

담즙분비정체가 백서간의 기능적, 형태학적 변화에 미치는 영향

조선대학교 의과대학 병리학교실

전 호 종* · 서 재 홍

서 론

담즙분비정체는 담즙분비의 폐색 또는 억압으로서 간세포나 담즙이 분비되는 경로에 담세관의 확장과 더불어 담적소나 담즙의 정체물 보이는 간질환상태이다¹⁾. Kaporlowitz²⁾, Erlinger등³⁾은 담즙의 형성과 유출에 관여하는 여러인자와 담즙분비정체를 초래하는 요인에 대하여 그리고 Popper등⁴⁾, Javitt등⁵⁾은 담즙분비정체시 담즙을 구성하고 있는 물질들의 혈액내 축적과 임상적인 관점에 대하여 기술하였다.

확장된 담세관내에 다양한 형태의 담적소정체와 담즙산에 의한 간세포 소기관의 초미형태학적 변화는 투과 전자현미경과 주사 전자현미경의 발달과 함께 보다 자세한 관찰이 이루어졌으며^{6~12)}, 특히 효소조직화학적 방법을 이용하여 간세포의 표면막과 담세관막에 존재한 것으로 알려진 Na^+ , K^+ dependent ATPase^{13~19)}, Mg^{++} dependent ATPase^{20,21)}, Alkaline phosphatase^{22,23)}의 활성도를 초미형태학적으로 증명함으로써 각종 담즙분비정체의 병인에 대한 많은 연구가 이루어졌다.

담즙분비정체는 선천성기형이나 담관내담석 그리고 종양등의 여러 원인으로 인하여 담관이 폐색되었을 때 발생하는 간장의 담즙분비정체 (extrahepatic cholestasis)와 간장의 염증이나 기타 약제등으로 인한 정상 담즙분비과정의 억압으로 인하여 초래된 간장내 담즙분비정체 (intrahepatic cholestasis)로 분류되어 있지만²⁴⁾ 간장내 또는 간장의 담즙분비정체로 기인한 간세포의 초미형태학적 변화에 대한 비교관찰은 잘 알려져 있지 않다. 한편 간의 재생능력은 다른 장기에 비하여 매우 활

발하여 간기능을 나타내는 몇가지의 생화학적 검사치는 괴사등을 포함한 심한 간세포의 손상이 초래될 때에만 변화가 나타나기 때문에 혈액의 생화학적 검사와 함께 간세포의 형태학적 변화등을 동시에 추적, 검토하는 것이 필요하다.

따라서 저자는 상기한 지견을 기초로 17-ethinyl estradiol^{25,26)}과 chlorpromazine hydrochloride^{20,21,27)}를 사용하여 간장내 담즙분비정체를 유발시키고 담관을 결찰하여 간장의 담즙분비정체를 야기시켜^{1,10)} 간세포 및 담세관의 손상상태를 생화학적 및 초미형태학적으로 변화등을 비교관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 일정기간 동일조건에서 사육한 13~15주령, 체중 250~280 gm 정도의 Sprague-Dowley 종 백서 암컷으로서 건강이 비교적 양호하다고 인정되는 것을 골라 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 약품중 17-ethinyl estradiol은 Schering Berlin 제품을 chlorpromazine hydrochloride (Tharazine[®])은 Smith Kline & French laboratories, Philadelphia, Pa. 제품을, Propylene glycol은 일본 Junsei Chemical Co.의 제품을 사용하였다.

2. 실험방법

간장내 담즙분비정체를 야기시킬 목적으로 사용한 약물중 17-ethinyl estradiol (5 mg/kg)²⁵⁾은 Propylene glycol에 (1 mg/kg) 용해 시킨 뒤 5일간 15마리에게 매일 피하 주사하였고(이하 E.E. 투여군이라고 약기함)

*본 논문의 요지는 1985년 대한병리학회 제37차 추계학술대회에서 발표 하였음.

Chlorpromazine hydrochloride(50 mg/kg)²⁷⁾은 15일간 7마리에게 매일 심부근육주사 하였다(이하 CPZ 투여군이라고 약기함). 그리고 E.E. 투여군의 대조군으로 Propylene glycol(1 ml/kg)을 7마리에게 5일동안 피하 주사하였고(이하 P.G 투여군이라고 약기함) CPZ 투여군의 대조군으로는 7마리의 백서에 아무런 처치도 가하지 않았다(이하 무처치군이라고 약기함).

한편 간장의 담즙분비정체를 초래시킬 목적으로 Sodium Pentobarbital(50 mg/kg)²⁸⁾을 복강내에 주사하여 전신마취를 시키고 상복부를 70% 알콜로 소독하여 약 3cm의 정중선 절개를 가하였다. 3~0 silk를 사용하여 가능한한 간장에 가까운 부위의 담관(직경 약 1 mm) 두 곳을 결찰하고 결찰된 중간부위는 절단하고 5일후에 도살하였다(이하 담관결찰군이라고 약기함). 모든 약물투여 및 수술조작은 오전 6시 30분 부터서 8시 30분 사이에 시행하였다.

1) 체중, 간장 및 비장 무게측정 : 모든 실험백서는 처치전후에 체중을 측정하였고 해당처치가 끝난 24시간후 즉시 도살하여 간장 및 비장의 무게를 측정하였다. 체중은 약물투여직전이나 담관결찰직전의 무게와 해당처치가 끝난 24시간후 체중의 차이를 해당처치직전의 체중으로 나눈 백분율로서 실험군과 대조군끼리 비교검토하였으며 간장 및 비장의 무게는 체중 100 gm당 간장 및 비장의 무게로서 대조군과 비교검토 하였다.

2) 간기능검사 : 각 실험군은 해당약물 투여가 끝난 24시간만에 경정맥에서 혈액 약 3 ml를 채취한 뒤 optimized UV-kinetics를 이용한 centrifichem 500을 이용하여 간기능 검사를 실시하였다. Aspartate aminotransperase (AST)^{29,30)}, Alanine aminotransterads (ALT)^{29,30)}, Alkaline phosphatase (ALP)³¹⁾, Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT)³²⁾, 및 cholesterol³³⁾은 Baker Instrument (U.S.A)사의 Kit를 사용하여 동사의 방법대로 시행하였고 혈청 총 bilirubin³⁴⁾은 한국시약 주식회사에서 제공한 혈청 bilirubin 측정용 Kit를 사용하였다. 총담즙산³⁵⁾은 미국 Nyegaard Co.의 Enzabile® Kit를 사용하여 UVIDEC 40으로 측정하였다.

3) 통계처리 : 모든 실험결과와 생화학적 측정치에 대한 통계처리는 F-test에 의하여 variance의 equality를 검토한 후에 Student's t test에 의하여 대조군과 각 실험군을 비교하였으며 모든 실험결과는 평균과 표준오차로서 기록하였다(Mean±S.E.). 또한 체중과 간장무게

의 상관관계에 대한 회기방정식은 Least squares에 의하여 계산하였다³⁶⁾.

조직 검사

(1) 광학현미경적 관찰 : 채혈직후 모든 백서는 즉시 도살하여 간장조직을 절취, 10% 중성포르말린에 고정하여 탈수과정과 파라핀 포매과정을 거친후 Hematoxylin-Eosin(H & E) 염색을 하였다.

(2) 전자현미경적 관찰 : 백서의 간조직을 신속히 1 mm³의 크기로 잘라서 Karnovsky Solution³⁷⁾(pH 7.4, 0.1 M cacodylate buffer, 온도 4°C)에 24시간 전고정한 뒤 Millonig법³⁸⁾에 따라 만든 2% OsO₄ 용액에(pH 7.4, 0.1 M Cacodylate buffer) 2시간동안 후고정하고 다시 Cacodylate buffer로 세척하여 계열 에칠알콜로 탈수시킨후 Propylene oxide에 의해 침투시켰고 Luft 방법에 의한 epon mixture로 포매하여 60°C에서 72시간 동안 열중합시켰다. 이 epon block을 1 μm로 박절하여 1% toluidine blue에 염색한 후 광학현미경으로 관찰하여 특징적인 부위는 선택하여 Diatome을 부착시킨 LKB microtome으로 초박절편을 만들어 Reynolds³⁹⁾법에 의한 Uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 하여 JEM 100 CXII형 전자현미경으로 가속전압 80 KV 하에서 관찰하였다.

실 험 성 적

1. 체중변화

무처치 대조군은 실험전 체중에 비해 5일동안 12.6 gm (5.5%)의 체중증가가 있었고 P·G 투여군은 8.14 gm (4.7%)의 체중증가가 있었다. 한편 E·E 투여군은 실험전 체중에 비해 평균 16.6 gm(8.6%)의 체중증가가 있었으며 (P<0.001), CPZ 투여군은 6.9 gm(1.8%)의 체중 감소가 있었다(P<0.001). 담관결찰군은 평균 18.8 gm(6.4%)의 체중감소가 있었다(P<0.001), (Table 1).

2. 간장 및 비장무게의 변화

간 및 비장의 무게는 도살시 체중 100 gm당 간 및 비장의 무게로서 대조군에 비해서 간의 무게는 E·E 투여군과 담관 결찰군에서 각각의 증가를 보였고 (5.6±0.15, P<0.001, 5.3±0.19 gm/체중 100 gm, P<0.001) 비장의 무게는 대조군에 비해 담관결찰군에서 증가를 보였

Table 1. Body weight before and after treatment and influence of drugs and hormone on rat body weight

Group	Treatment	Initial	Body weight (gm) after treatment		Difference (gm)		Percent changes (%)		p
			5 days	15 days	5 days	15 days	5 days	15 days	
I Controls :									
Ia	No treatment (9)	254.0 ± 2.45	266.7 ± 2.93	304.8 ± 5.48	12.6 ± 1.34	40.9 ± 4.25	5.5 ± 1.18	16.4 ± 3.28	—
Ib	Propylene glycol (7)	285.6 ± 4.33	291.7 ± 4.54	—	8.1 ± 0.96	—	4.7 ± 1.82	—	—
II	Ethinyl estradiol (15)	190.6 ± 4.24	174.0 ± 3.84	—	-16.6 ± 1.23	—	-8.8 ± 0.67	—	0.001
III	Chlorpromazine hydrochloride (7)	257.3 ± 6.18	265.1 ± 7.29	250.4 ± 6.67	6.75 ± 2.49	-6.9 ± 1.78	3.08 ± 0.67	-1.8 ± 0.75	0.001
IV	Bile duct ligation (7)	181.5 ± 2.66	158.9 ± 8.69	—	-18.8 ± 6.89	—	-6.4 ± 2.38	—	0.001

Change in body weight reflects percent change from initial value to completion of treatment period. Numbers of experiments are indicated in parentheses and all values are expressed as Mean ± S.E.P, significance of difference from control group.

Table 2. Liver and spleen weights after treatment and influence of drugs and hormone on rat liver and spleen weight

Group	Treatment	Liver weight (gm)	Spleen weight (gm)	Liver weight (g/100g body weight)	Spleen weight (g/100g body weight)
I Controls :					
Ia	No treatment (9)	8.6 ± 0.54	0.98 ± 0.062	3.9 ± 0.11	0.45 ± 0.021
Ib	Propylene glycol (7)	13.0 ± 0.31	0.95 ± 0.051	4.2 ± 0.41	0.42 ± 0.023
II	Ethinyl estradiol (15)	9.6 ± 0.31	0.82 ± 0.053	5.6 ± 0.15***	0.47 ± 0.034
III	Chlorpromazine hydrochloride (7)	9.6 ± 0.43	1.12 ± 0.062	3.8 ± 0.09	0.45 ± 0.037
IV	Bile duct ligation (7)	8.7 ± 0.72	0.95 ± 0.096	5.3 ± 0.19***	0.56 ± 0.031*

Numbers of experiments are indicated in parentheses and all values are expressed as Mean ± S.E. Asterisks are denoted as * P < 0.05 and *** P < 0.001.

다 (0.56 ± 0.031 gm/체중 100 gm, P < 0.001), (Table 2).

3. 체중과 간장무게변화의 상관관계

체중 100 gm에 대한 간장무게는 E·E 투여군과 담관결찰군에서 대조군에 비해 증가를 보였으며 이들 간장의 무게와 체중과의 상관관계를 대조군과 비교한 결과 대조군의 상관계수는 0.77이었으며 ($y = 6.43 \pm 0.013x$, $n = 9$), E·E 투여군의 상관계수는 0.79이었고 ($y = 3.81 + 0.033X$, $n = 15$) 담관결찰군은 상관계수가 0.83이었다 ($y = 3.81 + 0.0033X$, $n = 7$), (Fig. A, B).

4. 간기능검사 성적 (Table 3, Fig. C, D)

1) **AST, ALT 검사성적** : 대조군에 비해 (AST: 103.2 ± 6.49, ALT : 41.4 ± 3.19 IU/L) 증가한 실험군은 CPZ 투여군과 담관결찰군이었다 (CPZ 투여군 : 156.9 ± 11.32, P < 0.001, 49.0 ± 2.83 IU/L, P < 0.01, 담관결찰군 : 290.2 ± 50.24, P < 0.001, 171.5 ± 47.17 IU/L, P < 0.001).

2) **ALP 검사성적** : 대조군에 비해 (50.6 ± 9.19 IU/L) 증가한 실험군은 E·E 투여군과 담관결찰군이었다 (134.0 ± 16.82, P < 0.01, 159.3 ± 24.54, IU/L, P < 0.001).

