

白鼠膵管結紮後 腺房細胞委縮의 機轉

啓明大學校 醫科大學 病理學教室

金相豹 · 權建榮 · 李相淑 · 鄭在泓

서 론

1960년대 부터 실험동물의 췌관을 결찰하여 야기되는 췌장의 형태학적 변화가 관심의 대상이 되어 왔다. 췌관결찰 후에 췌장의 위축이 오게 되는데, 이때 내분비세포는 보존되나 선방세포들이 점차 사라지고 췌장외분비선 소엽들은 크기가 감소되며 섬유성 간질내에 산재하는 작은 소엽들로 변한다¹⁻⁴⁾. 췌장위축은 인체에 있어서 만성 췌장염, 담석이나 암에 의한 췌관폐색, 낭종성 섬유증등이 있을 때 관찰할 수 있으며⁵⁾ 인체에 생기는 것과 유사한 췌장위축이 백서, 개, guinea pig 등에서 췌관결찰 후에 관찰된다¹⁻⁴⁾. 췌관결찰 후에 생기는 초미형태학적 연구에서 Churg와 Richter²⁾는 췌장외분비세포의 소기관들이 소실되고 선방세포들의 위축을 야기시키는데 있어서 autophagy의 역할을 강조하였으며, 진행된 위축시에 볼 수 있는 많은 소관을 구성하는 세포들은 역분화된 선방세포에 기인한다고 하였다. 그리고 Zeligs등⁴⁾은 췌관결찰 후 초기에는 세포종창과 RER의 소포형성을 볼 수 있으나 말기에는 autophagic vacuole형성이 췌장위축의 기전이라고 설명하였다. 그러나 Walker⁶⁾에 의해 췌관폐색 후 야기되는 췌장의 위축에 있어서 선방세포의 결실(deletion)이 관여하리라는 추측이 제기되었다. 이와 같이 췌장위축의 기전에 대해서는 지금까지 많은 가설이 제기되었지만 아직도 논란이 계속되고 있다.

이에 저자는 상기한 문헌적 지견을 토대로 백서의 췌관을 결찰한 후 췌장위축을 초래하는 기전을 규명하고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

일정기간 사육하여 건강이 양호하다고 생각되는 평균 체중 200 gm 정도의 Sprague-Dawley종 백서 57마리를 골라 실험에 사용하였다. 실험군은 ether 마취하에 복강을 열고 Hultquist와 Jönsson⁷⁾에 의해서 행하여진 췌관의 부분결찰(Fig. 1)을 시행한 후 복부의 절개면을 봉합한 뒤 술후 1, 3, 6, 12시간, 1, 2, 3, 4, 5일, 1, 2주 및 8주에 각각 도살하여 췌장조직을 채취하였다. 각 경시적 실험군의 동물수는 3마리씩을 사용하였는데 추시를 위하여 6시간군은 3마리, 1일군과 2일군은 각각 5마리, 5일군은 2마리를 추가 실험하였다. 대조군은 복부를 절개한후 췌관결찰을 하지 않고 절개면을 봉합한 동종의 백서 6마리 췌장 조직을 채취하였다.

1. 광학현미경적 관찰

광학현미경적 검색자료는 전자현미경적 검색시료를

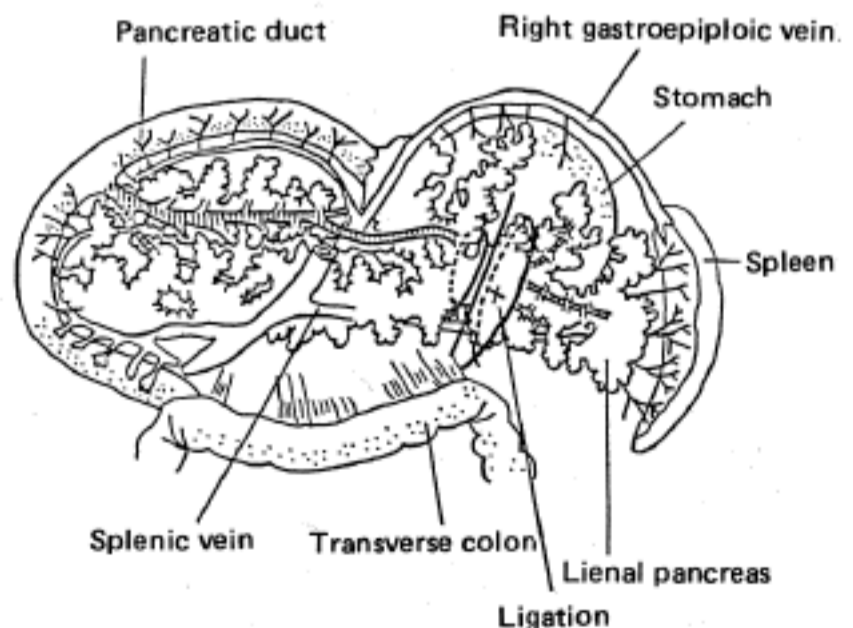


Fig. 1. Schematic drawing of location for partial ligation of the pancreatic duct.

*본 논문의 요지는 1988년 10월 제40차 추계학술대회에서 발표되었음.

채취한 나머지를 모두 이용하였다. 시료는 10% 중성 포르말린에 고정하고 탈수한 후 침투과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 2~3 μ m의 박절편을 만들어 hematoxylin & eosin 염색을 하여 관찰하였다.

2. 투과전자현미경적 관찰

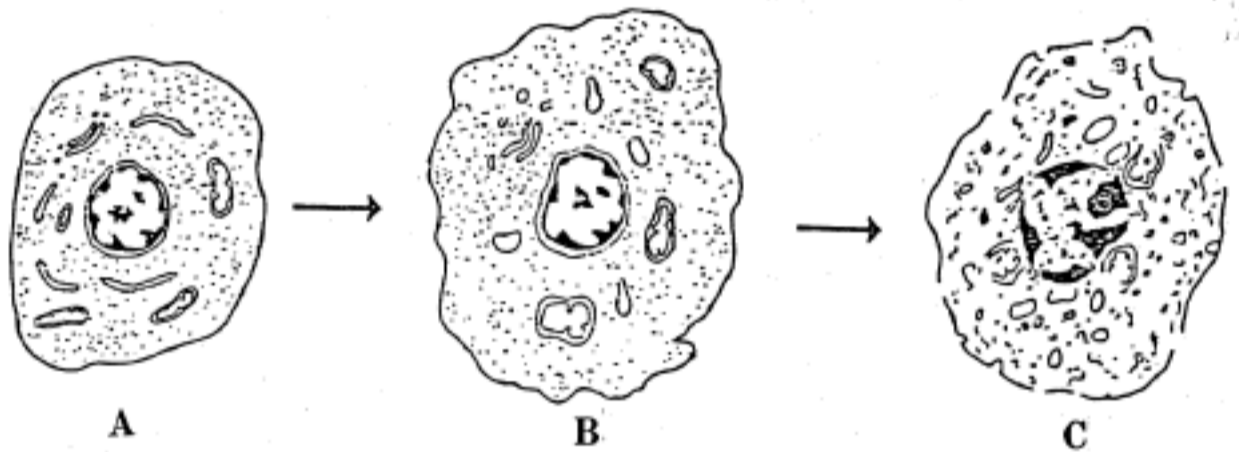
투과전자현미경용으로 제공된 췌장 조직편을 1 mm³의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde용액 (0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 0~4°C에서 2시간 전고정을 하고, 0.1 M phosphate buffer로 세척한 후, 1% OsO₄ 용액에 2시간 후고정을 한 후 같은 buffer 용액으로 세척을 하여 계일 ethanol로 탈수를 하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft방법⁸에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μ m

두께로 박절하여 toluidine blue 염색을 하여 관찰부위를 결정한 다음 초박절은 Sorvall MT5000형 ultramicrotome에 Dupont diamond knife를 부착하여 회백색 (60~90 nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 grid에 부착하여 Watson⁹ 및 Reynolds 방법¹⁰에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

3. 주사전자현미경적 관찰

투과전자현미경적 관찰에 이용하고 남은 조직을 1×1×4 mm 정도 크기로 자른 후 일부조직은 DMSO cracking을 위하여 또 일부조직은 세포내 미세구조물을 관찰하기 위하여 aldehyde-prefix O-D-O방법¹¹⁻¹²으로 maceration을 하였다. DMSO cracking의 할단면 관찰을 위하여 절취된 조직을 1일간 0.5% glutaralde-

