

## 총담관 결찰후 섬유화에 있어서 Ito 세포의 역할

-비타민 A에 의한 Ito 세포 억제효과-

경북대학교 의과대학 병리학교실

박 경 희 · 이 상 한 · 채 종 민

### The Role of Ito Cell in Hepatic Fibrosis after Common Bile Duct Ligation

-Inhibitory role of vitamin A in Ito cell-

Kyung Hee Park, M.D., Sang Han Lee, M.D. and Jong Min Chae, M.D.

Department of Pathology, School of Medicine, Kyungpook National University

The purpose of this study was to investigate the inhibitory role of vitamin A with respect to activation of Ito cells in fibrosis of the rat liver induced by common bile duct ligation (CBDL). The liver was examined by immunohistochemical staining for  $\alpha$ -smooth muscle actin, the known marker of activated Ito cells, and light and electron microscopy after CBDL and CBDL with intraperitoneal injection of retinoic acid (Sigma, USA) 1 mg/Kg in 3 times per week.

The results were summarized as follows:

After CBDL, the bile ductules were markedly proliferated in the periportal areas extending to terminal hepatic veins. Interstitial fibrosis and inflammatory cell infiltration appeared, however, cholestasis was minimal. Retinoic acid treatment with CBDL decreased bile ductular proliferation and interstitial fibrosis compared to CBDL only. After CBDL, proliferated and activated Ito cells showing positive reaction in smooth muscle actin were present in the periductular and perisinusoidal areas, and areas of increased interstitial fibrosis. Activated Ito cells were decreased in number after CBDL with vitamin A treatment. Electron microscopically, intracytoplasmic fat droplets and the cytoplasmic processes of Ito cells were decreased after CBDL. Myofibroblasts were frequently appeared in the interstitial fibrosis after CBDL. But, intracytoplasmic fat droplets of Ito cells were well preserved, and myofibroblasts were found less frequently after CBDL with vitamin A treatment.

The results suggest that vitamin A plays an inhibitory role in the activation and fibrogenesis of Ito cells after CBDL. (Korea J Pathol 1995; 29: 1~9)

**Key Words:** Liver, Fibrosis, Ito cell, Myofibroblast, Vitamin A

### 서 론

간내 비실질세포의 하나로 fat-storing cell, lipocyte, perisinusoidal cell 등으로 불리는 Ito(伊藤)

세포는 동양혈관 주위의 디세강에 위치하고 있으며 간세포와 아주 밀접하게 접촉하고 있다. 형태학적으로는 특징적인 정상 구조를 가지며 세포내에 지방적을 갖고 있다<sup>1)</sup>. 기능적으로는 간내 retinoid의 80~90%를 저장한다. 그리고 간세포와 더불어 비타민 A의 대사에 관여하며 I, III 및 IV형 교원섬유, fibronectin, laminin, chondroitin sulfate와 dermatan sulfate를 포함하는 proteoglycan 등 여러 가지의 세포외 기질을 분비한다. 그 외 hepatocyte growth fac-

접 수: 1994년 8월 1일, 게재승인: 1994년 9월 26일  
주 소: 대구직할시 중구 동인 2가 101, 우편번호 700-422  
경북대학교 의과대학 병리학교실, 이상한

tor (HGF), transforming growth factor-beta 1 (TGF- $\beta$ 1), insulin-like growth factor I, macrophage/monocyte colony stimulating factor 등 성장 인자들도 분비한다<sup>2)</sup>. 그 중에서도 Ito 세포의 세포외 기질의 분비는 간 섬유화를 일으키는 원인이 되기 때문에 중요한 연구 대상이 되고 있다. 최근 면역조직화학적 검색으로는 Ito 세포는 간의 구성 세포 중 유일하게 desmin에 양성 반응을 보인다<sup>3)</sup>. Ito 세포는 활성화 정도에 따라 면역조직화학적 반응이 변하는데 휴지기(quiescent)때는 desmin에, 중간 단계에는 desmin과 smooth muscle actin 둘 다, 그리고 최종적으로 근섬유모세포로 형태학적인 변화가 일어나면 smooth muscle actin에만 양성 반응을 나타낸다<sup>4)</sup>. 따라서 smooth muscle actin에 양성 반응을 보이면 Ito 세포의 활성화를 의미하게 된다.

지금까지의 여러 연구 결과를 종합한 간 섬유화의 가설은 대체로 다음과 같이 요약되고 있다. 즉 지속적인 간손상 및 괴사와 더불어 kupffer 세포의 활성화 및 증식과 단핵세포의 유입에 따른 염증반응이 촉발하고 이러한 탐식세포들은 TGF- $\beta$ 1, platelet-derived growth factor(PDGF)를 포함하는 여러 가지의 성장 인자들을 분비하게 된다. 이에 따라 디세강에 위치하고 있는 Ito 세포는 활성화되어 근섬유모세포로 변하면서 세포외 기질의 분비를 증가시킨다<sup>4)</sup>. 그러나 이러한 가설이 비록 여러 형태의 간 섬유화를 설명할 수 있음에도 불구하고 만성 담즙정체와 같은 경우에는 간 괴사 및 염증반응도 경미하기 때문에 여기에는 또 다른 기전이 작용할 가능성이 많다. 한편 Ito 세포의 활성화에 있어서 길항적인 작용으로 비타민 A의 역할이 최근 제기되고 있다<sup>5-7)</sup>. Davis등<sup>6)</sup>에 의하면 정상 간에서 비타민 A를 투여하면 간내 총 교원섬유 및 TGF- $\beta$ 의 합성이 감소하고, 배양된 Ito 세포 및 생체내 Ito 세포에서 I형 교원섬유 mRNA의 총 양이 상당히 감소하며, Ito 세포의 증식이 억제된다. 또한 비타민 A의 효과는 retinol 보다는 retinoic acid가 100~1000배 더 강력하며, 비타민 A의 이러한 작용을 간경변증 치료에 응용할 수 있을 것으로 생각한다.