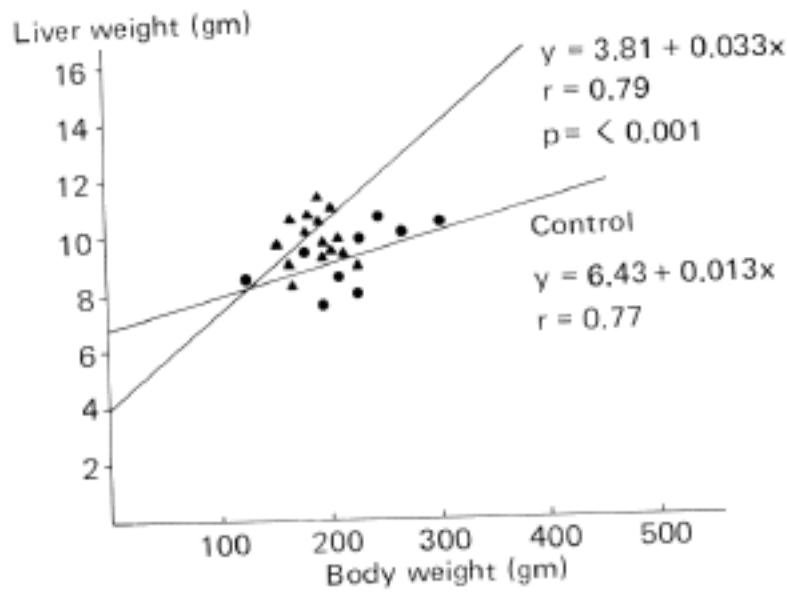


Fig. A. Relationship between body weight (x) and liver weight (y) in control (O) rats and ethinyl estradiol treated rats (Δ). In control, the equation describing the regression line was $y = 6.43 + 0.013x$ ($r = 0.77$, $n = 9$). In ethinyl estradiol treated rat, the equation describing the regression line was $y = 3.81 + 0.033x$ ($r = 0.79$, $n = 15$).

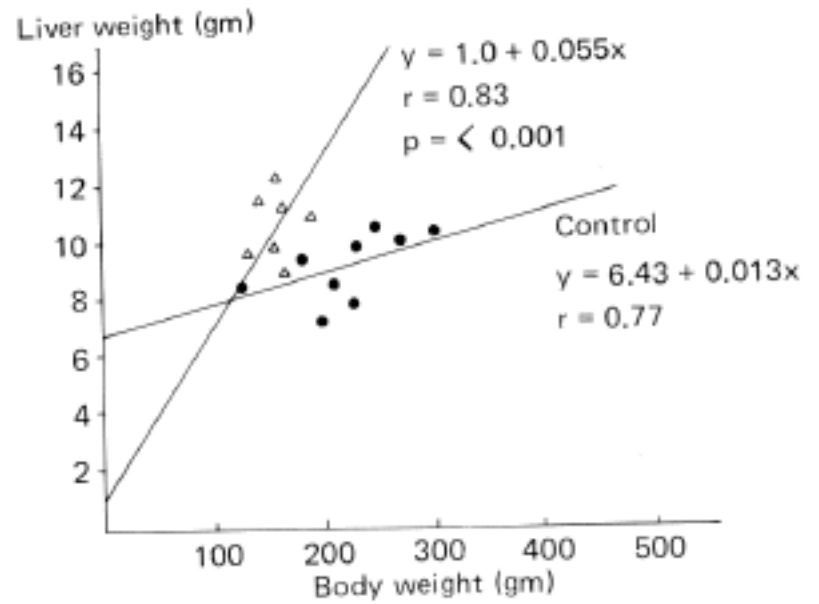


Fig. B. Relationship between body weight (x) and liver weight (y) in control (O) rats and bile duct ligated rats (Δ). In control, the equation describing the regression line was $y = 6.43 + 0.013x$ ($r = 0.77$, $n = 9$). In bile duct ligated rats, the equation describing the regression line was $y = 1.0 + 0.055x$ ($r = 0.83$, $n = 7$).

Table 3. Activity of AST, ALT, ALP, GGT, cholesterol and bile acid in various experimental group

Group	Treatment	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	GGT (IU/L)	Cholesterol (mg/dl)	Bile acid (umol/L)	Bilirubin (mg/dl)
I	Control :							
Ia	No treatment (9)	103.2 ± 6.49	41.4 ± 3.19	50.6 ± 9.19	4.0 ± 0.72	36.6 ± 5.84	6.3 ± 0.97	< 0.2
Ib	Propylene glycol (7)	115.7 ± 8.52	41.8 ± 1.32	58.8 ± 7.42	4.4 ± 0.65	25.7 ± 4.57	18.9 ± 4.53**	< 0.2
II	Ethinyl estradiol (15)	112.0 ± 13.22	36.6 ± 3.51	134.0 ± 16.82**	4.2 ± 0.84	7.3 ± 0.57**	29.5 ± 4.68***	< 0.2
III	Chlorpromazine hydrochloride (7)	156.9 ± 11.32***	49.0 ± 2.83*	55.0 ± 6.23	5.7 ± 0.87	59.3 ± 6.73*	6.5 ± 1.66	1.8 0.43***
IV	Bile duct ligation (7)	290.2 ± 50.24***	171.5 ± 47.17**	159.3 ± 24.54***	33.7 ± 1.47***	86.8 ± 9.18***	246.6 ± 27.34***	13.9 0.83***

Data are expressed as Mean ± S.E. Numbers of experiments are given in parentheses. Significance of difference from control group : * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001

3) GGT 검사성적 : 대조군에 비해 (4.0 ± 0.72 IU/L) GGT는 담관결찰군에서 증가하였다 (33.7 ± 1.47 IU/L, $P < 0.01$).

4) Cholesterol 검사 성적 : 대조군에 비해 (36.6 ± 5.84 mg/dl) E·E 투여군에서 감소하였고 (7.3 ± 0.57 mg/dl), CPZ 투여군과 담관결찰군에서 증가하였다 (57.3 ± 6.73 , $P < 0.05$, 86.6 ± 9.18 mg/dl, $P < 0.01$).

5) 총담즙산 검사성적 : 대조군에 비해 (6.3 ± 0.97 μmol/l) P·G 투여군, E·E 투여군, 담관결찰군에서 각

각 증가하였다 (18.9 ± 4.53 , $P < 0.01$, 29.5 ± 4.68 , $P < 0.001$, 246.4 ± 27.34 μmol/l, $P < 0.001$).

6) Bilirubin 검사성적 : 대조군에 비해 (<0.2 mg/dl) CPZ 투여군과 담관결찰군에서 증가하였다 (1.8 ± 0.43 , $P < 0.01$, 13.9 ± 0.83 mg/dl, $P < 0.001$).

5. 병리조직학적 관찰

1) 광학현미경적 소견 (H&E, epon-toluidine blue 염색, Table 4) :

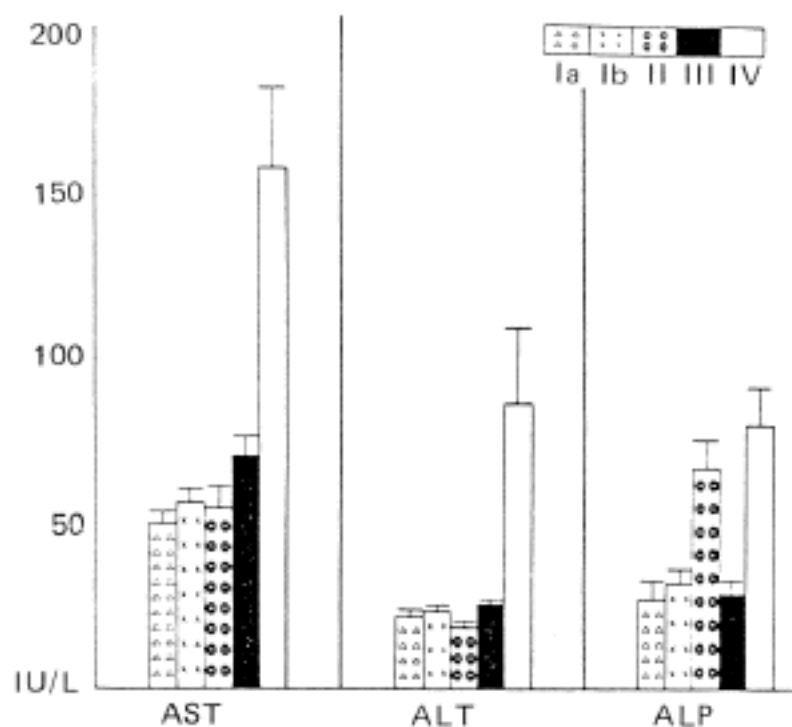


Fig. C. Activities of AST, ALT, and ALP in various experimental groups. Each bar indicates Mean \pm S.E. Ia : No treatment, Ib : Propylene glycol, II : Ethinyl estradiol, III : Chlorpromazine hydrochloride, IV : Bile duct ligation.

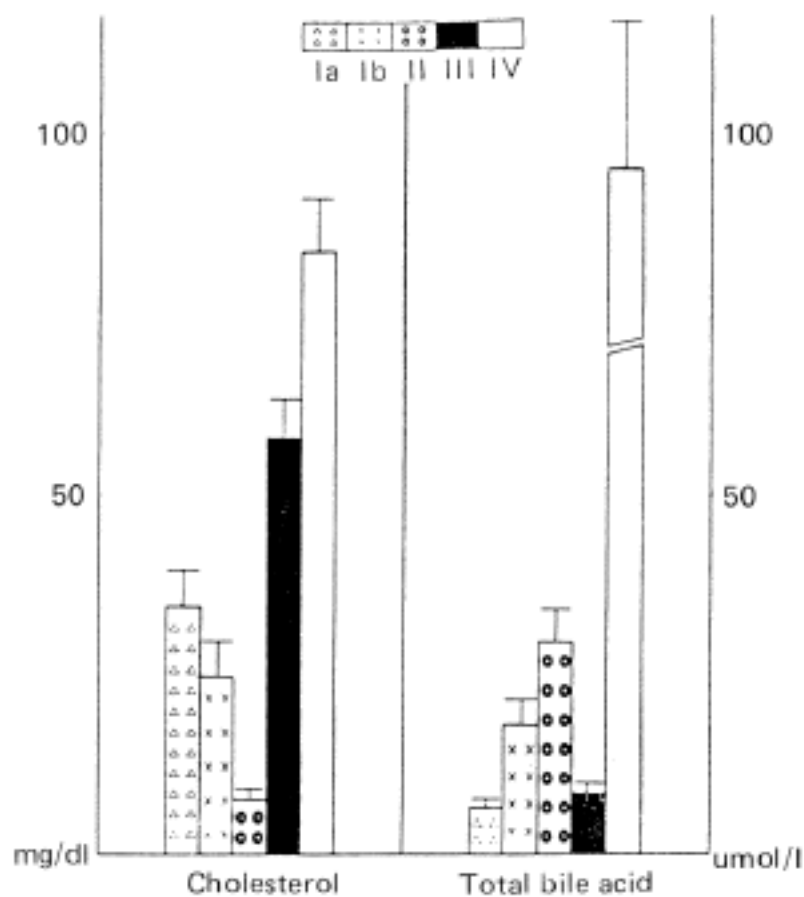


Fig. D. Activities of cholesterol and total bile acid in various experimental groups. Each bar indicates Mean \pm S.E. Ia : No treatment, Ib : Propylene glycol, III : Ethinyl estradiol, III : Chlorpromazine hydrochloride, IV : Bile duct ligation.

(1) 17-ethinyl estradiol 투여군 : 정상세포의 증식의 특이한 소견은 관찰할 수 없었으며 epon-toluidine blue

Table 4. Histopathological findings in various experimental groups inducing intra-and extrahepatic cholestasis

Group	I	II	III
Findings			
Hepatocyte			
Spotty necrosis	-	1+	2+
Feathery degeneration	-	-	2+
Bile infarct	-	-	4+
Lipid droplet	2+	1+	4+
Acidophilic body	1+	-	-
Portal inflammation	-	2+	4+
Kupffer cell proliferation	2+	1+	3+
Bile duct proliferation	-	0-1+	4+

0 : Abscent

1+ : Little change

2+ : Minimal change

3+ : Moderate change

4+ : Severe change

I : Ethinyl estradiol

II : Chlorpromazine hydrochloride

III : Bile duct ligation

염색에서는 정상세포의 증식과 더불어 간세포의 미세한 지방변화가 관찰되었다.

(2) Chlorpromazine hydrochloride 투여군 : 정상세포의 증식과 간세포의 점상괴사 및 간세포의 지방변화를 간혹 발견할 수 있었으며 특이한 소견은 담관주위의 중등도 염증세포의 침윤이었으며 이는 주로 임파구와 호산구이었다. epon-toluidine blue 염색에서는 간세포질 내 미세한 변성이 관찰되었다.

(3) 담관결찰군 : 담관의 증식, 담즙에 의한 간세포의 경색 및 정상세포의 증식이 관찰되었다. 특히 증식된 담관주위에는 염증세포의 침윤과 담즙증식주위에 심한 부종을 관찰할 수 있었다. 특히 정상세포의 증식과 세포질 내 지방변화가 매우 현저하였다.

2) 전자현미경적 관찰

(1) 17-ethinyl estradiol 투여군 : 동양혈관강내에 다양한 형태의 구조물이 다수 출현하며 정상세포의 핵변연은 불규칙하고 세포질내에는 다수의 공포형성이 관찰되었다. 내피세포의 세포질은 심한 부종과 함께 공포형성이 관찰되며 간세포에서는 다수의 소포체 형성과 myelin 물질침착과 불규칙한 핵의 변연이 관찰되었다(Fig. 1). 간세포에서 평활형질내세망의 공포성 변화와 이중막을

지니고 있는 무형물질이 관찰되었으며(Fig. 2), 담세관의 미세한 확장과 내강에서는 myelin 형태의 구조물이 관찰되었다. 주변세포질의 사립체 부종과 함께 기질내에 myelin 구조물침착등이 관찰되었고(Fig. 3), 국소적인 세포변성과 담세관외막의 미세한 비후가 미세용모의 소실과 함께 관찰되었다(Fig. 4).