NECROSIS



APOPTOSIS

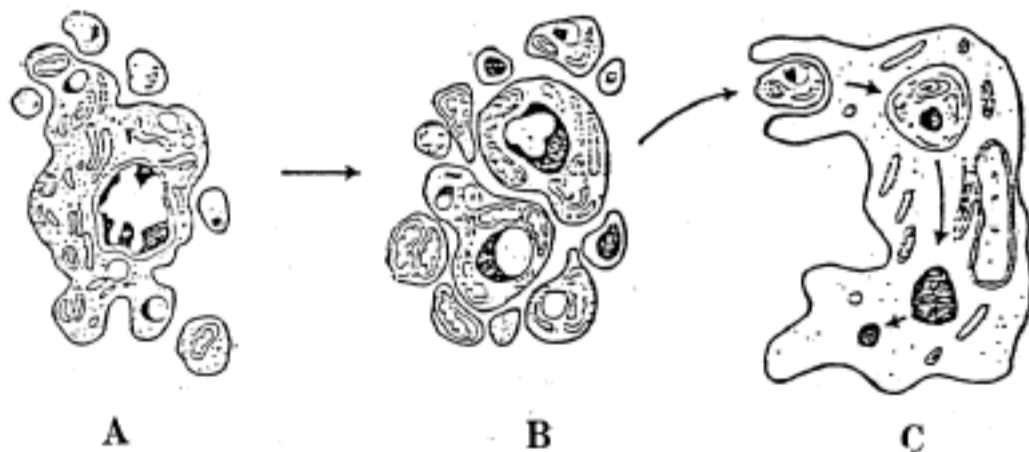


Fig. 2. Comparison of necrosis (top) with apoptosis (bottom). Lethal injury to a normal cell (top, A) is usually followed by generalized swelling (top, B), which progresses to a dissolution of organelles and rupture of membranes (top, C). The earliest phase of apoptosis (bottom, A) involves margination of compacted nuclear chromatin, cytoplasmic condensation, and local protrusion of the cell surface. Nuclear fragmentation also occurs at about this time. A cluster of apoptotic bodies (bottom, B), some with nuclear fragments and all with intact organelles, is formed when the protuberances on the cell surface separate with membrane sealing. The apoptotic bodies are engulfed and degraded by resident tissue cells (bottom, C). Note that the light microscopic appearances of karyorrhexis may be seen both in necrosis (top, C) and apoptosis (bottom, B).

hyde 용액과 0.5% paraformaldehyde 용액을 혼합한 고정액에 더고정한 후 1% OsO₄ 용액으로 2시간 동안 후고정을 하고 0.1M phosphate buffer 용액으로 수세한 다음 25% dimethyl sulfoxide (DMSO)에 30분간, 50% DMSO에 30분간 담근 다음 액체질소로 동결한 후 조직을 할단하였다. 할단된 조직을 50% DMSO용액에 녹여서 같은 buffer용액에 수세한 후 2% tannic acid에 12시간 침투시킨 다음 buffer 용액으로 수세한 후 1% OsO₄용액으로 2시간 동안 conductive staining한 후 계열 ethanol로 탈수를, isoamyl acetate로서 침투를 시켜 Hitachi HCP-2형 critical point dryer로서 이산화

탄소를 사용하여 임계점 건조를 실시하였다. 건조된 시료를 시료관에 부착한후 Eiko회사제 IB-3형 ion-coater로 Pt-Pd를 사용하여 증착한 후 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다. Maceration을 위하여 절취된 시료는 1% OsO₄ 용액으로 30분간 후고정을 한 후 위와같은 방법으로 할단하여 다시 1% OsO₄용액으로 30분간 거친후 0.1% OsO₄ 용액으로 20℃에서 80시간 maceration한 다음 conductive staining부터는 cracking용 시료제작과정과 동일한 방법으로 처리한 후 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

Key for abbreviations

AB	: Apoptotic body	N	: Nucleus
AC	: Acinar cell	RB	: Residual body
IEMP	: Intraepithelial mononuclear phagocyte	SL	: Secondary lysosome
M	: Mitochondria	Ag	: Zymogen granule

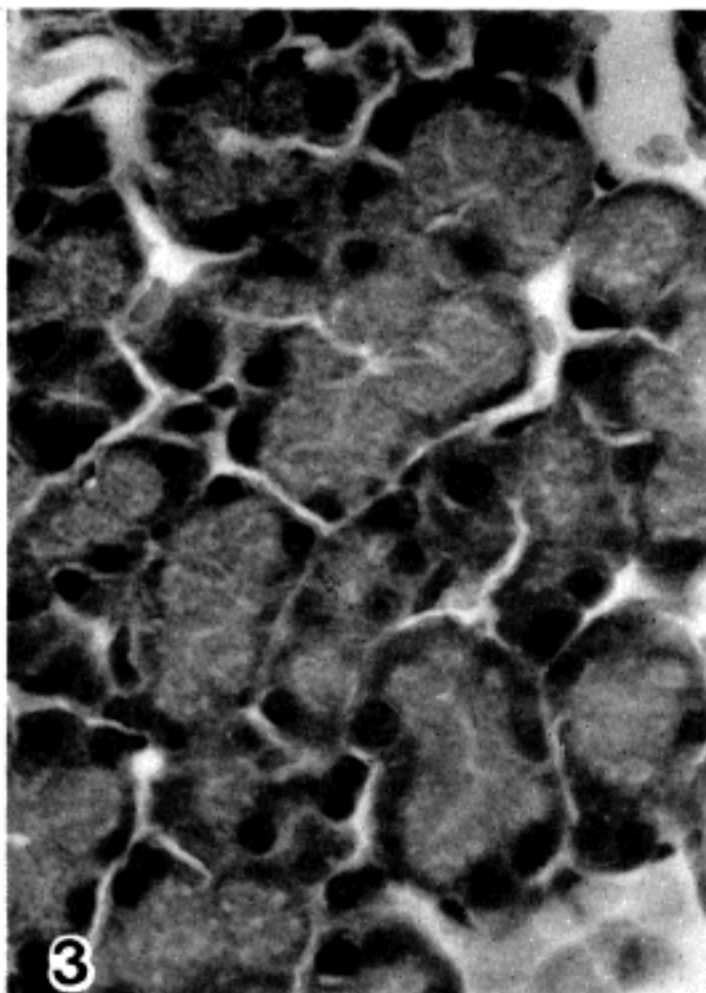


Fig. 3. Pancreas, rat, control. The acinar cells consist of basally located nucleus and abundant zymogen granules (hematoxylin & eosin, x400).

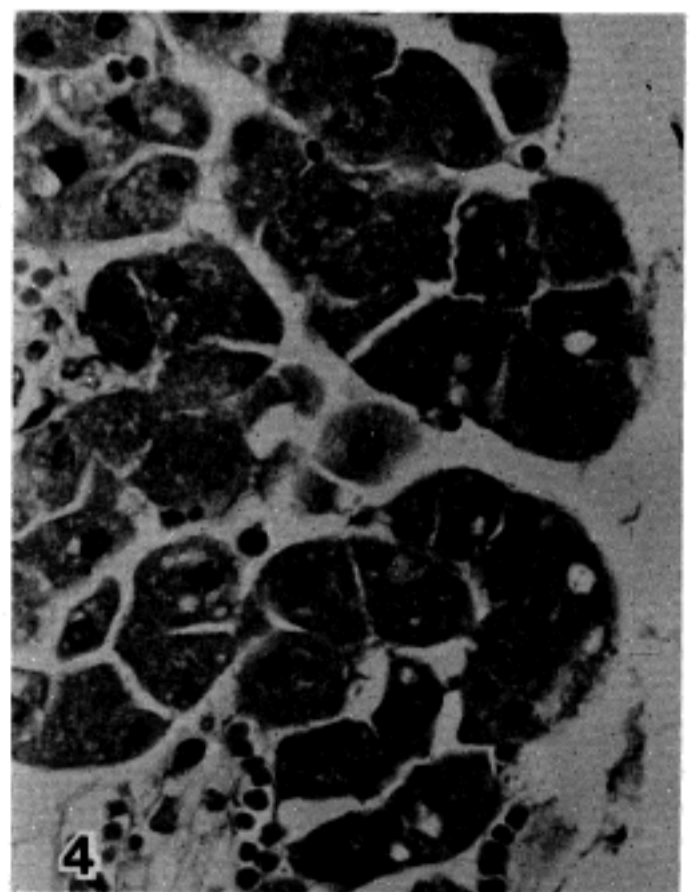


Fig. 4. Pancreas, rat, 6 hours after duct ligation. A narrow palely staining zone of necrotic tissue is present (left middle). The acinar cells show fine vacuolation of the basal cytoplasm. The acini are separated by edematous change (hematoxylin & eosin, x 400).

성 적

1. 광학현미경적 소견

1) 대조군 : 백서의 췌장은 여러개의 선방으로 되어있고 선방세포의 기저부에 핵이 위치하며 세포질내에 많은 zymogen granule을 볼 수 있었다(Fig. 3).

2) 실험군 : 췌관의 부분결찰 후 초기소견으로는, 간질성 부종과 국소적 괴사 및 약간의 급성 염증세포 침윤이 48시간까지 관찰되었다. 이와 더불어 선방세포내의 zymogen granule의 소실, 세포질기저부에 공포형성(Fig.4), 핵의 농축과 분절 및 호산성 세포질의 소견을 보이면서 점차 선방세포의 수가 감소되었다. 72시간째에는 많은 dense body (apoptotic body)를 보였으며(Fig. 5), 이러한 dense body는 인접한 대식세포나 선방세포에 의해 많이 탐식되어 있었다(Fig. 6).

한편 중심선방세포와 개재관세포는 72시간부터 핵분열과 증식을 보였다. 췌관결찰 후 5일째에, 선방세포들은 거의 소실되었고 개재소관들만 남아 있었다. 이와같

은 개재소관들은 1, 2 주째 많이 관찰되었다(Fig. 7). 이와 더불어 간질성 섬유아세포의 증식은 5일후부터 관찰할 수 있었으며 1주가 경과한 후 교원질 기질도 증가하였다. 8주째에는 소관들도 거의 소실되어 유리질화된 기질과 국소적 염증세포의 침윤 및 lipofuscin 색소를 함유한 대식세포들만 관찰되었다(Fig. 8).

