

## 간세포 암종의 Kupffer 세포 변동에 관한 연구

연세대학교 의과대학 병리학교실

박 영 년 · 정 순 희 · 박 찬 일

### 서 론

간세포 암종의 조직학적 유형중 가장 흔한 것은 소주형 (Trabecular type)으로서 암세포들로 이루어진 소주들과 풍부한 정맥동 (sinusoid) 구조로 구성되기 때문에 암세포들의 분화가 매우 좋은 경우에 작은 생검조직만으로는 간세포 선종이나 증식성 결절들과의 병리학적인 감별이 용이하지 않다.

비종양성 간의 정맥동에는 조직구의 일종인 kupffer 세포가 존재하여 간으로 하여금 중요한 세망내피계 (reticuloendothelial system)의 역할을 수행하게 한다. 인체에 존재하는 조직구는 골수 단핵구 기원의 대식세포와 흉선과 관련된 조직구로 분류된다고 알려져 있으며<sup>1-3)</sup> 전자는 다량의 lysozyme을 함유하는 반면 후자는 s-100 단백을 함유하면서 lysozyme을 갖지 않는다. 간세포 암종은 간세포의 암성증식이므로 이론적으로 간암 조직내에는 kupffer 세포가 없어야 하며, 그것이 사실이라면 고분화 소주형 간세포 암종의 병리학적 진단에 도움이 될것이 분명하다. 그러나 이에 관한 연구는 그리 많지 않을 뿐 아니라, 학자에 따라서는 kupffer 세포가 존재하지 않는다고 주장한 반면<sup>4,5)</sup> 다른 학자들은 그 존재를 확인보고한 바 있다<sup>6-11)</sup>.

그러므로 본 연구는 lysozyme과 S-100 단백질에 대한 면역세포 화학적 방법을 이용하여 kupffer 세포의 기원을 확인하고 간세포 암종에서의 kupffer 세포의 존재 여부를 조사하고자 시행되었다.

### 연구 대상 및 방법

본 연구는 1988년 1월부터 9월까지 연세대학교 의과대학 병리학교실에서 진단된 간세포 암종중 간엽절제술이 시행되고 조직학적으로 소주형이었던 12예를 대상으로 하였으며, 종양과 주위 간조직을 포함한 부위로부터 2개 이상의 조직편을 절취하여 검색하였다.

모든 조직편을 포르마린에 고정하고 파라핀에 포매하였으며, hematoxylin-eosin (H-E) 염색표본으로 광학현미경적적인 검색을 시행하였다. kupffer 세포의 존재를 파악하기 위하여는 파라핀블록을 재박절하여 항-lysozyme과 항-s-100 단백을 1차 항체로한 면역과산화효소법 (peroxidase-antiperoxidase, PAP) (Histo-gen kit, Biogenex Lab. San Ramon, CA, USA)으로 염색하여 조사하였다. 종양조직의 PAP 염색표본에 있는 서로 다른 4군에서 각각 10개의 고배율 시야 (10 high power field, HPF)에 나타난 kupffer 세포의 수를 세어서 그 평균치를 구하였으며, 종양주변의 간조직에 대하여도 같은 방법으로 kupffer 세포의 수를 계산하였다.

### 결 과

연구대상이었던 소주형의 간세포 암종 12예에서 환자의 연령, 혈청 HBsAg 및 암종주변 간조직의 병변들을 요약하면 Table 1과 같다. 혈청 HBsAg 검사가 시행되었던 것은 10예이며, 그중 6예가 양성이었다. 혈청 HBsAg 양성인 6예를 포함한 8예에서는 종양주변의 간조직에 간경화증의 소견을 보였으며, HBsAg 음성이었던 것중 2예와 HBsAg 검사가 시행되지 않았던 예중 1예에서는 문맥에의 비특이성 염증 소견이 관찰되었다.

\*본 논문의 요지는 1988년 5월 20일 대한병리학회 제13차 춘계 학술대회에서 발표되었음.

\*본 연구는 연세의료원 의학 학술연구비 (1989)로 이루어졌음.