(2) CPZ 투여군 : 동양혈관강내에 이중막을 지닌구조물이 다수 관찰되며 염증세포의 출현과 함께 Disse 간극의 협착과 더불어 간세포미세용모의 소실이 관찰되었으

며 동양혈관강내에 myelin 구조물 침착이 관찰되었다(Fig. 5). 정상세포의 세포질내에는 다수의 공포와 평활형질내세망의 공포형성에 의한 세포변성이 관찰되며(Fig. 6). 간세포에는 다수의 지방적들이 관찰되었다. 핵의 변연은 약간 불규칙하고 특히 세포질내에는 이중막을 지닌 구조물과 평활형질내세망의 공포형성이 매우 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 7). 사립체의 기질내에는 이중막을 지닌 원형구조물이 관찰되며 담세관의 내강은 확장되고 미세용모의 부분적인 소실과 담세관외막의 국소적인 비

Key for abbreviation			
AB	: Acidophilic body	Ly	: Lysosome
BC	: Bile canaliculus	M	: Mitochondria
Bt	: bile cast	PE	: Pericanalicular ectoplasm
Ds	: Disse space	RBC	: Red blood corpuscle
En	: Endothelial cell	RER	: Rough endoplasmic reticulum
EO	: Eosinophil	SER	: Smooth endoplasmic reticulum
FCD	: Focal cytoplasmic degradation	Ss	: Sinusoid
Kc	: Kupffer cell	Va	: Vacuole
Ld	: Lipid droplet		

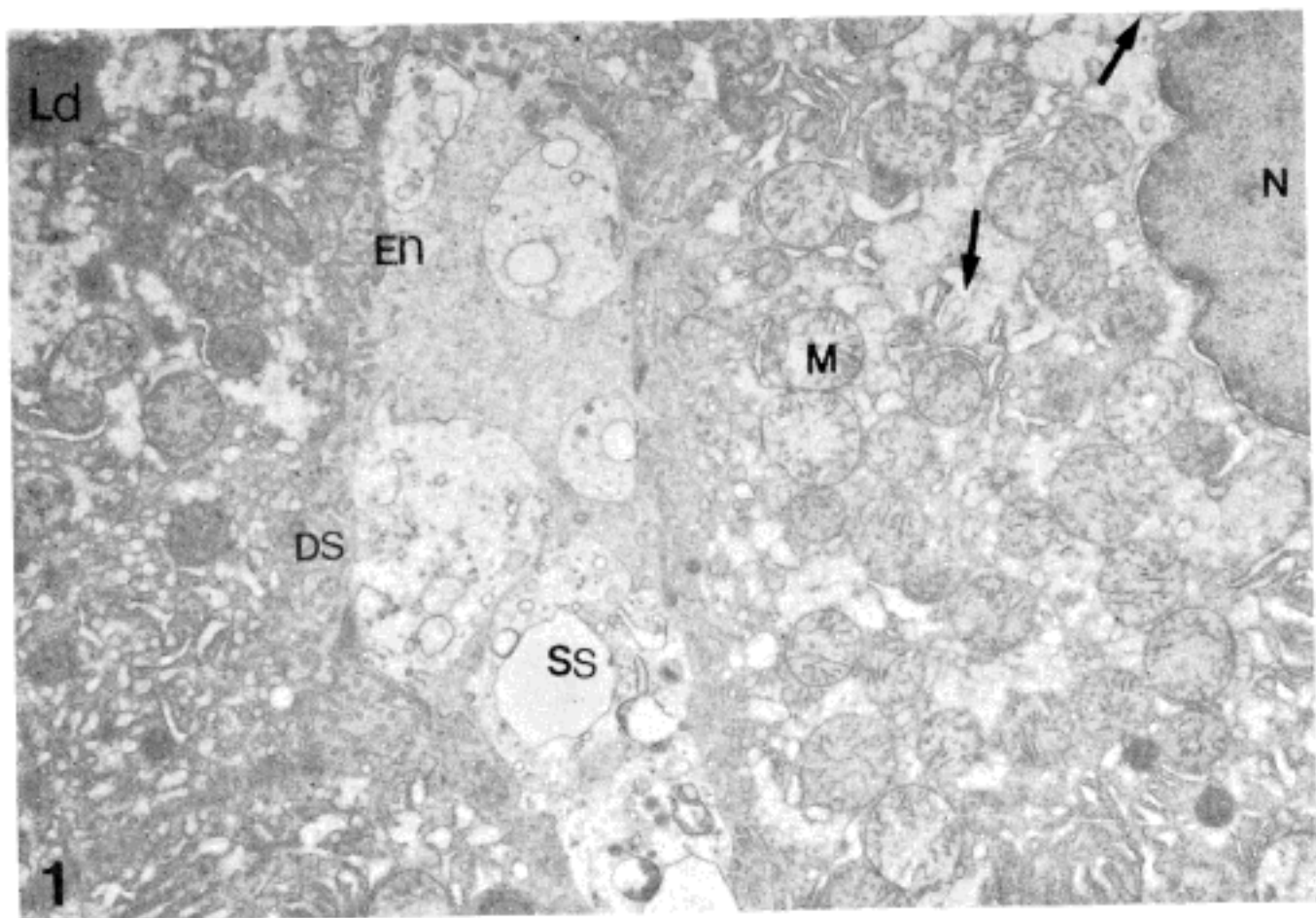


Fig. 1. Electron micrograph, 5 days after injection 5 mg/kg of body weight of 17-ethinyl estradiol, shows edematous and degenerative endothelial cytoplasm. Nuclear membrane of hepatocyte is wrinkling and double membrane bounded, ovoid or ellipsoidal amorphous materials are seen in the cytoplasm. Multiple vesicular bodies are noted in the sinusoidal surface of cytoplasm. Uranyl acetate & lead citrate, x6,900.

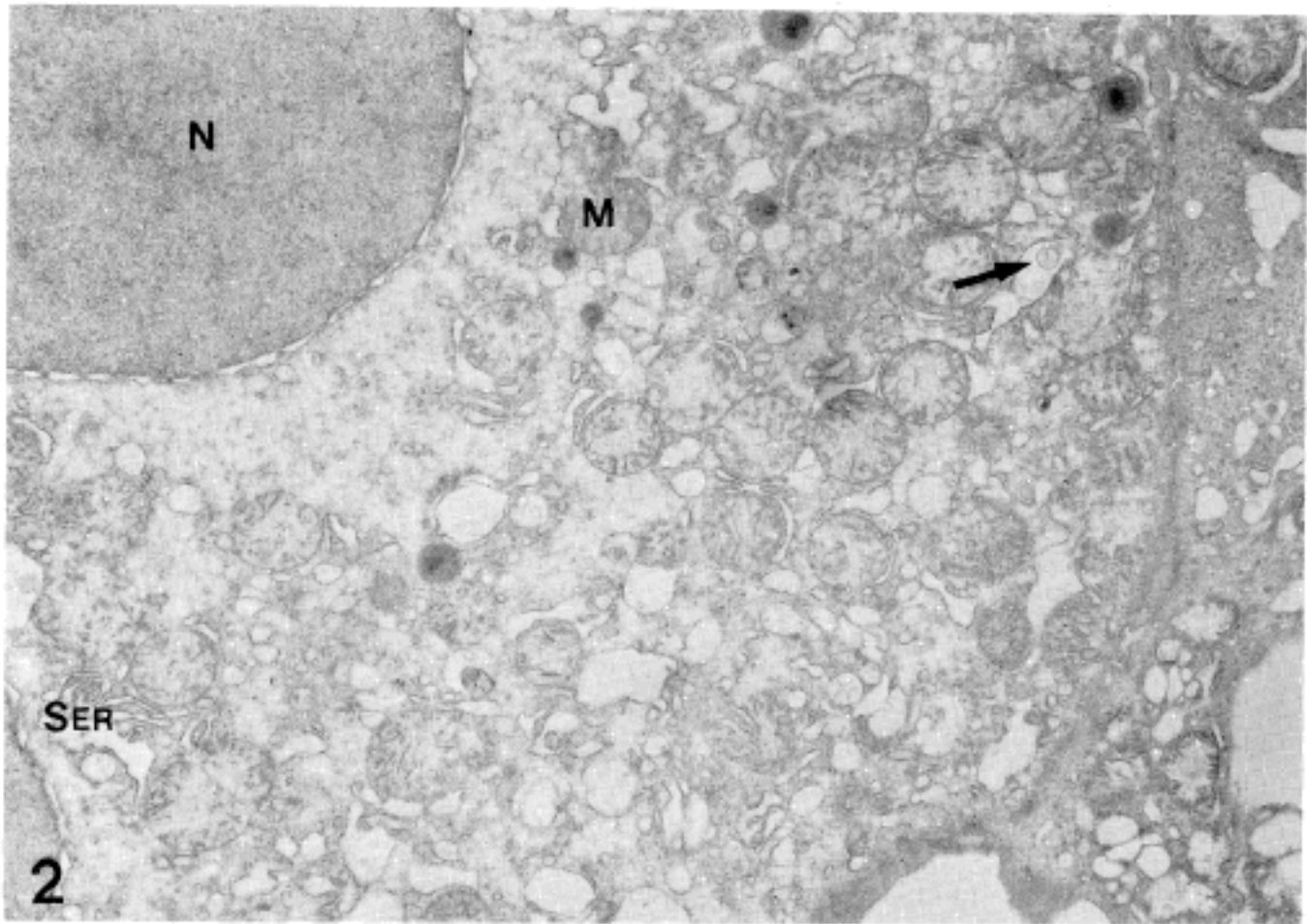


Fig. 2. Electron micrograph, 5 days after injection 5 mg/kg of body weight of 17-ethinyl estradiol, show moderate vesiculation and vacuolation of smooth endoplasmic reticulum and multiple double membrane bounded, ovoid amorphous materials (arrow). Uranyl acetate & lead citrate, x7,000.

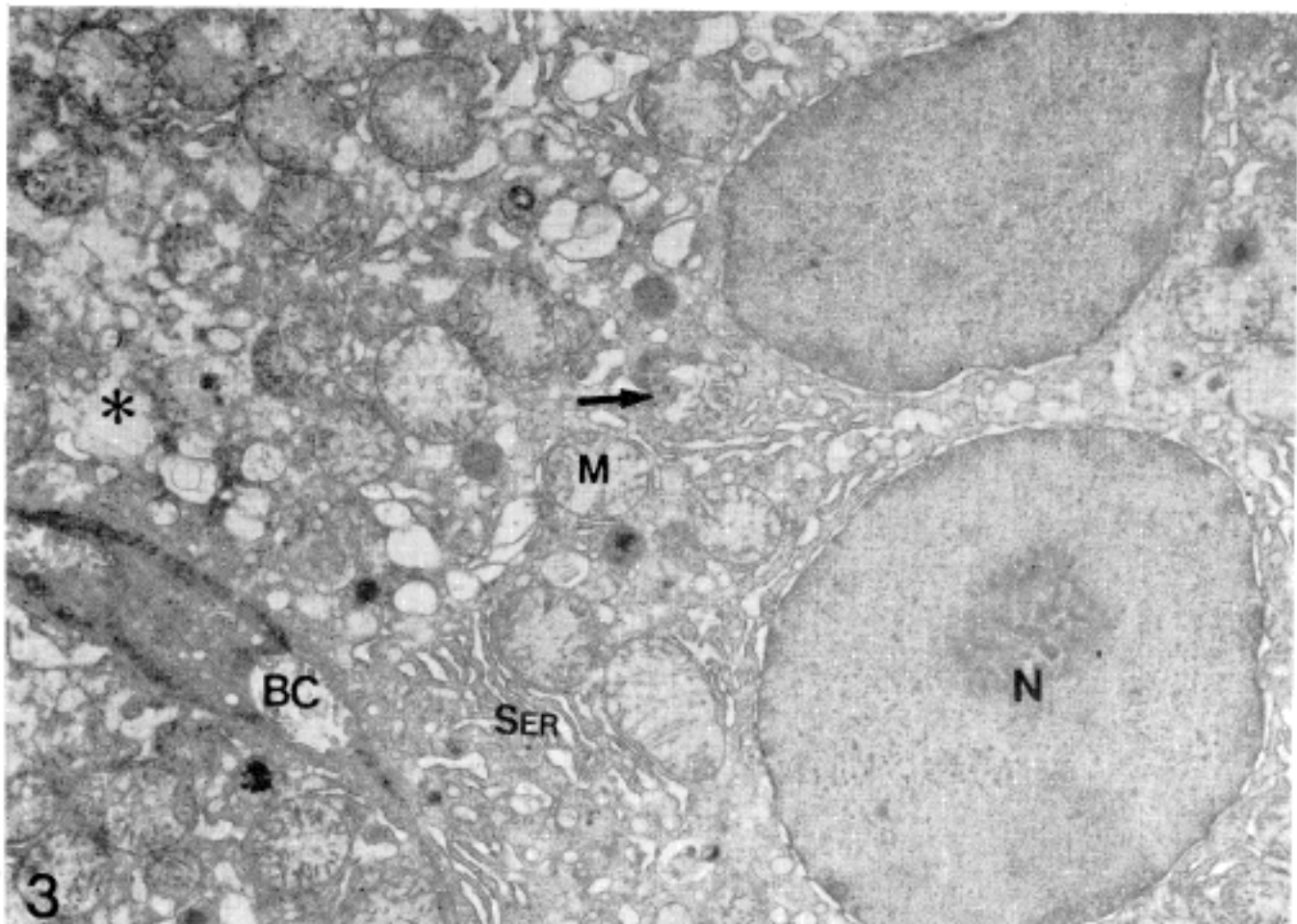


Fig. 3. Mitochondria, 5 days after injection of 5 mg/kg of body weight of 17-ethinyl estradiol, reveal disappearance of cristae and myelin figures in the matrix (†).