2. 전자현미경적 소견(투과 및 주사)

1) 대조군 : 췌장 선방세포는 핵이 기저부에 위치하고 핵주위에 많은 RER과 Golgi 체가 있고 많은 zymogen granule을 관찰할 수 있었다. 그리고 약간의 대식세포들은 선방세포사이 혹은 선방세포와 개재관세포 사이에서 관찰되었다.

2) 실험군 : 췌관결찰 후 6시간째 부터 일부 선방세포들에서 이질염색질(heterochromatin)의 핵막으로의 편재, 불규칙한 핵막과 세포질의 농축을 나타내기 시작하였으며 세포질내에는 RER의 팽창과 zymogen granule의 감소가 관찰되었다(Fig. 9). 이와 더불어 국소적으로 괴사의 소견을 나타내는 선방세포도 보였다. 췌관

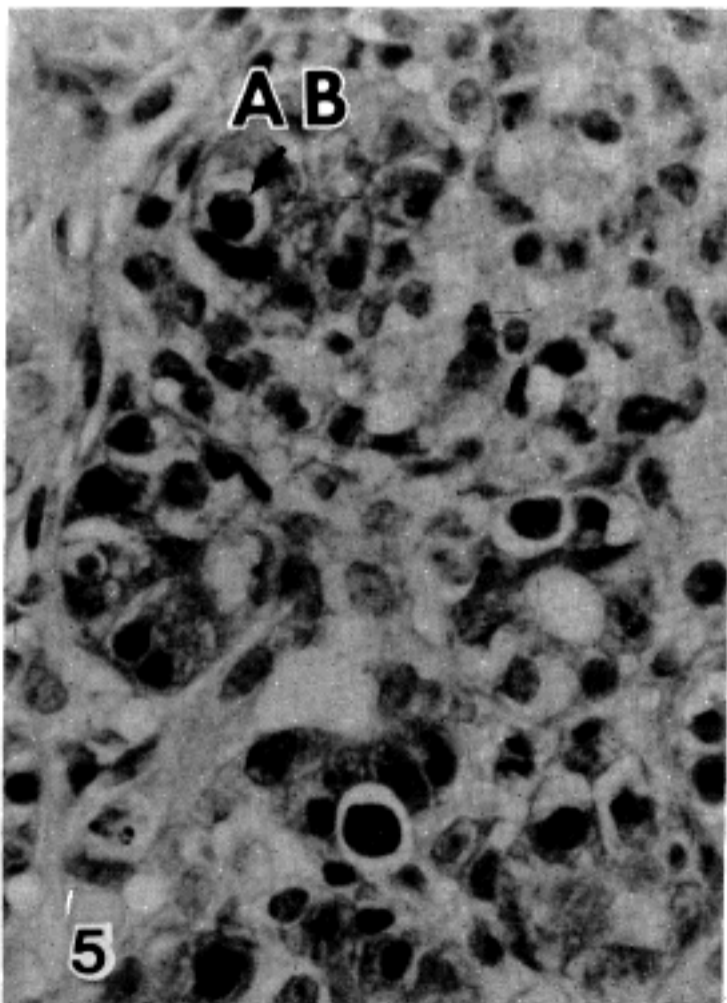


Fig. 5. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Scattered are apoptotic bodies (hematoxylin & eosin, x400).

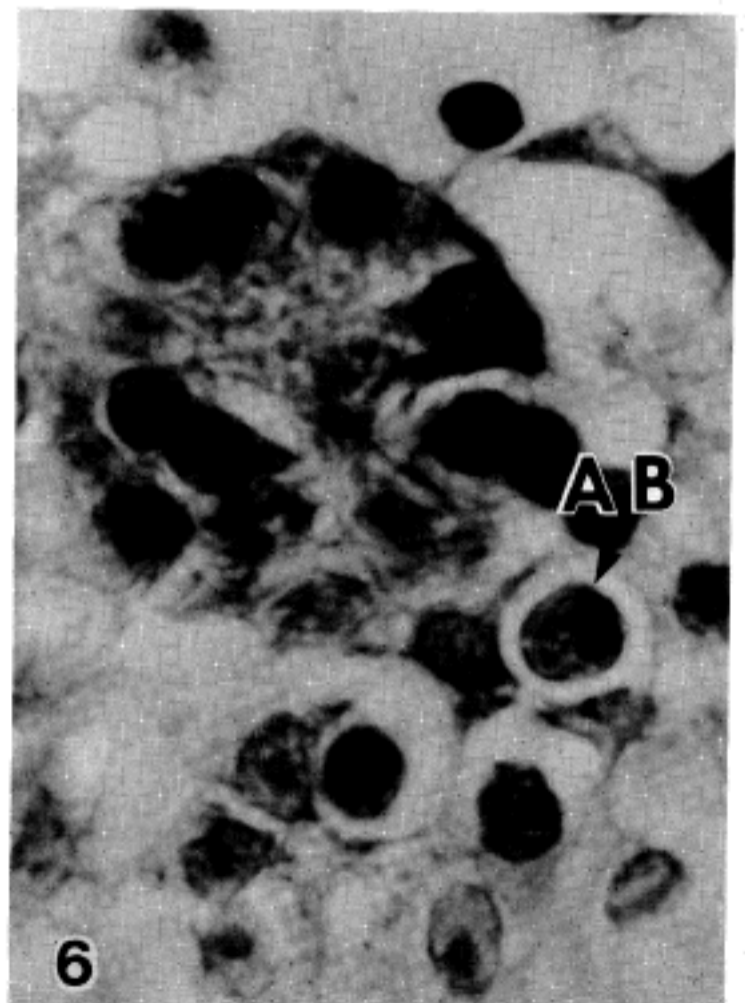


Fig. 6. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Ingested apoptotic bodies by acinar cells (hematoxylin & eosin, x1,000).

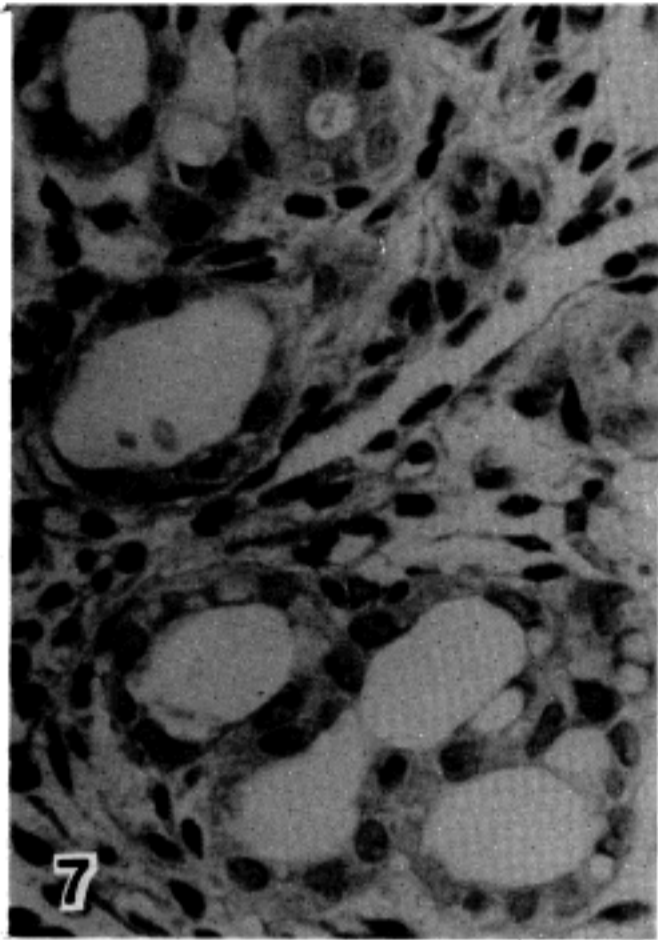


Fig. 7. Pancreas, rat, 1 week after duct ligation. Acinar cells have mostly disappeared and the pancreas consists of duct-like structures in the fibrotic connective tissue stroma (hematoxylin & eosin, x 400).

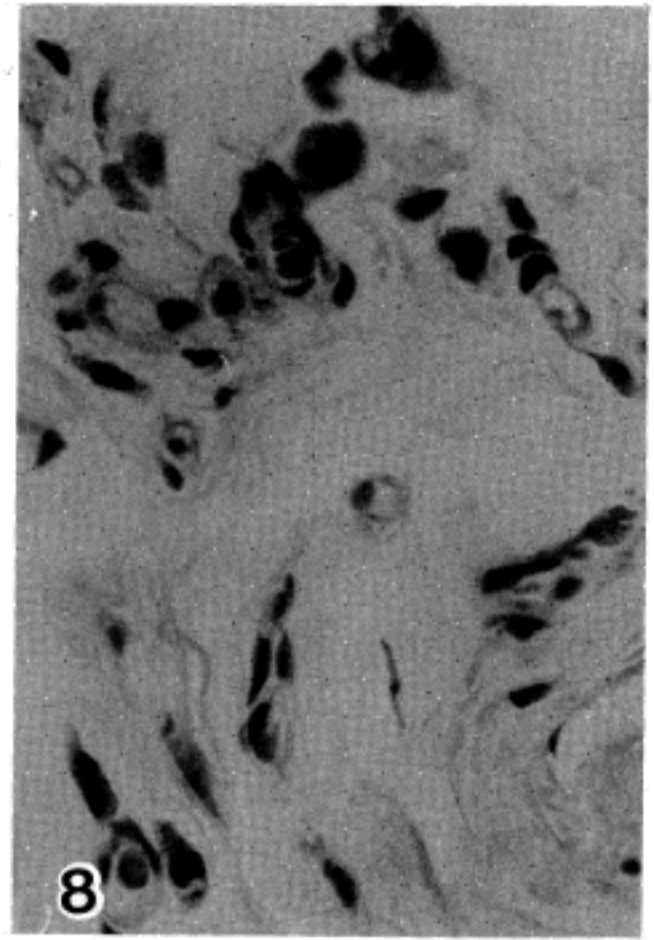


Fig. 8. Pancreas, rat, 8 weeks after duct ligation. Proliferation of macrophages, containing lipofuscin pigments and loosely hyalinized stroma with focal inflammatory infiltrates (hematoxylin & eosin, x400).