실험적 총담관의 결찰은 폐쇄성 담즙정체를 일으켜 간의 담도계의 확장이 일어나며 결국 간내의 담세관에 이르기까지 확장을 일으킨다<sup>8)</sup>. 또한 간내 담즙의 저류로 담즙경색을 초래하고 지속적인 장기적인 담즙의 흐름의 장애는 담관계의 구조를 파괴하여 종국에 가서는 간문맥강에 담관의 광범위한 증식을 초래한다. 담즙경색은 간내에 저류된 담즙 구성성분의 독성에 의하여 초래되며<sup>9,10)</sup>, 담관의 증식성 변화도 역시 간내에 저류된 담즙의 직접적인 영향 또는 정체된 담즙에 의한 담도내압의 증가 때문<sup>11)</sup>으로 추측되고 있다. 많은 인체 간경변증과 여러 가지 간상해의 실험적 상황에서 담관의 증식이 관찰되는데 이는 담관계의 압력의 증가가 담관세포의 분열을 촉발시키기 때문이며 간 실질세

포의 손상은 이차적인 것<sup>12)</sup>으로 알려져 있다. 이어서 간문맥 주위의 결합조직의 증식, 염증성 변화와 괴사 등이 동반되고<sup>13,14)</sup> 간내 혈액순환의 장애<sup>15)</sup>와 2차적인 담즙성 간경변증<sup>16)</sup>으로 발전한다.

이에 저자는 실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 Ito 세포의 활성을 억제하여 간 섬유화의 진행을 차단하는데에 비타민 A의 효능을 알아보려고 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

체중 약 200 g 정도의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 일정 기간 사육한 후 건강이 양호하다고 인정되는 것을 실험에 사용하였다.

### 2. 방법

실험군은 다음과 같이 3군으로 나누었다.

**제 1 군:** 10마리의 실험동물을 에테르로 마취시킨 후 무균적으로 개복하여 총담관을 나일론 봉합사로 이중 결찰한 후 복벽을 봉합하였다. 그후 1, 2, 3, 4 및 6주에 각각 2마리씩 도살하여 관찰하였다.

**제 2 군:** 총담관 결찰 1주전부터 retinoic acid 1 mg/Kg<sup>6)</sup>를 주 3회 복강내로 주사하고 1군과 같은 방법으로 총담관을 결찰하고 주 3회 동량의 retinoic acid를 주사한 후 1, 2, 3 및 4주에 각각 2마리씩 도살하여 관찰하였다. 비타민 A는 미국 Sigma사의 all trans-Retinoic acid(Tretinoin<sup>®</sup>)을 사용하였으며 복강내 주사를 위하여 광원이 차단된 곳에서 올리브 기름에 녹여 알루미늄 호일에 싸서 냉장고에 보관하였다.

**제 3 군:** Retinoic acid의 간독성 여부를 알아보기 위하여 총담관 결찰을 행하지 않고 retinoic acid만을 2군과 같은 방법으로 주사한 후 4주에 2마리를 도살하여 관찰하였다.

대조군으로는 생리식염수 0.3 ml를 복강내로 주사한 군과 복강만을 개복한 군으로 각 2마리씩 4주에 도살하여 관찰하였다.

전 실험동물은 에테르 마취하에 흉강을 열고 처치하는 동안에 혈액응고를 방지하기 위하여 0.3 ml의 헤파린을 심장내에 주입하였다. 그리고 흉부 대동맥을 통해 23gauze 폴리에틸렌관을 삽입한 후 생리식염수를 주입하여 혈관내의 유동혈을 제거한 다음 간조직을 채취하여 광학현미경, 조직면역화학적 및 투과전자현미경 관찰에 이용하였다.

### 3. 표본 제작 방법

광학현미경 재료로 채취한 조직은 일정 부위를 골라 세절한 다음 10% formaldehyde에 24시간 고정하였다. 그 후 탈수, 파라핀 포매를 거쳐 hematoxylin-

eosin 염색 및 Masson's Trichrome 염색을 하여 관찰하였다.

면역조직화학적 관찰은 파라핀 블록을 5~7 μm 두께로 박절한 다음 탈파라핀 및 합수과정을 거쳐 Autoprobe III(Biomedica, MicroProbe System)을 이용하여 40°C에서 Endo/Blocker(Biomedica M-69)에 2분간 부착시켜 내재성 과산화효소의 활성을 억제시킨 후에 phosphate-buffered saline(PBS)으로 세척하였다. 항원-항체간 반응에 있어서 비특이적인 결합을 억제시키기 위하여 1차 항체(Tissue conditioner)를 2분간 부치시켰다. α-smooth muscle actin(Dako-Smooth muscle actin, 1A4)에 대한 항체로 4°C에서 9분간 반응시킨 후 PBS로 세척하고 2차 항체인 biotinylated universal antibody에 40°C에서 5분간 부치시켰다. 세척 후 avidin이 부착된 peroxidase reagent에 40°C에서 4분간 부치시키고 세척하였다. 40°C에서 chromogen(3-amino-9-ethylcarbazole)으로 5분간 발색을 일으킨 다음 수세 후 hematoxylin으로 대비염색을 하여 관찰하였다.

투과전자현미경 관찰은 간조직을 1 mm<sup>3</sup>의 크기로 자른 후 2.5% glutaraldehyde(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 0~4°C)에 2시간동안 전고정을 하고 인산 완충액으로 세척하였다. 1% osmium tetroxide 용액으로 2시간동안 후고정을 하고 완충액으로 세척하였다. 세척한 조직을 계열 알콜로 탈수하고 propylene oxide로 치환한후 epon mixture에 포매하였다. 중합이 끝난 조직을 1 μm의 두께로 박절하여 alkaline toluidine blue 염색을 하여 관찰 부위를 선정 한 후 40~60 nm로 초박절하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 하여 가속전압 75 kV에서 Hitachi H-7000 전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 육안적 소견

실험 제1군의 총담관 결찰을 시행한 1주후부터 담관이 확장되어 있었으며 시간이 경과할수록 그 정도는 심하여 직경 1 mm인 정상 담관이 6주에는 20 mm로 20배 정도로 확장되어 있었다. 간의 표면은 대체로 평활하였으며 총담관 결찰 4주후부터 표면이 약간 불규칙하였으나 간경변증에서 보는 결절성 변화는 관찰되지 않았다. 총담관 결찰과 함께 비타민 A를 투여한 경우에도 비슷한 정도로 담관의 확장이 관찰되었다. 간의 표면은 4주에서만 약간 불규칙하였다. 제3군과 대조군에서는 모두 평활했으며 담관의 확장은 관찰되지 않았다.

