

간세포암종의 전이과정에서 Kupffer세포 수의 변화¹⁾

연세대학교 의과대학 병리학교실

박찬일 · 김의정 · 박영년 · 성순희

Changes of the Kupffer Cell Number in the Course of Metastasis of Hepatocellular Carcinoma

Chanil Park, M.D., Yee Jeong Kim, M.D., Young Nyun Park, M.D. and Sun Hee Sung, M.D.

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine

The number of Kupffer cells was evaluated in hepatocellular carcinomas, including 18 primary lesions, 3 tumor emboli within the portal vein radicles and 4 metastatic lesions and in non-neoplastic liver adjacent to the primary lesions, to pursue the origin of Kupffer cells dwelling in hepatocellular carcinoma. Hepatocellular carcinomas of the sinusoidal(trabecular) type were carefully selected, and excluded were those carcinomas which showed inflammation or other changes evoking inflammation. The immunohistochemical stains for CD 68 and lysozyme were done to identify Kupffer cells and to draw the mean Kupffer cell number per high power microscopic field of each lesion. Kupffer cell was most numerous in primary lesions followed by tumor emboli and still fewer in metastatic lesions. The Kupffer cell number in the primary lesions of hepatocellular carcinoma was in turn smaller than that of the adjacent non-neoplastic liver. The results suggest that, during the early neoplastic transformation, sinusoids of the non-neoplastic liver could creep into the carcinomatous tissue accompanying Kupffer cells. (Korean J Pathol 1992; 26: 247~252)

Key Words: Kupffer cell, Liver, Hepatocellular carcinoma, Tumor emboli, Metastasis

서 론

Kupffer 세포는 간 동양구조의 벽에 부착되어 조직구의 역할을 하는 세포로서 세균, 면역복합체 등과 같이 간세포 손상을 일으키는 물질들을 탐식할 뿐 아니라 leukotriene이나 종양괴사인자(tumor necro-

sis factor)를 분비함으로써¹⁾ 간세포를 보호한다. Kupffer 세포의 세포질에는 다수의 리소솜이 들어 있기 때문에 동양구조의 내피세포와 달리 lysozyme에 대한 면역조직화학적염색에 양성 반응을 보이며, Langerhans세포를 비롯한 T-zone조직구와 달리 S-100 단백을 함유하지 않으므로 골수 단핵구기원으로 여겨지고 있다^{2~3)}.

간소염을 침범하는 염증성 질환이 있으면 염증세포의 침윤과 함께 Kupffer 세포의 수도 증가하는데 이때 증가한 Kupffer 세포는 간의로부터 새로 이주해 온 것이거나 염증이 있는 부위에 존재하던 Kupffer 세포가 증식한 것⁴⁾일 가능성이 있다.

접 수: 1992년 2월 24일, 게재승인: 1992년 3월 17일
주 소: 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지, 우편번호 120-752
연세대학교 의과대학 병리학교실, 박찬일

¹⁾본 연구는 연세대학교 의과대학 1992년도 연구강사연구비로 이루어졌음.

간세포암종의 종괴내부에 Kupffer 세포가 존재하는지의 여부에 관하여는 학자들 사이에 의견의 차이가 있으나⁷⁻⁹⁾ 저자들은 분화가 좋은 육주형 간세포암종의 동양구조에 종괴주변의 동양구조보다 적은 수의 Kupffer 세포가 존재하는 것을 확인한 바 있다⁵⁾.

간세포암종의 종양실질은 내배엽성의 간세포이며, 분화가 좋은 간세포 암종에서는 암세포들의 집단이 잘 발달된 동양구조에 의해 둘러싸여 있다. 그러나 Kupffer 세포는 간세포암종의 종양실질세포가 아니기 때문에 종괴내부의 동양구조에 존재하는 Kupffer 세포는 염증성 간질환의 경우와는 달리 종괴주변 간의 동양구조가 종괴내로 자라 들어갈 때 동반되어 온 것이거나 또는 골수로부터 이주해 온 단핵구가 종괴내에 이미 형성된 동양구조에 부착한 것일 가능성이 있다. 그러므로 저자들은 간세포암종의 원발부위와 혈관을 침습한 간세포암종 및 전이된 간세포암종을 대상으로 Kupffer 세포수의 변동을 조사함으로써 종괴내 Kupffer 세포의 기원을 밝혀 보려고 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

