

전자현미경 소견

정상대조군의 중피세포는 세포막에 미세섬모가 풍부하고, 인접한 중피세포와는 밀접히 닿아있으며 tight junction 이 관찰되었다. 세포질의 가장자리에 소포가 몇개 관찰되며, 세포의 하부에 기저막(basement membrane)이 관찰되었다(Fig. 11). 3일군의 증식된 중피세포는 세포질의 양이 풍부해 지고 미세섬모의 수는

현저히 감소되며, 세포막에서 구형의 불규칙한 볼출(globular projection)이 관찰되었다. 소포는 커지며, 수가 많아졌고, 조면내형질망 및 사립체의 수도 증가하였다. 인접한 중피세포와는 완전히 밀착되지 못하고 두 세포사이가 느슨해지며 tight junction 은 남아 있었고, 기저막(basement membrane)도 관찰되었다. 핵은 더 커지며 다핵성이며, 염색질의 응집이 핵막쪽에서 더 심하여졌다(Fig. 12).

고 찰

탈크 부유액 주입으로 복막에는 탈크 육아종이 생겼고, 그 주위 복막의 중피세포는 증식되었으며 이는 3일 및 5일군에서 가장 현저하였다. 증식된 중피세포는 제강으로 쉽게 탈락되며 이는 직경이 10~20 μm 이고, 단독 또는 세포의 군집으로 출현하게 되었다⁸⁾. 정상대조군의 중피세포와 비교할때 핵과 세포질의 비율은(N/C) 더 감소되는데 이는 반응성 증식으로 인한 세포질의 증가가 핵의 증가보다 많기 때문이다. 본 실험에서는 증식이 가장 심한 3일군 및 5일군에서도 독립적으로 탈락된 세포들이 함께 모인 군집은 거의 관찰되지 않고 여러 세포가 동시에 탈락되어 나타난 판상(sheet)의 형태였는데 이는 touch print 하여 세포를 얻었기 때문인 것 같다. 또 세포의 가장자리가 다각형이 아니고 둥글게 나타난 것은 반응성 증식으로 세포질이 풍부해지며, 초 미세구조상 인접세포와의 연결이 약해진 때문인 것으로 생각되었다.

Domagala 등⁹⁾은 삼출액에 나타나는 중피세포를 전자현미경적으로 관찰하여, 이들의 모양이 둥글거나 계단형이고, 세포질은 풍부하며 사립체 및 조면내형질망이 많고 자유리보솜과 폴리솜(polysome)이 있으며, 핵은 세포질의 중앙에 위치하고 염색질은 균일하게 분포되며, 작은 핵소체가 있다 하였고, 반응성 증식한 경우에는 세포질 안에 글리코겐 과립이 나타난다 하였으나, 이는 본 실험에서 관찰한 바와는 약간의 차이가 있었다. 이러한 차이가 복막에 부착되어 있는 중피세포와, 체액에 부유하여 어느정도 배양된 중피세포와의 차이인지, 아니면 백서의 중피세포와 사람의 중피세포와의 차이인지는 더 연구해 보아야할 것으로 생각된다.

삼출액에서 관찰되는 대식세포는 세포의 크기 및 핵의 모양이 중피세포와 비슷하여 감별에 어려움이 많으며, 광학현미경만으로는 구별하기 어려운 경우도 있다. 일반적으로 대식세포는 세포질이 포말상이며 다수의

Table 1. A cytological comparison of reactive mesothelial cells with various types of malignant cells in body fluid smear

| | Reactive mesothelial cell | Adenocarcinoma | Malignant lymphoma | Keratinizing squamous cell carcinoma | Malignant mesothelioma |
|---------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Isolated cells | C: oval or round N: small, hyperchromatic N/C: low | C: variable N: large, hyperchromatic large nucleoli N/C: high | Abnormal lymphocyte and lymphoblasts | Squamous cells (regardless of nuclear abnormality), anucleated squama | C: oval or round N: small, hyperchromatic N/C: low |
| Multicellular group | 3 dimensional structure pseudoacini | 3 dimensional structure papillary or acini | Never happen | Rare | 3 dimensional structure papillary or acini |
| Special stain | Mucicarmine(+) | | | Mucicarmine(-) | |
| | C: cytoplasm | N: nucleus | N/C: nucleocytoplasmic ratio | | |

