

## 총담관 결찰에 의해 유발된 담도계 변화에 대한 형태학적 연구

충남대학교 의과대학 병리학교실 및 일반외과학교실\*

정진영·강대영·노승무\*

### A Morphologic Study on the Bile Duct Changes Induced by Common Bile Duct Ligation in Rats

Jin-Young Jeong, M.D., Dae-Young Kang, M.D and Seung-Moo Noh\*, M.D.

Department of Pathology & General Surgery\*, Chungnam National University College of Medicine

In an attempt to elucidate the pathological changes following common bile duct ligation, the present study was undertaken in male Sprague-Dawley rats. Morphologic studies of the livers were performed at 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13 and 15 weeks after common bile duct ligation.

In an attempt to clarify the relationship between the process of bile duct formation and the nature of primitive cells observable around the primitive biliary structure, light microscopic, immunohistochemical and electron microscopic studies were performed. The results were noted as follows:

1) Light microscopically, proliferation of biliary cells began in the periphery of portal areas and expanded toward hepatic lobules. In severe cases of biliary structure proliferation, hepatocytic cords and classic hepatic lobules were inconspicuous.

2) Immunohistochemically, CK-19 expression was limited to biliary structures in portal areas and proliferated biliary epithelial cells. In the serial sections of paraffin block, proliferated intrahepatic biliary structures were associated with those of portal areas. Some oval cells in the ductular hepatocytes were stained for both CK-19 and MNF 116.

3) Ultrastructurally, the proliferated biliary epithelial cells divided into three patterns: absence of lumen, formation of incomplete lumen, and formation of complete lumen. Furthermore these patterns had spectral continuity of maturation in their structures.

4) In some biliary structures, individual biliary cells pushed the basement membrane toward neighboring tissue with accompanying destruction of basement membranes, patterns of budding. Sometimes these cells and hepatocytes comprised the same lumen.

In summary, the results obtained by the present study indicate that proliferated biliary structures may be derived from the preexisting intralobular or portal biliary system. (**Korean J Pathol 1993; 27: 618~629**).

**Key Words:** Bile ductules, Ductular transformation, Rat, Bile duct ligation

### 서론

담즙의 생성 및 배설은 간 소엽의 중심부에서 담모

세관으로 시작되어 세담관으로 되고 이어서 문맥관내 작은 담소관 및 담관으로 된다<sup>1~4)</sup>.

광학 현미경적으로 담모세관은 간세포들도 구성되고, 세담관은 담도 상피세포와 간세포가 내강을 형성하며, 담소관과 담관은 상피세포만으로 구성되어 있는 것으로 알려져 있다<sup>1~4)</sup>. 임상적으로 담즙성 간경화증이나 지속적인 간내성 또는 간의외성 담즙울체 증후군등의 환자에서도 세담관이나 담소관의 증식이 관찰된

접 수: 1993년 1월 9일, 게재승인: 1993년 7월 20일  
주 소: 대전직할시 중구 문화1동 6번지, 우편번호 301-131  
충남대학교 의과대학 병리학교실, 강대영

다<sup>4,5)</sup>.

실험적으로는 총담관 결찰후나<sup>6,7)</sup>, 사염화탄소나 furan같은 화학물질 투여후<sup>8-10)</sup>, 또는 간암유발 물질 투여<sup>11-15)</sup>등과 수반되어 세담관이나 담소관의 증식이 보고 되어 있다. 그런데 증식상을 보이는 세담관 또는 담소관의 기원에 관한 보고는 연구자<sup>14-20)</sup>들에 따라 차이가 있는데 간세포석이 소관으로 변환을 일으켜 세담관이나 담소관으로 된다는 설과 기존의 담관이나 담소관이 늘어나고 꼬여서 세담관의 증식을 일으킨다는 설 등이 있다. 또는 증식이 일어난 세담관이나 담소관 주위에 나타나는 미분화 세포들에 관한 보고도 다양한데, Farber<sup>21)</sup>가 이를 "oval cell"이라 보고한 이후 Schaffner와 Popper<sup>22)</sup>, Grisham과 Porta<sup>23)</sup>, Germain등<sup>24)</sup>, Shiojiri등<sup>25)</sup>은 이 oval cell이 담상피 세포로 분화된다고 하여 증식된 담상피세포의 기원이 oval cell이라 하였으나, 이 증식된 담도계 주위에 나타나는 미분화세포에 대하여 간질세포<sup>26)</sup>, 섬유모세포<sup>27)</sup>, 내피세포<sup>28)</sup>, 소관세포등<sup>29)</sup>으로 학자들에 따라 보고가 다양하다. 또한 Germain등<sup>12)</sup>, Braun등<sup>30)</sup>, Evarts등<sup>13,31,32)</sup> 및 Sell등<sup>33-35)</sup>은 간암이 oval cell의 종양성 변환에 의해 생성된다고 하여 간암의 기원이 oval cell과 관련이 있다고 하였다.

상기한 바와 같이 간에서 증식 양상을 보인 세담관과 담소관의 생성 기원에 대한 연구 보고가 다르고, 담도계 세포 주위에 출현하는 미분화 세포들에 대하여 보고자 마다 다르다. 그러므로 저자는 흰쥐를 실험 동물로 하여 총담관 결찰후 간에서 증식상을 보이는 세담관 또는 담소관등의 형성 과정과 그 주위에 나타나는 세포들의 양상을 알아보고자 면역조직화학적, 광학현미경적 및 전자현미경적으로 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

**1) 실험동물:** 본 실험에 사용한 동물은 생후 13~14주이고 체중이 300~350 g 내외의 Sprague-Dawley종 숫컷 흰쥐로서 약 2주일간 기본 배합 사료로 사육하면서 건강한 것만 골라 본 실험에 사용하였다.

**2) 시 약: 면역조직화학적 검사용 항혈청:** 일차 항체로는 Dako사(Denmark) 제품으로 nude mouse에서 생성된 45-56.5 KD keratin에 광범위하게 반응하는 DAKO-CK(MNF 116) 단클론성 항체와 사람의 유방 상피에서 생성된 40 KD keratin에 특이적으로 반응하는 DAKO-CK 19 단클론성 항체를 사용하였고, 이차 항체로는 생쥐에 대한 염소항체(goat anti-mouse antibody)에 과산화수소를 결합시킨 혈청을

이용하였다.

### 2. 실험방법

**1) 실험 동물의 수술적 처리:** Urethan 마취하에서 복부에 2 cm 길이로 정중선 절개를 가하여 해부 현미경하에서 총담관을 노출시킨 후 3.0 silk를 이용하여 두 곳에서 결찰하고, 결찰한 중간 조직을 절취하여 파라핀 포매를 만들어서 광학현미경 검경으로 담관 조직임을 확인하였다. 담관 결찰후 1주, 2주, 3주, 5주, 7주, 9주, 11주, 13주 및 15주에 각각 4마리씩 도살하였다. 실험 동물은 실험군에 40마리, 대조군에 20마리를 배정하였다.

**2) 조직표본 제작 및 광학현미경적 관찰:** Ether 마취하에서 체중을 측정후 희생시켜서 즉시 간을 적출하여 증류수에 깨끗이 씻은 후 일부분은 MCA 고정액(methanol: chloroform: acetone=6:3:1 혼합액)에 고정하고, 나머지는 10% buffered neutral formalin에 24~48시간 충분히 고정한 다음에 좌, 우측 엽에서 각각 간 조직을 절취하여 통상의 방법으로 파라핀 블록(paraffin block)을 만들었다.

모든 파라핀 블록을 5 μm 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin, PAS 및 Masson-trichrome염색을 시행하였다. 또한 담상피세포들의 상호관계를 알아보기 위해 1주군, 3주군, 5주군 및 7주군의 파라핀-블록을 5 μm 두께로 30매 이상 연속 절편하여 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 광학현미경으로 검경하였다.

**3) 면역조직화학적 염색 방법:** 통상적인 포르말린 고정과 MCA 용액에 고정후 파라핀 포매를 만든 블록을 5~7 μm 두께의 절편으로 만들어 탈파라핀 및 합수과정을 거쳐 trypsin으로 enzymatic predigestion한 후 LSAB법으로 효소염색을 실시하였다. 일차항체는 1:50으로 희석하여 사용하였다.

**4) 전자현미경적 관찰:** 적출된 백서의 간을 신속히 1 mm<sup>3</sup> 크기로 절제하여 4°C로 2.5% glutaraldehyde 용액에 2.5시간 고정후 다시 1% osmium tetroxide에 2.5시간 고정하고 통상의 방법에 의하여 ethanol로 탈수하였다. Luft<sup>36)</sup>법에 의하여 propylene oxide로 치환한 다음 epon 혼합체로 포매하여 35°C, 40°C, 60°C에서 각각 24시간씩 열중합시켜 epon 포매피를 만들었다. Epon 포매피를 Sorvall MT 5000 초박절기를 이용하여 1 μm 두께의 절편으로 만들고 toluidine blue로 염색하여 전자현미경으로 관찰하고자 하는 부위를 정하였다. 결정된 부위는 또한 같은 초박절기를 이용하여 60 nm두께로 세절한 다음 Reynolds<sup>37)</sup>법에 의해 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 Hitachi H-600 전자현미경으로 가속 전압 75 KV에서 관찰하였다.

## 실 험 성 적

### 1. 폐사율

총담관 결찰 수술을 받은 실험동물 40마리중 4마리(10.0%)가 죽었는데 3주에 1마리, 5주에 2마리, 7주에 1마리가 폐사하였다. 대조군은 20마리중 3주째 1마리(5.0%)가 폐사하였다.