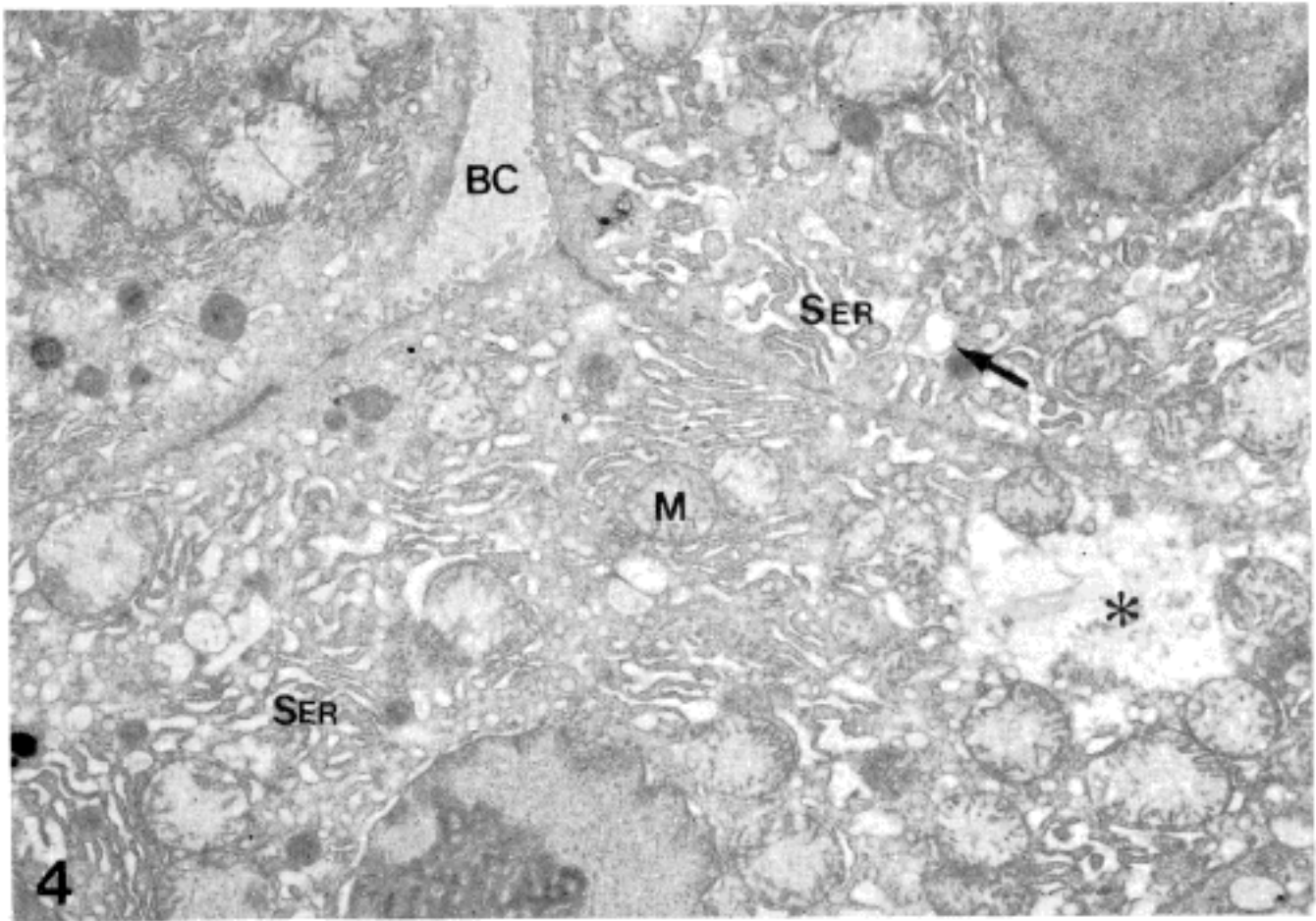


Fig. 4. Electron micrograph, 5 days after injection of 5 mg/kg of body weight of 17-ethinyl estradiol, show double membrane bounded amorphous materials (↑). Vesiculation and vacuolations of smooth endoplasmic reticulum are also noted. Bile canaliculi show mild to moderate dilatation and partial loss of microvilli. Uranyl acetate & lead citrate, x6,800.

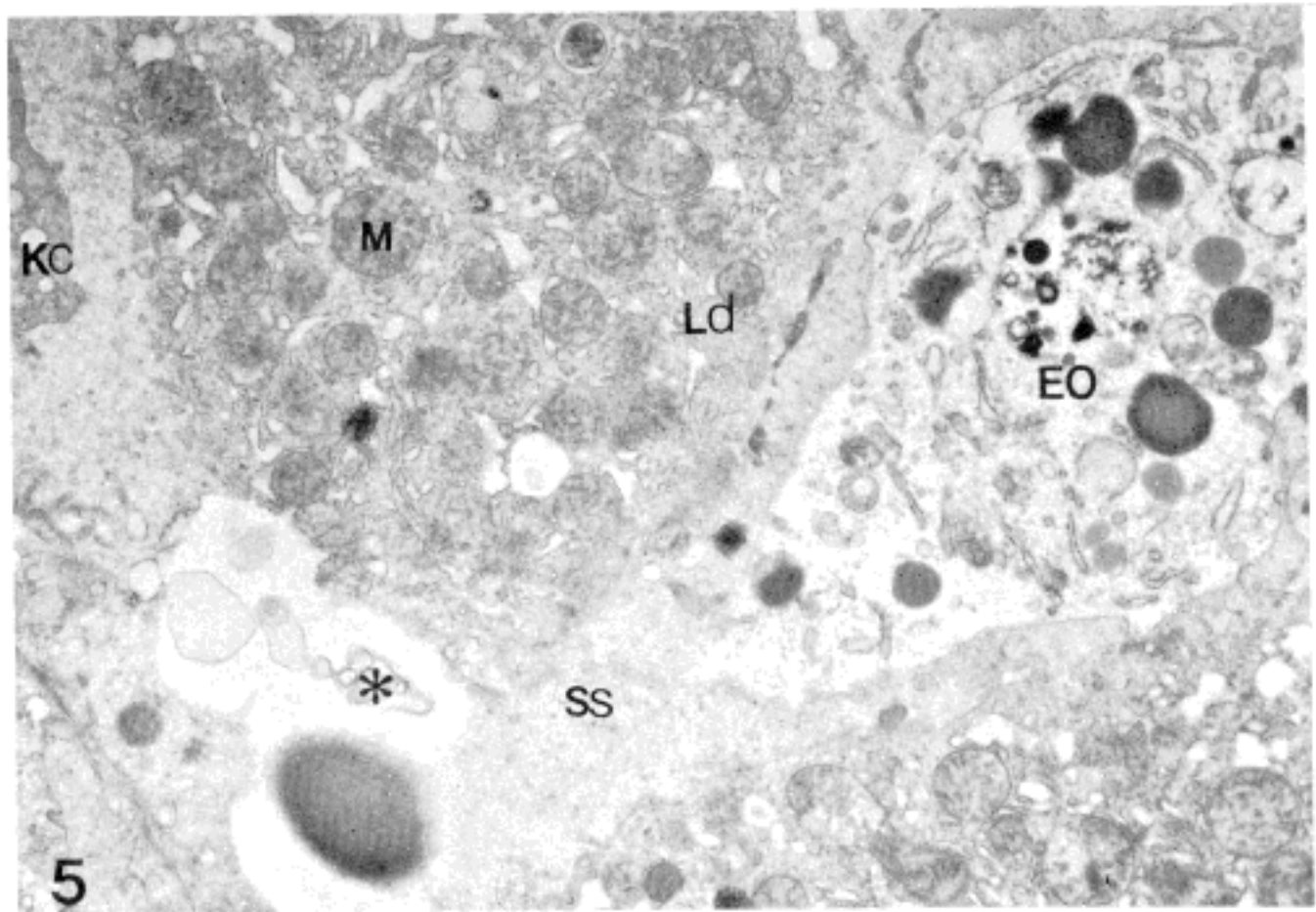


Fig. 5. Sinusoid, 15 days after injection of 50 mg/kg of body weight of chlorpromazine hydrochloride show myelin figures (*) and eosinophils. Kupffer cell show multiple vacuoles. Uranyl acetate & lead citrate, x9,900.

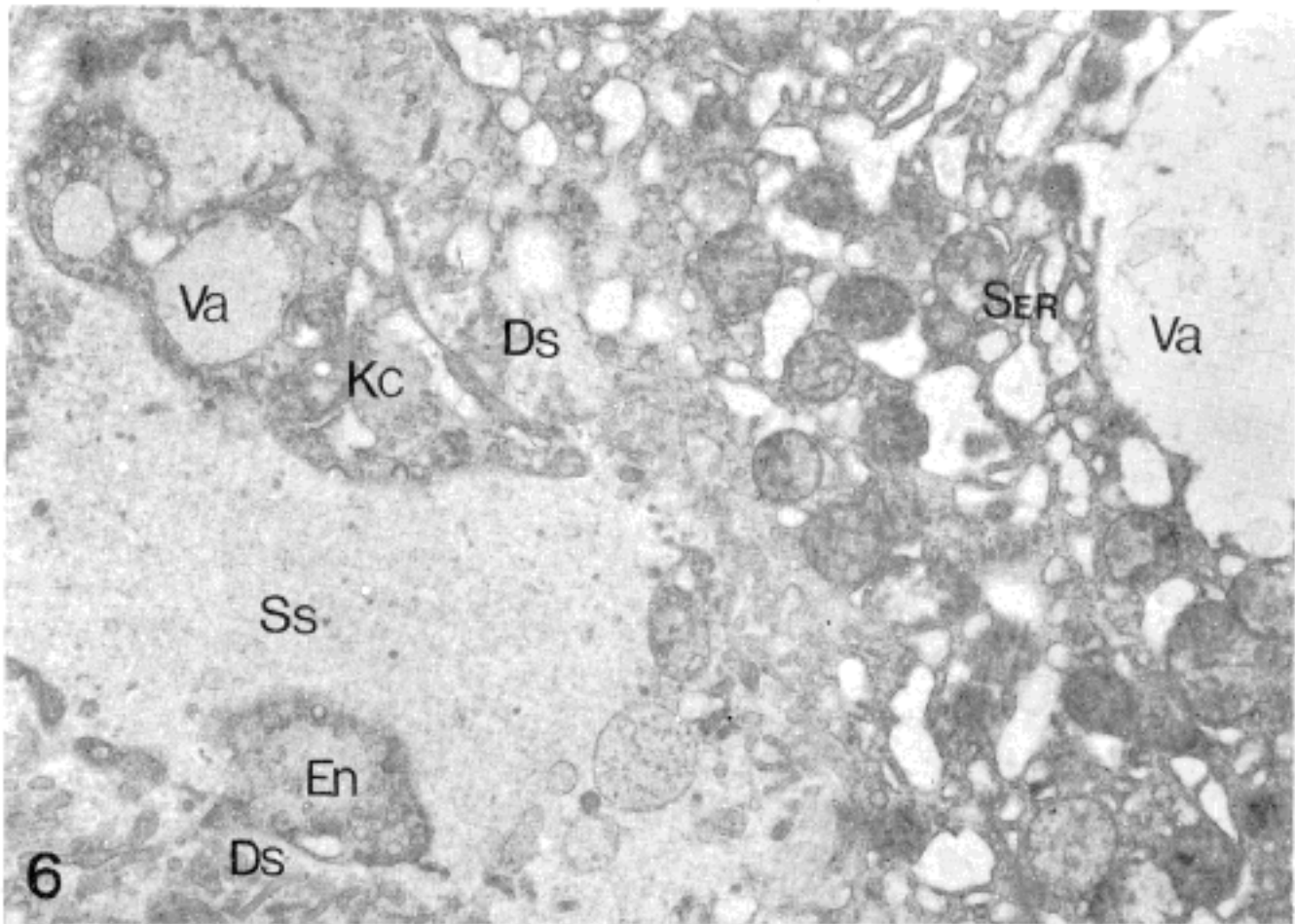


Fig. 6. Rough endoplasmic reticulum, 15 days after injection of 50 mg/kg of chlorpromazine hydrochloride, show marked vacuolations. Kupffer cell shows large intracytoplasmic vacuoles. Uranyl acetate & lead citrate, x6,000.