연구대상을 선택하기 위하여 원발성 간세포암종 68 예와 전이된 간세포암종 7예의 hematoxylin-eosin (H-E) 염색표본을 재검색 하였다. 종괴내에 출혈, 괴사 또는 염증과 같은 이차적 변화가 초래되어 있는 예들을 제외하고, 또한 원발성 간세포암종의 경우 종괴적출전에 방사선요법, 고온요법, 간동맥을 통한 색전요법 등이 시행되었던 예들을 제외한 바 연구에 적합한 재료는 원발성 간세포암종 15와 전이된 간세포암종 4 예였다. 전이암 4예 중 3예에서는 간의 원발병소도 생검 또는 절제되었기 때문에 원발병소를 검색할 수 있었던 것은 모두 18예였다. 혈관을 침습한 간세포암종내 Kupffer 세포의 동향을 관찰하기 위하여는 원발성 간세포암종 15예 중 종괴주변 간조직에 있는 간문맥분지에서 종양색전이 발견된 3예를 대상으로 하였다.

선택된 예들의 파라핀블록을 연속절편하여 Kupffer 세포의 유무를 확인하기 위한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 항 lysozyme과 항 CD68(Dako-patts, Glostrup, Denmark)을 일차항체로 사용하였으며, labelled streptavidin-biotin(LSAB kit,

Dako corporation, Carpinteria, CA USA)법으로 염색하였다. 종양조직은 LSAB법으로 염색한 후 염색표본내 4개의 400배 시야에서 관찰되는 Kupffer 세포의 수를 세고 그 평균치를 구하였으며, 원발성 간세포암종의 경우에는 종괴주변의 간조직에서도 같은 방법으로 Kupffer 세포의 수를 조사하였다.

원발성 간세포암종과 그 주변의 간조직, 종양색전, 그리고 간세포암종의 전이병소에서 구한 Kupffer 세포 수의 차이에 대한 의의를 검정하기 위하여 student T-test를 시행하였다.

결 과

연구대상 총 19예 중 간세포암종의 원발병소에서 Kupffer 세포 수를 셀 수 있었던 것은 모두 18예였고 종괴주변 간조직이 포함되었던 것은 15예였으며, 간세포암종이 간문맥 분지에 색전을 일으키고 있었던 것이 3예였다. 간세포암종의 전이병소에서 Kupffer 세포의 수를 검사할 수 있었던 것은 4예였으며, 이들의 전이부위는 1예씩의 림프절 및 담낭과 2예의 피부였다.

연구대상의 간세포암종은 조직학적으로 모두 육주형으로서 lysozyme과 CD68에 대한 면역조직화학적 염색결과 암조직내의 동양구조에서 양성반응을 보이는 세포들이 관찰되었으며, CD68에 대한 염색이 세포의 모양을 관찰하기에 좀 더 용이하였다(Fig. 1~4).

1. 간세포암종의 원발병소내 Kupffer 세포 수

원발성 간세포암종 18예의 Kupffer 세포수는 현미경 400배시야(HPF)당 2.0~13.5개로 평균 4.7 ± 3.15 개/HPF였으며, 종괴주변 간조직의 Kupffer 세포 수는 6.3~25.3개/HPF로 평균 12.3 ± 5.62 개/HPF였다(Table 1). 이러한 차이는 $P < 0.005$ 로서 전체적으로도 통계학적 의의가 있었고 특히 개개의 예에서는 종괴주변 간조직의 Kupffer 세포 수가 종괴내부보다 평균 3.3배(1.2~7.4배) 많았다. 종괴내부의 Kupffer 세포 수가 종괴주변보다 많은 경우는 하나도 없었다.