### 2. 광학현미경 소견

실험 제1군의 총담관 결찰만을 시행한 제1주후부

터 간문맥역에 담관의 증식이 관찰되었으며 일부 간세포의 세포질 내 그리고 간세포 사이의 담세관에는 갈색의 색소가 침착되었다. 동양혈관에는 방추형의 세포들이 뚜렷하였으나 이들이 Ito 세포인지 kupffer 세포인지는 구분이 되지 않았다. 담관이 증식되어 문맥역에는 드물게 염증세포의 침윤이 관찰되었으며 간세포코오드는 간세포의 종창으로 조금씩 불규칙하였다. 시간이 경과할수록 문맥역에는 담관의 증식이 증가하고 일부의 담관은 간세포 사이에서도 관찰되었다. 총담관 결찰 4주후에는 간세포코오드는 매우 불규칙하였으며 간세포 사이에도 담관의 증식이 집단으로 나타났다. 문맥역이 확장되었고 섬유화도 많이 관찰되었다. 이러한 변화는 주로 문맥역 쪽에서부터 중심정맥 부위로 진행되는 양상이었다. 6주후에 이러한 변화는 아주 광범위하여 간세포코오드는 그 형태를 소실하고 많은 담관의 증식과 더불어 간질조직의 증가가 현저하였다(Fig. 1). 증식된 담관 주위에는 염증 세포의 침윤도 있었으며 방추형의 세포들이 현저히 증가하였다(Fig. 2). 그러나 담즙정체는 2주후부터 오히려 감소하여 6주후에는 거의 관찰되지 않았으며 재생결절의 형성은 6주에도 이루어지지 않았다.

총담관 결찰과 함께 비타민 A를 투여한 군에는 1주후부터 간세포의 세포질 내에 경한 갈색의 침착이 관찰되었고 문맥역에 담관의 증식이 관찰되었다. 이러한 변화는 시간이 경과할수록 심하였으나 담관의 증식은 대체로 문맥역에만 국한하여 있었으며 간세포코오드는 비교적 잘 유지되어 있었다. 총담관 결찰만을 시행한 경우에 비하여 담관의 증식 및 섬유화의 정도가 상당히 감소되어 있었다(Fig. 3).

비타민 A만 투여한 군에서는 대조군에서와 마찬가지로 간세포코오드가 잘 유지되어 있었으며 문맥역에 정도의 염증 세포의 침윤만이 관찰되었다(Fig. 4).

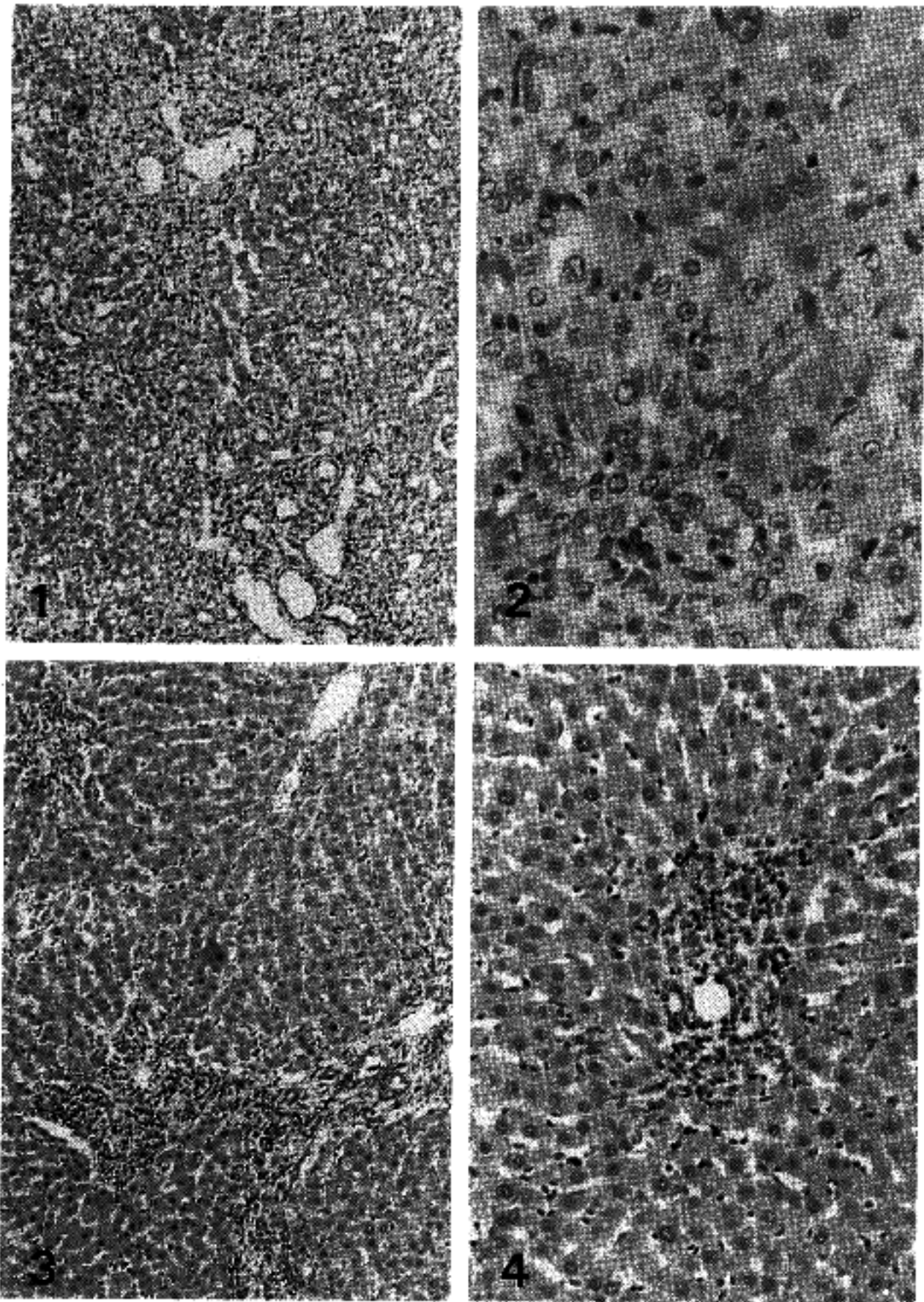
### 3. 면역조직화학적 소견

α-smooth muscle actin에 대한 면역조직화학 염색상 정상군 및 비타민 A만 투여한 군의 경우에는 문맥역의 기질세포와 혈관 주변에만 염색이 되었으며 동양혈관을 따라서는 반응이 없었다(Fig. 5). 총담관을 결찰한 경우에는 증식된 담관 주위의 방추형 세포 및 간질조직에서 강하게 염색이 되었으며 동양혈관을 따라 양성 반응을 보이는 세포들이 많이 관찰되었다. 간세포 사이의 증식된 담관을 따라서도 불규칙하게 염색이 되었다(Fig. 6, 7). 그러나 총담관 결찰후 비타민 A를 같이 투여한 실험군에서는 담관의 증식 부위 및 간질조직 세포에 염색이 되었으나 동양혈관과 간문맥역에 양성 반응을 보이는 세포들은 훨씬 적었다.