### 1. Lysozyme 및 s-100 단백질에 대한 PAP 염색 소견

종양주변 간조직의 동양구조에서는 간경화성 병변의 유무에 관계없이 H-E 염색상으로도 kupffer 세포의 관찰이 용이하였으며(Fig. 1a), 이러한 세포들은 lysozyme

Table 1. Patients Age/Sex, HBsAg status and histological diagnosis of the surrounding liver

Case	Age/Sex	HBsAg	Surrounding Liver
1	53/F	-	Macro- & micronodular cirrhosis
2	37/M	+	Macronodular cirrhosis
3	52/F	+	Macronodular cirrhosis
4	49/M	+	Macro- & micronodular cirrhosis
5	58/M	+	Macronodular cirrhosis
6	57/M	-	Macronodular cirrhosis
7	43/M	+	Macronodular cirrhosis
8	57/M	+	Macronodular cirrhosis
9	57/F	-	Nonspecific reactive hepatitis
10	60/M	NT	Irregular regeneration & dysplasia
11	56/M	NT	Nonspecific reactive hepatitis
12	53/F	-	Nonspecific reactive hepatitis

NT : not tested

에 대한 면역세포화학적 염색상 양성인 반면(Fig. 1b) S-100 단백질염색에는 음성반응을 보여 골수 단핵구 기원의 대식세포로 분류되었다.

소주형 간세포 암종의 암조직내 정맥동에서도 H-E 염색상 동양구조의 내피세포보다 두드러져 보이고 각이진 세포질을 가진 피복세포들이 관찰되었으며(Fig. 2a) 이러한 세포들 중 일부는 역시 lysozyme에 대한 PAP 염색에 양성(Fig. 1, 2b), S-100 단백질에는 음성반응을 보였다. 염색강도에 있어서 종양조직과 주변 간조직의 lysozyme 양성 kupffer 세포들간에는 뚜렷한 차이가 없었다. 동양구조 내피세포에는 lysozyme이 존재하지 않으며 침윤된 염증세포중 단핵구와 중성백혈구에는 풍부한 lysozyme을 함유하고 있으나 이들은 각진 세포질을 갖지 않으며 간정맥동에 붙어 있지 않은 점으로 kupffer 세포와의 구별이 가능하였다.

### 2. Kupffer 세포 수의 변화

Lysozyme에 대한 PAP 염색에서 종양조직과 그 주변 간조직에 있는 kupffer 세포의 수를 조사한 바 그 결과는 Table 2와 같다. 간세포 암종의 종양조직내에는 대개 HPF 당 평균 8~12개의 kupffer 세포가 있었으며 3예(증례 5, 11 및 12)에서는 보다 많은 수의 잘 발달된 kupffer 세포가 관찰되었다.