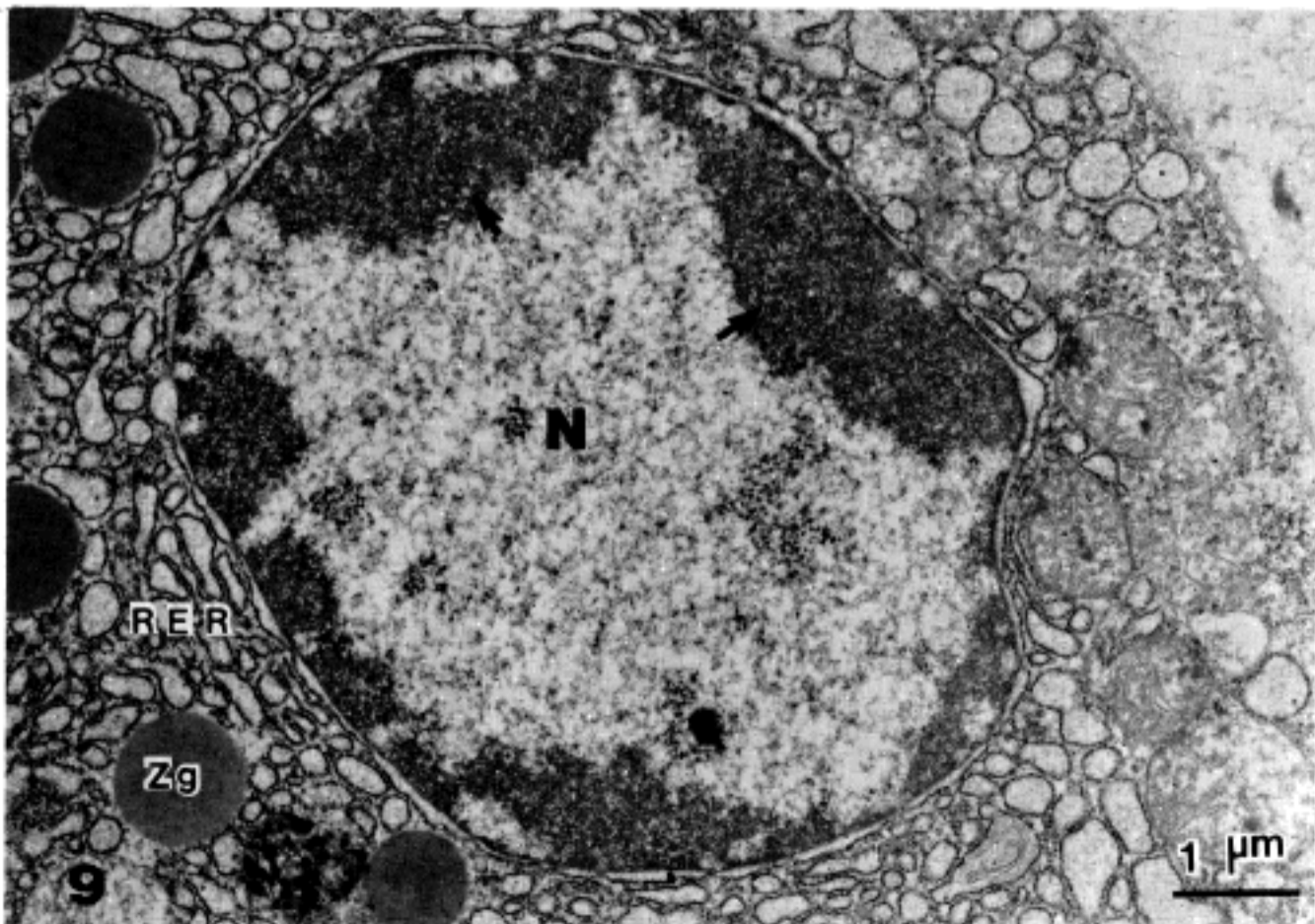


Fig. 9. Pancreas, rat, 6 hours after duct ligation. Margination of heterochromatin (arrow) and irregular nuclear membrane of an acinar cell. Some dilated RER and zymogen granules (TEM, x 13,600).



Fig. 10. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Apoptotic body of an acinar cell, containing nuclear fragments (arrow) with margined condensed heterochromatin and RER arranged in whorls (arrow head) (TEM, x20,400).

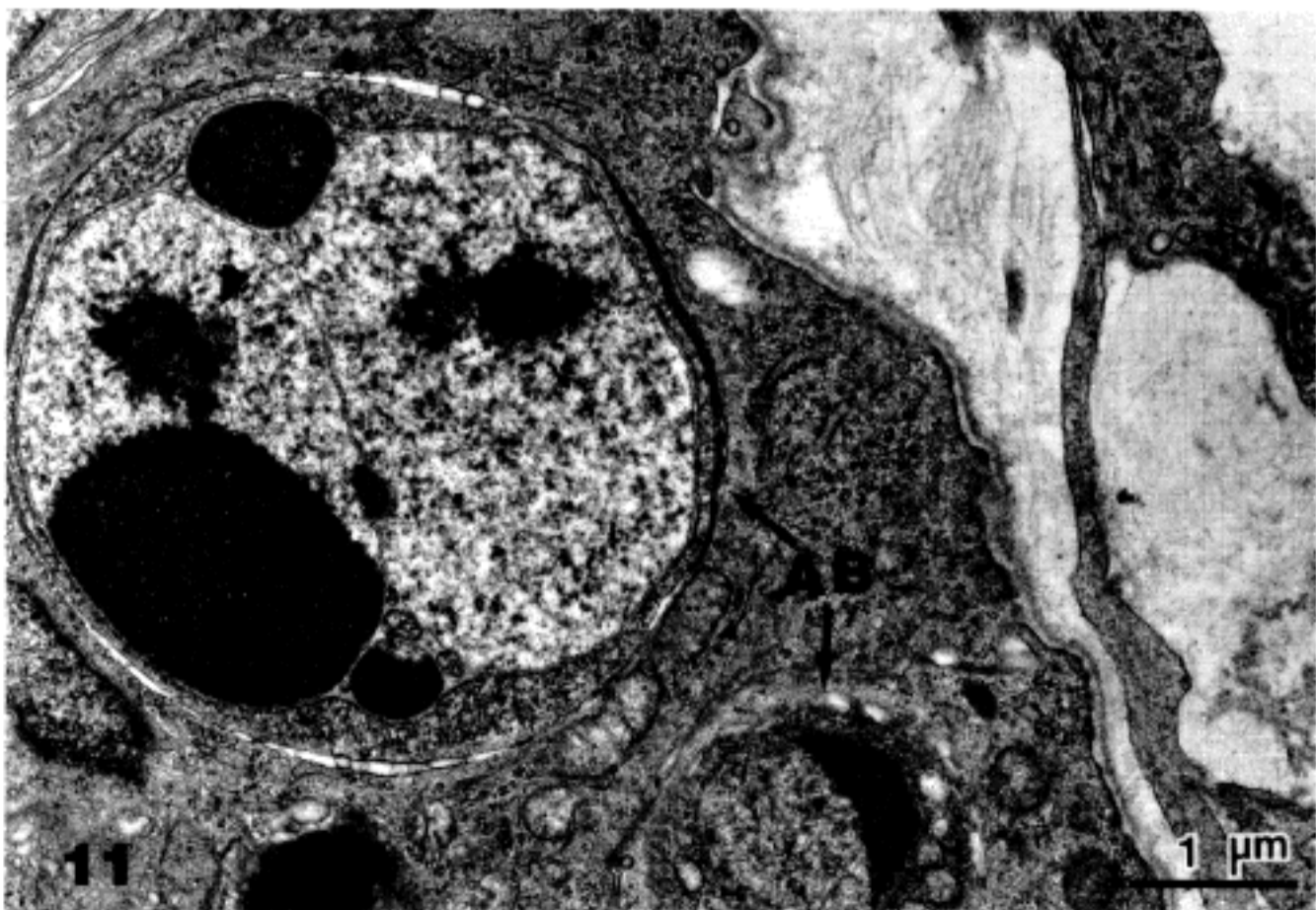


Fig. 11. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Two distinct membrane-bounded apoptotic bodies are found, larger one in the left upper corner and the smaller one in the right lower. There are nuclear granular aggregate (arrow head) in the larger apoptotic body and semi-lunar dark condensed nuclei in the smaller one (TEM, x 17,000).