### 2. 육안적 소견

총담관 결찰군에 있어서 체중은 실험 1주부터 7주 사이에 대조군에 비해 심하게 증가되었다. 도살후 개복해서 관찰한 결과 담관에 낭(주머니)을 형성하여 확장되었으며 간에 부착된 담관과 간의 무게가 90g이 넘는 예도 있었다.

### 3. 광학현미경적 소견

**1) 정상 대조군:** 간 소엽의 문맥역내에서 문맥 3조(portal triad)와 간세포삭 사이의 경계는 명확하였다. 문맥역내에는 1~4개의 담관과 2~3개의 혈관이 있고 미분화된 섬유모세포가 드물게 관찰되었다. 간세포들은 세포삭을 잘 유지하였고 동양혈관을 따라 소수의 내피세포가 관찰되는 외에 특이한 세포는 관찰되지 않았다.

#### 2) 실험군:

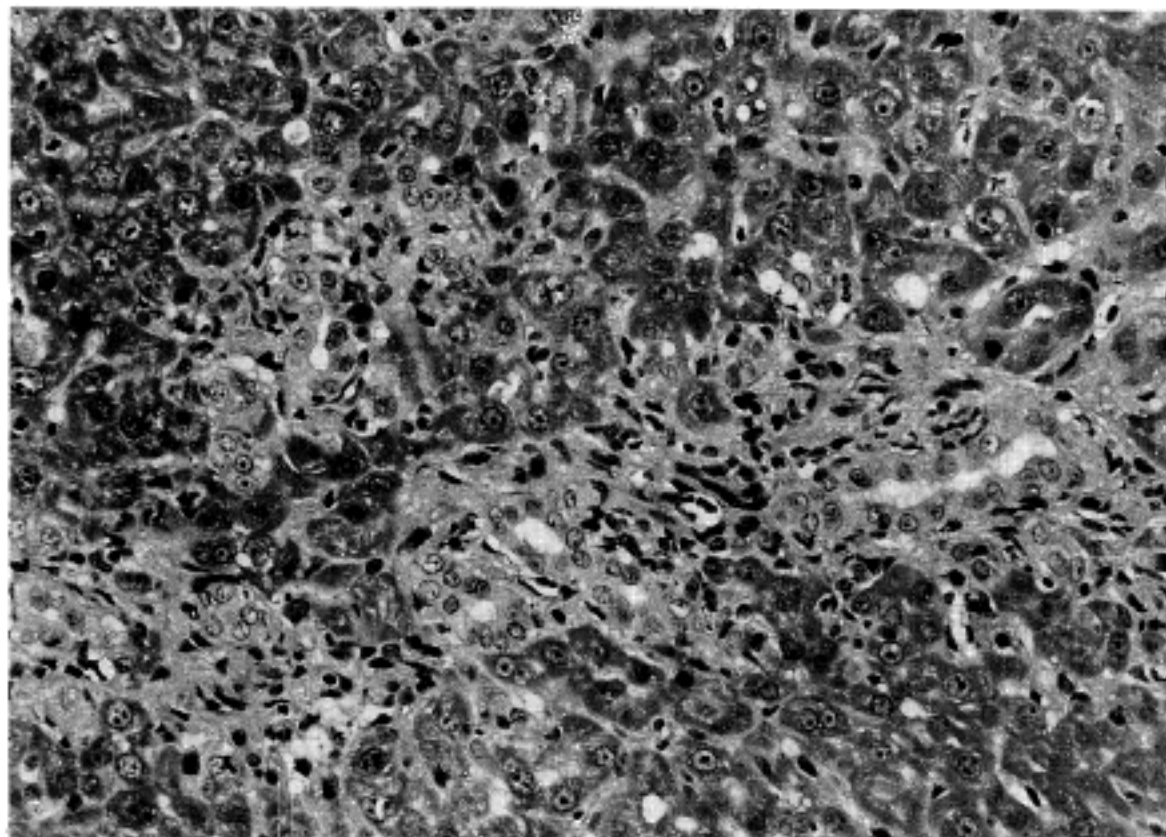
**제 1 주군:** 문맥역과 접한 간소엽 부위에서 내강을 형성하는 담상피세포의 증식이 관찰되었으며 문맥역내에서 간소엽쪽으로 증식이 진행되는 양상을 보였다.

증식된 담상피세포 주위에는 핵이 진하고 상대적으로 세포질이 적어 미분화세포로 생각되는 단핵세포들의 증식도 있었다. 증식된 담상피세포와 미분화 세포들에 의하여 부분적으로 간 세포들이 고립되어 세포군을 이루기도 하였으나 전반적으로 간세포삭은 잘 유지되는 양상이었다. 담상피세포의 핵은 원형 또는 타원형이고 매우 연하게 염색되었고 핵소체가 거의 관찰되지 않았으며 세포질이 적어 간세포와 뚜렷하게 구분 되었다(Fig. 1).

**제 2 주군:** 담상피세포들은 문맥역에서 간소엽쪽으로 향하여 증식이 현저하게 나타났다. 문맥역 부위에 가까운 담상피세포들은 대부분 내강을 형성하였으며 문맥역에서 멀리 있는 담상피세포들 중 일부는 내강형성이 안된 상태로 한개 또는 수개의 세포가 군을 이루고 있어 전반적으로 문맥역 부위가 확장되는 양상을 보였다. 증식된 담상피세포들 사이에 한개 또는 수개의 간세포들이 고립되어 세포군을 형성하는 부위가 있었고 내강을 형성하는 담상피세포들의 일부에서는 핵분열이 관찰되었다. 수개의 담상피세포와 간세포가 공동의 내강을 형성하는 것도 일부 관찰되었다.

**제 3 주군과 5 주군:** 담상피세포의 증식이 2주군에 비해 심하게 나타났고 신생담관 구조들이 문맥역을 중심으로 하여 간소엽으로 확장되면서 인접한 문맥관과 연결되는 양상을 보였으며 3주군에 비해 5주군에서 상대적으로 심했다. 섬유화가 부분적으로 관찰되었고 원형내지 난원형의 핵을 가진 미분화 세포들이 군을 이루어 관찰되기도 하였다(Fig. 2).

**제 7 주군:** 전반적으로 담상피세포의 증식 양상이나 미분화세포의 출현 양상은 대부분 5주군과 유사하였으



**Fig. 1.** Proliferated biliary structures show patterns of expansion from portal area toward hepatic parenchyma. 1st week after common bile duct ligation(CBDL).



나 각 세포들이 증식 정도가 더 심하여 간소엽 조직이 감소되고 담상피세포군이 대부분을 차지하며 간세포삭이 파괴되었다(Fig. 3).

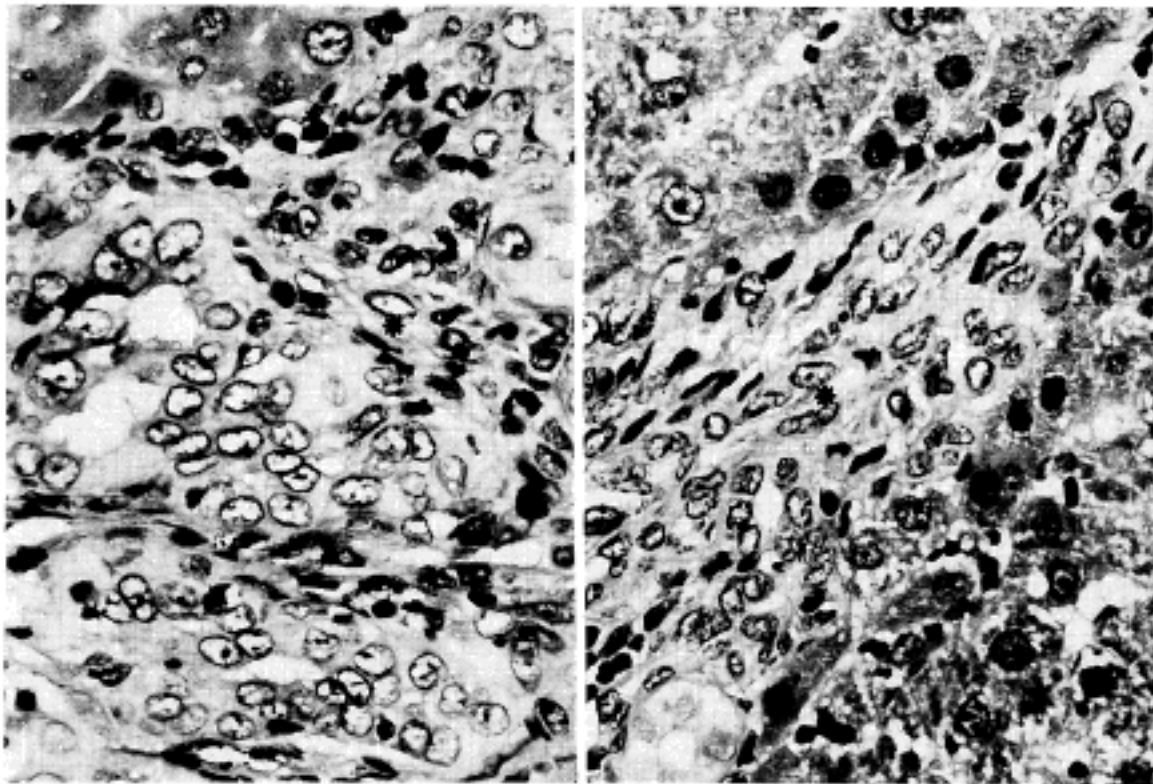
**제 9, 11, 13 및 15주군:** 간소엽의 대부분을 증식된 담상피세포들이 차지하여 간세포삭이 파괴되고, 문맥역과 중심정맥의 정상구조가 파괴되어 간소엽의 경계를 알 수 없게 되었다. 전 실험군을 통하여 문맥역에서 중성구와 미분화세포들이 흩어져 관찰되었고 섬유화는 실험 2주군에서부터 경미하게 관찰되었으며 15주군까지 시간의 경과에 따라 섬유화의 정도는 부분