종양주변의 간조직에는 2예의 간세포 암종(증례 11 및 12)을 제외하면, 종양조직보다 약 2~7배에 달하는

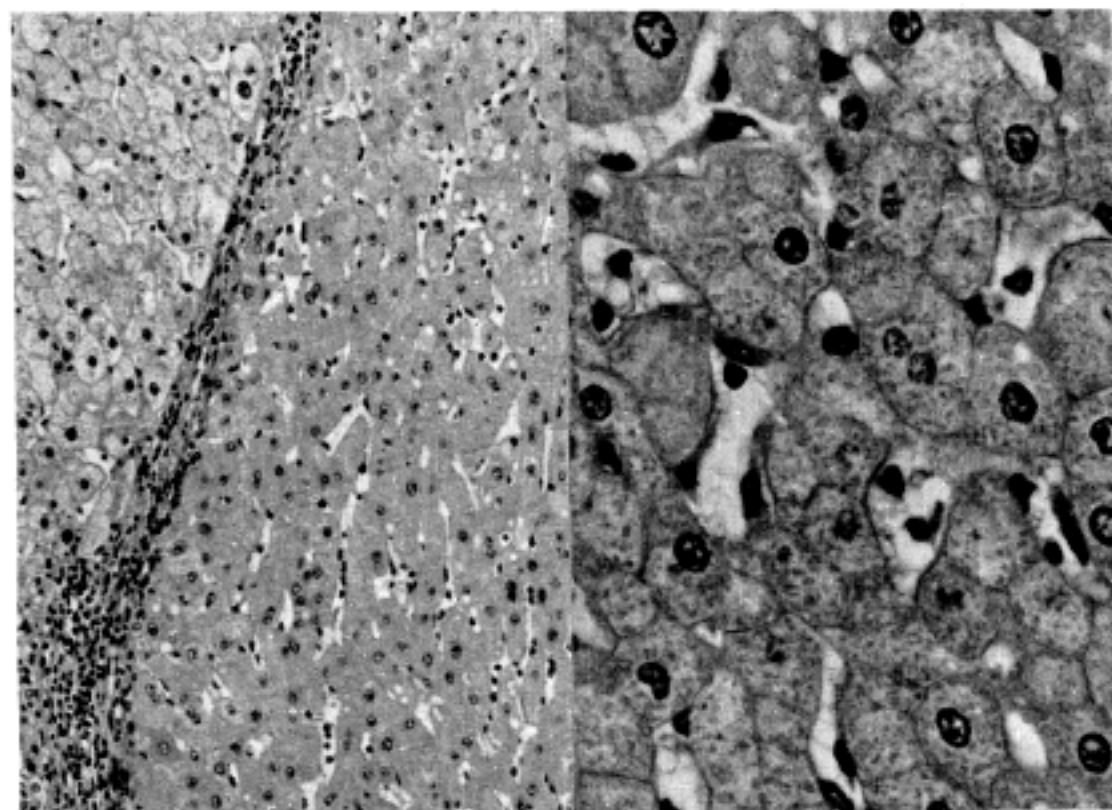


Fig. 1a. Liver cirrhosis with many sinusoidal lining cells, some of which are unequivocally Kupffer cells. (right, H&E, x100 ; left, H&E, x400)