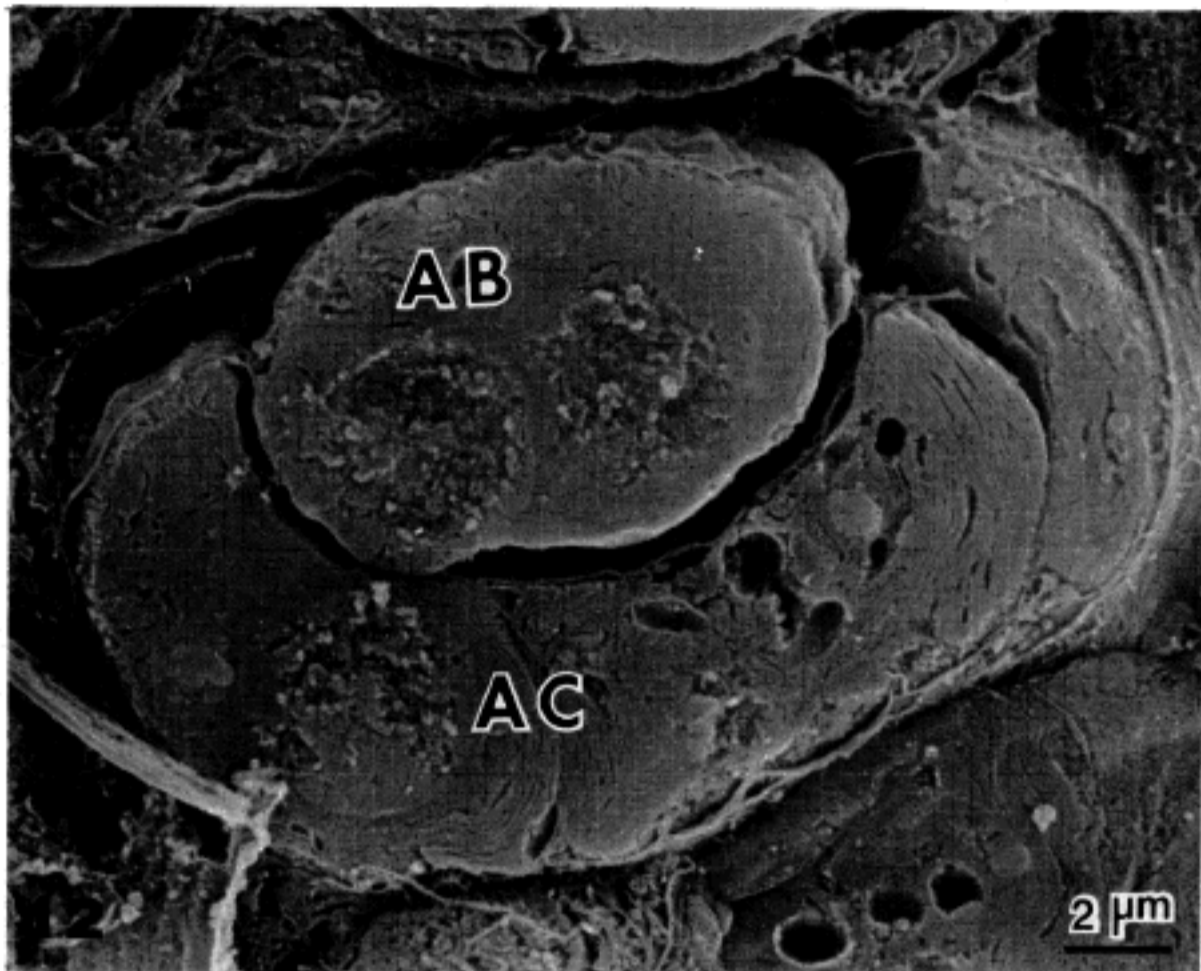


Fig. 12. Pancreas, rat, 96 hours after duct ligation. An apoptotic body, appeared to be ingested by acinar cell (SEM, x5,500).

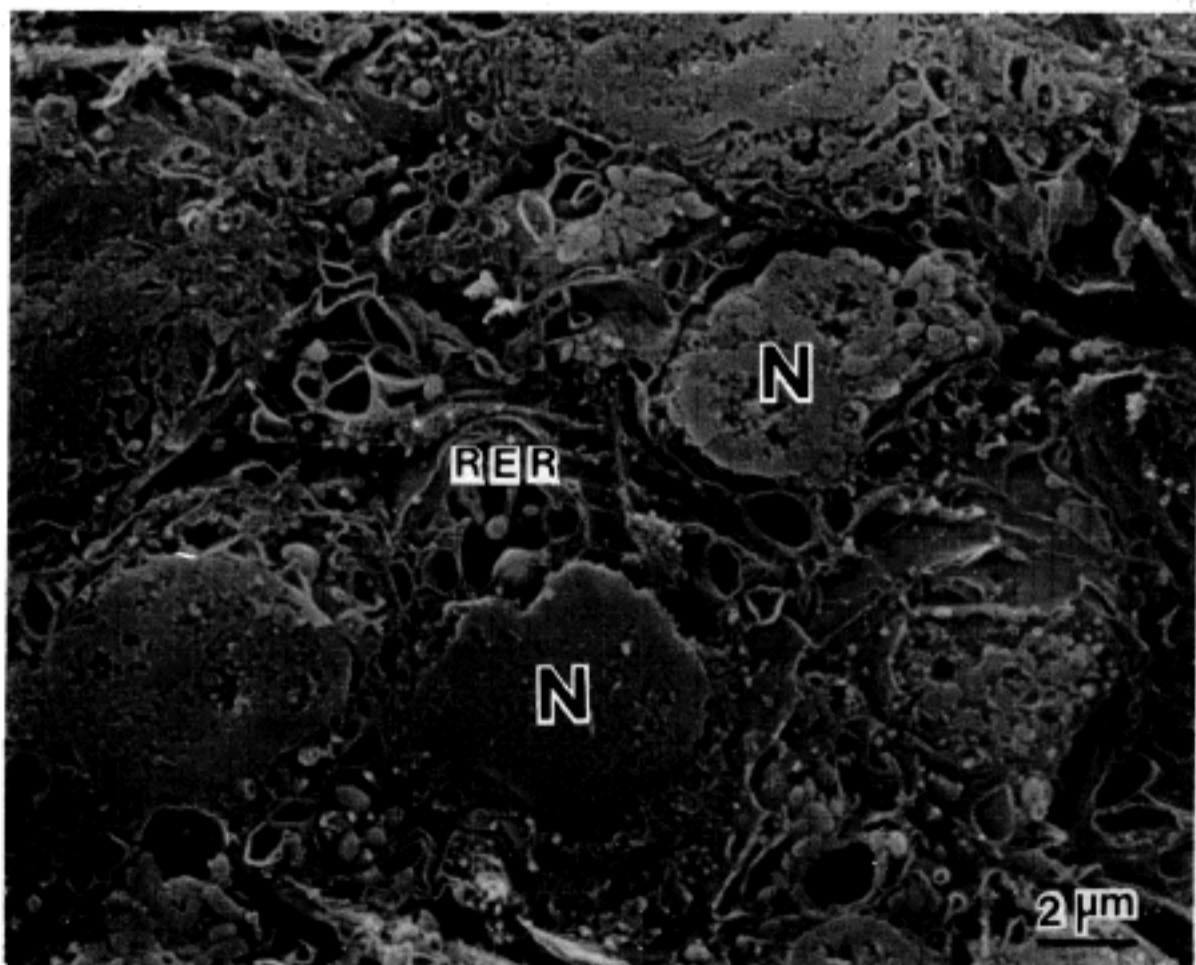


Fig. 13. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Apoptosis of an acinar cell showing fragmented nuclei and surrounding whorls-arranged RER (SEM, x 5,500).