적으로 심하게 나타났으나 간경변증의 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

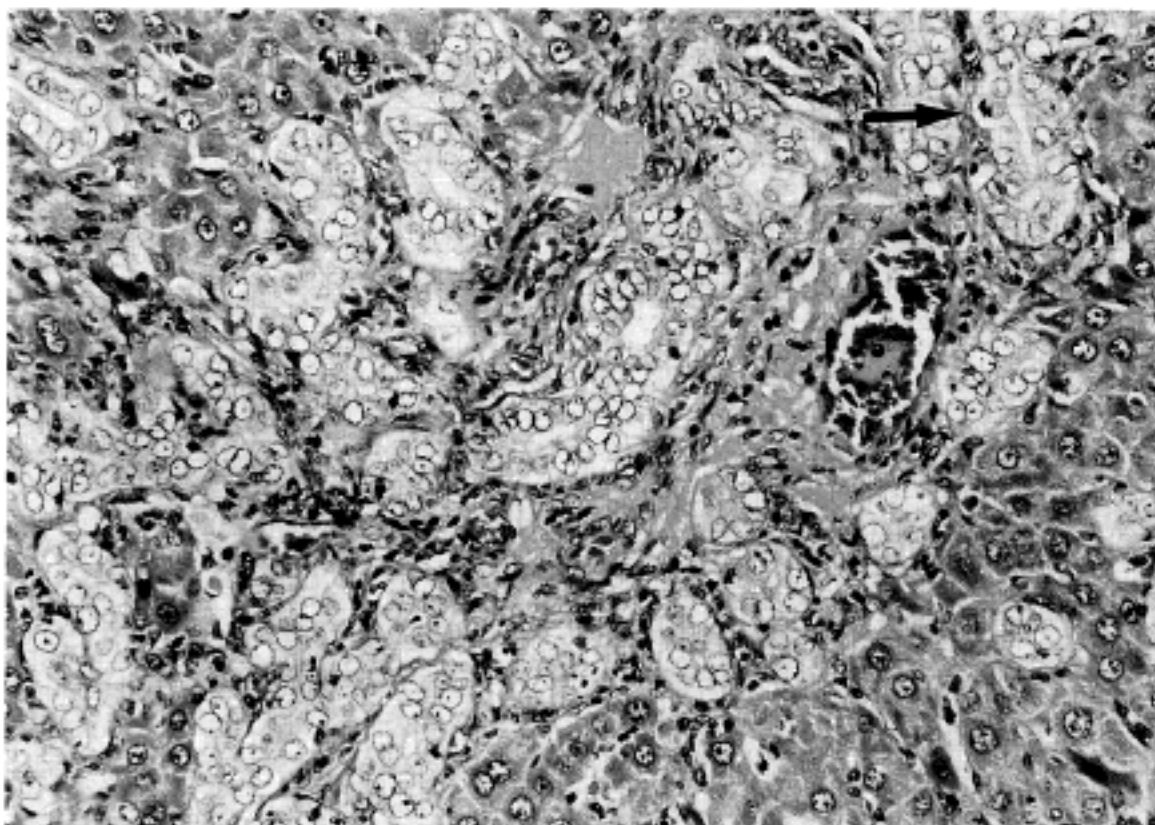
실험 제 1, 3, 5 및 7주군의 파라핀 블록의 연속 절편 관찰 소견상 신생담도계의 증식이 문맥역에서 간실질 쪽으로 확장되어 가는 양상을 나타내었다.

#### 4. Alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase 염색소견

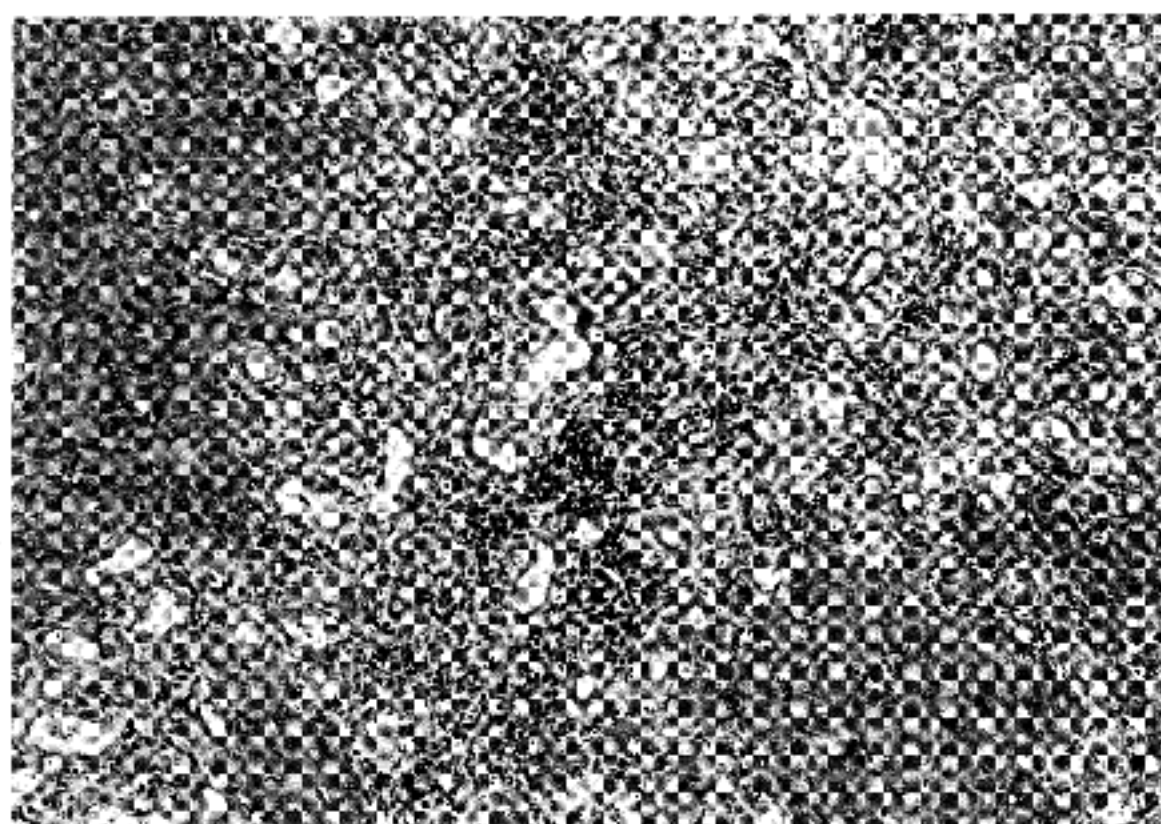
1) **Dako-CK, MNF 116 염색:** MNF 116은 45-56.5 KD의 cytokeratin으로 상피세포에 광범위하게



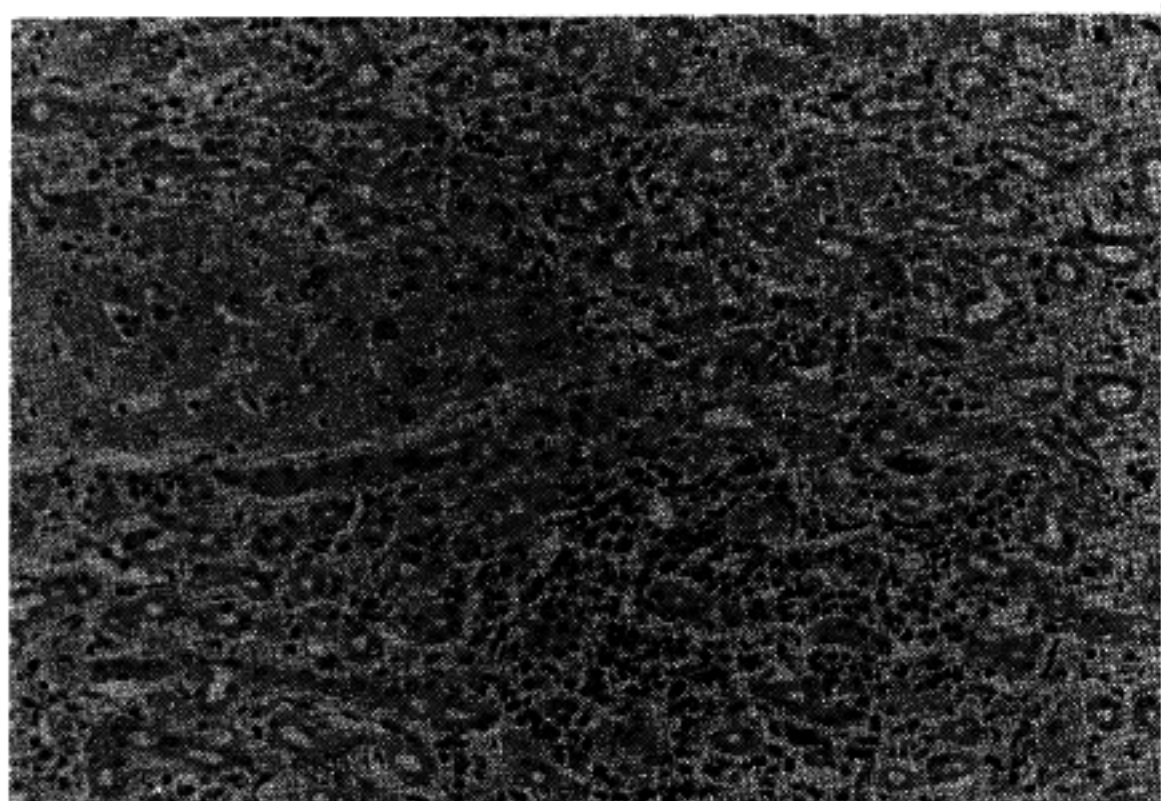
**Fig. 2.** Proliferated biliary epithelial cells expand from a portal areas. Oval shaped cells are noted. 3rd week after CBDL.