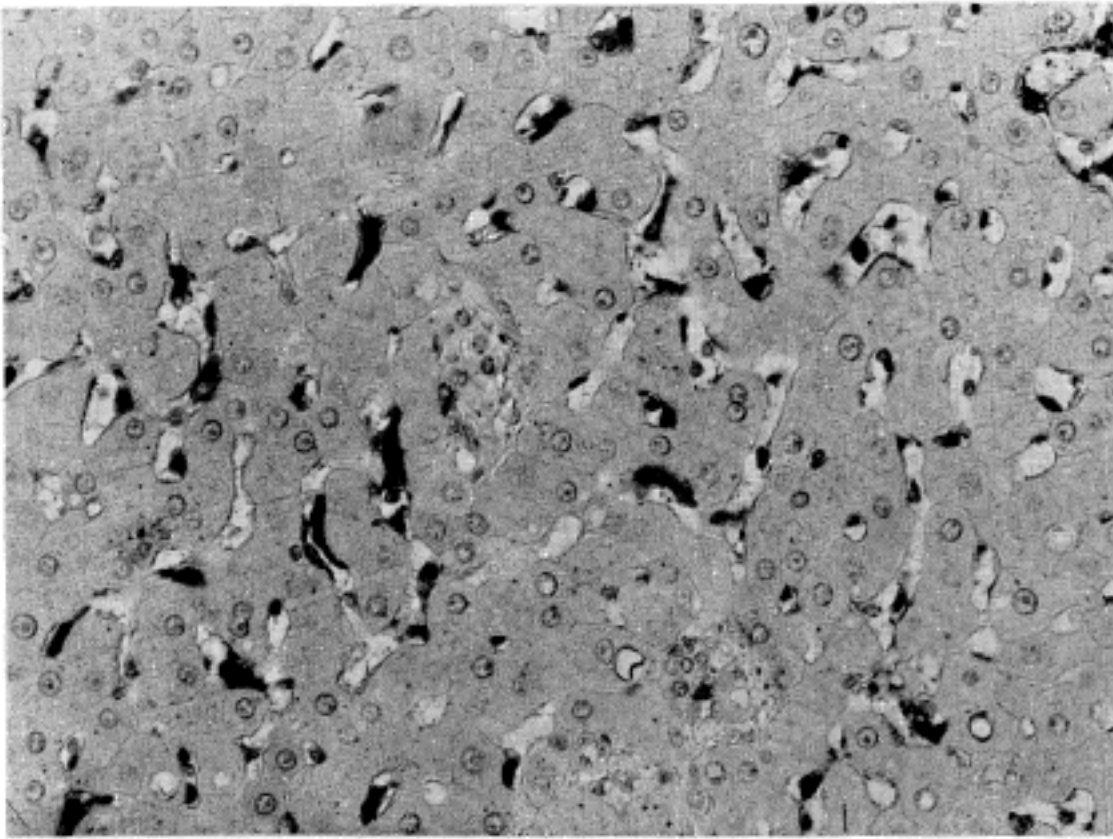


Fig. 1b. Liver cirrhosis..Many of the sinusoidal cells are positive for lysozyme. (PAP, x200)

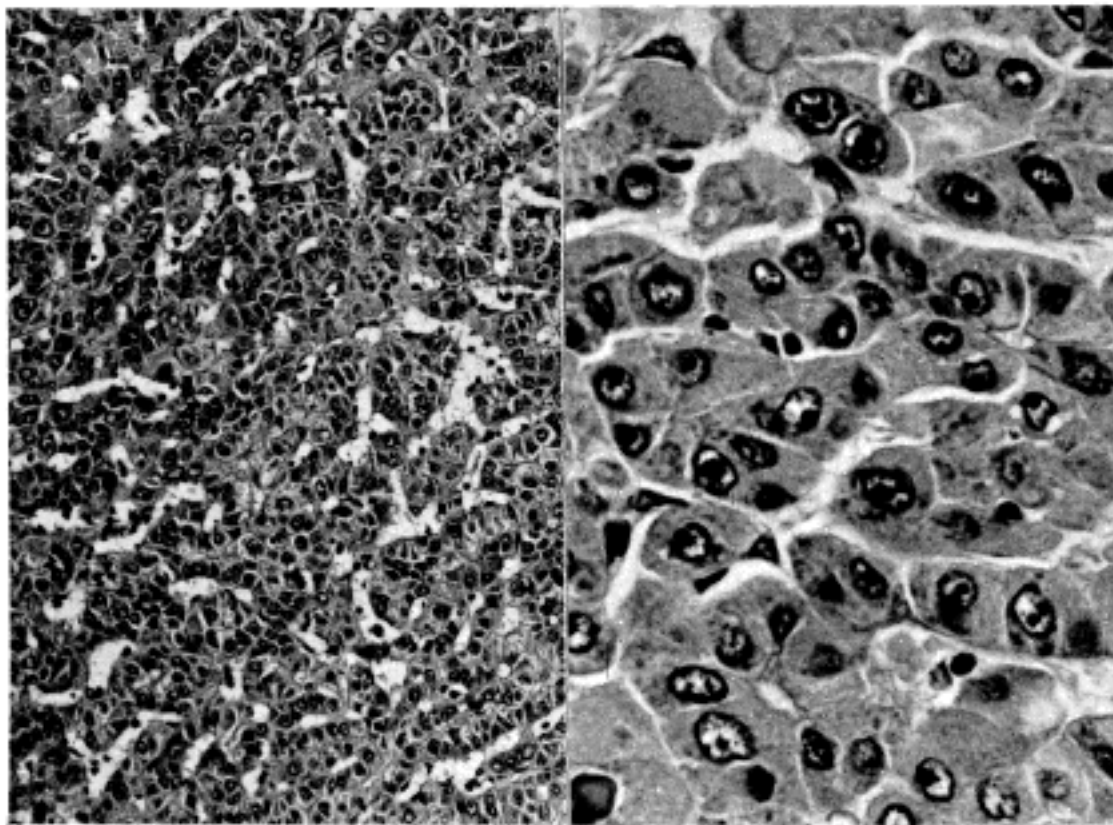


Fig. 2a. Hepatocellular carcinoma of trabecular type with an apparent sinusoidal pattern, suggesting the presence of Kupffer cells. (right, H&E, x100 ; left, H&E, x400)