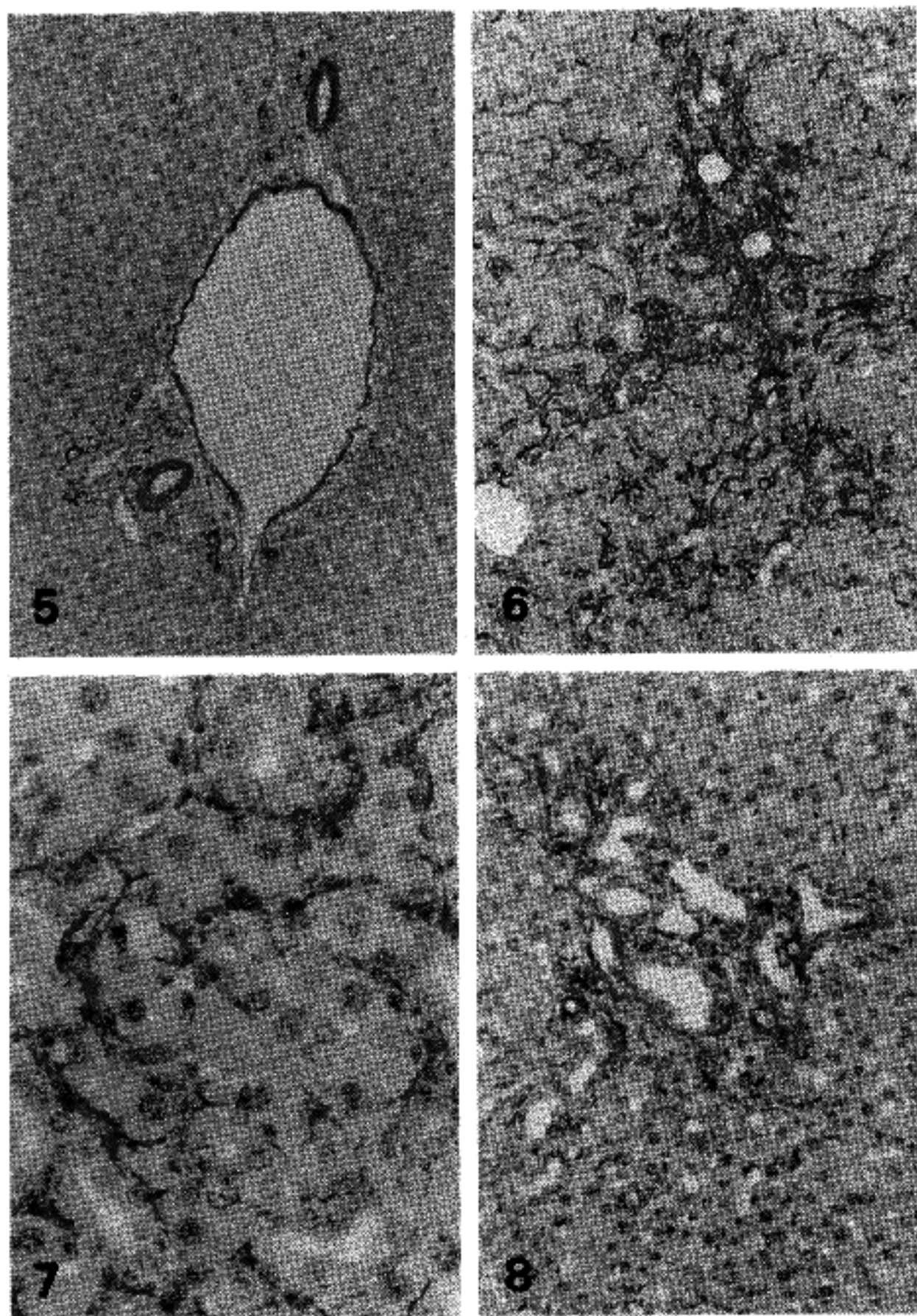
### 4. 투과전자현미경 소견

총담관 결찰 제1주후부터 간세포는 전반적으로 부풀어 있었고 세포질내 미토콘드리아 기질의 밀도가 낮



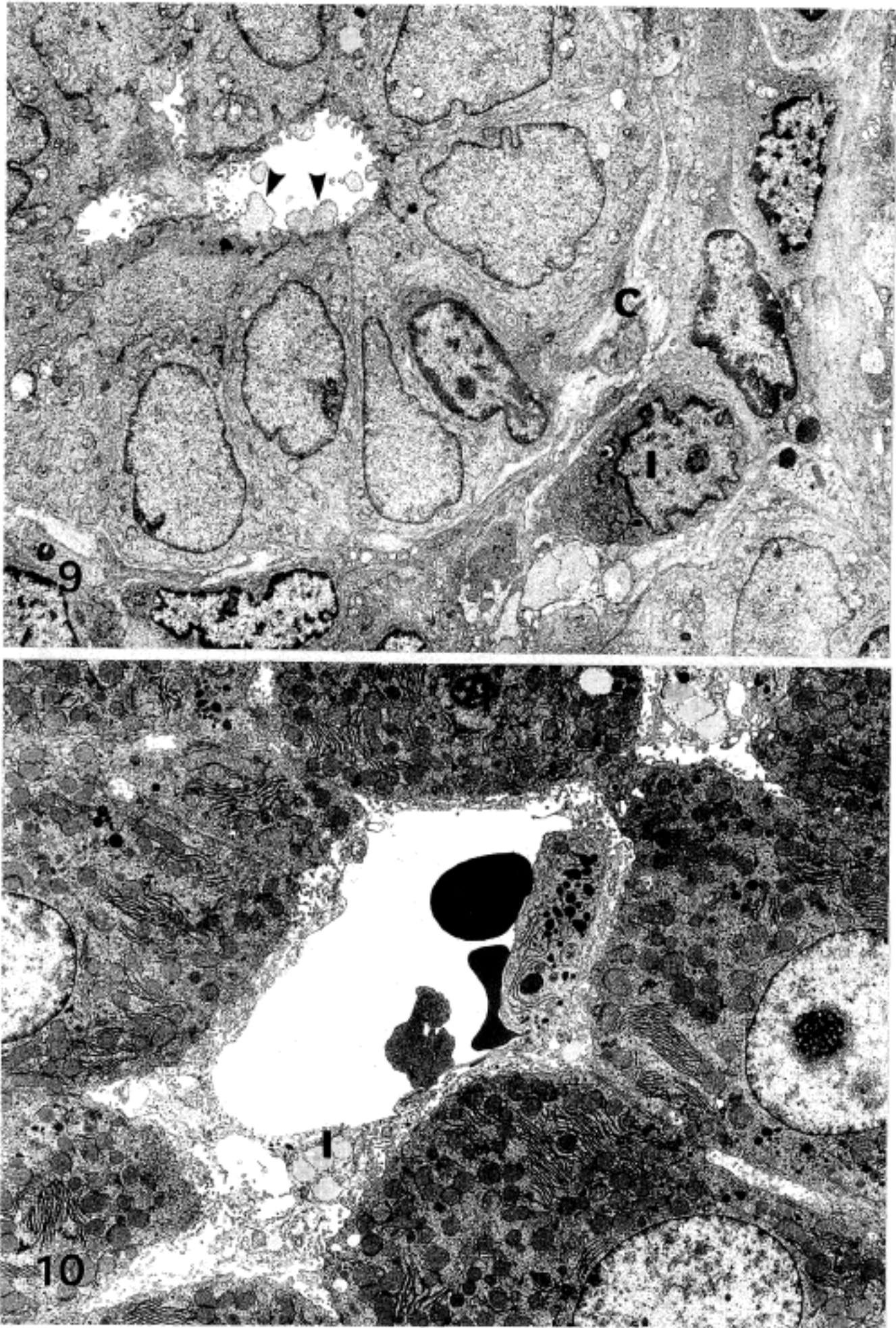


- Fig. 1.** Light micrograph (LM) from the rat liver 6 weeks after common bile duct ligation (CBDL). The hepatic cords are irregular and distorted by marked bile ductular proliferation and increased interstitial fibrosis.  $\times 100$ .
- Fig. 2.** High power view of figure 1. Note marked bile ductular proliferation and increased spindle shaped cells around periductular space and along the sinusoid. Mild inflammatory cell infiltration is also noted.  $\times 400$ .
- Fig. 3.** LM from the rat liver 4 weeks after CBDL with vitamin A treatment. The hepatic cords are well preserved and bile ductular proliferation is confined in the periportal area. Note minimal increase of ductular proliferation and interstitial fibrosis compared to CBDL only  $\times 100$ .
- Fig. 4.** LM from the rat liver 4 weeks after vitamin A treatment. Note mild mononuclear cell infiltration in the portal area.  $\times 200$ .