**Fig. 3.** The structures of hepatic cords and classical hepatic lobules have been destroyed and are inconspicuous due to proliferated biliary epithelial cells. Mitotic cells(arrow) are observed in the proliferated biliary epithelial cells. Neutrophils are also scattered.



**Fig. 4.** Many groups of biliary epithelial cells make lumens, with isolated islands of hepatocytes. Many neutrophils and mononuclear cells are scattered. Fibrosis which suggests biliary cirrhosis is not observed. 13th week after CBDL.



**Fig. 5.** Strongly positive immunohistochemical staining of Dako cytokeratin, MNF 116 in the cytoplasm of biliary epithelial cells and cellular membrane of hepatocytes, APAAP counterstained with hematoxylin.

양성으로 반응하는 것으로 keratin No. 10, 17 및 18을 포함하고 있다. 염색결과 간세포 및 담상피세포에 강하게 양성으로 반응하였다(Fig. 5).

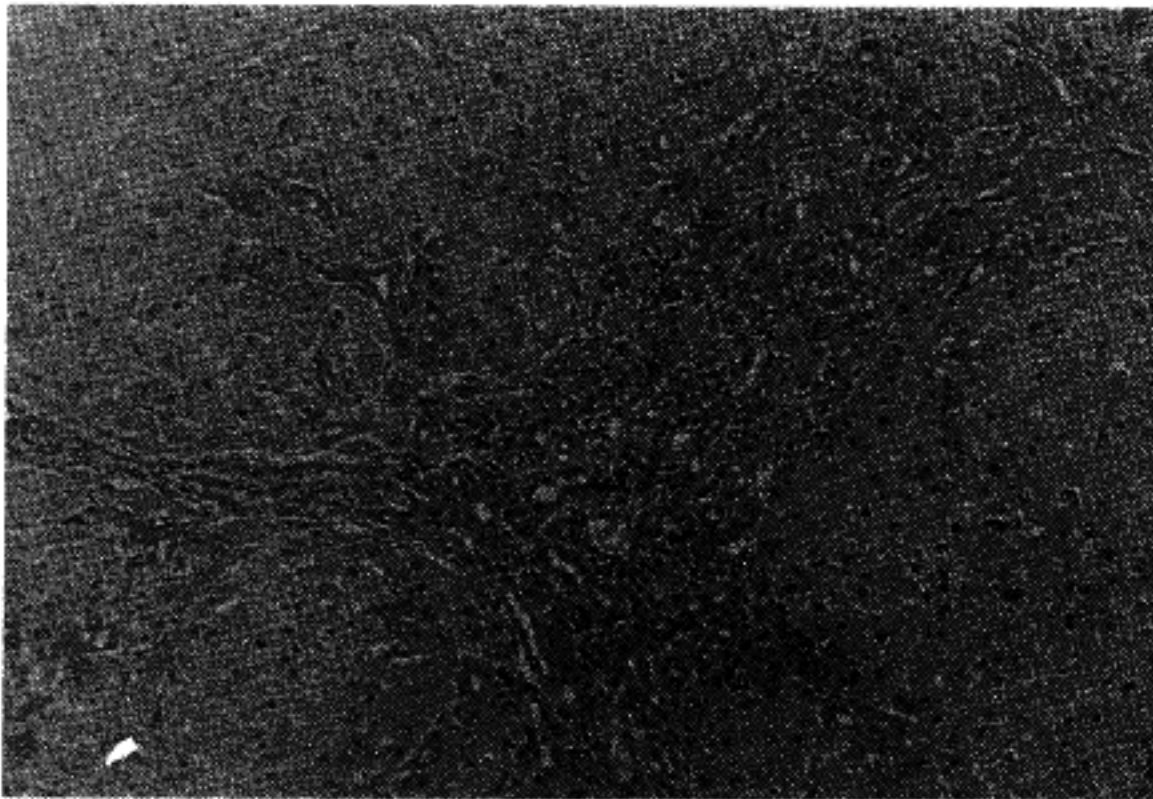
**2) Dako-CK 19염색:** 이는 40 KD의 cytokeratin으로 많은 관상피세포와 선상피세포에 양성으로 반응하며 간세포에는 음성으로 반응하는 것으로 알려져 있다. 염색결과 담상피세포에 선택적으로 강하게 양성으로 반응하였고 간세포, 염증세포 및 섬유모세포에는 음성으로 반응하였다. 포르말린 고정액에 비하여 MCA 고정액을 사용 후 파라핀 블록을 만든 시료에

서 CK-19에 더욱 선명하고 강하게 염색이 되었다(Fig. 6).

### 5. 전자현미경적 소견

**1) 대조군:** 총담관 길찰을 시행하지 않은 정상군에서 담상피세포는 핵이 비교적 둥글고 염색질은 핵의 주변부에 약간 농열되어 관찰되었다. 선상적으로 이염색질은 적었으며 핵소체는 거의 관찰되지 않았다. 담관의 내강을 따라 미세섬유를 포함한 미세구조가 잘 관찰되었으며 내강에 인접한 부위에서 담상피세포들은





**Fig. 6.** Strongly positive immunohistochemical staining of cytokeratin 19 in the cytoplasm of biliary epithelial cells only and not of the hepatocytic cells. alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase(APAAP) counterstained with hematoxylin.

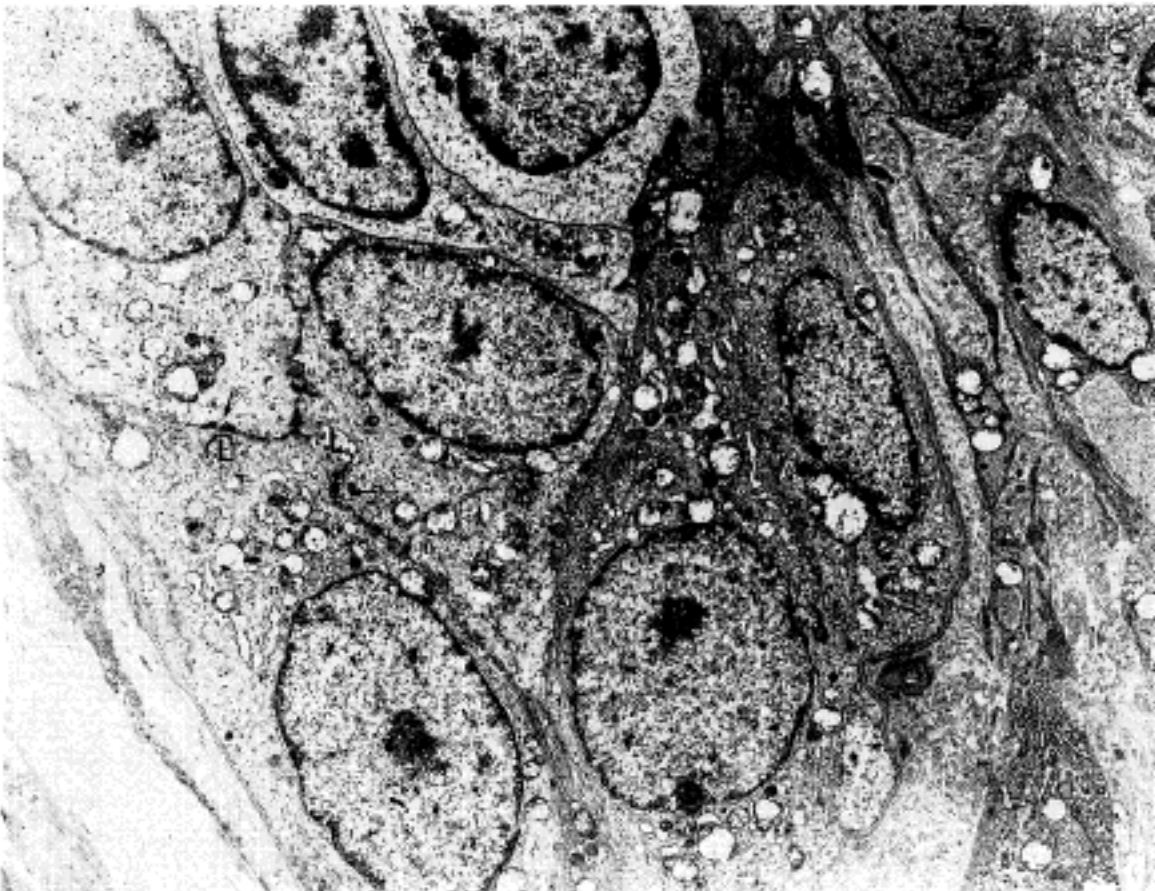


**Fig. 7.** A portion of proliferated biliary epithelial cells show complete ductular structure which has distinct basement membrane(arrow) and terminal plate-like structure(T) with microvilli(M). Uranyl acetate and Lead citrate.  $\times 5,600$ .