2. 간문맥 분지의 종양색전내 Kupffer 세포 수

종양색전내의 Kupffer 세포 수는 4.0 ± 1.86 개/

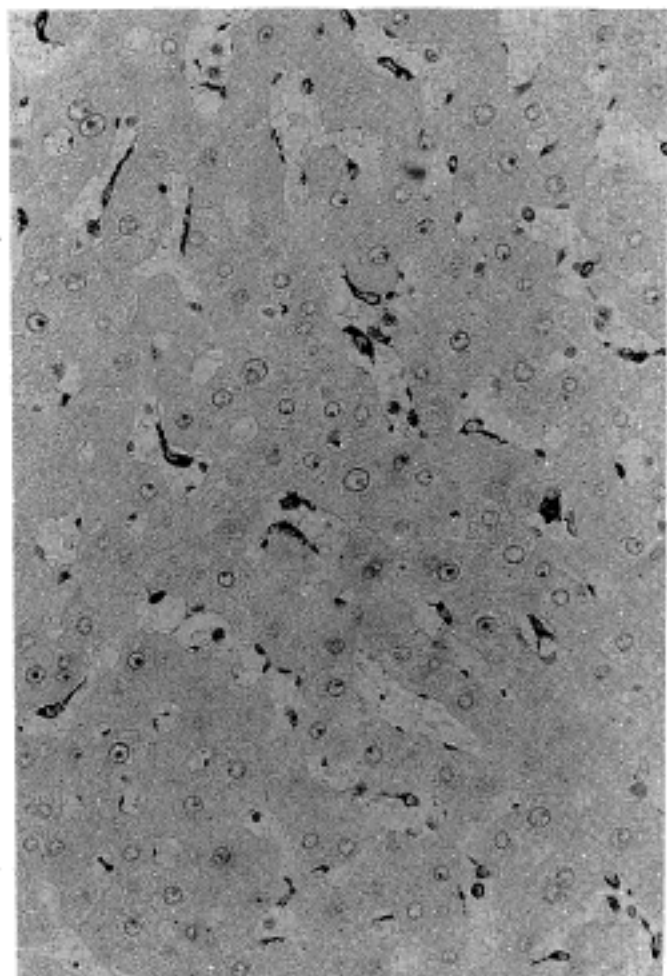


Fig. 1. Kupffer cells in normal liver(CD 68, LSAB).

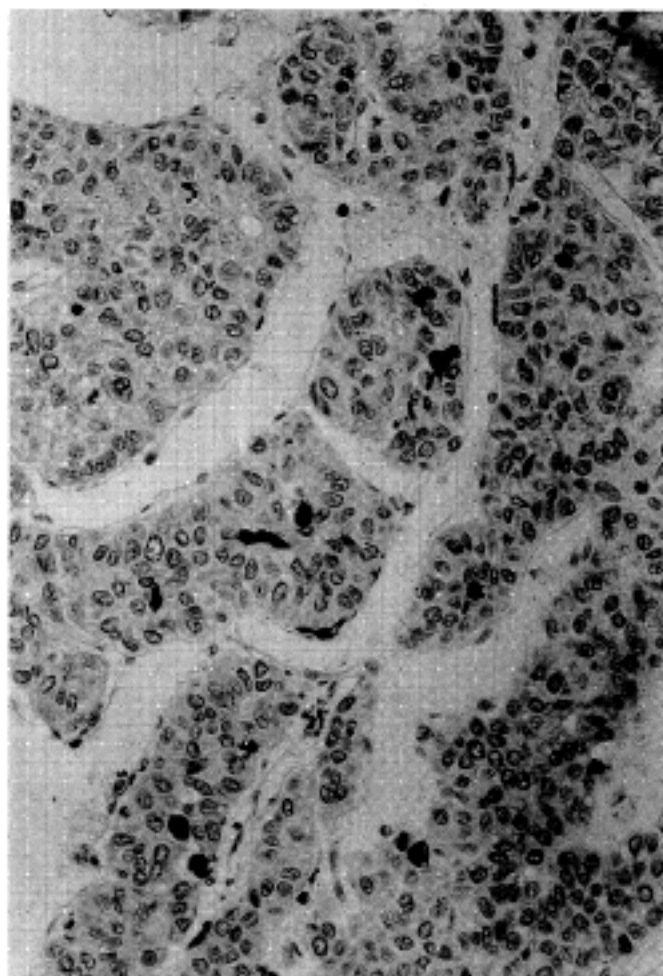


Fig. 2. Kupffer cells in primary hepatocellular carcinoma(CD 68, LSAB).