kupffer 세포가 존재하였으며, 이러한 종양조직 내외의 kupffer 세포수의 차이는 student t test상  $p < 0.05$ 로 의의있었다. 종양주변 간조직중 간경화증이 없는 경우 kupffer 세포수가 HPF 당 30~38개인데 비하여 간경화증이 있었던 8예중 4예에서는 50개 이상이었으며 이들은 모두 혈청 HBsAg 양성이었다. 종양부변 간조직에 kuffer 세포수가 가장 많았던 것은 증례 5의 83개였으며 이 경우에는 종양내에도 HPF 당 평균 43개로 종양조직

중 가장 많았다.

## 고 찰

인체의 조직구 중에는 폐포식세포(pulmonary alveolar macrophage), 파골세포, 중추신경계의 마이크로글리아(CNS microglia) 그리고 녹막, 복막 및 활막에 고착되어 있는 식세포와 같이 풍부한 lysozyme을

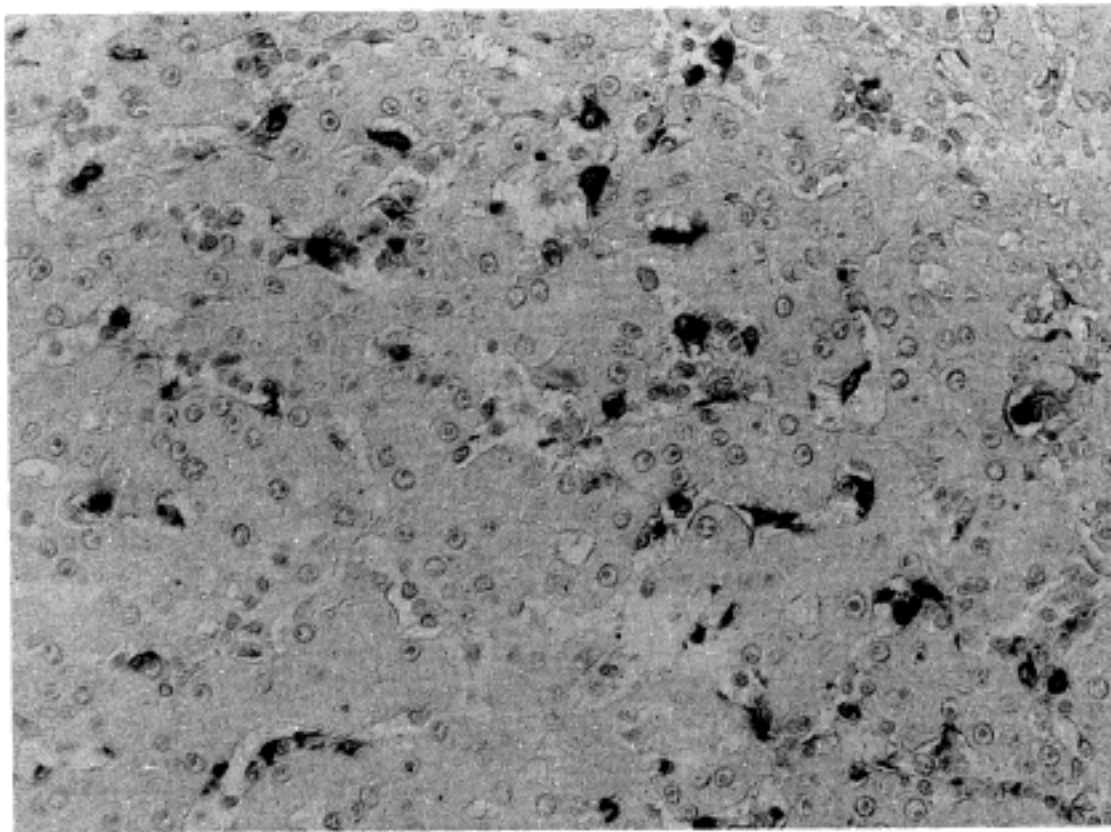


Fig. 2b. Sinusoids of the trabecular type hepatocellular carcinoma showing lysozyme positive Kupffer cells. (PAP, x200)