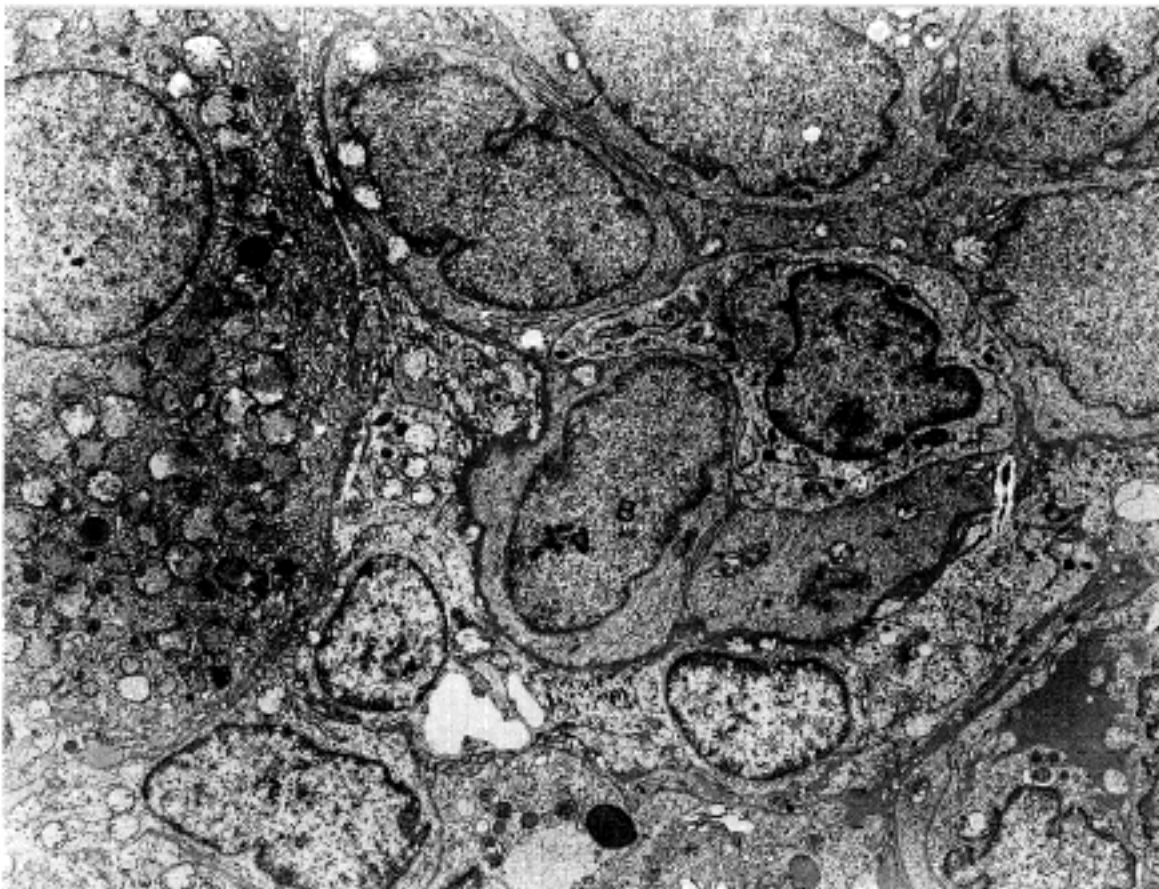
교소체에 의해 결합되었다. 또는 내강에서 밀려 있는 세포 부위에서는 세포질의 수지상 돌기에 의해 결합되었으며 주위 조직과는 기저막에 의해 경계가 이루어졌다. 간세포들의 핵은 비교적 농글고 핵소체도 흔히 관찰되었으며 이염색질이 담상피세포에 비해 증가되었다. 또한 사립체, 내형질세망, 골지장치등 세포 소기관이 풍부하여 담상피세포와는 쉽게 구별이 되었다.

간세포들 사이에 형성된 담모세관에는 미세섬유가 풍부한 미세음도들이 관찰되었다.

**2) 실험군:** 담상피세포들의 담도계 형성 정도나 미분화 세포의 출현 양상은 실험기간 경과에 따라 심하게 나타나 광학현미경적 소견과 비슷하였다. 따라서 모든 실험군의 변화를 종합하여 보면 ① 완전한 내강을 형성하는 담상피 세포군, ② 불완전한 내강을 형성



**Fig. 8.** Proliferated biliary structures show several incomplete lumen(L) between their cells. Biliary cells are complexed by desmosomes(arrow) and cytoplasmic processes, but terminal platelike structures along the lumen are inconspicuous. Uranyl acetate and Lead citrate,  $\times 4,000$ .

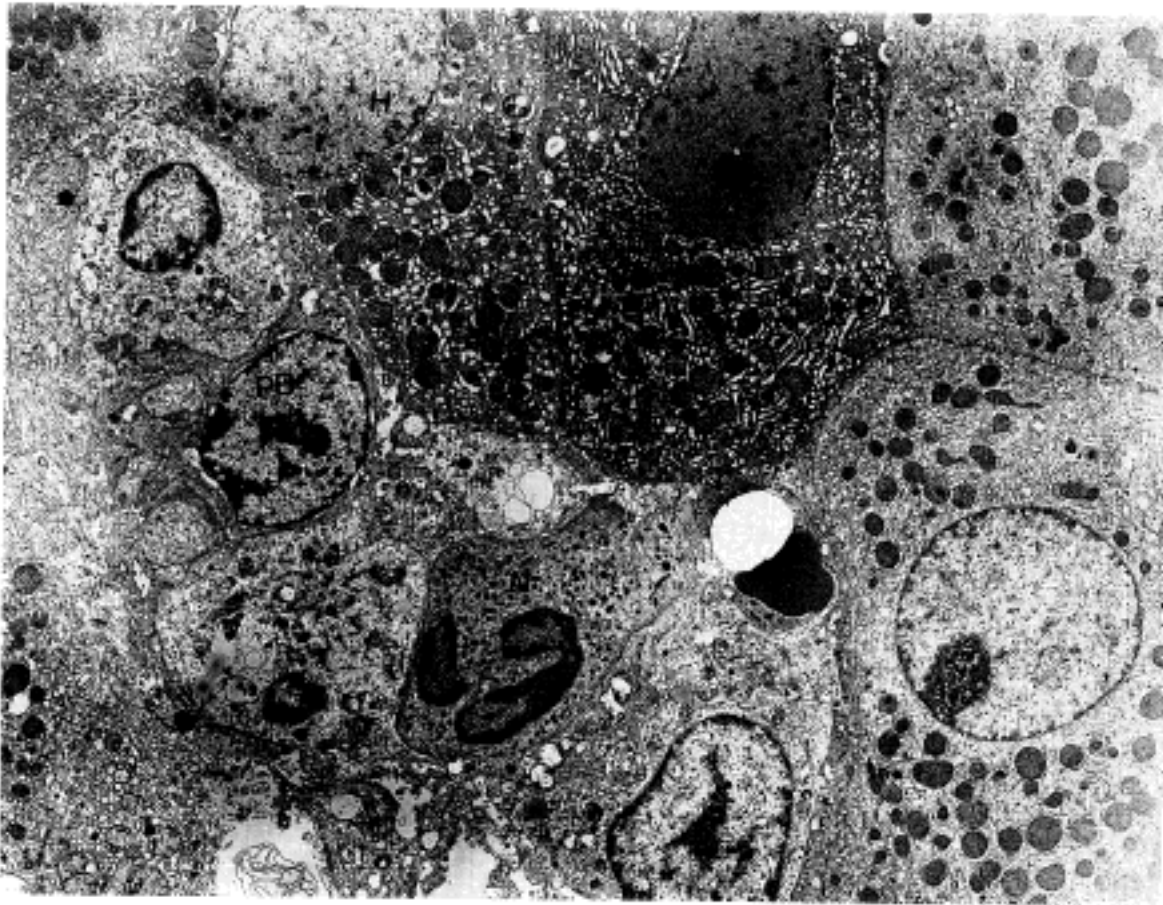


**Fig. 9.** A group of proliferated biliary cells(B) show no lumen. The cells are interdigitated by their cytoplasmic processes (arrow) without desmosome-like structures. Uranyl acetate and Lead citrate,  $\times 4,000$ .