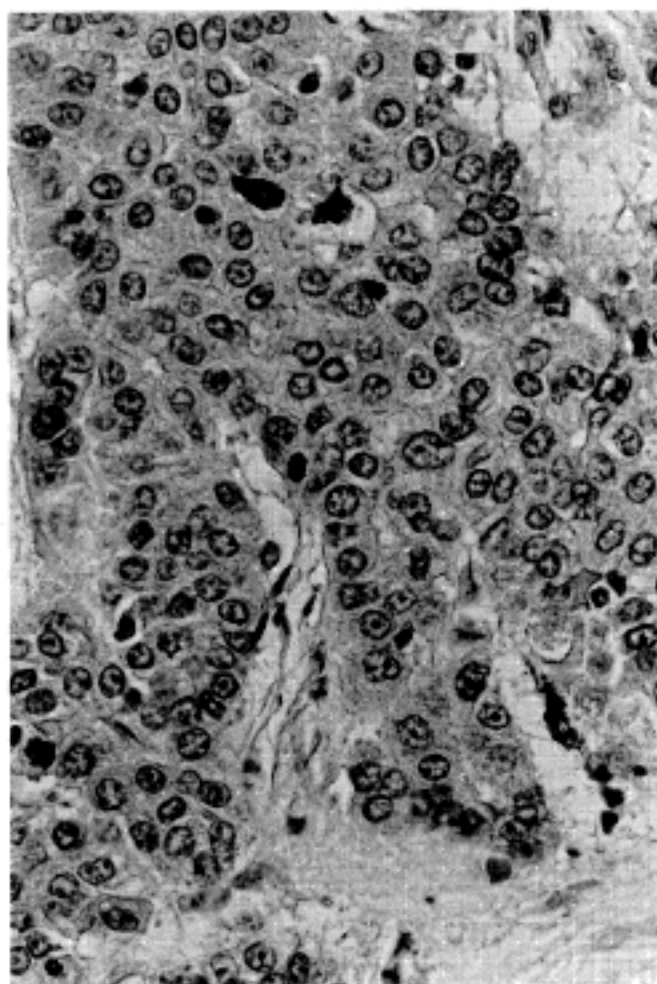


Fig. 3. Kupffer cells in portal tumor emboli(CD 68, LSAB).

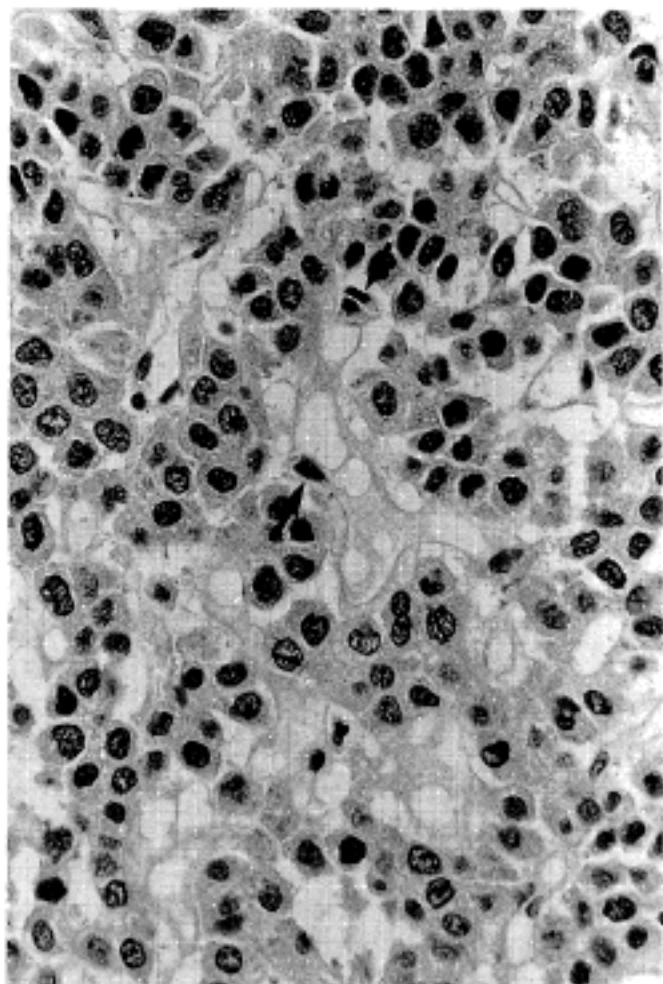


Fig. 4. Kupffer cells in metastatic hepatocellular carcinoma(CD 68, LSAB).