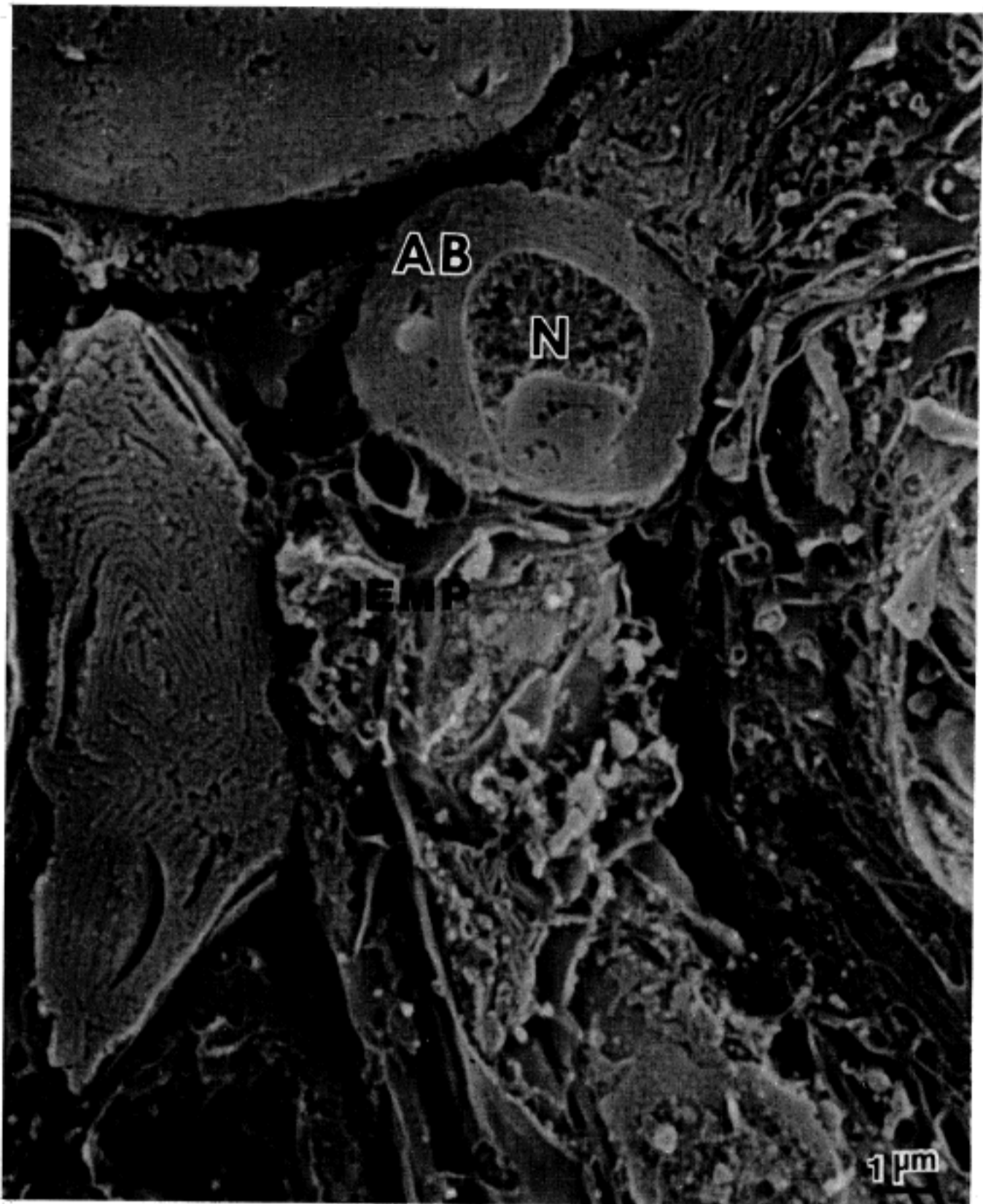


Fig. 14. Pancreas, rat, 96 hours after duct ligation. An apoptotic body appeared to be ingested by intraepithelial mononuclear phagocyte (SEM, x9,000)

결찰 후 24시간째 부터 선방세포의 핵이 여러개로 분절되어 반달모양의 membrane-bounded nuclear fragments를 형성하였다. 또한 세포질내에는 whorl 모양의 RER의 출현, zymogen granule의 감소가 관찰되었으며 세포막에는 위축양 돌기 (pseudopod-like process)를 형성하였다(Fig. 10).

이와 같은 선방세포들의 변화는 체관결찰 후 시간이 경과할수록 membrane-bounded apoptotic body의 형

태를 나타내었으며 이러한 apoptotic body는 체관결찰 후 24시간부터 나타나기 시작하여 3일째에 가장 현저하였다. Membrane-bounded apoptotic body를 초미형태학적으로 관찰하였을 때 하나 또는 여러개의 반달모양의 핵 분절편 (nuclear fragments)과 이들 주위로 잘 보존되어 있는 정상소기관 (intact organelle)과 zymogen granule로 구성되어 있었다. 이들 apoptotic body 내 소기관들은 분절된 핵을 중심으로 재배열하는 구조물

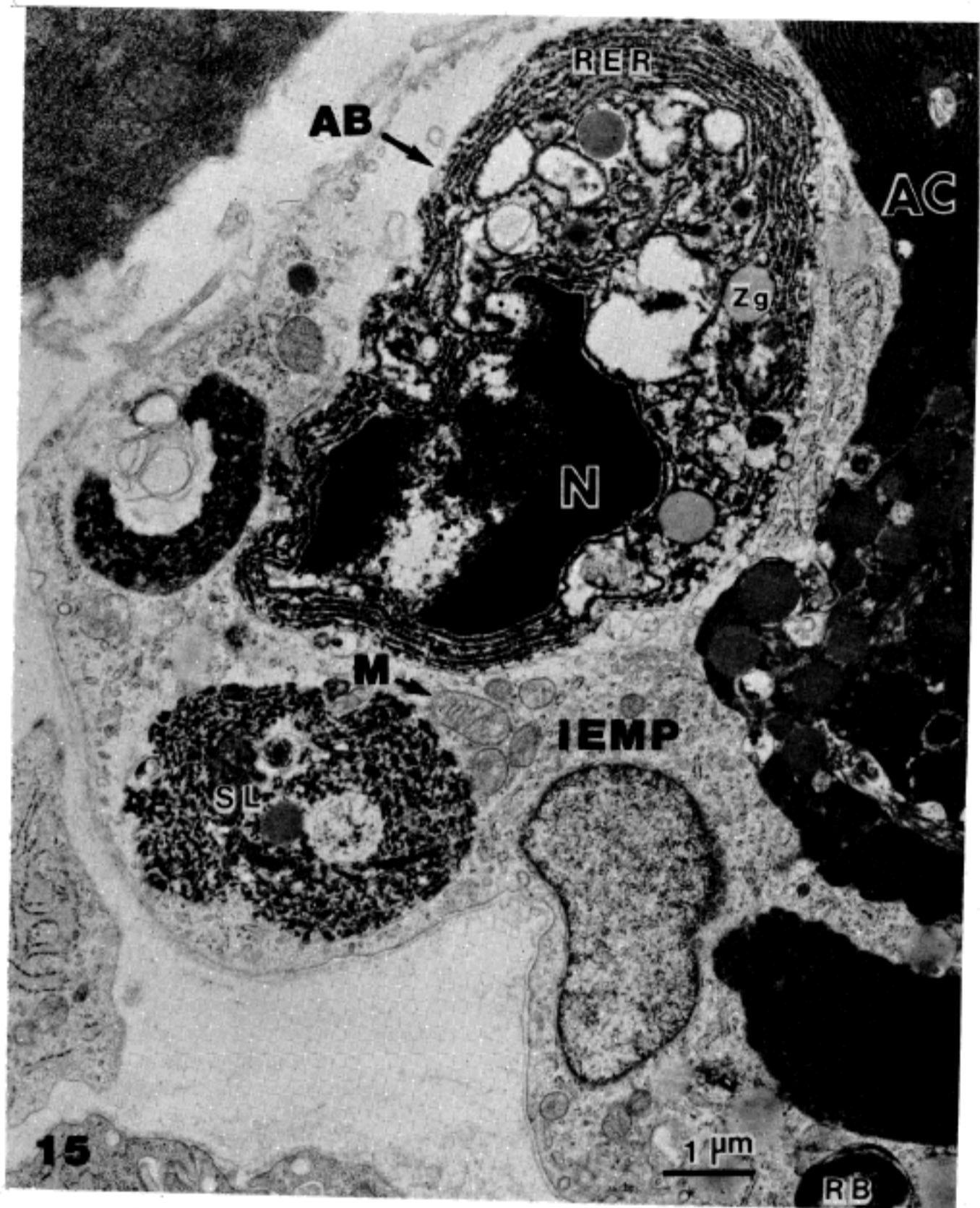


Fig. 15. Pancreas, rat, 72 hours after duct ligation. Activated intraepithelial mononuclear phagocyte showing indented nucleus and abundant cytoplasm with phagocytosed apoptotic bodies. A phagocytosed apoptotic body shows partly degraded nuclear fragments, rearranged RER and some zymogen granules, with concomitant different grade of enzymatic degradation of the organelles with cystic dilatation (TEM, x13,800).

을 형성하였다(Fig. 11). 그리고 apoptotic body의 대부분은 인접한 대식세포에 의해 탐식되었으며 부분적으로는 인접한 선방세포들에 의해 탐식되어 있었다(Fig. 12, 13).

체관결찰 후 시간이 경과함에 따라 대식세포는 그 수가 증가하고 탐식능력이 점차 강해지면서 72시간째에 그

탐식능력이 가장 왕성하였다. 이들 대식세포의 핵은 대체로 둥글고 이질염색질의 양은 적으면서 핵막은 약간 함몰되어 있었다. 세포질내에는 여러개의 secondary phagolysosome 및 residual body와 함께 탐식된 apoptotic body를 많이 관찰할 수 있었다(Fig. 14, 15). 대식세포에 탐식된 apoptotic body는 대부분 핵의

염색질 농도가 증가하고 핵 분절편의 반달모양이 소실되었으며 apoptotic body내에 있는 ribosomes 및 Golgi 체의 종창이 나타나고 apoptotic body를 싸고 있는 막은 뚜렷하지 않았다(Fig. 15).

체관결찰 후 2주가 경과하면서 대식세포는 그 크기와 수가 줄어들면서 세포질내에는 residual body가 많이 관찰되었다.

고 찰

체관결찰 후에 생기는 선방세포의 위축은 1884년 Arnozan¹³⁾에 의해서 처음 기술되었으며 사람에서 급성 체장염의 기전을 규명하기 위해서 1965년 Herriott등¹⁴⁾이 실험동물의 체관을 결찰하여 그 변화를 보고하였다. 그 후에 체관결찰 후에 생기는 초미형태학적 연구에서

Churg와 Richter²⁾ 및 Zeligs등⁴⁾이 선방세포의 위축을 야기시키는데 있어서 autophagy의 역할을 강조하였다. 그러나 1987년 Walker⁶⁾에 의해 선방세포의 apoptosis로 인한 결실(deletion)에 의해 선방세포의 위축이 초래된다는 설이 대두되었다.