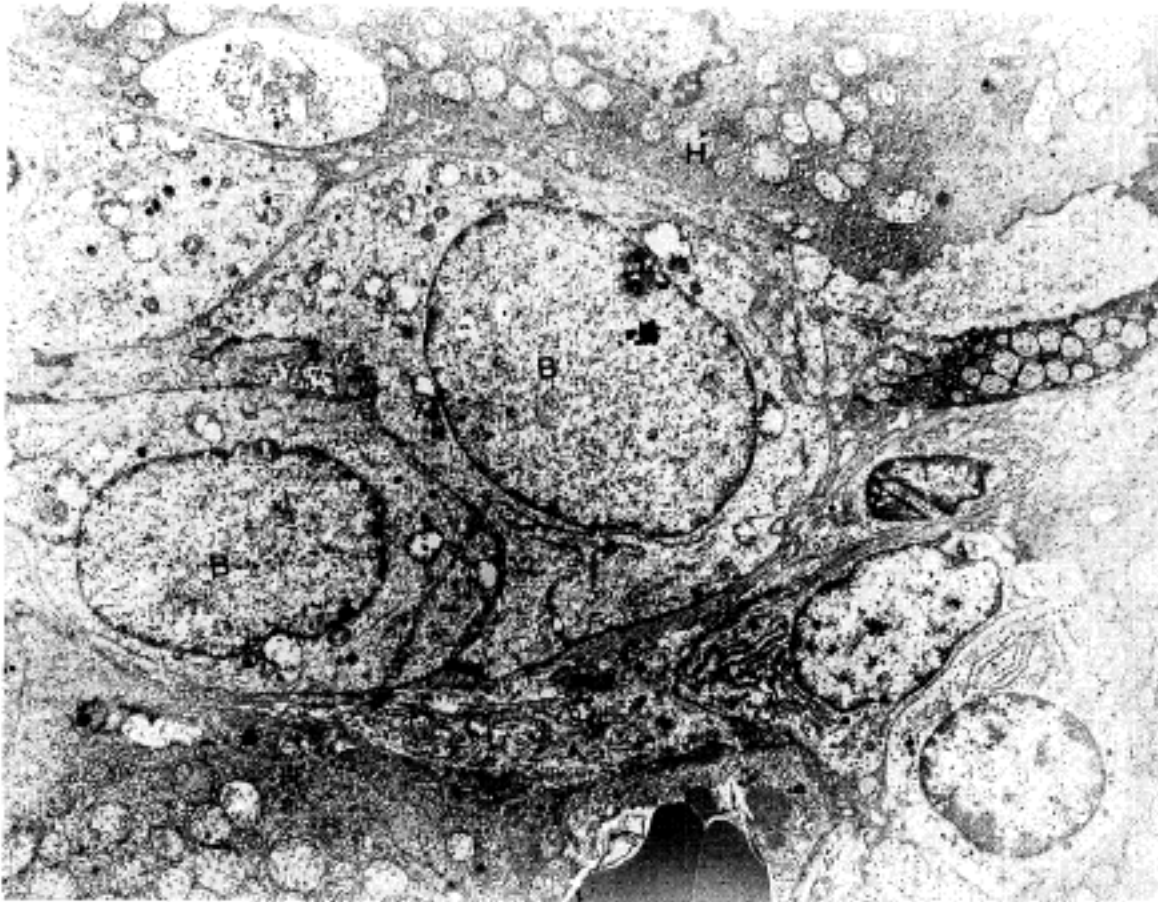
하는 담상피세포군, ③ 내강을 형성하지 않는 단독 또는 수개의 담상피세포군, ④ 정상 대조군에서는 관찰되지 않았으나 실험군에서만 관찰되는 것으로 광학현미경적 소견에서 핵이 작고 진하며 세포질이 빈약하여 미분화 세포나 소위 oval cell로 생각되는 세포들이 각각 관찰되었다.

완전한 내강을 형성하는 담상피 세포들은 기저막에 의하여 주위조직과 경계가 뚜렷했으며 세포들은 내강 부위에서는 교소체에 의해, 기저막 부위에서는 세포질의 수지상 돌기에 의해 결합되었다(Fig. 7). 수지상 결합의 일부는 내강의 형성초기 형태처럼 세포 간격이 넓어지고 세포질 돌기가 미세용모의 모양과 유사하게





**Fig. 10.** Primitive biliary cells (PB) are conjoined with hepatocytes(H) and neutrophils(N). Uranyl acetate and Lead citrate,  $\times 3,200$ .



**Fig. 11.** A group of biliary cells (B) and fibroblasts(F) tend to push the hepatocytes(H). Uranyl acetate and Lead citrate,  $\times 4,000$ .

관찰되었다. 내강쪽으로는 종말판과 미세융모가 발달되었으며 미세융모에는 미세섬유가 풍부하였으나 세포들에 따라 다소 차이가 있었다. 미세섬유는 세포질의 부위에 따라 조밀도가 다르나 종말판과 내강쪽으로 더 풍부했다. 담상피세포의 핵은 원형내지 난원형이었으며 이염색질은 적었고 핵막은 뚜렷하였다. 핵소체는

일부 세포에서만 관찰되었고 세포질내에는 내형질세망, 리보솜, 사립체 및 골지장치등도 관찰되었다. 불완전한 내강을 형성하는 담상피세포들도 또한 기저막에 의해 주위와 경계가 뚜렷하였으나, 내강의 모양이나 수는 부위에 따라 차이가 있었으며 일반적으로 1~3개의 작은 내강이 관찰되었다(Fig. 8). 미세융모들도



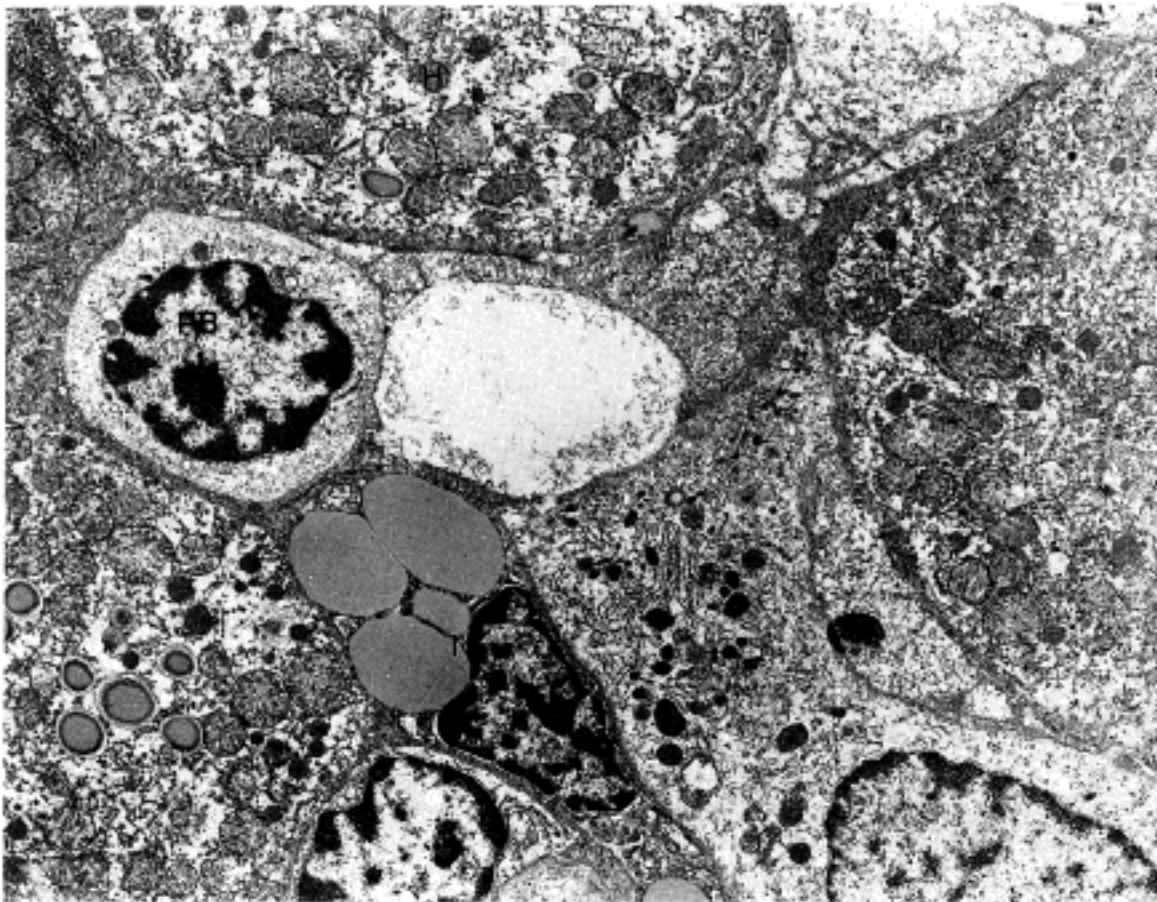


Fig. 12. Primitive biliary cells (PB), Ito cell, and hepatocytes form a lumen. Uranyl acetate and Lead citrate,  $\times 4,800$ .

각 내강에서 풍부하게 관찰되었으나 종말판은 뚜렷하지 않았다. 세포들 간에 교소체 결합과 세포질의 수지상 결합은 정상 대조군이나 완전한 내강을 형성하는 담상피세포군과 유사하였다. 담상피세포의 핵의 모양이나 세포질의 내용은 완전한 내강을 형성하는 담상피세포들과 유사하였으나, 세포질내의 미세 섬유는 내강의 위치와 관계없이 관찰되었다. 담상피세포와 간세포가 공동으로 내강을 형성하는 부위도 관찰되었다.