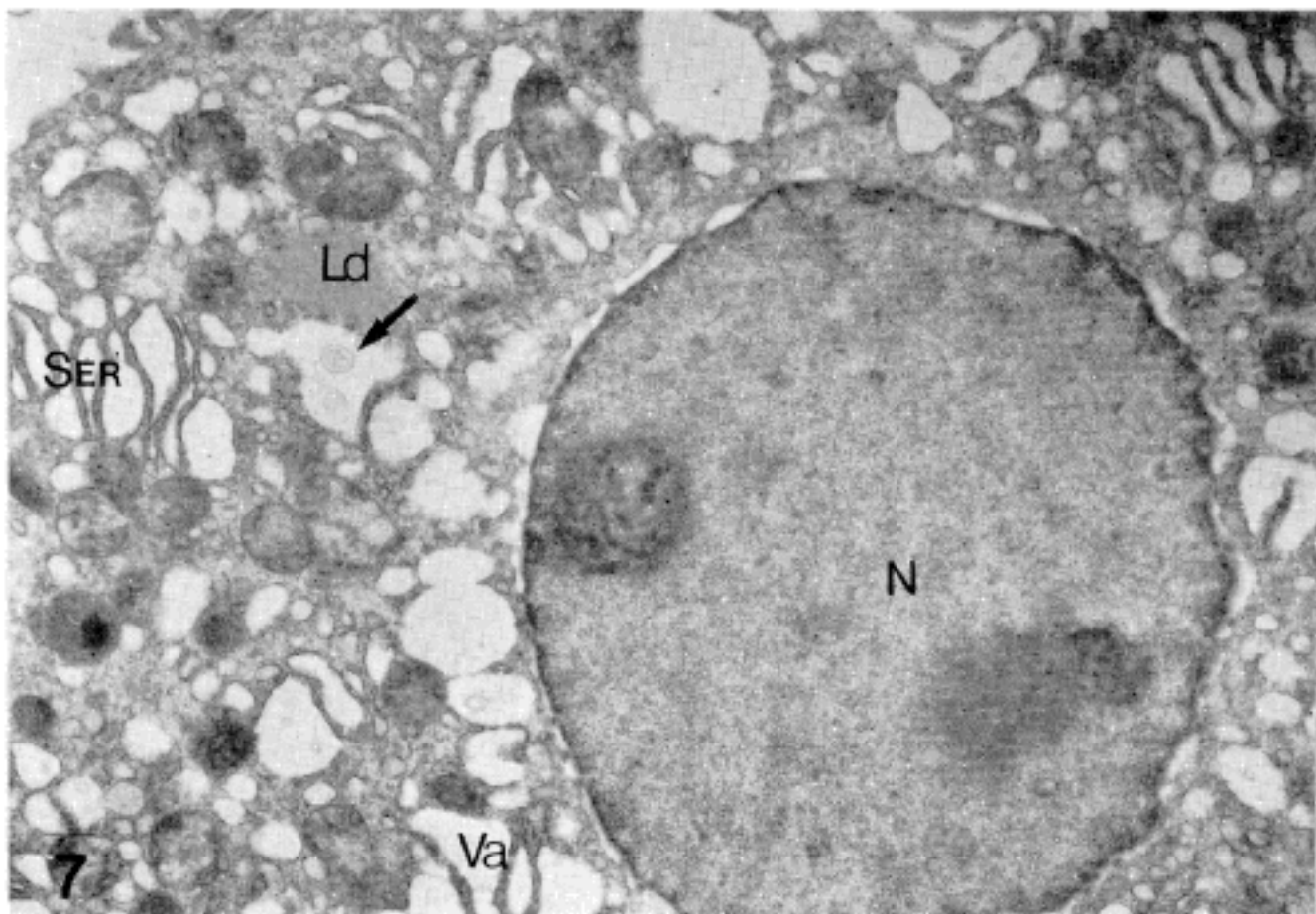


Fig. 7. Electron micrograph, 15 days after injection of 50 mg/kg of chlorpromazine hydrochloride shows multiple vesiculation and double membrane bounded amorphous materials in the cytoplasm. Uranyl acetate & lead citrate, x8,800.

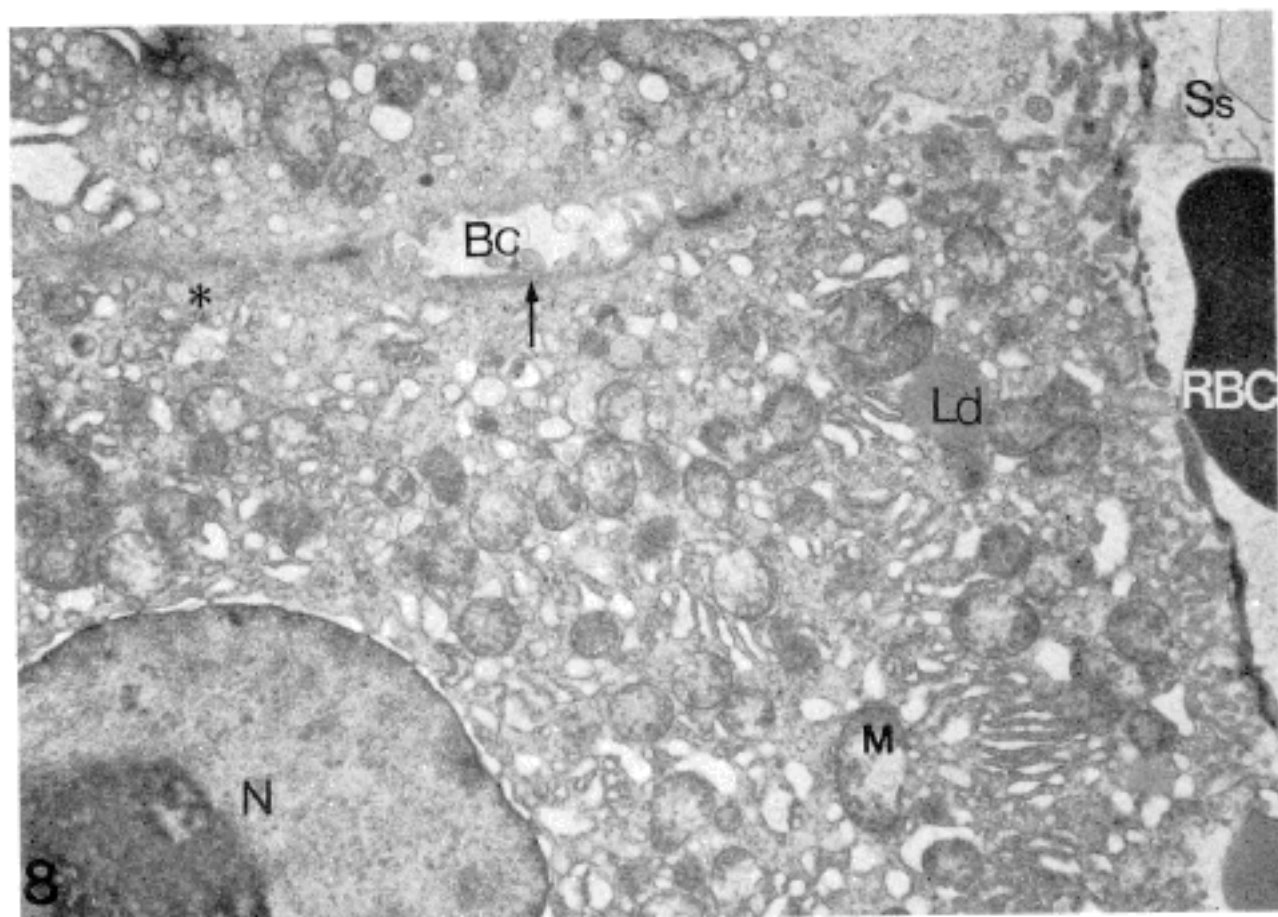


Fig. 8. Bile canaliculi, 15 days after injection of 50 mg/kg of chlorpromazine hydrochloride show dilation and partial loss of microvilli. Canalicular ectoplasm (↑) is focally thickened. Multiple vacuoles, and double membrane bounded amorphous materials are seen (*). Lipid droplets are also seen in the sinusoidal side of hepatocytes. Uranyl acetate & lead citrate, x12,000.

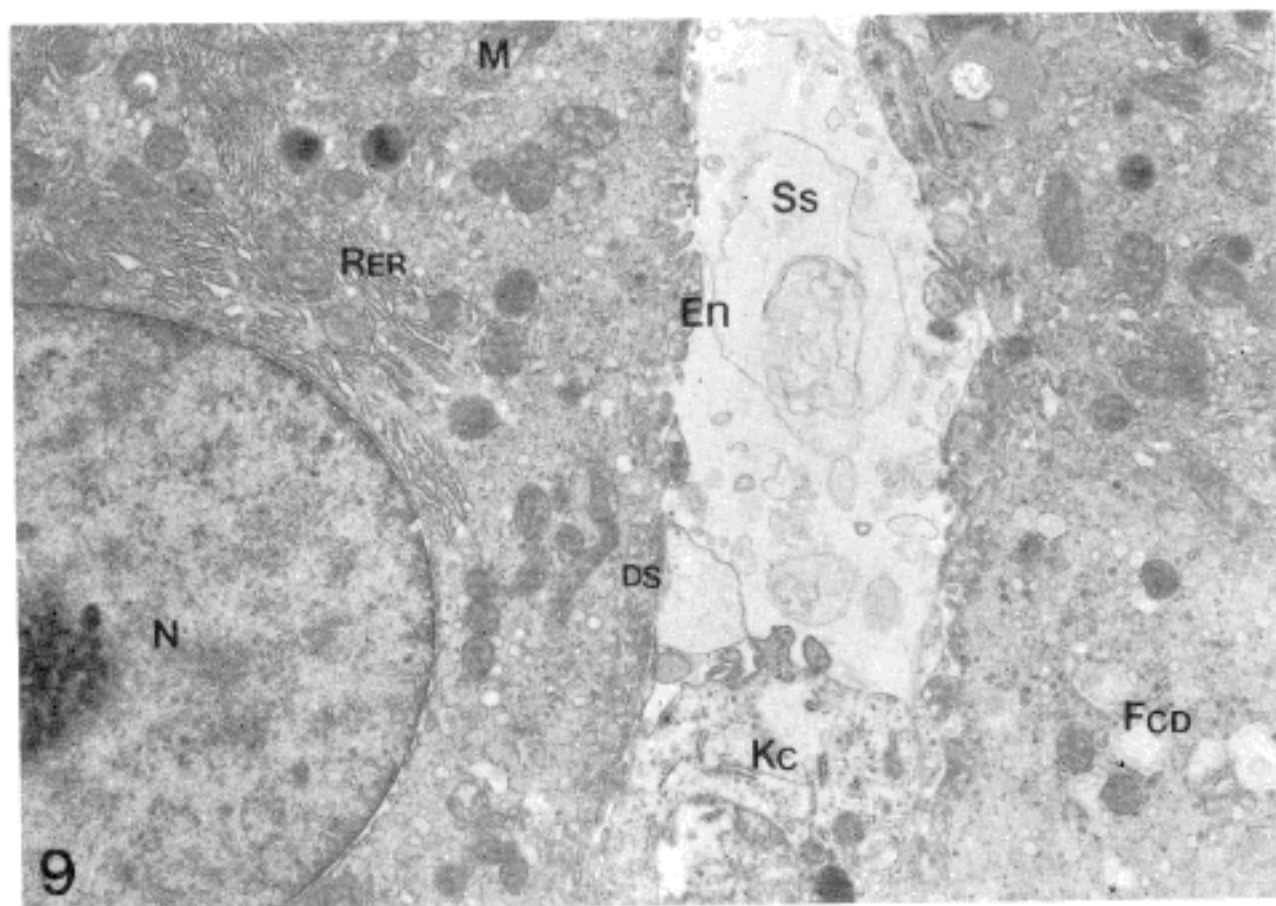


Fig. 9. Electron micrograph, 5 days after bile duct ligation show multiple amorphous materials in the sinusoid. Kupffer cells are edematous and show irregular cytoplasmic membrane. Focal cytoplasmic degradation with myelin figures and intracytoplasmic infiltration of fine granular materials are seen. Uranyl acetate & lead citrate, x6,800.