Apoptosis는 여러가지 상황하에서의 조직의 위축, 장거나 조직의 변성시에 나타나는 세포의 죽음의 한 형태이며, 정상적인 배아형성과 metamorphosis동안에도 볼 수 있다. 또한 국소호르몬을 제거할 때에 그 영향을 받는 장거나 조직, 그리고 경미한 국소적 허혈상태에서 야기되는 위축시에도 나타나며, 종양에서 방사선치료나 화학요법을 행할 때에 세포손실의 형태로서도 볼 수 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 그리고 정상체장조직에서도 국소적으로 apoptotic body가 관찰된다고⁶⁾ 하나 본 실험에서는 대조군에서 apoptotic body를 관찰할 수 없었다.

Table 1. Comparison of necrosis and apoptosis

Feature	Necrosis	Apoptosis
Distribution	Usually involves groups of contiguous cells	Affects single cells scattered through a tissue
Associated exudative inflammation with neutrophil infiltration	Usually present	Absent (mononuclear cells may be present if apoptosis is being induced by cell mediated immunity)
Light microscopy	Cell outline generally retained ; cytoplasm shows loss of basophilia ; nucleus shows pyknosis, karyorrhexis, or karyolysis	In transient early stage, nuclear chromatin is margined. Cellular fragmentation leads to production of round or oval eosinophilic masses some of which contain basophilic chromatin dots
Electron microscopy	Swelling of all cellular components, rupture of internal and plasma membranes, dissolution of organelles, and eventual loss of chromatin	Initially chromatin margination, cytoplasmic condensation, and focal protrusion of cell surface ; further condensation associated with nuclear fragmentation and cellular budding to produce a cluster of which organelles are well-preserved
Fate of cell remnants	Ingested, and degraded by cells of mononuclear phagocytic system. remnants in persistence of cell remnants in a tissue depends on size of area of necrosis and integrity of microcirculation within the area, for access of phagocytes	Apoptotic bodies are rapidly phagocytosed and degraded by resident tissue cells of a variety of types. The majority of apoptotic cell remnants detected by electron microscopy show evidence of partial degradation
Mechanism	Progressive structural and chemical disintegration following irreversible disruption of vital processes maintaining cellular integrity	Apparently active process of cellular self-destruction requiring macromolecular synthesis for its execution

선방세포들의 apoptotic process에 의한 apoptotic body의 형성은 24시간째 부터 나타나기 시작하여 3일째 가장 현저하였다. 이는 선방세포의 수가 가장 빨리 소실되는 시기와 일치 하였으며 Pound와 Walker³⁾에 의해 보고된 성적과 일치하였다. 투과 및 주사전자현미경소견에서 췌관결찰 후 6시간째부터 일부 선방세포들에서 이질염색질이 핵막으로 편재, 세포질의 농축 및 잘 보존된 세포내 소기관, Whorls-arranged RER, zymogen granule감소등을 관찰할 수 있었다. 이는 Wyllie¹⁶⁾ 와 Wyllie등¹⁷⁾ 이 제시한 췌장선방세포의 초기 apoptosis와 일치되는 소견이다. 그 후 시간이 경과하면서 선방세포의 핵의 분절과 함께 membrane-bounded apoptotic body는 인접한 대식세포나 상피세포들에 의해 탐식되는 소견을 보였다.

탐식된 apoptotic body내에 흔히 zymogen granule이 관찰되었는데 이는 apoptotic body가 선방세포에서 유래되었음을 증명하는 소견이 된다. 또한 apoptotic body내에 핵이 반달모양을 나타내는 것은 일반적으로 autophagic vacuole내에 관찰되는 phagocytic body와는 다른 양상이며, Walker⁶⁾가 제시한 선방세포의 apoptotic deletion을 지지해주는 소견으로 볼 수 있다.

Apoptosis는 형태학적으로 그리고 형성되는 기전에 있어서 necrosis와는 상이함을 보여준다¹⁸⁻¹⁹⁾ (Fig. 2, Table 1).

Necrosis는 특징적으로 mitochondria의 심한 부종과 기타 소기관의 용해 및 세포막의 파열이 나타난다²⁰⁾. 생화학적으로 apoptosis에서는 nucleosome 사이의 linker 역에 DNA의 선택적 분절(selective cleavage)이 있으나 necrosis에서는 거의 관찰되지 않는다²¹⁻²³⁾. 본 실험을 통하여 췌관결찰 후 48시간째까지 국소적으로 선방세포의 necrosis를 보였는데 이러한 변화는 시간이 경과함에 따라 소실되었다. 따라서 이것은 췌관결찰에 의한 변화라기 보다는 췌관결찰 도중에 야기된 경미한 의상이나 효소의 누출에 의해 야기된 것으로 사료되었다. 한편 초미형태학적 연구에서 초기 apoptosis의 소견은 드물게 관찰되었지만 탐식된 apoptotic body나 효소분해에 의한 secondary phagolysosome을 많이 관찰하였다. 이는 초기 apoptosis의 과정이 비교적 짧은 시간내에 이루어진다는 것을 말하여 주는 것이다. 또한 결찰 후 48시간까지 선방세포의 세포질내에 공포형성과 RER의 팽창을 볼 수 있었는데, 이와같은 세포질내의 변화는 12

시간까지는 가역적인 것으로 보고되고 있다¹⁾.

지금까지 췌관결찰 후 나타나는 선방세포의 변화를 야기시키는 인자에 대하여서는 잘 알려져 있지 않다. 그러나 Morris²⁴⁾는 zymogen granule이 췌관으로 누출되고 주위의 혈관이 간질의 부종에 의해서 압박되고 따라서 혈류의 정체로 인한 산소결핍상태가 중요한 인자라고 주장하였고, Zeligs등⁴⁾은 세포의 삼투성조절의 변화가 중요한 역할을 한다고 하였다. Inoue등²⁵⁾에 의하면 췌관결찰후 혈장내에 cholecystikinin치가 증가하였고 결찰된 췌장부위에 혈액의 유입이 급격히 감소되는 것은 간질부종으로 인한 혈관압박이 크게 관여하는 것으로 증명되었다²⁶⁾.

이와함께 세포배양시 영양공급을 줄인다든가 허혈상태를 야기시킬 경우에 apoptosis에 의한 세포손실이 증가되는것이 관찰되었다²⁷⁻²⁸⁾. 따라서 결찰된 췌장에서는 허혈상태가 apoptosis를 야기시키는데 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

대식세포는 대조군 췌장조직에서도 선방세포사이 혹은 선방세포와 개재관세포 사이에서 관찰되었다. 대식세포는 형태학적으로 임파구를 닮은 작은 세포로부터 함몰된 핵과 풍부한 세포질내에 탐식된 공포및 residual body를 가지는 큰 대식세포가 있다⁶⁾. 이들 대식세포는 형태학적 다양성에도 불구하고 모두 결찰된 췌장조직에서 흔히 관찰되었다.

췌장의 대식세포와 유사한 intraepithelial mononuclear phagocyte가 백서의 전립선²⁹⁻³⁰⁾, 사람과 백서의 유방, 그리고 사람과 hamster의 자궁내막³¹⁾에서도 기술되어 있다. 췌장의 대식세포는 췌관결찰 후 상당히 활성화 되는데³²⁾, 본 실험성적에서도 대식세포는 그 크기가 증가하고 세포질내의 소기관의 수가 많아지며 탐식능이 왕성해지는 것을 관찰하였다. 췌관결찰 후 72시간째에 대식세포는 그들의 크기 및 핵의 형태학적 특징에서 인접한 상피세포와 유사하였으나 대식세포는 specialized junction이 결여되어 있기 때문에 선방세포와 감별이 가능하였다. 선방세포가 가장 현저하게 소실되는 기간동안에 대식세포는 흔히 여러개의 탐식된 apoptotic body를 세포질내에 포함하고 있었다. 그리고 그 apoptotic body가 대식세포에 의해서 탐식되고 소화분해된다는 것을 알 수 있었다. 결찰된 췌장의 위축기간동안 대식세포의 수가 증가되고 혈액속의 monocyte가 간질쪽으로 이동하는데 이와같은 대식세포 수의 증가는 퇴

참 고 문 헌

행성 변화를 일으킨 백서의 유방이나 전립선에서도 보고 되어 있으며³³⁾ 상피의 기저막을 통해서 대식세포가 이동하는 것은 사람이나 hamster의 자궁내막의 위축소견에서 증명되었다³²⁾.

요컨대, apoptosis는 이 실험에서 본 바와 같이 췌관 결찰로 야기되는 저산소증 그것도 아주 경미할때 일어나는 것을 알았다. Apoptosis가 경미한 상해로 인하여 일어나는 것 외에도 생리적으로도 이 현상을 볼 수 있고 (정상조직세포의 교체등에서), 또 인체에생기는 악성종양에서도 본다고 한다³⁴⁾. 따라서 apoptosis가 일어나는 기전 규명의 필요성은 매우 절실하다 하겠다.

이 실험에서 췌관결찰 후에 일어나는 췌장위축의 기전이 선방세포의 apoptosis로 인한 결실로 선방세포들의 소실에 있음을 알았다.