Table 2. Number of kupffer cells within the hepatocellular carcinoma and the surrounding liver

Case	HCC	S-L	S-L/HCC*
1	12 (2.68)	29 (2.28)	2.4
2	12 (1.08)	33 (5.52)	2.8
3	11 (1.50)	58 (1.08)	5.3
4	11 (1.08)	61 (1.65)	5.9
5	43 (3.26)	83 (1.87)	1.9
6	9 (1.64)	25 (2.86)	2.8
7	8 (1.68)	59 (1.05)	7.4
8	9 (1.43)	29 (2.04)	3.2
9	11 (1.92)	38 (1.89)	3.5
10	11 (1.48)	37 (3.21)	3.4
11	25 (8.28)	31 (2.90)	1.2
12	25 (1.70)	30 (1.43)	1.2

\*P < 0.05

Results of each case represent the average kupffer cell number fo 10 HPF from 4 different areas of HCC and S-L. Standard deviation of each set is given in parentheses. HCC : hepatocellular carcinoma, S-L : surrounding liver

함유하는 종류와 표피의 Langerhans 세포, 림프절에 존재하는 dendritic reticulum 세포 및 interdigitation 세포와 같이 lysozyme이 없고 S-100 단백을 함유하는 종류가 있다. 전자는 골수의 단핵구에서 기원하는 대식세포의 일종으로 보고있으며, 후자는 태생 3개월째에 흉선

수질에 처음 출현하였다가 말초림프조직으로 퍼져나가기 때문에 T-zone 조직구라고 불리워진다. kupffer 세포도 간의 동양구조에 고착되어 존재하는 고착식세포 (fixed tissue macrophae) 즉 조직구이며, 본 연구의 면역세포화학적 염색결과 lysozyme을 함유하는 반면 S-100 단백을 갖지 않는 것으로 보아 골수 단핵구 기원의 조직구로 생각된다.

간세포 암종에서의 kupffer 세포에 대한 연구는 그리 많지 않으며 학자들마다 kupffer 세포의 존재여부에 관한 견해가 서로 다르다. Higgins<sup>4)</sup>는 간세포 암종내에 kupffer 세포가 존재하지 않는다고 하였던 반면 Maradame<sup>7)</sup>와 Tabarin등<sup>10)</sup>은 정상간에서 보다 kupffer 세포수가 감소된다고 하였고 Tobe등<sup>11)</sup>은 분화가 좋은 간세포 암종의 경우 정상간에서와 거의 같은 수의 kupffer 세포가 관찰된다고 보고하였다. 동양구조를 갖춘 소주형 간세포 암종만을 대상으로 하였던 본 연구에서 kupffer 세포수가 주변 간조직보다는 적지만 분명히 관찰되는 것으로 미루어 보면 기존의 연구결과들이 상이하였던 것은 간세포 암종의 분화정도 특히 간 동양구조 형성여부에 따른 차이로 사료된다.

실험적으로 유발된 쥐의 간세포 암종에서도 kupffer 세포수에 관한 결과들이 일치하지 않는다. 즉 Ogawa<sup>5)</sup>는 diethyl nitrosamine으로 유발된 간결절에 india ink를 정맥주사하여 관찰한 바 kupffer 세포를 볼 수 없었

다고 하였으나 Reuber<sup>8)</sup>는 N-2-fluorenyl-acetamide로 유발한 그리고 Farber<sup>6)</sup>는 ethionine으로 유발한 간결절에서 kupffer 세포의 존재를 관찰하였다고 보고하였다. 또한 anamite를 쥐에 투여할 때 초래되는 일련의 간암 유발과정중 kupffer 세포의 수가 점차적으로 희박해져 가는 것을 관찰한 Papper 등<sup>12)</sup>의 결과와 간세포 암종에서 동양구조의 fenestration이 감소하여 kupffer 세포의 동양구조 부착이 억제될 가능성<sup>9)</sup>을 고려할 때 kupffer 세포의 수는 간세포 암종의 분화도와 밀접한 관계가 있을 것 같다.