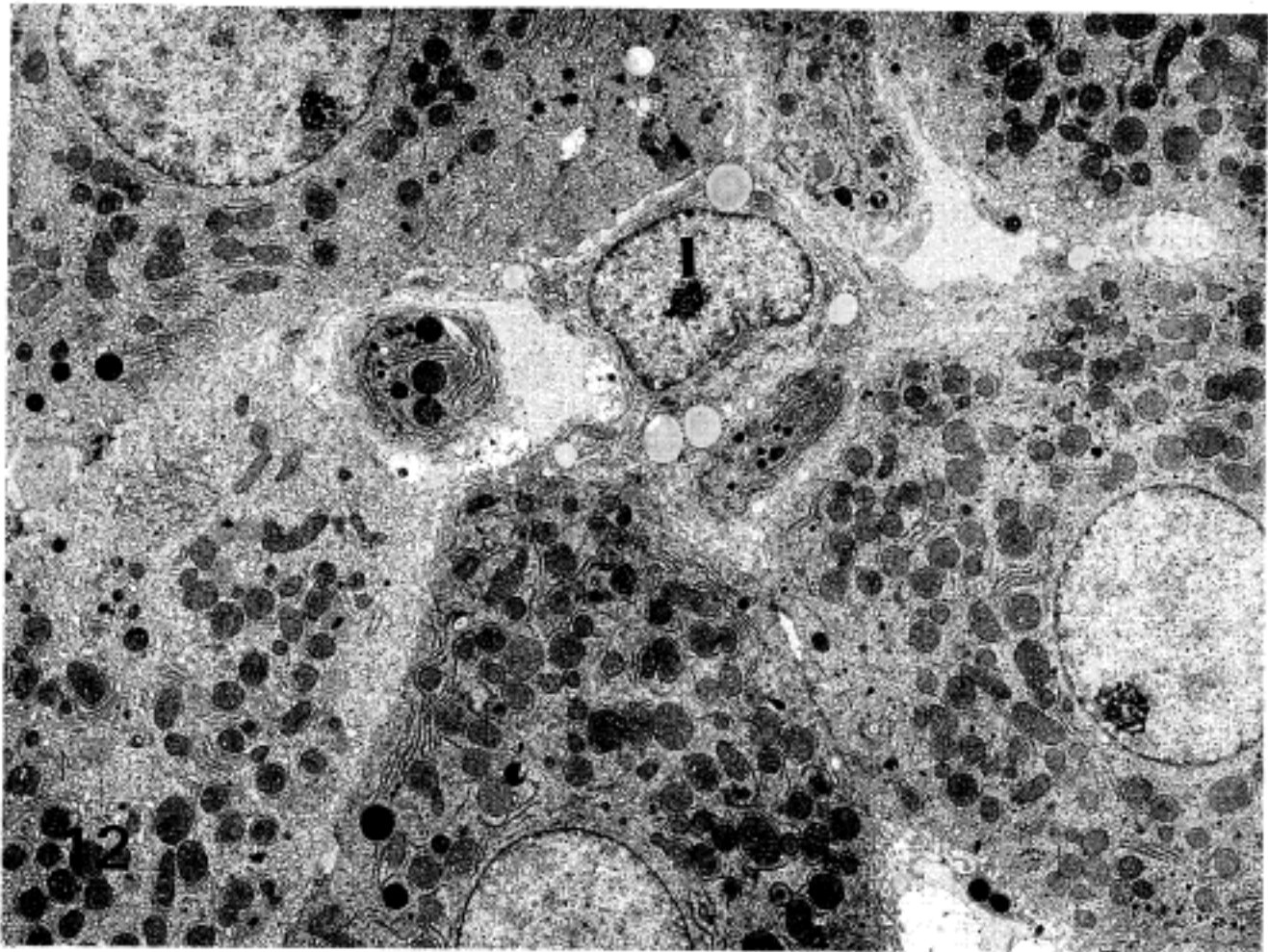
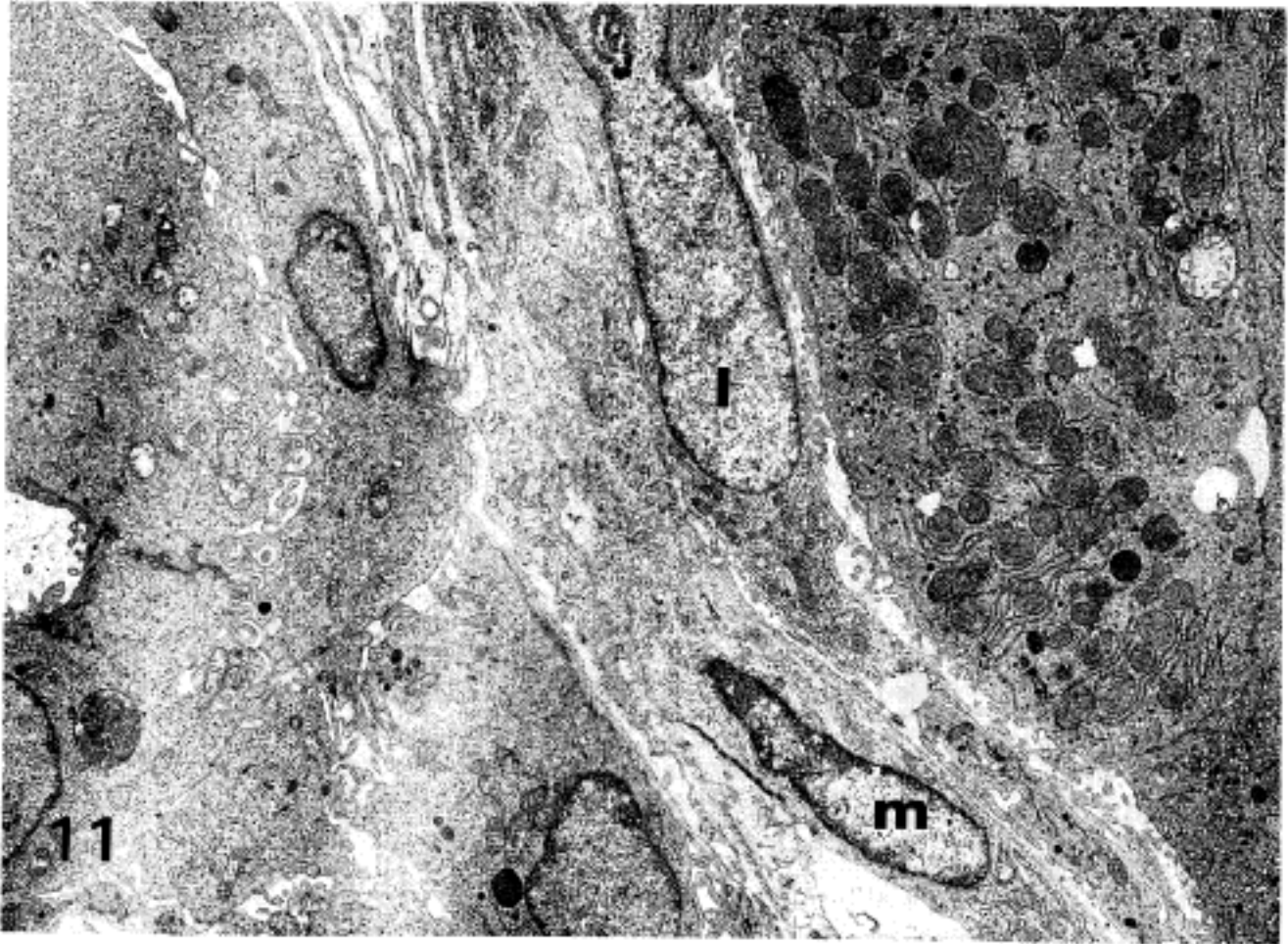
- Fig. 5.** Immunolocalization of smooth muscle actin (SMA) in normal control rat liver. No staining is noted in the perisinusoidal cells.  $\times 100$ .
- Fig. 6.** Immunolocalization of SMA in the rat liver 6 weeks after CBDL. SMA is strongly positive in proliferated periductular spaces and along the sinusoid.  $\times 100$ .
- Fig. 7.** High power view of figure 6. Note SMA is positive in the perisinusoidal spindle cells or spaces.  $\times 400$ .
- Fig. 8.** Immunolocalization of SMA in the rat liver 4 weeks after CBDL with vitamin A treatment. SMA is also positive in the periductular spaces and occasionally along the sinusoid. Note decreased in number of positive cells compared to CBDL only.  $\times 200$ .





**Fig. 9.** Transmission electron micrograph (TEM) of the liver 6 week after CBDL. The proliferated bile ductular epithelial cells have cytoplasmic blebs (arrow heads) in their luminal surface. The cell (I) with indented nucleus and abundant rough endoplasmic reticulum which is believed to be Ito cell. It is present in the periductular space mixed with some inflammatory cells. Note increased collagen (C) accumulation in the periductular space.  $\times 2,500$ .

**Fig. 10.** TEM of normal control rat liver. Note well preserved sinusoid and Ito cell (I) in space of Disse.  $\times 2,000$ .



**Fig. 11.** TEM of the rat liver 4 weeks after DBDL. Note Ito cell (I) and adjacent myofibroblast-like cell (m) in the periductular space.  $\times 3,000$ .

**Fig. 12.** TEM of the rat liver 4 weeks after CBDL with vitamin A treatment. Ito cell (I) has a few fat droplets and microvilli of the hepatocyte are relatively well preserved in state of little collagen accumulation.  $\times 2,000$ .