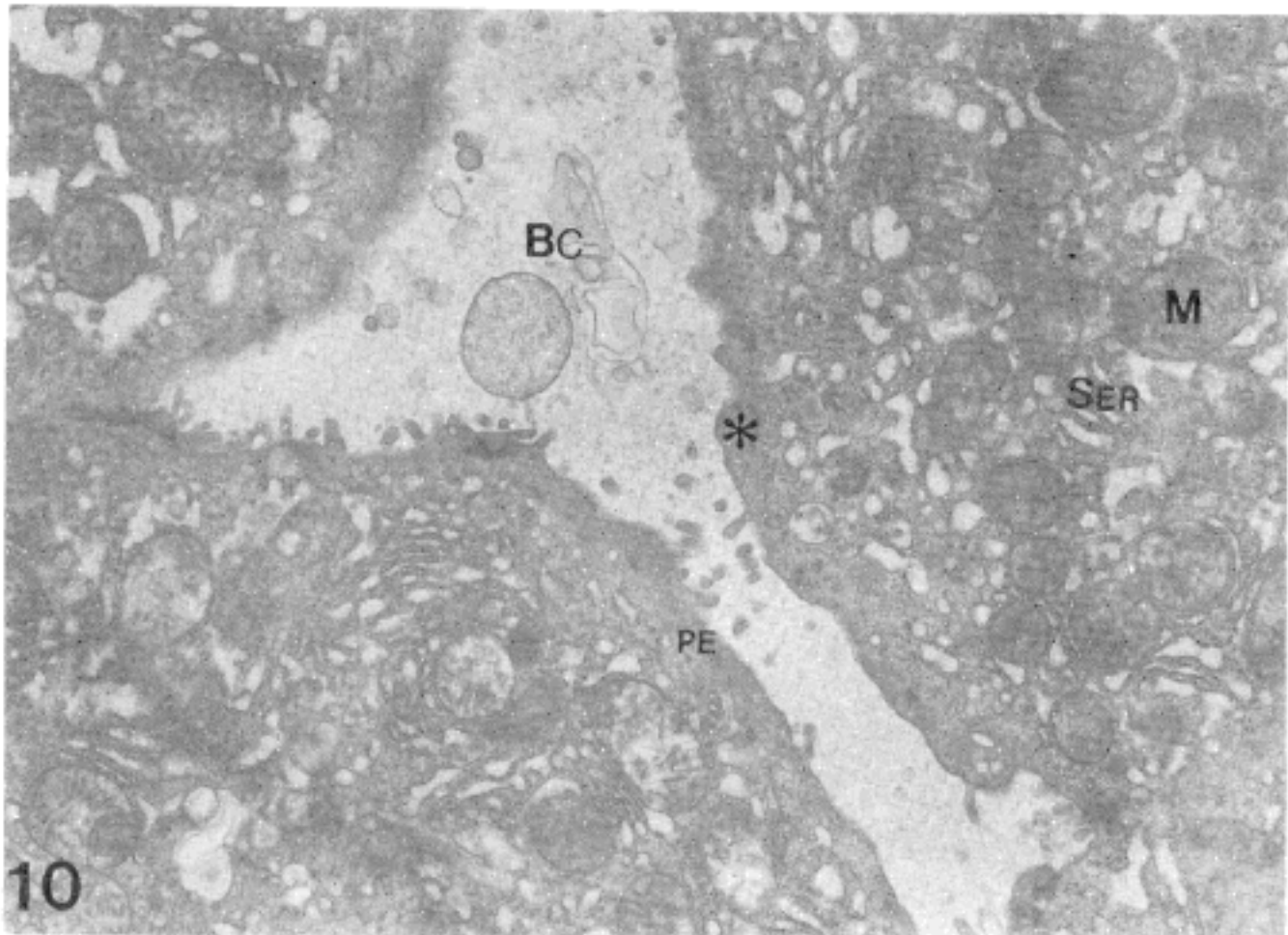


Fig. 10. Canalicular ectoplasm, 5 days after bile duct ligation, show thickening and partial loss of microvilli (*). Various features of amorphous materials are seen in the dilated lumen, Uranyl acetate & lead citrate, x8,900.

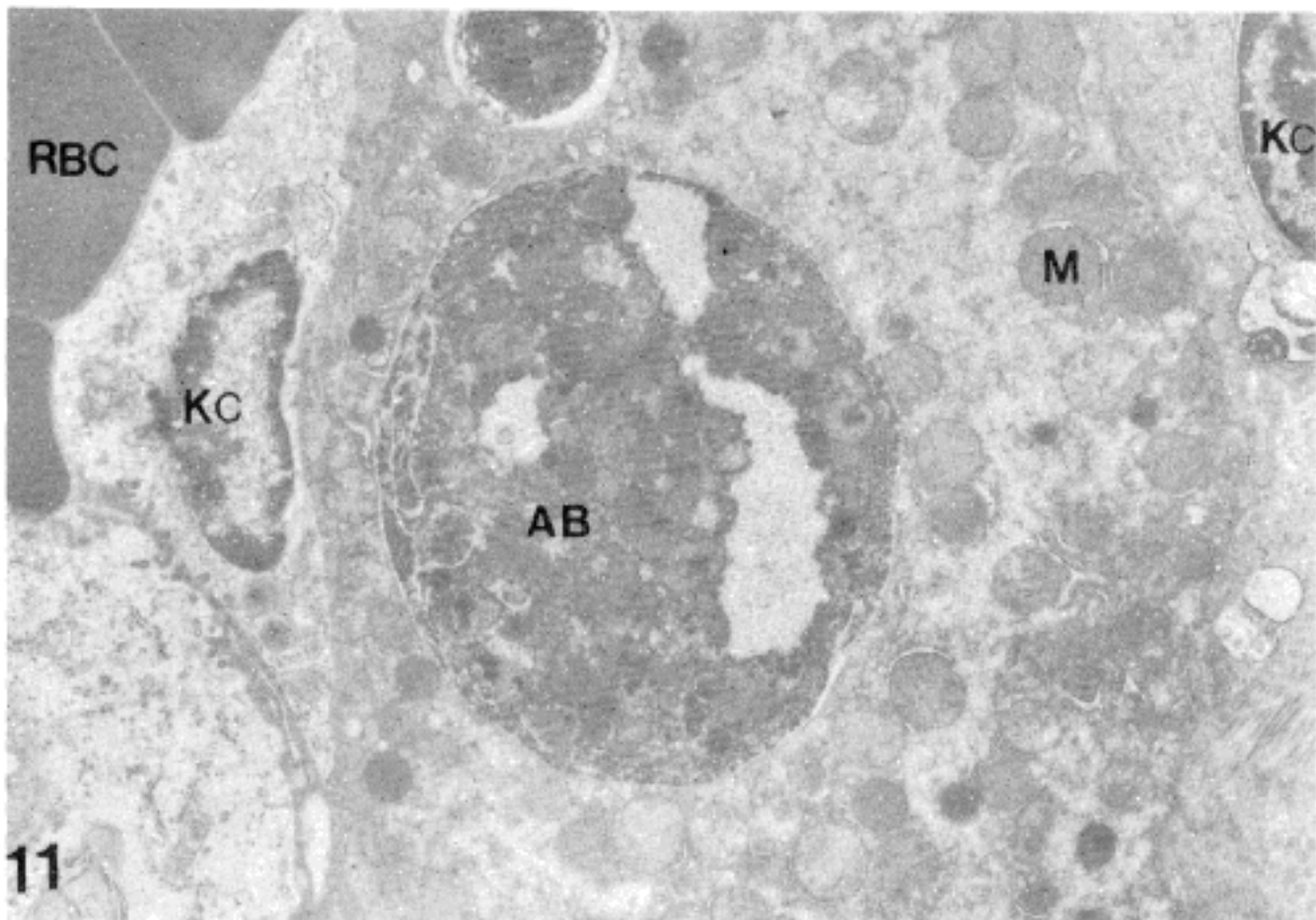


Fig. 11. Acidophilic bodies, 5 days after ligation of bile duct, appear electron dense and small compared with normal hepatocytes. The mitochondria and endoplasmic reticulum are recognizable. Uranyl acetate & lead citrate, x6,500.

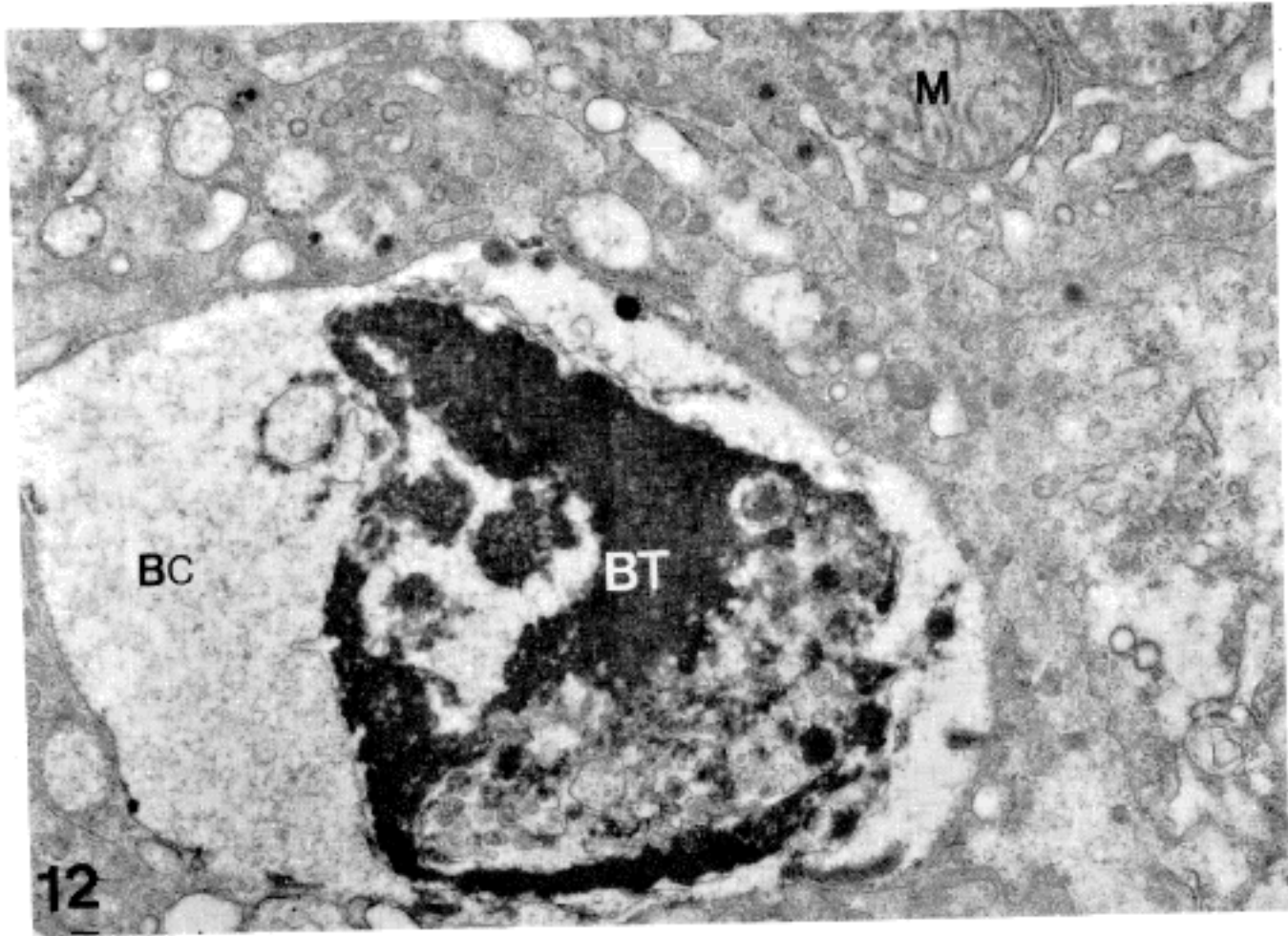


Fig. 12. Bile canaliculi, 5 days after ligation of bile duct show marked dilatation and complete loss of microvilli and filled with amorphous electron dense bile cast. Uranyl acetate & lead citrate, x13,000

후등을 관찰할 수 있었다(Fig. 8).

(3) 담관결찰군 : 동양혈관강내에 다양한 소포체와 myelin 구조물의 침착이 다수 관찰되며 성상세포의 변연은 매우 불규칙하며 Disse 간극은 매우 협착된 부위가 관찰되었다. 간세포의 세포질내에는 다양한 소포체와 공포 그리고 담즙물질이라고 판단된 미세한 과립물질의 축적과 평활형질내세망의 공포등이 관찰되며 특히 사립체의 부종, 사립체등의 소실과 대형의 지방적이 관찰되었다(Fig. 9). 그리고 담세관의 미세융모소실과 담세관의 막의 비후가 나타나고 내강내에는 다양한 형태의 구조물 등이 관찰되었다(Fig. 10). 세포질내 호산체(acidophilic body) (Fig. 11)와 담세관의 확장과 더불어 미세융모의 소실 그리고 특징적인 담적소가 관찰되었다(Fig. 12).

고 안

담즙분비정체에 관여하는 생리적^{2,3)}, 생화학적⁵⁾, 형태학적^{1,6-9)}, 그리고 임상적인^{4,6)} 연구가 많다. 담즙분비정체라는 용어는 원래 조직학적 소견상 간세포나 담즙이 분비되는 경로에 담적소의 정체를 지칭하는 용어로서⁴⁾ 담

즙분비정체에 대한 형태학적 관찰은 투과 및 주사전자현미경의 발달과 함께 보다 구체적이고 광범위하게 보고되었지만^{4,7)}, 간내·외담즙분비정체시 초기형태학적 변화에 대한 차이점은 명확하게 구별되지 않기 때문에^{19,40,41)} 여러 학자들은 형태학적 관찰과 함께 혈청내의 생화학적 변화등을 동시에 추적하여야 간내·외담즙분비정체의 차이점을 보다 더 명확하게 구별할 수 있다고 주장하였다.

간의 담즙분비정체의 기전에 관해서는 이전부터 잘 알려져 왔으나⁴⁷⁾ 간내담즙분비정체의 기전에 대해서는 많은 가설과 논란이 있었다^{1,2,4)}. 1946년 Watson과 Hoffbauer⁴⁸⁾는 담관의 폐색과 관계없이 약물이나 감염에 의하여 야기된 황달을 소위 담관성 간염(cholangiolitic hepatitis)이라고 기술하면서부터 담즙분비정체에 대한 관심의 대상이 간세포와 담세관 특히 담즙을 분비하는 소기관에 집중되었고⁶⁻⁹⁾, Zimmerman²⁴⁾이 담즙구성 인자가 동양혈관강으로부터 흡수되어 간세포에서 담관으로 유출되기까지의 과정을 5단계로 분류보고하여 담즙의 대사장애에 기인한 간장내 담즙분비정체의 병인추적에 큰 공헌을 하였다.