내강을 형성하지 않는 담상피세포들도 또한 기저막에 의해 주위 조직과 경계가 명확하였으며 미세섬유는 세포질내에서 불규칙하게 관찰되었다(Fig. 9). 세포들 간에 교소체 결합은 잘 관찰되지 않았으나 세포질의 수지상 돌기에 의한 결합은 관찰되었다. 내강의 형성과 관계없이 증식된 담상피세포군에 가끔 세포질이 매우 적고 핵의 이염색질이 상대적으로 많은 미분화 세포가 세포군에 포함되어 있었는데 이들 세포가 담상피세포군의 기저막을 밀면서 발아(budding)하는 양상이 보였다. 또한 일부에서는 분화된 담상피세포들의 기저막이 없는 부위가 있었고(Fig. 10, 11), 이 세포들이 일부에서는 간세포와 함께 내강을 형성하였으며(Fig. 12), 담상피세포군의 기저막을 따라 바깥쪽으로는 미분화 내지 분화된 섬유모세포가 위치하고 있었다. 증식된 담관과 간소엽 세포사이에서 단독으로 관찰되는 세포들중 핵이 원형내지는 타원형이며 이염색질이 적고 소수의 사립체와 내형질세망등 세포 소기관을 갖는 세포들은 세포질 돌기에 의해 간세포와 결합된 양상을 보이는 부위가 있었다.

광학현미경하에서 증식된 담상피세포들 주위 또는

간소엽 세포사이에서 미분화세포로 관찰되었던 세포들은 전자현미경적 검색에서 일부 세포들은 분화된 담상피세포였으나, 일부 세포들은 미분화 담상피세포나 섬유모세포 계통이었다. 미분화내지 분화단계에 있는 섬유모세포들 사이에서 Ito 세포가 섞여서 관찰되었는데 이 세포들은 내강을 형성하는 담상피세포군 또는 간세포들 사이에서 나타났고 주위에는 교원 섬유질이 풍부하게 관찰되는 부위도 있었다. 어떤 부위에서는 2~3개의 분리된 핵과 분비 과립을 가진 중성구가 담상피세포군과 미분화 또는 분화 과정의 담상피세포들 사이에서 관찰되었으며 대조군에 비해 실험군에서 많이 나타났는데 담상피세포의 증가가 심한 시기에 많이 나타나는 양상이 보였다.

## 고 찰

간암 유발시나 화학물질에 의한 심한 간 손상시에 증식된 담상피세포들 주위에 많은 작은 세포들이 출현하는데 대부분 분화가 되지 않는 세포이므로 정확한 기원을 알기 힘들어서 Farber<sup>21)</sup>는 그 모양을 따라 "oval cell"이라 명명하였다. 이 oval cell의 본체에 관하여 MacDonald와 Mallory<sup>27)</sup>는 섬유모세포로, Korpassy와 Kovacs<sup>28)</sup>는 조직구로 생각하였으나, 그 후에 전자현미경적 연구<sup>2, 4, 23, 29)</sup>, 조직화학적 연구<sup>12, 24)</sup> 및 자동방사기록술<sup>23, 34)</sup> 등에 의해 담상피세포라고 알려지게 되었다.

Grisham과 Porta<sup>23)</sup>, Inaoka<sup>30)</sup> 및 Sell과 Dunsford<sup>33)</sup>, Sell등<sup>34)</sup>, Sell과 Salman<sup>35)</sup>은 oval cell이

처음에는 문맥역에 출현하여 관상구조를 형성하고 담관 상피세포의 표지자를 갖는 점을 근거로 말단세담관 (terminal biliary ductules)에서 기원하는 비실질성 상피세포(nonparenchymal epithelial cell)라고 하였다. 그런데 Germain 등<sup>39)</sup>은 3'-Me-DAB를 투여한 간암 유발 실험의 단계에서 oval cell을 분리 배양한 바 이는 간세포와 담상피세포의 중간단계라고 하였다.

본 연구의 광학현미경적 검색에서 문맥역 부위내, 담상피세포군 주위 및 간세포들 사이에서 관찰되는 원시세포들은 전자현미경적 관찰 소견상 미분화 또는 분화된 담상피세포, Ito세포, 섬유모세포 등으로 다양하게 관찰되었다. 그중 어떤 세포들은 담상피세포군을 구성하는 세포와 유사하거나 담상피세포군내에 포함되기도 하며 주위 조직으로 발아하는 양상을 보여 이들 일부가 담상피세포군을 구성하는데 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되었다. 또한 담도계 결찰 초기부터 문맥역내와 간소엽내에서 미분화 세포들이 증식하였으며, 기저막에 둘러싸여 있으면서 내강을 형성하는 담상피세포군 주위에 여러 분화 단계의 섬유모세포, 중성구, 교원섬유 등이 풍부하게 관찰되었다.

광학현미경적 소견중 신생 담상피세포군에서 핵분열을 자주 관찰할 수 있었으며 담상피세포군내의 미분화 세포가 발아하는 양상이 관찰되고, 이와 유사한 세포들이 담상피세포군 주위에서 발견되는 점으로 미루어 담관 폐쇄성 병변에서는 oval cell이 담상피에서 기원한다는 보고들과 일치한다고 할 수 있었다. 또한 cytokeratin 19을 사용한 면역 조직화학적 염색에서 담상피세포군내의 세포와 간소엽내로 침윤한 세포들이 다같이 강한 양성으로 염색되는 점으로도 입증되는 소견이다.

미분화 세포들의 증식이 담상피세포 주위에서 관찰되고 간소엽세포들 사이에서는 담상피세포 증식에 선행되어 나타나며 중성구가 담상피세포군 주위에서 관찰되는 점과, 전자현미경적 소견에서 미분화세포들이 담상피세포군이 없는 간세포들 사이에 흩어져서 관찰되고 주위에 교원섬유질이 나타나는 점등은 Popper 등<sup>26)</sup>이 보고한 "ductular cell reaction"의 소견과 유사하다.

본 연구에서 세담관 증식의 정도는 실험기간이 길어질수록 심하게 관찰되었는데 이는 세담관 증식이 간세포 손상 및 괴사와 관련이 있다는 Rubin 등<sup>40)</sup>의 보고와 부합되나 사람에서도 담도 폐쇄의 정도와 세담관 증식의 정도는 상관성이 없다는 보고들도 있다. 병태생리학적으로 세담관의 증식은 담관의 손상이 있을 때 담즙배설을 위한 보상기전으로 생각되었는데 Popper 등<sup>26)</sup>은 ethionine을 처치한 흰쥐의 총담관 안으로 묵즙(India ink)을 주입할때 증식된 oval cell에 염색이 됨을 관찰하여 oval cell이 기존의 biliary network에 연결되는 담관양구조를 형성한다고 보고하였다. 또한 Bhathal과 Christie<sup>16)</sup>는 묵즙 주입후 생체형광법

에 의해 증식된 세담관이 담모세관과 소담관을 연결하는 것을 입증하였으나 Buysens<sup>41)</sup>는 대부분의 신생 세담관이 담모세관과 담관을 연결시키지 못한다고 하였다. 본 연구의 전자현미경적 관찰소견에서 내강을 형성하지 않는 담상피세포군에서 내강을 형성하는 담상피세포군으로 진행될수록 세포질내의 미세섬유, 세포 소기관의 미세 용모의 발달, 미세 용모내의 미세섬유, 종말관등 변화로 증식된 담도계의 구조에서 성숙의 연속성을 관찰할 수 있었으며 담상피세포군내와 세포군 주위에 미분화 세포가 나타나고 비교적 분화된 담상피세포가 담상피세포군에서 주위 조직으로 발아하면서 어떤 부위에서 간세포와 함께 내강을 형성하기도 하였다. 또한 연속 절편의 광학현미경적 소견상 문맥관의 담도계와 간소엽내의 담상피세포군과 연결되는 양상이 관찰되는 것으로 미루어 총담관 폐쇄시 담도계의 형성은 기존의 문맥관내의 담상피세포 또는 세담관의 담상피세포가 간소엽의 간세포쪽으로 증식하여 담상피세포군이 형성되는 것으로 생각되었다. 이와 같은 소견은 세담관이나 담소관의 증식은 기존의 정상 담관이나 담소관이 늘어나고 꼬여서 된다고 하는 보고들<sup>16-20)</sup>과 일치되는 점으로 생각된다.

임상적으로 인간에서는 지속적인 간의담도 폐쇄가 있을 경우 문맥역에서 부터 섬유화가 시작되어 인접한 문맥역들이 서로 연결되고 결국에는 간소엽이 섬유조직 격막으로 둘러싸이는 소결절성 담즙성 간경변증이 유발될 수 있다<sup>42)</sup>고 한다. 동물 실험에서 Kountouras 등<sup>6)</sup>은 Sprague-Dawley종 흰쥐를 대상으로 총담관 결찰 후 28일만에 간 경변을 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서 총담관 결찰을 시행한 후 5주군부터 광학현미경적 검사상 경미한 섬유화를 Masson trichrome 염색으로 관찰할 수 있었으나 15주가 되어도 간경변증의 소견은 관찰할 수 없었다. 아마 이는 실험 동물의 사육 환경이나 투여한 사료의 차이, 또는 실험 동물의 개체간의 차이에 따른 차이일 것으로 추정된다.

## 결 론

총담관 결찰이 간에 미치는 영향을 알아보기 위해 Sprague-Dawley종 숫컷 흰쥐를 실험 동물로 하여 담관 결찰후 1주, 2주, 3주, 5주, 7주, 9주, 11주, 13주 및 15주에 도살하였다.