Table 1. Kupffer cells in primary hepatocellular carcinoma and surrounding non-neoplastic liver

Case	Age/Sex	Non-neopl liver*	Primary HCC*	N-L/PHCC
1	53/F	7.3	3.0	2.4
2	37/M	8.3	3.0	2.8
3	52/F	14.5	2.8	5.3
4	49/M	15.3	2.8	5.9
5	58/M	20.8	10.8	1.9
6	57/M	6.3	2.3	2.8
7	43/M	14.8	2.0	7.4
8	57/M	7.3	2.3	3.2
9	57/F	9.5	2.8	3.5
10	60/M	9.3	2.8	3.4
11	56/M	7.8	6.3	1.2
12	53/F	7.5	6.3	1.2
13	50/F	25.3	13.5	1.9
14	49/M	13.5	6.5	2.1
15	57/M	16.5	3.8	4.3
16	50/M		3.0	
17	50/M		4.3	
18	57/M		6.5	
mean		12.3	4.7	3.3
±SD		±5.62	±3.15	±1.77

*Values are Kupffer cell number per high power field(×400).
 p<0.005
 HCC: Hepatocellular carcinoma
 Non-neoplastic liver
 PHCC: Primary HCC
 SD: Standard deviation

HPF였으며, 같은 예들의 원발병소내 Kupffer세포의 수는 7.9±5.01개/HPF였다. 종괴내 Kupffer 세포의 수가 3.8~13.5개/HPF로 각 예들마다 큰 차이를 보였으나 같은 예의 종양색전 보다는 평균 2배가량 많았다(Table 2). 즉 색전내에 Kupffer 세포가 많은 경우에는 종괴내에도 많았다.

3. 간세포암종 전이병소의 Kupffer 세포 수

전이된 간세포암종내의 Kupffer 세포 수는 1.9±1.11개/HPF로서 같은 예의 원발병소보다 약 2.5배 적었으며(p<0.05), 전이병소의 Kupffer 세포 수가

Table 3. Kupffer cells in primary and metastatic hepatocellular carcinoma

Case	Age/Sex	Primary HCC*	Metastatic HCC*	PHCC/MHCC
16	50/M	3.0	2.5	1.2
17	50/M	4.3	2.8	1.5
18	57/M	6.5	1.8	3.6
19	44/M	-	0.3	-
Mean		4.6	1.9	2.1
±SD		±1.77	±1.11	±1.31

*Values are Kupffer cell number per high power field(×400).
 HCC: Hepatocellular carcinoma
 PHCC: Primary HCC,
 MHCC: Metastatic HCC
 SD: Standard deviation
 p<0.05

Table 2. Kupffer cells in primary hepatocellular carcinoma and portal tumor emboli

Case	Age/Sex	Non-neopl liver*	Primary HCC*	Portal Tumor emboli*	PHCC/Emboli
13	50/M	25.3	13.5	6.0	2.3
14	49/M	13.5	6.5	2.3	2.8
15	57/M	16.5	3.8	3.8	1.0
Mean ±SD		18.4±6.13	7.9±5.01	4.0±1.86	2.0±0.93

*Values are Kupffer cell number per high power field(×400).
 HCC: Hepatocellular carcinoma
 PHCC: Primary HCC
 SD: Standard deviation
 p>0.1

원발부위보다 많은 경우는 없었다(Table 3).

고 찰

정상간의 동양구조에 부착되어 있는 Kupffer 세포는 간의 고정 대식세포(fixed macrophage)이다. Kupffer 세포는 세포질에 풍부한 lysozyme을 함유하는 반면 S-100 단백을 갖고 있지 않음으로 골수 단핵구에서 유래하는 것으로 알려져 있으며²⁻⁵⁾, 비실질 간조직의 약 30%를 차지하여 간으로 하여금, 세망내피계의 역할을 수행하게 한다¹⁰⁾. 인체 다른 부위의 대식세포 또는 조직구와 마찬가지로 탐식작용외에도 leukotri-ene이나 종양괴사인자¹¹⁾ 등의 분비에 의한 항종양 기능을 갖기 때문에 Kupffer 세포의 수가 감소하면 간세포암종의 발생 및 성장도 촉진될 것으로 추정된다¹¹⁾. 만성간염이나 간경변증의 비활성기에는 활성기에 비하여 Kupffer 세포의 수가 적으며 이러한 비활동성 간경변증에서 간세포암종의 발생위험이 증가하는 것⁶⁾도 Kupffer 세포가 비특이적인 항종양 기능을 갖는 조직구라는 사실과 무관하지 않다고 여겨진다¹²⁾. 이러한 관점에서 보면 간세포암종의 종괴내에 Kupffer 세포의 존재여부는 의미가 매우 크다.