물론 모든 kupffer 세포가 면역세포화학적 검사에서 양성으로 나타날 만큼 충분한 양의 lysozyme을 함유한다고 볼 수 없으므로 간세포 암종에서는 kupffer 세포의 기능이 저하되어 lysozyme 양성인 세포의 수가 감소되었을 가능성을 배제할 수 없다. Lysozyme 양성인 세포의 수가 최소한의 kupffer 세포수를 나타내는 것이라고 가정하면<sup>13)</sup> 간세포 암종이 Tc<sup>99m</sup> colloid liver scan 상 음영 결손으로 나타나는 것<sup>14-17)</sup>도 kupffer 세포의 기능적 감소를 의미하는 것일런지 모른다.

Kupffer 세포는 암세포에 대하여 세포정지효과 (cytostatic effect)를 가지기 때문에<sup>18)</sup> 다른 어떤 원인에 의해서라도 그 수나 기능이 감소하면 종양감시기능의 결함으로 말미암아 간세포 암종의 발생가능성이 높아질 것으로 추측된다<sup>19)</sup>. 간세포 암종의 전암병변이라고 간주되고 있는 간경변증에서 비경화성 만성간질환보다 kupffer 세포의 수가 적은 것은<sup>20)</sup> 그 간접적인 증거의 하나라고 볼 수 있다. 그러나 본 연구에서는 간경화증이 있었던 8예중 4예에서 간경화증이 없었던 경우보다 많은 수의 kupffer 세포를 함유하였다. 일반적으로 간암과 관련된 경화증은 비활동성인데 반하여 본 연구에서 kupffer 세포의 수가 많았던 간경화증 예들은 모두 혈청 HBsAg 양성에 따른 간염 때문이라고 사료되었다.

## 결 론

소주형이 간세포 암종 12예에 대하여 lysozyme과 S-100 단백질에 대한 면역세포 화학적 검사를 시행하여 kupffer 세포의 기원, 간세포 암종내 kupffer 세포의 존재여부를 조사한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Kupffer 세포는 lysozyme을 함유하나 s-100 단백을 함유하지 않아 단핵구 기원의 대식세포임을 알 수 있

었다.

2) 간세포 암종 내에서도 kupffer 세포의 존재를 확인할 수 있었으나 그 수는 주변간조직에서 보다 2~7배 적었다( $p < 0.05$ ).

3) 간세포 암종 주변 간조직의 kupffer 세포 수는 혈청 HBsAg이 양성인 경우에 좀 더 많은 경향을 보였다.

## 참 고 문 헌

- 1) Klockars M, Reitamo S: Tissue distribution of lysozyme in man. *J Histochem Cytochem* 23:932, 1975
- 2) Pinkus GS, Said JW: Profile of intracytoplasmic lysozyme in normal tissue, myeloproliferative disorder, hairy cell leukemia and other pathological processes. *Am J Pathol* 89:351, 1977
- 3) Watanabe S, Shimosato Y, Nakajima T: Proliferative disorder of histiocytes, Malignant lymphoma, A pathological annual monograph, Appleton-Century-Crofts, Norwalk, Connecticut, 1983, p 65
- 4) Higgins GK: The pathologic anatomy of primary hepatic tumors, In tumors of liver, ed, G K Park and A H Islami, William Heinemann, London 1970, p 15
- 5) Ogawa H, Itoshima T, Ito T, Kiyotoshi S, Kamaguchi K, Kitadai M, Hattori S, Mizutani S, Ukida M, Tobe K, Nagashima H, Kobayashi T: Absence of kupffer cells in carcinogen induced liver hyperplastic nodules, demonstration by intravenous injection of india ink. *Acta Med Okayama* 37(1):79, 1983
- 6) Farber E: Ethionine carcinogenesis. *Adv Cancer Res* 7:383, 1963
- 7) Madarame T: Scanning electron microscopical observation of hepatocellular carcinoma experimentally induced in rats. *J Iwate Med Assoc* 36:749, 1984
- 8) Reuber MD: Development of preneoplastic and neoplastic lesions of the liver in male rats given 0.025 percent N-2-fluorenylacetamide. *J Natl Cancer Inst* 34:697, 1965
- 9) Tarabin A, Biolac-Sage P, Boussarie L, Balabaud C, Mascarel A, Grimaud JA: Hepatocellular carcinoma developed on non-cirrhotic livers. *Arch Path Lab Med* 111:174, 1987
- 10) Tabarin A, Bioulac-Sage P, Merlio JP: Sinusoids ultrastructure of human hepatocellular carcinoma. *J Submicrosc Cytol* 18:171, 1986