동양혈관강으로부터 담세관까지의 담즙이동에 담즙구

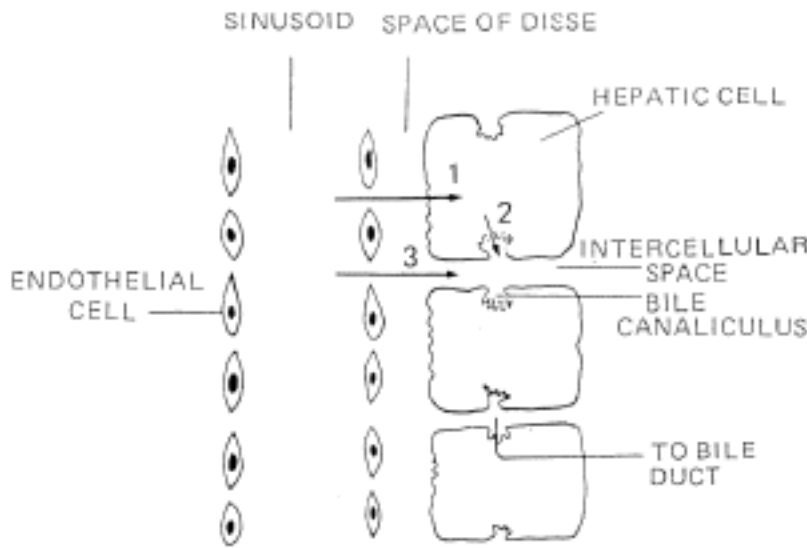


Fig. E. The schematic pathways for entry of solutes from blood to bile canaliculi. Solutes enter bile canalicule through the transcellular pathway after uptake and transport by the hepatocyte (1, Na^+ , K^+ ATPase) and secrete by the canalicular membrane (2, Na^+ , K^+ , ATPase and Mg^{++} ATPase) or through the paracellular pathway via the intercellular junctions (3).

성인자가 간세포막을 거쳐 간세포질로 이동하는 단계와 담세관막을 거쳐서 담세관내로 이동하는 단계의 물질이동은 담즙산의 농도 차이에 의한 담즙이동과^{49,50)} (Bile acid dependent bile flow) 담즙산의 농도에는 영향을 받지 않고 간세포막과 담세관막에 존재하는 Na^+ , K^+ dependent ATPase^{15,51)}, Mg^{++} dependent ATPase^{52~54)}에 의한 담즙이동(Bile acid independent bile flow)과 간세포사이의 접합부를 통과하여 담세관내로 담즙구성인자가 이동한 것으로 알려져 있다(Fig. E).

본 실험에서 간장내 담즙분비정체를 초래시킬 목적으로 사용된 17-ethinyl estradiol (17 α -ethynylestra-1, 3, 5(10)-triene-3, 7, 17, β -diol, $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2=296.4$)은 합성 estrogen으로서⁵⁵⁾ 이는 간세포의 Na^+ , K^+ dependent ATPase의 활성도를 억제하고^{25,26)} 세포막의 지방성분을 변화시킴으로서⁵⁶⁾ Bile acid independent bile flow가 감소되어 간장내 담즙분비정체를 초래하는 것으로 알려져 있으며 Chlorpromazine hydrochloride ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{S}$, $\text{HCl}=355.3$) 역시 간세포막과 담세관막에 존재하는 Na^+ , N^+ dependent ATPase와 Mg^{++} dependent ATPase의 활성도를 억제시키고 세포막의 유동성에 변화를 초래하여²⁷⁾ 역시 bile acid independent bile flow를 저하시켜 담즙분비정체를 초래하는 약물로 알려져 있다.

본 실험을 통하여 얻은 간기능검사와 조직검사를 통하

여 얻은 성적에서 간내, 외 담즙분비정체를 확인할 수 있어 담즙분비정체의 실험모형으로서본 실험은 비교적 높은 재현성을 보여 주었다.

간장내 담즙분비정체를 유발시킬 목적으로 사용된 이들 약물들의 실험결과 백서의 체중 및 간의 무게는 매우 의의있는 변화를 보여주었다. 대조군과 P·G 투여군에 비해 E·E 투여군과 CPZ 투여군 그리고 담관결찰군은 각각 16.6 gm(8.6%), 6.9 gm(1.8%), 18.8 gm(6.4%)의 체중감소가 나타났으며 간장무게는 대조군에 비해 E·E 투여군과 담관결찰군에서 의의있는 증가를 보여줌으로서 이들 체중 및 간장의 무게변화는 간내 분비정체시 간세포나 담관내의 담즙정체로 인한 간장의 무게가 증가하는 소견으로서 이는 Reichen등¹⁶⁾, Keeffe¹⁷⁾ 등의 보고와 유사한 소견을 보여주었다.

E·E 투여군에서는 생화학적 검사상 담소관과 간세포에 비교적 풍부하게 존재하고 있는 것으로 알려진 Alkaline phosphatase⁴³⁾와 간장내 담즙분비정체를 비롯한 다양한 간장질환에서 비교적 예민한 증가를 보이는 혈청내 총담즙산이 증가하였으며³⁹⁾ 이들 소견은 후에 언급하게 될 조직학적 소견과 함께 간장내 담즙분비정체를 나타내는 소견이라고 하겠다. 또한 CPZ 투여군에서는 간세포에 비교적 풍부하며 간장질환 특히 염증질환으로 인한 간세포의 변성이나 괴사시에 의의있는 증가를 보이는 AST, ALT가 증가하였으며 Cholesterol과 bilirubin이 역시 증가하였다. E·E 투여군은 간장의 무게증가와 함께 광학현미경 검색상 정상세포의 증식의 특이한 소견은 없었으며 CPZ 투여군에서는 임파구와 호산구의 침윤이 담관주위에서 관찰되며 담관주위 간세포의 변성과 함께 국소적으로 괴사를 일으키는 세포가 관찰되었다. 따라서 CPZ 투여군은 E·E 투여군에 비해 담관주위에 염증을 일으킨다는 사실을 AST, ALT의 증가와 함께 확인할 수 있다고 하겠다.

E·E 투여군과 CPZ 투여군에 대한 투과전자 현미경적 관찰은 공통적인 소견과 각각 특이적인 소견을 보여주었는데 공통적인 소견은 동양혈관강내의 다양한 형태의 구조물의 침착과 간세포질내에 이중막을 지니고 있는 무형 물질의 침윤과 사립체의 부종, 사립체능의 소실, 기질내에 myelin 구조물질의 침착과 담세관의 미세용모의 부분적인 소실과 변형 그리고 담세관외막의 부분적인 비후 등이 있다. 특히 E·E 투여군에서는 확장된 담세관내에 미세용모의 소실과 함께 myelin 구조물질의 침윤이 관찰

되었으며 정상세포질내 myelin 구조물을 동반한 국소적인 변성과 부종이 심하였다. 이러한 변화들은 Layden 등⁸¹⁾이 Sprague-Dowley 종 수컷백서에 17-ethinyl estradiol을 투여하여 주사전자현미경으로 관찰한 소견에 비해 본 실험의 결과는 담세관의 병변이 특히 심하였다.

CPZ 투여군의 주된 변화는 평활형질내세망의 공포형성으로 이는 Ishak과 Ireys⁸⁷⁾, Popper 등⁸⁸⁾은 CPZ에 의한 담즙분비정체를 보이는 간세포에서 확장된 담세관과 미세용모의 소실과 담적소의 존재, 특히 미세용모의 재형성은 마치 태생학적 발달을 보이는 미세용모의 소견을 관찰한데 반해 본 실험에서의 담세관의 변화는 미세용모의 국소적인 소실과 변형 그리고 부분적인 담세관막의 비후 이외에는 특이한 소견을 관찰할 수 없었다. 그러나 세포내 소기관 특히 평활형질내세망의 공포형성이 특히 현저하였으며 사립체의 변형 특히 외막의 파열과 기질내 myelin 구조물침착이 관찰되었다. 상기한 소견들을 담즙산의 수산화(hydroxylation)의 감소를 초래하여 담즙분비정체를 초래하는 것으로 알려져 있다⁸⁹⁾. 특히 이들의 공포형성은 평활형질내세망에 다양하게 존재하고 있는 효소들의 활성도에 변화를 가져와 단백질합성의 저하를 가져오는 등⁹⁰⁾ 약물대사에 관여하는 효소들의 변형과 담즙분비정체를 초래하는 인자(cholestatic toxic compound)들의 형성으로 말미암아 과립계 효소계(microsomal enzyme system)의 억압으로 간내 담즙분비정체를 초래한다고 알려져 있다⁹¹⁾. 따라서 본 실험에서 관찰된 평활형질내세망의 공포형성은 담즙분비정체를 나타내는 초미형태학적 소견이라 하겠다.

담즙분비정체에서는 E·E 투여군과 CPZ 투여군에 비해 체중감소와 간장의 무게증가가 보다 현저하였으며 생화학적 변화와 형태학적 변화등이 보다 현저하였다. 특히 생화학적 검사에서 담관질환이나 담관폐색시에 특이한 증가를 보이는 GGT⁹²⁾를 비롯한 AST, ALT, ALP, Ctolesterol, total bile acid, bilirubin 모두가 다 상승하였고 조직학적 검색에서 담관폐색시에 관찰되는 담즙경색(bile infarct), 깃털변성(feathery degeneration) 및 간세포의 괴사가 관찰되었는데 이러한 소견은 담즙분비정체가 간장내 담즙분비정체보다 간의 손상이 훨씬 더 심하다는 것을 나타내는 소견이라고 하겠다.

특히 투과전자현미경 검색시 E·E 투여군과 CPZ 투여군에 비해서 간세포질내에 심한 지방변화와 함께 myelin

구조물들을 동반한 세포질변성이 관찰되었고 특히 호산체(acidophilic hoby)의 형성과 담세관의 확장 그리고 확장된 담세관내에 전자밀도가 높은 담적소의 침착은 본 실험의 담관결찰군에서만 관찰되는 특징적인 소견이었으며 변성된 세포질내에 담즙구성 성분이라고 추정되는 미세한 과립성 물질등의 침윤이 관찰되었는데 이러한 물질들은 Biava¹²⁾가 담관의 폐색에 의한 담즙분비정체를 나타내는 간조직에서 확장된 담세관내와 간세포질에서 보고한 물질과 매우 유사한 소견을 보여주었다. 또한 E·E 투여군과 CPZ 투여군에서 공통적으로 관찰된 간세포내의 이중막을 지닌 무형구조물의 침윤과 사립체의 변성등의 소견은 담관결찰군에서도 관찰되었다.

한편 담세관의외막은 매우 비후되어 있었으며 내면 미세용모의 소실은 매우 심하였다.

Carruther 등⁹³⁾은 간장의 담즙분비정체시 사립체의 초미형태학적 변화 즉 사립체의 부종, 사립체등의 소실과 기질내의 myelin 구조물의 물질침착과 더 나아가 외막의 파열등이라고 기술하였는데 이들 형태학적 병변들은 ATP의 결손을 가져와서 담즙유출과 organic anion의 분비장애를 가져온다고 하여 사립체의 변형에 기인한 담즙분비정체시 세포손상의 기전에 관하여 설명하였다.

이상과 같은 소견에서 본 실험에서 관찰하고자 하는 간내·외담즙분비정체의 생화학적, 초미형태학적 변화의 차이는 담관결찰에 기인한 간장의 담즙분비정체가 보다 심한 병변을 나타내주고 있다. 즉 Chlorpromazine hydrochloride나 ethinyl estradiol을 투여한 군은 담관주위의 염증으로 인한 간세포의 변성과 괴사가 초래되고 간세포질내 소기관 특히 평활형질내세망의 공포현상에 따른 과립계효소계의 억압이 현저하다고 생각되는데 비하여 담관결찰에 의한 간장의 담즙분비정체는 담관으로 분비된 담즙의 정체와 역류로 인한 간장내 손상 특히 담세관의 미세용모의 소실 및 변형과 담세관의외막의 비후등으로 담즙분비정체에 기인한 간세포손상이 초래되는 것으로 추정된다. 한편 간세포막과 담세관막에 존재하는 세포의 효소의 활성도와 상기한 병변들의 초미형태학적인 소견들의 상관관계는 앞으로 더 추적하여야 될 것으로 생각된다.

결 론

담즙분비정체시 간세포의 손상을 초래하는 병인과 간

내·외담즙분비정체의 초미형태학적 변화의 차이를 알기 위하여 Sprague-Dawley 종 암컷흰쥐에 17-ethinyl estradiol과 chlorpromazine hydrochloride를 투여한 군과 담관을 결찰한 군에서의 간기능검사와 광학 및 전자현미경적 검색을 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 각 실험군에서의 조직학적 변화와 생화학적 변화는 각각 다르게 관찰되었으며 간장무게가 증가한 실험군은 17-ethinyl estradiol 투여군과 담관결찰군이었으며 투과전자현미경 소견상 간내 외담즙분비정체의 공통적인 소견은 이중막을 지닌 무형구조물의 간세포질내 침윤과 사립체의 변성이었다. 그리고 담세관 외막의 비후와 담세관의 확장과 미세용모의 소실 및 변형등이 관찰되었는데 특히 담관결찰군에서 보다 심하였다.

2) 17-ethinyl estradiol을 투여한 군에서는 간기능검사상 ALP, total bile acid가 현저히 증가하였으며 광학현미경 검색시 정상세포의 증식의 특이한 소견은 없었으나 전자현미경 소견상 myelin 구조물들을 동반한 정상세포의 국소적인 세포질감성 (intracytoplasmic degradation)이 관찰되었다.

3) Chlorpromazine hydrochloride 투여군에서는 AST, ALT, Cholesterol, bilirubin 등이 의의있는 증가를 보여주었는데 광학현미경 소견상 특징적인 소견은 담관주위에 염증세포의 침윤으로서 이는 주로 임파구나 호산구이었다. 투과전자현미경 소견상 평활형질내세망의 공포형성이 특히 현저하였으며 사립체의 기질내에 myelin 구조물침착이 관찰되었다.