고 모양도 불규칙하였으며, 2차 리소솜도 많이 관찰되었다. 담세관은 확장되어 있었고 미세융모는 소실되어 있었다. 담관의 증식으로 간세포코오드는 불규칙하였고 4~6주에는 담관의 증식이 광범위하였다. 증식된 담관 상피세포에서도 미토콘드리아가 팽창되고 전자밀도가 감소하였다. 조면세포질내세망과 활면세포질내세망은 확장이 일어나 있고 microfilament, intermediate filament, microtubule이 많이 관찰되었다. 상피세포 표면에 있는 미세융모에는 cytoplasmic bleb도 관찰되었다. 상피세포의 기저막은 두꺼워져 있었고 때로는 주름이 져 있었다. 기저막 주위에는 교원섬유의 증식이 많았으며 그 사이에는 Ito 세포도 관찰되었다(Fig. 9). Ito 세포는 매우 발달한 조면세포질내세망이나 리소솜을 가지고 있었으며 핵은 만입이 일어나 있었다. 정상 간세포에서 많이 보이는 세포질내 지방적(Fig. 10)은 그 수가 감소되어 있거나 때로는 전혀 관찰이 되지 않는 경우도 있었다. 또한 세포질 돌기도 많이 관찰이 되었다. 그리고 근섬유모세포가 자주 관찰되었으며 일부는 Ito 세포와 이웃하여 있었다(Fig. 11).

총담관 결찰과 함께 비타민 A를 투여한 실험군에는 담관의 증식이나 결합조직의 증식이 경미하였으며 일부에서는 동양혈관 주위에 있는 간세포의 세포질에 발달된 미세융모가 잘 보존되어 있는 곳도 있었다. Ito 세포의 변화는 제 1 군과 마찬가지로 교원섬유의 증식이 있는 곳에서는 세포질 내 지방적의 수가 감소하였다(Fig. 12).

비타민 A만 투여한 실험 제 3 군에서는 담세관이 잘 유지되어 있었다. 동양혈관 디세강에 위치하고 있는 Ito 세포에는 오히려 지방적의 수가 증가하는 경향이 있으며 이웃하여 있는 간세포에서도 지방적이 자주 관찰되었다.

## 고 찰

실험적 총담관의 결찰은 폐쇄성 담즙정체를 일으켜 간내 담관의 증식을 초래하고 종국에 가서는 담관의 광범위한 증식과 더불어 염증성 변화와 간세포 괴사를 동반하여<sup>13,14)</sup> 간내 혈액순환의 장애<sup>15)</sup>와 2차적인 담즙성 간경변증<sup>16)</sup>으로의 발전으로 이어진다는 것은 잘 알려져 있다. 담관의 증식은 간내에 저류된 담즙의 직접적인 영향이기 보다는 담도내의 물리적인 압력의 증가에 의한<sup>11)</sup> 것이다. 본 실험에서도 총담관 결찰 1주부터 담관의 증식과 문맥역의 확장이 일어났는데 지금까지와는 달리 담즙정체가 경미하였으며 염증반응도 역시 경미하였다. 이는 아마도 총담관 결찰의 장소가 다른 연구에서보다 좀 더 하방에서 이루어진 결과가 아닌가 생각이 된다. 따라서 다른 연구에서 볼 수 없었던 담관의 확장이 두드러졌으며 총담관 결찰 6주에서는 담관이 정상 담관보다도 20배 이상이나 확장되어 있었

다. 따라서 실험 1주에서 관찰되었던 경도의 담즙정체는 일시적인 담즙의 저류로 인한 결과이며 실험 6주에서 간세포코오드가 거의 파괴될 정도로 담관의 광범위한 증식에서조차 담즙정체가 경미한 것 역시 분비된 담즙의 대부분이 담관에서 저류된 때문이 아닌가 생각된다. 따라서 담관의 증식은 담즙의 직접적인 독성보다는 담도내 압력의 증가가 원인이 된다<sup>12)</sup>는 것을 재확인 할 수가 있었다.

지금까지 실험적 간경변증의 간내 섬유화에 대한 가설은 사염화탄소나 nitrosamine과 같은 화학물질의 독성에 의하여 간세포가 파괴되고 이 때 동반하는 염증성 변화에 의하여 단핵세포의 간내 유입 증가, Kupffer 세포의 활성화 및 증식, 그리고 활성화된 Kupffer 세포가 분비하는 TGF- $\beta$ 와 PDGF에 의한 Ito 세포의 증식 및 활성화이다. 즉 활성화된 Ito 세포는 근섬유모세포로의 변형을 통하여 여러 가지의 세포의 기질을 분비하여 섬유화를 일으킨다<sup>4)</sup>. 간내 비실질 세포의 하나인 Ito 세포는 디세강에 위치하면서 비타민 A의 대사에 관여하며 세포질 내에는 많은 지방적을 가지고 있다<sup>1)</sup>. Ito 세포가 활성화되면 전자현미경 관찰에서는 세포질내 지방적의 수가 감소하고 지방적의 크기는 감소하며 세포질 돌기는 증가한다<sup>2)</sup>. 그리고 면역조직화학적 검색에서는 smooth muscle actin에 양성 반응을 보이는 근섬유모세포가 증가한다<sup>4)</sup>. 본 실험에서도 총담관 결찰 후 4주 및 6주에서 관찰된 Ito 세포에서는 대조군이나 비타민 A만을 주사한 군에서보다 지방적이 다소 적고 세포질 돌기가 더 많았으며, 근섬유모세포가 자주 관찰되었다. 면역조직화학적 검색에서 정상 대조군의 경우에는 간문맥의 일부 세포 및 혈관 주변에서만 양성 반응을 보였고 시간이 경과함에 따라 담관의 증식이 있는 문맥역 뿐만 아니라 동양혈관을 따라 양성 반응을 나타내었다. 그리고 담관의 증식이 광범위하고 결합조직의 합성이 증가할 수록 그 발현 정도는 훨씬 강하였다.