공포가 있고, 탐식된 파편을 가질 수도 있다. 핵은 둥글거나 콩팥모양이며 염색질은 균일하고 망상 또는 과립상이다⁸⁾. 중피세포와 감별하는데 acid-phosphatase 염색, Sudan-black B 염색이나 neutral-red, Janus green 과 같은 초생체 염색법이 이용되며¹⁰⁾, 최근에는 주사 전자현미경을 이용한 세포 표면의 관찰로 중피세포와 구별하는 방법¹¹⁾이 보고되었다.

삼출액에 나타나는 여러종류의 악성종양세포들도 중피세포나 대식세포와의 감별이 어려운 경우가 많다. 이는 악성종양세포가 삼출액내에 존재할때 중피세포나 대식세포가 함께 나타나 악성종양세포가 이들에 가려 보이지 않게 되는 수도 있고, 또 장액이 배양액의 역할을 하여 악성종양세포가 이상증식되어 변형되는 수도 있기 때문이다¹²⁾.

중피세포가 삼출액내에 세포의 집단으로 출현한 경우는, 조직편의 탈락(sheet 또는 syncytium) 보다는 탈락된 개개의 세포가 서로 모인 세포군집(cell cluster)인 경우가 대부분이다. 이때는 세포들이 서로 성글게 부딪쳐서 세포간에 창(window)이 생기며, 공동변연(community border)을 갖지 않고 변연부가 매우 불규칙하게 된다. 만약 기포를 중심으로하여 중피세포들이 군집으로 나타나면 선방(acinus)처럼 보이지만 3절단면(3 dimensional structure)의 상이한 입체적 세포 배열을 관찰할 수 없는 위성선방(pseudo-acinus)

의 형태이다²⁾.

흉강에 주로 전이되는 암종은 폐암, 유방암, 위장관암 및 악성림파종등이며 복강에 전이되는 암종은 난소암, 위장관암, 유방암 및 악성림파종 등이다^{1,11)}. 그의 제강의 원발성 종양으로 중피종이 있다. 따라서 중피세포와의 감별이 문제가 되는 세포는 결국 이런 종류의 암세포들이다.

각화성 편평상피암(keratinizing squamous cell carcinoma)는 삼출액에 잘 나타나지 않으나 keratin 형성이 풍부하므로 삼출액내에 무핵의 린(anucleated squama)이나 편평상피세포가 나타나게 된다.

선암(adenocarcinoma)은 둥근세포집단이 선방(acinus)을 형성하며 중피세포의 군집과는 달리 핵이 풍부해지고 염색질이 증가하여 핵소체가 뚜렷해진다. 때로는 점액질에 대한 특수염색으로 세포질내에 포함된 물질을 증명할 수도 있다.

악성 림파종의 세포는 독립적으로 나타나며, 이들은 그 종류에 따라 여러 단계의 비정상 림파아구나 림파구의 모양을 정한다.

악성 중피종에서는 세포가 개별적으로 또는 군집으로 출현하며, 이들이 선상 또는 유두양 구조를 정하며, 이들 선상구조는 mucicarmine 염색에 음성인 점이 다른 전이성 선암세포들과 다른 점이다. 세포군집에서 나타나는 개개의 세포는 세포질이 비교적 풍부하고 세포의

가장자리가 뚜렷하며, 핵은 비교적 작고 진하게 염색되어 양성의 중피세포와 비슷한 양상이다¹¹⁻¹³⁾. 그러나 Roberts 등¹⁴⁾은 악성중피종에서는 세포들이 모여 모자이크 모양을 정하거나 함께 떨어져나올 세포덩어리를 형성하기도 하지만 선방(acinus)의 구조를 정하지는 않으며, 각각의 세포에서 세포질의 양은 적고, 호산성이고 일부 세포의 세포질은 공포성 변화가 있고, 핵은 진하게 염색되며 염색질이 증가되어 있다고 하였다. 이상의 소견을 종합하면 Table 1과 같다.