그러나 일반 대식세포, 중성구, 호산구 등도 lysozyme이나 CD 68에 대한 면역조직화학적 염색에 양성반응을 보이기 때문에 조직내에서 Kupffer 세포를 구별하는 것이 쉽지 않다. 흰쥐의 간에서 Kupffer 세포를 분리하고 이에 대한 단클론항체를 만든 기록이 있으나¹³⁾ 아직 인체 Kupffer 세포의 규정에 적용할 만큼 실용적이지는 못한 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 H-E 염색상 출혈, 괴사 및 염증반응이 없는 예를 선택하였으며, 또한 Kupffer 세포가 동양구조에 부착하여 존재하는 점을 고려하여 육주형(동양구조형) 간세포암종만을 대상으로 하였다.

Higgins⁷⁾는 간세포암종의 종괴내에서 Kupffer 세포를 발견할 수 없다고 보고한 반면 많은 학자들은 인체 간세포암종과 실험적 간암에 Kupffer 세포가 존재하나^{9,14,15)} 그 수가 종괴주변의 동양구조 내부보다 적다고 주장하였으며^{8,16,17)}, 저자등도 종괴내 Kupffer 세포의 수가 감소함을 확인한 바 있다⁵⁾.

종괴내에 존재하는 Kupffer 세포의 기원에 관하여는 두가지의 가능성이 있다. 첫째는 종괴내 Kupffer

세포가 종괴내에 동양구조가 형성된 후에 이주해 온 골수단핵구일 가능성이며, 둘째는 종괴주변의 동양구조가 그 벽에 부착된 Kupffer 세포와 함께 종괴내로 잠입한 것일 가능성이 있다. 후자의 경우 종괴내 Kupffer 세포의 수는 종괴가 클수록 적고 또 주변 간조직으로부터 멀수록 적어야 하고 전자의 경우에는 이러한 차이가 없어야 한다. 본 연구에서는 Kupffer 세포의 수가 종괴주변의 동양구조, 종괴내의 동양구조, 종괴내의 간문맥내 종양색전 및 전이병소의 순서로 점차 감소하였으며, 이러한 변동은 두번째 가능성을 뒷바침하는 소견으로 해석된다. 즉 종괴내의 Kupffer 세포 수는 종괴 형성 초기의 종괴주변 동양구조에 있는 Kupffer 세포 수에 비례함을 시사하며, 따라서 종괴내에 Kupffer 세포가 없다는 Higgins의 보고⁷⁾는 종괴주변에 Kupffer 세포수가 매우 적어서 종괴내로 잠입한 동양구조가 Kupffer 세포를 함유하지 않은 경우였을 가능성이 많다. 이와 같은 맥락에서 볼 때 전이병소내 Kupffer 세포의 존재여부도 혈관이나 림프관을 침습한 간세포암종이 Kupffer 세포를 함유한 동양구조를 동반하는지의 여부에 따라 좌우될 것으로 생각된다.

본 연구에서는 염증반응이나 괴사, 출혈 등이 없는 예들만을 대상으로 하였음으로 암조직내 Kupffer 세포의 수가 주변조직보다 적었으나 Kupffer 세포는 그 자신 증식할 수 있기 때문에⁶⁾ 원발종괴 또는 전이병소에 잠입한 Kupffer 세포도 염증을 유발하는 자극하에서는 증식할 수 있을 것으로 추정된다.

Anamite 투여에 의한 실험적 간암발생 과정에서 Kupffer 세포가 감소한다는 Popper등¹⁷⁾의 주장과 분화가 좋은 인체 간세포암종에서 Kupffer 세포의 수가 정상간과 비슷하다는 학자들의 지적^{5,9)}을 종합해 보면 초기의 분화가 좋은 간세포암종에는 동양구조가 충분히 발달되어 있고 종괴주변 동양구조와의 유통을 방해하는 피막이 아직 형성되지 않은 반면, 진행된 경우에는 종괴가 충실성으로 변하면서 종괴내에 동양구조가 감소하고 피막형성에 따라 종괴내외의 동양구조의 유통도 소실되는 것으로 생각된다. 그러나 이러한 가설을 보완하기 위하여는 피막형성 여부에 따라 종괴내 Kupffer 세포의 수에 어떠한 차이가 있는지 검토되어야 할 것 같다.