Ito 세포가 비타민 A 대사에 관여하고 있기 때문에 비타민 A의 영향에 관한 연구가 활발하지만<sup>5~7)</sup> 이 연구들에서는 모두 분리 배양한 Ito 세포에서의 작용을 관찰하였다. 이들 연구 결과에 의하면 비타민 A 즉 retinoic acid를 투여하였을 때 배양된 Ito 세포들에서 교원섬유와 TGF- $\beta$ 의 합성이 감소하고 Ito 세포의 증식이 억제되었다<sup>6)</sup>. 또한 Davis등<sup>7)</sup>에 의하면 retinoic acid와 TGF- $\beta$ 에 의하여 PDGF에 의한 Ito 세포의 활성이 억제되고 비타민 A중에서도 retinoic acid가 retinol보다도 100~1000배 더 강력한 효과가 있다<sup>6)</sup>. 지금까지의 비타민 A에 대한 연구가 대체로 배양세포로 이루어진 것에 반하여 본 실험에서는 생체에 Tretinoin을 적용하여 총담관 결찰 전후에 retinoic acid를 주 3회 1 mg/Kg를 복강내로 투여하였다. 그 결과 간문맥역에 국한하여 담관의 증식이 일어났으며 그 정도가 총담관 결찰만을 시행한 실험군



에 비하여 담관 및 결합조직의 증식이 현저히 적었다. 이는 생체 실험에서도 비타민 A 투여에 의하여 Ito 세포의 활성이 억제되었다는 것을 시사한다. 면역조직 화학적 검색에서도  $\alpha$ -smooth muscle actin에 양성인 세포의 출현이 비타민 A 투여로 현저히 감소되어 있었다. 따라서 담즙정체에 의한 간 섬유화에서 비타민 A 투여로 섬유화를 완전히 억제할 수는 없지만 섬유화의 진행을 어느 정도 안정화 내지는 감소시킬 수 있을 것이라고 생각된다. 그러나 비타민 A의 투여가 어떠한 기전으로 Ito 세포의 활성을 억제하느냐는 아직도 잘 알려져 있지 않다. 따라서 이에 대한 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각한다.

## 결 과

Ito 세포의 활성을 억제하여 간 섬유화의 진행을 차단한다고 보고되고 있는 비타민 A의 효능을 알아보고자 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐의 총담관을 결찰하고, 결찰 전후에 retinoic acid 1 mg/Kg를 복강 내로 주 3회 투여한 후 1, 2, 3 및 4주후에 2마리씩 도살하여 광학현미경 및 투과전자현미경, 그리고 면역조직화학적 검색을 시행하였다.

그 결과를 요약하면 총담관 결찰 1주후부터 간문맥을 중심으로 담관의 증식이 관찰되었는데 시간이 경과할수록 담관의 증식은 광범위하고 결합조직의 증식이 증가하였다. Retinoic acid를 병합 투여한 군에서는 문맥역에 국한하여 담관의 증식이 일어났으며 그 정도는 훨씬 경미하였다. 면역조직화학적 검색에서 Ito 세포의 활성을 나타내는 smooth muscle actin에 양성 반응을 보인 세포는 총담관 결찰 후 증식된 담관 주위뿐만 아니라 동양혈관 주위에서도 많이 관찰되었는데 retinoic acid를 병합 투여한 경우에 그 수가 훨씬 적었다. 투과전자현미경 관찰에서도 총담관 결찰 후에는 Ito 세포의 세포질 내에 지방적의 수가 감소하고 세포질 들기가 증가하였으며 근섬유모세포의 수가 증가하였다. Retinoic acid를 병합 투여한 군에서는 근섬유세포로의 변환이 적었으며 세포질 내에 지방적을 보존하고 있는 세포들이 많았다. 또한 교원섬유 및 세포외기질의 축적이 훨씬 적었다.

이상의 성적으로 보아 비타민 A 투여는 총담관 결찰에 의한 간섬유화에 있어서 Ito 세포의 활성을 억제하여 섬유화의 진행을 억제내지 안정화시키는 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1) Wake K. *Perisinusoidal stellate cells (fat storing cells, interstitial cells, lipocyte), their related structure in and around the liver sinusoid, and vitamin A storing cells in other organs. Int Rev Cytol* 1980;

66: 303-53.  
2) Bouwens L, De Bleser P, Vanderkerken K, Geerts B, Wisse E. *Liver cell heterogeneity: functions of non-parenchymal cells. Enzyme* 1992; 46: 155-68.  
3) Ballardini G, Fallani M, Biagini G, Bianchi FB, Pisi E. *Desmin and actin in the identification of Ito cells and in monitoring their evolution to myofibroblasts in experimental liver fibrosis. Virchows Arch B Cell Pathol* 1988; 56: 45-9.  
4) Hines JE, Johnson SJ, Burt AD. *In vivo responses of macrophages and perisinusoidal cells to cholestatic liver injury. Am J Pathol* 1993; 142(2): 511-8.  
5) Davis BH, Pratt BM, Madri JA. *Retinol and extracellular collagen matrices modulate hepatic Ito cell collagen phenotype and cellular retinol binding protein levels. J Biol Chem* 1987; 262: 10280-6.  
6) Davis BH, Kramer RT, Davidson NO. *Retinoic acid modulates rat Ito cell proliferation, collagen, and transforming growth factor  $\beta$  production. J Clin Invest* 1990; 86: 2062-70.  
7) Davis BH, Rapp UR, Davidson NO. *Retinoic acid and transforming growth factor beta differentially inhibit platelet-derived-growth-factor-induced Ito cell activation. Biochem J* 1991; 278(Pt1): 43-7.  
8) Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, Clement B, Rissel M, Deugnier Y, Campion JP, Guillouzo A. *Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. Am J Pathol* 1990; 137(6): 1333-42.  
9) Johnstone MS, Lee EG. *A quantitative assessment of the structural changes in the rat's liver following obstruction of the common bile duct. Br J Exp Pathol* 1976; 57: 85-94.  
10) International Group. *Histopathology of the intrahepatic biliary tree. Liver* 1983; 3: 161-75.  
11) Cameron GR, Hasan SM. *Disturbances of structure and function in the liver as the result of biliary obstruction. J Pathol Bacteriol* 1958; 75: 333-49.  
12) Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. *Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. Gastroenterology* 1990; 99(2): 466-77.  
13) Carpino F, Gaudio E, Marinozzi G, Melis M, Motta PM. *Scanning and transmission electron microscopic study of experimental extrahepatic cholestasis in the rat. Br J Exp pathol* 1984; 65: 305-11.  
15) Shibayama Y, Nakata K. *Haemodynamic alterations and their morphological basis in biliary obstruction. Liver* 1992; 12(4 Pt 1): 175-8.  
16) Popper H, Schaffner F. *Cholestasis. In: WS Haubrich, MH Kalser, JLA Roth, F Schaffner. Gastroenterology, Vol 5, 4th ed, WB Saunders, Philadelphia, 1985; 2697-731.*