결 론

증식된 중피세포의 형태를 관찰하기 위하여 2% 탈크부유액 및 생리식염수 각각 2.5 ml를 백서 복강내 주사하여 6시간부터 28일까지 경시적으로 관찰하여 탈크 육아종 주위의 복막에서의 중피세포의 증식성 변화들 광학 및 전자현미경으로 관찰하였다.

1) 광학현미경상 정상대조군의 중피세포는 1층으로 구성되어 편평하였고 12시간에 세포질의 양 및 핵의 크기가 약간 증가하였다. 3~5일에는 세포질이 아주 풍부해지며, 입방형이 되고, 핵은 커지고 핵소체는 뚜렷하여졌다. 시간이 지남에 따라 세포질 및 핵은 점차 정상과 비슷해져서 28일에는 정상과 구별할 수 없게 되었다.

2) 세포학적 검사상 증식된 중피세포는 원형이며, 정상대조군에서 보다 세포질이 풍부하여졌고, 염색상은 세포질의 가장자리에서 약간 약하여졌다. 핵은 방상이고, 핵소체가 출현하며 핵과 세포질의 비율은 정상보다 오히려 감소되었다.

3) 전자현미경상 증식된 중피세포는 양이 풍부해지고 미세섬모가 감소되며 주위 중피세포와의 경계가 느슨해진다. 조면내형질망이 약간 나타나고, 소포의 크기 및 수는 증가하며 염색질의 응집이 일어난다. 핵막의 두께가 불규칙해지고 핵소체가 출현하였다.

REFERENCES

- 1) Rosai J: *Ackermann's surgical pathology. Chapter 25. Peritoneum, omentum, mesentery, and retroperitoneum. 6th edition. CV Mosby, 1981, p1480*

- 2) 이중달: 진단세포학, p25, 대학서림, 1978
- 3) Webb DF, Regan JF: *Starch powder granuloma in the peritoneal cavity. Arch Surg 84:282, 1962*
- 4) Bates B: *Granulomatous peritonitis secondary to corn starch. Ann Int Med 62:335, 1965*
- 5) Millonig GA: *Further observation on a phosphate for osmium solutions in fixation. In Electron microscopy, Proc. 5th Intern Cong Electron Microscopy. Academic Press, NY 2:8, 1962*
- 6) Luft JH: *Improvement in epoxy resin embedding methods. J Biophysiol Biochem Cytol 9:409, 1961*
- 7) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17:208, 1964*
- 8) Koss LG: *Diagnostic cytology and its histopathologic bases. Chapter 25. Effusions in the absence of cancer, 3rd edition JB Lippincott, 1979, p878*
- 9) Domagalda W, Woyke S: *Transmission and scanning electron microscopic studies of cell in effusions. Acta Cytol 19:214, 1975*
- 10) Foot NC, Holmquist ND: *Supravital staining of serous effusions. A sample technique for rapid cytological diagnosis. Cancer 11:151, 1958*
- 11) Koss LG: *Diagnostic cytology and its histopathologic bases. Chapter 26. Effusions in the presence of cancer. 3rd edition. JB Lippincott, 1979, p911*
- 12) Grahm RM: *The cytologic diagnosis of cancer. 2nd edition. Philadelphia, WB Saunders, 1963, p289*
- 13) Nayler B: *The exfoliative cytology of diffuse malignant mesothelioma. J Path Bact 86:293, 1963*
- 14) Roberts GH, Campbell GH: *Exfoliative cytology of diffuse mesothelioma. J Clin Pathol 25:577, 1972*

= Abstract =

Morphologic Study on the Mesothelial Hyperplasia in the Rat

Choi Chan, M.D., Min-Cheol Lee, M.D.
and Kyu-Hyuk Cho, M.D.