결 론

간세포암종의 종괴내에 존재하는 Kupffer 세포의 기원을 추적하기 위하여 간세포암종의 원발성 종괴 18예, 혈관내 종양색전 3예 및 전이병소 4예에서 Kupffer 세포의 수를 조사하였다. 압조직내에 출혈, 괴사 또는 염증반응이 없고 조직학적으로 육주형인 예 를 선별하여 CD 68과 lysozyme에 대한 면역조직화 학적 염색을 시행하였으며, 광학 현미경 400배 시야당 Kupffer 세포의 평균치를 구하였다. 그 결과 Kupffer 세포의 수는 종괴주변 간조직, 원발성 종괴, 종양색전, 전이병소의 순으로 점차 감소하였으며, 원발 성 간세포암종의 Kupffer 세포 수는 종괴주변 간조 직의 Kupffer 세포 수에 비례하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 미루어 보아 간세포암종의 종양조직내 에 존재하는 Kupffer 세포는 종괴형성 초기에 주변 간조직의 동양구조와 함께 종괴내에 잠입된 것으로 추 정된다.

참 고 문 헌

- 1) Nawroth PP, Bank I, Handley D, Cassimeris J, Chess L, Stern D. *Tumor necrosis factor, cachectin, interacts with endothelial cell receptors to release interleukin 1. J Exp Med* 1986; 163: 1363-75.
- 2) Lloyd RS, Triger DR. *Studies on hepatic uptake of antigen. Immunology* 1975; 29: 253-63.
- 3) Pinkus GS, Said JW. *Profile of intracytoplasmic lysozyme in normal tissue, myeloproliferative disorder, hairy cell leukemia and other pathologic processes. Am J Pathol* 1977; 89: 351-62.
- 4) Watanabe S, Shimosato Y, Nakajima T. *Proliferative disorders of histiocytes. In: Sommers SC, Rosen PP, eds. Malignant lymphomas - a Pathology Annual Monograph. Connecticut: Appleton-Centry-Crofts, 1983; 65-108.*
- 5) 박영년, 정순희, 박찬일. 간세포암종의 Kupffer 세포

- 변동에 관한 연구. *대한병리학회지* 1989; 23: 305-10.
- 6) Bouwens L, Baekeland M, Wisse E. *Importance of local proiferation in the expanding Kupffer cell population of rat liver after zymosan stimulation and partial hepatectomy. Hepatology* 1984; 4: 213-8.
- 7) Higgins GK. *The pathologic anatomy of primary hepatic tumor. In: Park GK, Islami AH, eds. Tumors of liver. London: William Heinemann, 1980: 15.*
- 8) Tabarin A, Biolac-Sage P, Boussarie L, Balau-bard C, de Mascarel A, Grimaud JA. *Hepatocellular carcinoma developed on non-cirrhotic livers. Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 174-80.
- 9) Tobe K, Tsuchiya T, Fujiwara R. *Kupffer cells in well-differentiated tissue of hepatocellular carcinoma. Acta Pathol Jpn* 1985; 26: 630-7.
- 10) Wardle EN. *Kupffer cells and their function. Liver* 1987; 7: 63: 75.
- 11) Cain H. *Liver Cell carcinoma in infancy and childhood. In: Remmer H, Bolt HM, Bansch P, Popper H. Primary liver tumors. Lancaster: MTP Press, 1975; 73.*
- 12) Manifold IH, Triger DR, Underwood CJE. *Kupffer cell depletion in chronic liver disease: Implications for hepatic carcinogenesis. Lancet* 1983; 2: 431-3.
- 13) Sugihara S, Martin SR, Hsuing CK, et al. *Monoclonal antibodies to rat Kupffer cells. Am J Pathol* 1990; 136: 345-55.
- 14) Farber E. *Ethionine carcinogenesis. Adv Cancer Res* 1963; 7: 383-474.
- 15) Reuber MD. *Development of preneoplastic lesions of the liver in male rats given 0.025 percent N-2-fluorenyl-acetamide. J Natl Cancer Inst* 1965; 34: 697-724.
- 16) Maradame T. *Scanning electron microscopical observation of hepatocellular carcinoma experimentally induced in rats. J Iwate Med Assoc* 1984; 36: 749-60.
- 17) Popper H, Sternberg SS, Oser BL, Oser M. *The carcinogenic effect of anamite in rats. Cancer* 1960; 13: 1035-46.