대조군과 실험군의 간조직에서 증식상을 보이는 세담관 또는 담소관 등의 형성과정과 그 주위에 나타나는 세포들과의 관계를 규명하고자 광학현미경적, 면역조직화학적 및 전자현미경적 관찰을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 광학현미경적 소견상 담상피세포의 증식은 문맥역 주위에서 부터 시작되었으며, 실험 기간이 길어질수록 담상피세포의 증식이 간소엽 쪽으로 확장되어 고

유 간소엽이 심하게 파괴되어 불확실하게 되었다.

2) Cytokeratin 면역조직화학적 염색상 문맥역의 담도계와 증식된 담세포군에 CK-19는 선택적으로 강하게 양성으로 염색되었고, 연속 절편의 광학현미경적 소견상 문맥역의 담도계와 증식된 담상피 세포군 간에는 연관성이 있었다.

3) 전자현미경적 검색상 담상피세포의 증식과 수반되어 내강 형성이 없는 담상피세포군, 불완전한 내강을 형성하는 담상피세포군 및 완전한 내강을 형성하는 담상피세포군이 관찰되었는데, 이는 성숙의 단계로 생각되었다.

4) 광학현미경적으로 oval cell 모양으로 보이는 세포는 전자현미경적 소견상 미분화 및 분화된 담상피세포 및 간질성 세포, 섬유모세포등이었다.

5) 일부에서 분화된 담상피세포는 담상피세포군에서 기저막을 밀면서 주위로 받아하는 양상이 관찰되었고 부분적으로 기저막을 파괴하였으며, 어떤 부위에서는 간세포와 함께 내강을 형성하였다.

이상의 소견으로 미루어 신생 담도계는 기존의 담도계 세포들의 증식에 의하여 형성된다고 생각되었다.

### 참 고 문 헌

- 1) Jones AL, Spring-Mills E. *The liver and gallbladder*, In: Weiss L(ed), *cell and tissue biology; A textbook of histology*. 6th ed, Baltimore: Urban and Schwarzenberg 1983; 689-714.
- 2) Goldblatt PJ, Gunning III WT. *Ultrastructure of the liver and biliary tract in health and disease*. *Ann Clin Lab Sci* 1984; 14(2): 157-67.
- 3) Ross MH, Reith EJ. *Histology; A text and atlas*, New York: Harper and Row publishers 1985; 472-82.
- 4) Philips MJ, Poucell S, Patterson J, Valencia P. *The liver: An atlas and text of ultrastructural pathology*, New York: Raven press 1987; 1-35.
- 5) Desmet VJ. *Cholestasis: Extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis*, In: MacSween RNM, Anthony PP, and Scheuer PJ(ed), *pathology of the liver*, 2nd ed, New York: Churchill Livingstone 1987; 364-423.
- 6) Kountouras J, Billing BH, Scheur PJ. *Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat*. *Br J Exp Path* 1984; 65: 305-11.
- 7) Sirica AE, Williams TW. *Appearance of ductular hepatocytes in rat liver after bile duct ligation and subsequent zone 3 necrosis by carbon tetrachloride*. *Am J Pathol* 1992; 140: 129-36.
- 8) Proctor E, Chatamra K. *High yield micronodular cirrhosis in the rat*. *Gastroenterology* 1983; 83: 1183-90.
- 9) Plaa GL. *Toxic responses of the liver*, In Klaassen CD, Amdur MO and Doull (ed), *Casarett and*

- Doull's toxicology*. 4th ed, New York: Macmillian publish 1991; 334-53.
- 10) Elmore LW, Sirica AE. *Phenotypic characterization of metaplastic intestinal glands and ductular hepatocytes in cholangiofibrotic lesions rapidly induced in caudate liver lobe of rats treated with furan*. *Cancer Res* 1991; 51: 5752-9.
- 11) Farber E, Cameron R. *The sequential analysis of cancer development*. *Adv Cancer Res* 1980; 31: 125-226.
- 12) Germain L, Goyette R, Marceau N. *Differential cytokeratin and  $\alpha$ -fetoprotein expression in morphologically distinct epithelial cells emerging at the early stage of rat hepatocarcinogenesis*. *Cancer Res* 1985; 45: 673-81.
- 13) Evarts RP, Nagy P, Marsden E, Thorgeirsson SS. *A precursor-product relationship exists between oval cells and hepatocytes in rat liver*. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1737-40.
- 14) Novikoff PM, Ikeda T, Hixson DC, Yam A. *Characterizations of and interactions between bile ductule cells and hepatocytes in early stages of rat hepatocarcinogenesis induced by ethionine*. *Am J Pathol* 1991; 139: 1351-68.
- 15) Lemire JM, Shiojiri N, Fausto N. *Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine*. *Am J Pathol* 1991; 139: 535-52.
- 16) Bhathal PS, Christie GS. *A fluorescence microscopic study of bile duct proliferation induced in guinea pig by alpha-naphthyl isothiocyanate*. *Lab Invest* 1969; 20: 480-7.
- 17) Masuko K, Rubin E, Popper H. *Proliferation of bile ducts in cirrhosis*. *Arch Pathol* 1964; 78: 421-31.
- 18) Sasaki H, Schaffner F, Popper H. *Bile ductules in cholestasis; Morphologic evidence for secretion and absorption in man*. *Lab Invest* 1967; 16: 84-95.
- 19) Fausto N. *Hepatocyte differentiation and liver progenitor cells*. *Current opinion in cell biology* 1990; 2: 1036-42.
- 20) Dunsford HA, Maset BS, Salman J, Sell S. *Connection of duct-like structures induced by a chemical hepatocarcinogen to portal bile ducts in the rat liver detected by injection of bile ducts with a pigmented barium gelatin medium*. *Am J Pathol* 1985; 118: 213-24.
- 21) Farber E. *Similarities in the sequence of early histological changes induced in the liver of the rat by ethionine, 2-acetylaminofluorene, and 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene*. *Cancer Res* 1956; 16: 142-8.
- 22) Schaffner F, Popper H. *Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules*. *Am J*



- Pathol* 1961; 38: 393-410.
- 23) Grisham JW, Porta EA. *Origin and fate of proliferated hepatic ductal cells in the rat; Electron microscopic and autoradiographic studies. Exp Mol Pathol* 1964; 3: 242-61.
  - 24) Germain L, Blouin MJ, Marceau N. *Biliary epithelial and hepatocytic cell lineage relationships in embryonic rat liver as determined by the differential expressions of cytokeratins,  $\alpha$ -fetoprotein, albumin, and cell-surface exposed components. Cancer Res* 1988; 48: 4909-18.
  - 25) Shiojiri N, Lemire JM, Fausto N. *Cell lineages and oval cell progenitors in rat liver developments. Cancer Res* 1991; 51: 2611-20.
  - 26) Popper H, Kent G, Stein R. *Ductular cell reaction in the liver in hepatic injury. J Mt Sinai Hosp, NY.* 1957; 24: 551-6.
  - 27) MacDonald RA, Mallory GK. *Fibrous tissue in nutritional cirrhosis. Arch Pathol* 1959; 67: 119-27.
  - 28) Korpassy B, Kovacs K. *Experimental liver cirrhosis in rats produced by prolonged subcutaneous administration of solutions of tannic acid. Brit J Exp Pathol* 1949; 30: 266-72.
  - 29) Grisham JW, Hartroft WS. *Morphologic identification by electron microscopy of oval cells in experimental hepatic degeneration. Lab Invest* 1961; 10: 317-32.
  - 30) Braun L, Mikumo R, Fausto N. *Production of hepatocellular carcinoma by oval cells: cell cycle expression of c-myc and p53 at different stages of oval cell transformation. Cancer Res* 1989; 49: 1544-61.
  - 31) Everts RP, Nagy P, Nakatsukasa H, Marsden E, Thorgeirsson SS. *In vivo differentiation of rat liver oval cells into hepatocytes. Cancer Res* 1989; 49: 1541-7.
  - 32) Everts RP, Nakatsukasa H, Marsden ER, Hsia CC, Dunsford HA, Thorgeirsson SS. *Cellular and molecular changes in the early stage of chemical hepatocarcinogenesis in the rat. Cancer Res* 1990; 50: 3439-44.
  - 33) Sell S, Dunsford HA. *Evidence for the stem cell origin of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. Am J Pathol* 1989; 134: 1347-63.
  - 34) Sell S, Osborn K, Leffert HL. *Autoradiography of oval cells appearing rapidly in the liver fed N-2-fluorenylacetamide in a choline devoid diet. Carcinogenesis* 1981; 2: 7-14.
  - 35) Sell S, Salman J. *Light and electron-microscopic autoradiographic analysis of proliferating cells during the early stages of chemical hepatocarcinogenesis in a choline-deficient diet. Am J Pathol* 1984; 114: 287-300.
  - 36) Luft JH. *Improvement in epoxy resin embedding methods. J Biophysiol Biochem Cytol* 1961; 9: 409-21.
  - 37) Reynolds ES. *The use of lead citrate at high pH as an electron microscop. J Cell Biol* 1963; 17: 208-19.
  - 38) Inaoka Y. *Significance of the so-called oval cell proliferation during azo dye hepatocarcinogenesis. Gann* 1967; 58: 355-66.
  - 39) Germain L, Noel M, Gourdeau H, Marceau N. *Promotion of growth and differentiation of rat ductular oval cells in primary culture. Cancer Res* 1988; 48: 368-78.
  - 40) Rubin E, Hutterer F, Leevy C, Danon G, Popper H. *Population kinetics in human and experimental liver injury. Am J Pathol* 1963; 43: 123-30.
  - 41) Buysens N. *Ductular proliferation. Gastroenterology* 1965; 49: 702-6.