- 11) **Tobe K, Tsuchiya T, Fujiwara R:** *Kupffer cells in well-differentiated tissue of hepatocellular carcinoma. Acta Pathol Jpn* 26:630, 1985
- 12) **Popper H, Sternberg SS, Oser BL, Oser M:** *The carcinogenic effect of aramite in rats. Cancer* 13: 1035, 1960
- 13) **Mason DY, Tayloer CR:** *The distribution of muramidase (lysozyme) in human tissue. J Clin Pathol* 28:124, 1975
- 14) **Burdette W:** *Neoplasm of the liver, In Disease of the liver, Schiff L, 4th ed, JB Lippincott Company Philadelphia Toronto, 1975, p 1051*
- 15) **Casarella WJ, Knowles DM, Wolff M, Johnson PM:** *Focal nodular hyperplasia and liver cell adenoma; Radiological and pathological differentiation. Am J Roentgenol* 131:393, 1978
- 16) **Scharschmidt BF:** *Hepatic neoplasm In Cecil text-book of medicine, Wyngaarden JB and Smith LH, W B Sanders company, Philadelphia, 1985, p 848*
- 17) **Welch TJ, Sheedy PF, Johnson CM:** *Focal nodular hyperplasia and hepatic adenoma, comparison of angiography, CT, US and scintigraphy Radiology* 156:593, 1985
- 18) **Pulford K, Souhami RL:** *The cytostatic activity of cultured Kupffer cells. Br J Cancer* 51:31, 1985
- 19) **Cain H:** *Liver cell carcinoma in infancy and childhood, In; Remmer H, Bolt HM, Bannsch P, Popper H; Primary liver tumors, Lancaster; MTP Press, 1975, p 73*
- 20) **Manifold IH, Triger DR:** *Kupffer cell depletion in chronic liver disease; Implications for hepatic carcinogenesis. Lancet* 2:431, 1983

— Abstract —

### Kupffer Cells in Hepatocellular Carcinoma

Young Nyun Park, M.D., Soon Hee Jung, M.D.  
and Chanil Park, M.D.

Department of Pathology, Yonsei University  
College of Medicine

Kupffer cells are tissue macrophages (histiocytes) fixed in hepatic sinusoids.

Since malignant hepatocytes are the only tumor parenchymal cells of the hepatocellular carcinoma, theoretically there are no Kupffer cells within the hepatocellular carcinoma. To clarify whether it is true or not, 12 cases of hepatocellular carcinoma of the trabecular type with some extents of the non-neoplastic surrounding liver were subjected to immunoperoxidase staining for lysozyme and S-100 protein and the results are as follows.

1) Kupffer cells were stained positively by the immunoperoxidase staining for lysozyme but not for S-100 protein, indicating that they are monocyte derived macrophages.

2) Kupffer cells were also present within the hepatocellular carcinoma, but were 2~7 times fewer within the hepatocellular carcinoma than in the non-neoplastic areas ( $p < 0.05$ ).

3) The non-neoplastic hepatic tissue of patients with serum HBsAg shows a tendency to have more kupffer cells than those without HBsAg.

---

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma, Kupffer cell, Histiocyte, Lysozyme