*Department of Pathology, Chonnam University
Medical School*

Reactive mesothelial cells are frequently found in the smear, of body fluid effusion when associated with liver cirrhosis, pulmonary tuberculosis, congestive heart failure or pulmonary infarction. But it is not easy to differentiate these reactive mesothelial cells from macrophages or various types of malignant cells.

In order to investigate the morphology of hyperplastic mesothelial cells, in comparison with the various types of malignant cells in the effusion, this experiment was designed. The tissue reaction was evoked by intraperitoneal injection of 2.5 ml

of 2% Talcum suspension.

The results obtained were as follows:

1) On light microscopic observation of the tissue, until 5 days, cytoplasm and nucleus of mesothelial cells became larger and nucleoli became prominent. After then, cytoplasm and nucleus became smaller and at 28 days after injection of Talcum suspension, cellular features became similar to those of normal ones.

2) On cytologic observation of touch print specimens, hyperplastic mesothelial cells became round to oval, and their cytoplasm became conspicuous. Nuclei were vesicular, and nucleoli were prominent. N/C ratio was decreased than normal.

3) On electron microscopic observation, hyperplastic mesothelial cells did not have microvilli, but had a few cytoplasmic globular projections, loosely approximated cellular junctions, larger and more abundant intracytoplasmic vesicles when compared with normal one. Chromatin clumping, irregular thickening of nuclear membrane and prominent nucleoli were also noted.

Legend for figures

- Fig. 1. One layer of flat mesothelial cells which lie on the parietal peritoneum. Control, Epon-toluidin blue, $\times 400$
- Fig. 2. Single layer of flat mesothelial cells at the surface. Mesothelial cells are similar to those of normal. Several macrophages, a few fibroblasts and collagenous materials are seen under the mesothelial layer. 12 hours after Talc suspension injection, Epon-toluidin blue, $\times 400$
- Fig. 3. Hyperplastic mesothelial cells with abundant cytoplasm and vesicular nuclei. They are cuboid in shape, and are loosely attached with neighboring cells. Macrophages are seen under the mesothelial layer. 3 days after Talc suspension injection, Epon-toluidin blue, $\times 400$
- Fig. 4. Mesothelial cells at the surface are flat and single layered, and are tightly attached with neighboring cells. Submesothelial layers are composed of fibrocytes and collagenous materials. 28 days after Talc suspension injection, Epon-toluidin blue, $\times 400$
- Fig. 5. Round or polygonal mesothelial cells with well demarked cytoplasm. Nuclei are regular, round and centrally located. Control. Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 6. Mesothelial cells with round cytoplasm and regular hyperchromatic nuclei. Cellular features are similar to those of normal groups. 6 hours after Talc suspension injection, Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 7. Polygonal mesothelial cells, whose cytoplasms are larger than those of normal one. Nuclei are round, and chromatin clumpings are seen. 12 hours after Talc suspension injection, Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 8. Sheets of mesothelial cells with round and conspicuous cytoplasms. Nuclei are round, regular and vesicular. Chromatin clumpings and 2 or 3 chromocenters are seen. N/C ratio is decreased than normal. 3 days after Talc suspension injection, Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 9. A sheet of mesothelial cells which form pseudoacini. Cellular features are similar to those of normal one. 5 days after Talc suspension injection, Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 10. A mesothelial cell with round cytoplasm and centrally located nucleus. Cellular features are similar to those of normal one. 28 days after Talc suspension injection, Touch print-Papanicolaou, $\times 1,000$
- Fig. 11. Electron microscopic view of mesothelial cells with microvilli (mv), tightly apposed cellular junction(j), small intracytoplasmic vesicles(v) and basal lamina(bl). Control. $\times 2,800$
- Fig. 12. Electron microscopic view of hyperplastic mesothelial cells, which have globular projections(p), loosely apposed cellular junctions(j), large intracytoplasmic vesicles(v), rough endoplasmic reticulum(rer), irregular thickening of nuclear membrane(nm) and basal lamina(bl). 3 days after Talc suspension injection, $\times 2,800$