4) 담관결찰군에 의한 간장의 담즙분비정체시 간기능검사상 AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol, total bile acid, bilirubin 등이 의의있는 증가를 보였으며 광학현미경소견상 담관의 증식, 간세포의 기질변성, 담즙경색이 관찰되었고 투과전자현미경 소견상 호산체의 형성과 확장된 담세관내에 담적소와 미세용모의 소실 그리고 전반적인 담즙세관외막의 비후등이 관찰되었다. 특히 변성된 세포질내에는 담즙성분으로 추정된 미세한 과립형 물질등이 다수 관찰되었다.

참 고 문 헌

1) Popper H: Cholestasis. *Annu Rev med* 19:39, 1968
 2) Kaplowitz N: Cholestatic liver disease. *Hosp Pract*

13:83, 1978
 3) Erlinger S: Cholestasis: Pump failure, microvilli defect or both. *Lancet* 1:533, 1978
 4) Popper H, Schaffner F: Pathophysiology of Cholestasis. *Human Pathology* 1:1, 1970
 5) Javitt NB, Arias IM: Intrahepatic cholestasis: A fundamental approach to pathogenesis. *Gastroenterology* 53:171, 1967
 6) Badaruddin RH, Waldrop FS, Puchtler H: Alterations of the myoid pericanalicular layer in liver. *Arch Pathol Lab Med* 100:616, 1976
 7) Phillips MJ, Oda M, Mak E, Fisher MM, Jeejebhoy KN: Microfilament dysfunction as a possible cause of intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 69:48, 1975
 8) Layden TJ, Boyer JL: Scanning electron microscopy of the rat liver. Studies of the effect of tauroolithocholate and other models of cholestasis. *Gastroenterology* 69:724, 1975
 9) Vial JD, Simon FK, Mackinnon AM: Effects of bile duct ligation on the ultrastructural morphology of hepatocytes. *Gastroenterology* 70:85, 1976
 10) Compagno J, Grishan JW: Scanning electron microscopy of extrahepatic biliary obstruction. *Arch Pathol* 97:348, 1974
 11) Do wolf-Peeters C, De Vos R, Desment V, Bianchi L, Rohr HP: Electron microscopy and morphometry of canalicular differentiation in fetal and neonatal rats liver. *Exp Mol Pathol* 21:339, 1974
 12) Biava C: Studies on cholestasis: The fine structure of hepatocellular and canalicular bile pigment. *Lab Invest* 13:1099, 1964
 13) Biltzer BL, Boyer JI: Cytochemical localization of Na⁺, K⁺-ATPase in the rat hepatocyte. *J Clin Invest* 62:1104, 1978
 14) Wills EJ, Epstein ME: Subcellular changes in surface adenosine triphosphatase activity of human liver in extrahepatic obstructive jaundice. *Am J Pathol* 49:605, 1966
 15) Sweadner K, Goldin S: Active transport of sodium and potassium ions: Mechanism, function and re-gurgitation. *N Engl J Med* 302:777, 1980
 16) Reichen J, Paumgartner G: Relationship between bile flow and Na⁺, K⁺-adenosine triphosphatase in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi. *J Clin Invest* 60:429, 1977
 17) Keefe EM, Scharschmidt BF, Blankenship NM, Ockner RK: Studies of relationships among bile

- flow, liver plasma membrane Na^+ , K^+ -ATPase, and membrane microviscosity in the rat. *J Clin Invest* 64:1590, 1979
- 18) **Latham P, Kashgarian H:** The ultrastructural localization of ATPase in the rat liver at non-bile canalicular plasma membranes. *Gastroenterology* 76: 988, 1979
 - 19) **Simon FR, Arias IM:** Alteration of bile canalicular enzymes in cholestasis, a possible cause of bile secretory failure. *J Clin Invest* 52:765, 1973
 - 20) **Samuels AM, Carey MC:** Effects of chlorpromazine hydrochloride and its metabolites on Mg^{2+} and Na^+ , K^+ -ATPase activities of canalicular enriched rat liver plasma membranes. *Gastroenterology* 74:1183, 1978
 - 21) **Tavaloni N, Reed JS, Hruben Z, Boyer JL:** Effect of chlorpromazine on hepatic perfusion and bile secretory function in the isolated perfused rat liver. *J Lab Clin Med* 94:726, 1979
 - 22) **Wachstein M, Meisel E:** Histochemistry of hepatic phosphatase at a physiological pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Am J Clin Pathol* 27:13, 1957
 - 23) **Picardi R, Gardiol D, Gautier A:** Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in human fetal liver. *Histochemie* 9:58, 1967
 - 24) **Zimmerman HJ:** Intrahepatic cholestasis. *Arch Intern Med* 139:1032, 1979
 - 25) **Gumicio JJ, Valdivieso VD:** Studies on the mechanism of the ethinyl estradiol impairment of bile flow and bile salt excretion in the rat. *Gastroenterology* 61:339, 1971
 - 26) **Simon FR, Gonzalez M, Sutherland E, Accantino L, Davis RA:** Reversal of ethinyl estradiol-induced bile secretory failure with Triton WR-1339. *J Clin Invest* 65:851, 1980
 - 27) **Keeffe EB, Blankenship NM, Scharschmidt BF:** Alteration of rat liver plasma membrane fluidity and ATPase activity by chlorpromazine hydrochloride and its metabolites. *Gastroenterology* 79:222, 1980
 - 28) **Waynforth HB:** *Experimental and surgical technique in the rat.* New York, Academic press, 1980, p101
 - 29) **Henry RS, Chiamori N, Golub OJ, Berkman S:** Revised spectro-photometric methods transaminase, and lactic dehydrogenase. *Am J Clin Pathol* 34:381, 1960
 - 30) **Herrera L:** Chemical principles of the procedure. *J Lab Clin Med* 52:34, 1958
 - 31) **Bowers GNJ, Mccomb RB:** Alkaline phosphatase and Manual procedure. *Clin Chem* 17:275, 1971
 - 32) **Szasa G:** A Kinetic photometric method for serum gamma glutamyl transpeptidase. *Clin Chem* 15:124, 1969
 - 33) **Allian CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu C:** Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 20:470, 1974
 - 34) **Gambino SR:** *Stand. Methods. Clin Chem* 5:55, 1965
 - 35) **Osuga T, Mitamura K, Mashige F, Imai K:** Evaluation of fluorometrically estimated serum bile and in liver disease. *Clin Chem Acta* 75:81, 1977
 - 36) **Documenta Geigy Scientific Table. K. Diem, editor.** Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y. 1962, p145
 - 37) **Karnovsky MJ:** A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27:137A, 1965
 - 38) **Millonig GA:** Further observation on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation in Electron Microscopy. *Proc. 5th Int. Congr. Electron Microscopy.* Academic Press, New York, 2:8, 1962
 - 39) **Reynold ES:** The use of lead citrate at high pH as an electron microscopy. *J Cell Biol* 17:208, 1963
 - 40) **Philips MJ, Oda M, Funmatsu K:** Evidence for microfilament involvement in norethandrolone-induced intrahepatic cholestasis. *Am J pathol* 93:729, 1978
 - 41) **Kleiner GJ, Kresch L, Arias IM:** Studies on hepatic excretory function, II. The effect of norethynodrel and mestranol on bromsulphalein sodium metabolism in women of child-bearing age. *N Engl J Med* 173:420, 1965
 - 42) **Lepkay DL, Poon R, Simon JB:** Lecithin-cholesterol acyltransferase and serum cholesterol esterification in obstructive jaundice. *J Lab Clin Med* 81:172, 1973
 - 43) **Kaplan MM, Righettic A:** Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 49: 508, 1970
 - 44) **Kaplan MH:** Alkaline phosphatase. *Gastroenterology* 62:452, 1972
 - 45) **Phelan MB, Neagle G, Moss DW:** Serial studies of serum alkaline phosphatase and 5-nucleotidase levels in hepatobiliary disease. *Clin Acta* 32:95, 1971
 - 46) **Wenham Pr, Price CP, Sammons HG:** Serum

- r*-glutamyl transferase isoenzymes in extrahepatic biliary obstruction. *J Clin Pathol* 32:902, 1979
- 47) **Popper H:** Cholestasis: The future of a past and present riddle. *Hepatology* 1:187, 1981
- 48) **Watson CJ, Hoffbauer FW:** Problem of prolonged hepatitis with particular reference to cholangiolitic type and to development cholangiolitic cirrhosis of the liver. *Ann Int Med* 2:195, 1946
- 49) **Boyer JL:** Canalicular bile formation in the isolated perfused rat liver. *Am J Physiol* 22:1156, 1971
- 50) **Javitt NB:** Hepatic bile formation. *N Engl J Med* 295:1464, 1511, 1976
- 51) **Erlinger S, Dhumeaux D:** Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes. *Gastroenterology* 66:281, 1974
- 52) **Boyer JL, Bloomer JR:** Canalicular bile secretion in man Studies utilizing the biliary clearance of (14C) mannitol. *J Clin Invest* 54:773, 1974
- 53) **Erlinger S, Dhumeaux D, Berthelot P, Dumont M:** Effect of inhibitors of sodium transport on bile formation in the rabbit. *Am J Physiol* 219:416, 1970
- 54) **Boyer JL, Klatskin G:** Canalicular bile flow and bile secretory pressure. Evidence for a non-bile salt dependent fraction in the isolated perfused rat liver. *Gastroenterology* 59:853, 1970
- 55) **Adlercreutz H, Tenhunen R:** Some aspects of the interaction between natural and synthetic female sex hormones and the liver. *Am J Med* 49:630, 1970
- 56) **Davis RA, Kern FDr, Showalter R, Sutherland E, Sinexsky M, Simon FR:** Alterations of hepatic Na^+ , K^+ -ATPase and bile flow by estrogen. Effects on liver surface membrane lipid structure and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:4130, 178
- 57) **Ishak KG, Ireys NS:** Hepatic injury associated with the phenothiazine. *Arch Path* 93:283, 1972
- 58) **Popper H, Schaffner F, Rubin E:** Mechanisms of intrahepatic cholestasis in drug-induced hepatic injury. *Ann NY Acad Sci* 104:988, 1963
- 59) **Schaffner F, Popper H:** Cholestasis is the result of hypoactive heterophic smooth endoplasmic reticulum in hepatocyte. *Lancet* 2:355, 1969
- 60) **Mackinnon M, Sutherland E, Simon FR:** Effect of ethinyl estradiol on hepatic microsomal proteins and the turnover of cytochrome P-450. *J Lab Clin Med* 90:1096, 1977
- 61) **Tavalooni N, Boyer JL:** Relationship between hepatic metabolism of chlorpromazine and cholestatic

effect in isolated hepatocytes. *Biochem J* 188:321, 1980

- 62) **Carruthers JS, Steiner JW:** Experimental extrahepatic biliary obstruction: Fine structural change of liver cell mitochondria. *Gastroenterology* 42:419, 1962

— Abstract —

Effect of Intra-and Extrahepatic Cholestasis on the Function and Morphology of the Rat Liver

Ho Jong Chun, M.D. and Chae Hong Suh, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University

The cholestasis are defined as blockade or secretory disturbance of bile and appearance of bile in hepatocytes, Kupffer cells and biliary passages, usually associated with dilated bile canaliculi. Intra-and extrahepatic cholestasis were induced by 17-ethinyl estradiol, or chlorpromazine hydrochloride and by ligation of bile duct to investigate the mechanism of the hepatic injury, ultrastructural changes of liver and alterations of liver function.

The results obtained were as follows.

1) Functional and histological changes of intra-and extrahepatic cholestasis differed in various experimental groups. The liver weight is increased in 17-ethinyl estradiol treated group and ligation of bile duct group (5.6 ± 0.15 , $P < 0.001$, 5.3 ± 0.19 gm/100 gm body weight, $P < 0.001$). The common features of intra-and extrahepatic cholestasis were double membrane bounded amorphous vesicular material infiltrations in the cytoplasm of hepatocyte, partial loss of microvilli of bile canaliculi, and focal thickening of pericanalicular ectoplasm on electron microscopy.

2) Intrahepatic cholestasis induced by 17-ethinyl estradiol show significantly increased serum level of alkaline phosphatase and total bile acid (134.0 ± 16.82 IU/L, 29.5 ± 4.68 μ mol/l). Kupffer cell proliferation and focal cytoplasmic degradation with myelin figures are characteristic features on electron microscopy. Chlorpromazine hydrochloride induced intrahepatic cholestasis show increased serum level of AST, ALT, Cholesterol and bilirubin (156.9 ± 11.32 , 49.0 ± 2.83 IU/L, 59.3 ± 6.73 mg/dl, 1.8 ± 0.43 mg/dl). Inflammatory cell infiltra-

tion, chiefly lymphocytes and eosinophils are seen in periportal area. Prominent vesiculation and vacuolations of smooth endoplasmic reticulum are characteristic feature on electron microscopy.

3) Extrahepatic cholestasis induced by ligation of bile duct show increased serum level of AST, ALT, GGT, cholesterol, total bile acid, and bilirubin (290.2 ± 50.24 , 171.5 ± 47.17 , 159.3 ± 24.54 , 33.7 ± 1.47 IU/L, 86.8 ± 9.18 mg/dl, 246.6 ± 27.34 μ mol/l, 13.9 ± 0.83 mg/dl).

Light microscopically, morphologic alterations are

feathery degeneration of hepatocytes, proliferation of bile ducts, bile infarct and prominent intracytoplasmic lipid droplets. Electron microscopically, electron dense acidophilic body, bile casts and complete loss of microvilli are seen in dilated bile canaliculi. Also noted are hypertrophy of cannalicular ectoplasm. Finely granular materials are infiltrated in degenerative cytoplasm.

Key Words: Intra and Extrahepatic cholestasis. Biochemical and ultrastructural change