요 약

췌관의 결찰후에 생기는 췌장위축의 기전을 규명하고자 영양상태가 양호한 평균체중 200 gm정도의 Sprague-Dawley종 백서 57마리를 실험에 사용하였다. 실험동물들은 췌관의 부분결찰을 시행한 뒤, 슬후 1, 3, 6, 12시간, 1, 2, 3, 4, 5일, 및 1, 2, 8주에 각각 도살하여 광학현미경 및 전자현미경적으로 검색을 시행하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 광학현미경적 소견으로는, 초기소견으로 간질성 부종 및 국소적괴사가 2일째까지 관찰되고, 또 이 시기에 선방세포내의 zymogen granule의 감소, 세포질내의 공포형성 및 핵농축과 분절을 보이고, 선방세포의 수가 감소되고, 그리고 선방세포질내에 apoptotic body가 출현하였다. 5일째에는 선방세포가 소실되고 그 이후에는 개재소관들(intercalated ducts)만 남았다.

2) 투과 및 주사 전자현미경적 소견으로는, 선방세포내에 membrane-bounded apoptotic body가 췌관결찰 후 1일째 부터 출현하여 3일째에 가장 현저한 증가를 보였다. 이들 apoptotic body는 대부분 인접한 대식세포나 혹은 상피세포에 의해 탐식되어 있었다.

이상의 성적으로 미루어보아 췌관결찰 후에 오는 선방세포의 위축은 apoptosis로 인한 선방세포의 결실(deletion)에 의한 것으로 사료된다.

- 1) Boquist L, Edström C: *Ultrastructure of pancreatic acinar and islet parenchyma in rats at various intervals after duct ligation.* Virchows Arch [A] 349:69, 1970
- 2) Churg A, Richter WR: *Early changes in the exocrine pancreas of the dog and rat after ligation of the pancreatic duct: A light and electron microscopic study.* Am J Pathol 63:521, 1971
- 3) Pound AW, Walker NI: *Involution of the pancreas after ligation of the pancreatic ducts: I. A histological study.* Br J Exp pathol 62:547, 1981
- 4) Zeligs JD, Janoff A, Dumont AE: *The course and nature of acinar cell death following pancreatic ligation in the guinea pig.* Am J Pathol 80:203, 1975
- 5) Longnecker DS: *Pathology and pathogenesis of diseases of the pancreas.* Am J Pathol 107: 103, 1982
- 6) Walker NI: *Ultrastructure of the rat pancreas after experimental duct ligation: I. The role of apoptosis and intraepithelial macrophages in acinar cell deletion.* Am J Pathol 126:439, 1987
- 7) Hultquist GT, Jönsson LE: *Ligation of the pancreatic duct in rats.* Acta Soc Med Upsal 70:82, 1965
- 8) Luft JH: *Improvement in epoxy resin embedding method.* J Biophysic Biochem Cytol 9:409, 1961
- 9) Watson ML: *Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals.* J Biophysic biochem cytol 226:475, 1958
- 10) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy.* J Cell Biol 17:208, 1963
- 11) Tanaka K, Mitsushima A: *A revised osmium-DMSO-osmium method with aldehyde perfusion.* J Microsc 133:213, 1984
- 12) Hanaki M, Tanaka K, Kashima Y: *Scanning electron microscopic study on mitochondrial cristae in the rat adrenal cortex.* J Electron Microsc 34:373, 1985
- 13) Arnozan V, cited by Pound AW, Walker NI: *Involution of the pancreas after ligation of the pancreatic ducts: I. A histological study.* Br J Exp Pathol 62:547, 1981
- 14) Herriott BA, Sinnet PF, Palmer AA: *The occurrence in the rat of an accessory pancreatic duct*

- opening directly into the duodenum. *Aust J Exp Biol Med Sci* 43:175, 1965
- 15) **Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR:** Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239, 1972
 - 16) **Wyllie AH:** Cell Death: A new classification separating apoptosis from necrosis, in Bowen ID, Lockshin RA(eds): *Cell Death in Biology and Pathology*. London, Chapman and Hall Ltd, 1981, p 9
 - 17) **Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR:** Cell death: The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 68:251, 1980
 - 18) **Searle J, Lawson TA, Abbott PJ, Harmon B, Kerr JFR:** An electron-microscope study of the mode of cell death induced by cancer-chemotherapeutic agents in populations of proliferating normal and neoplastic cells. *J Pathol* 116:129, 1975
 - 19) **Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ:** Necrosis and apoptosis: Distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 17(2): 229, 1982
 - 20) **Trump BF, Berezsky IK, Osornio-Vargas AR:** Cell death and the disease process. The role of calcium, in Bowen ID, Lockshin RA (eds): *Cell Death in biology and Pathology*. London, Chapman and Hall Ltd, 1981, p 209
 - 21) **Wyllie AH:** Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284:555, 1980
 - 22) **Wyllie AH, Morris RG, Smith AL, Dunlop D:** Chromatin cleavage in apoptosis: Association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 142:67, 1984
 - 23) **Cohen JJ, Duke RC:** Glucocorticoid activation of a calcium dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. *J Immunol* 132:38, 1984
 - 24) **Morris RE Jr:** Studies on the development of pancreatic necrosis in the living mouse. *Bull Johns Hopkins Hosp* 114:212, 1964
 - 25) **Inoue K, Yazigi R, Watson LC, Gourley WK, Rayford PL, Thompson JC:** Increased release of cholecystokinin after pancreatic duct ligation. *Surgery* 91:467, 1982
 - 26) **Edström C, Hassler O:** Functional capacity, alloxan sensitivity, and vascular supply of pancreatic islet parenchyma during the first week after duct ligation. *Acta Sec Med Upsal* 76:211, 1971
 - 27) **Sheridan JW, Bishop CJ, Simmons RJ:** Biophysical and morphological correlates of kinetic change and death in a starved human melanoma cell line. *J Cell Sci* 49:119, 1981
 - 28) **Kerr JFR:** Shrinkage necrosis: A distinct mode of cellular death. *J Pathol* 105:13, 1971
 - 29) **Kerr JFR, Searle J:** Deletion of cells by apoptosis during castration induced involution of the rat prostate. *Virchows Arch [Cell Pathol]* 13:87, 1973
 - 30) **Helminen HJ, Ericsson JLE:** Ultrastructural studies on prostatic involution in the rat: Evidence for focal irreversible damage to epithelium and heterophagic digestion in macrophages. *J Ultrastruct Res* 39:443, 1972
 - 31) **Sadow BA, West NB, Norman RL, Brenner RM:** Hormonal control of apoptosis in hamster uterine luminal epithelium. *Am J Anat* 156:15, 1979
 - 32) **Adams DO:** The structure of mononuclear phagocytes differentiating in vivo: I. Sequential fine and histologic studies of the effects of bacillus Calmette-Guerin. *Am J Pathol* 76:17, 1974
 - 33) **Helminen HJ, Ericsson JLE:** Studies on mammary gland involution: II. Ultrastructural evidence for auto and heterophagocytosis. *J Ultrastruct Res* 25: 214, 1968
 - 34) **Wyllie AH:** Commentary: What is apoptosis? *Histopathol* 10:995, 1986
- Abstract —
- Mechanisms of Acinar Cell Deletion
in Rat Pancreas Following Experimental
Duct Ligation**
- Sang Pyo Kim, M.D., Kun Young Kwon, M.D.
Sang Sook Lee, M.D. and Chai Hong Chung, M.D.**
- Department of Pathology, Keimyung University
School of Medicine*
- This study was carried out to investigate the mechanisms of acinar cell deletion, leading to the pancreatic atrophy of rat pancreas after experimental duct ligation. Fifty-seven male Sprague-Dawley rats, maintained on a stock diet, weighing 200 gm, in average, were divided into 2 experimental groups.
- Group 1. Control group. Six rats. Abdominal cavity was opened and closed without further treatment.
- Group 2. Fifty-one rats. Animals were treated with

partial ligation of the pancreatic ducts according to the procedure developed by Hultquist followed by sequential sacrifices at: 1 hour (3 rats), 3 hours (3 rats), 6 hours (6 rats), 12 hours (3 rats) and 24 hours (8 rats); 2 days (8 rats), 3 days (3 rats), 4 days (3 rats) and 5 days (5 rats); 1 week (3 rats), 2 weeks (3 rats) and 8 weeks (3 rats); after ligation. Distal part of the pancreas of the animals after partial ligation was extirpated and examined by both light and electron microscopy.

The results obtained were as follows:

Light microscopically, noted were an interstitial edema and focal necrosis of the pancreatic tissue along with fine vacuolization and depletion of the zymogen granules in the acinar cell cytoplasm and condensation of the acinar cell nucleus. These changes were observed by 2 days after ligation. At about the same time, one can observe the dense body, identified to be apoptotic body, in the acinar cells which were found to be decreased in quantity. By 5 days after ligation, no recognizable

acinar cells left in the collagenous stroma except intercalated ducts. Conspicuous stroma except intercalated ducts. Conspicuous stromal hyalinization, thereafter.

Electron microscopically (TEM and SEM), nuclear condensation and margination toward the nuclear membrane was noted by 6 hours after duct ligation. By 24 hours sporadic membrane-bounded apoptotic bodies appeared in the acinar cells, the number of which reaching to the peak by 3 days after ligation. These apoptotic bodies were found to be phagocytosed by either intraepithelial mononuclear phagocytes or adjoining acinar cells.

It can be concluded, therefore:

That orderly remodeling of pancreatic exocrine tissue during atrophy is effected by rapid deletion of acinar cells by apoptosis.

Key Words: Apoptosis, Atrophy, Pancreatic duct ligation