

모노크로탈린을 투여한 백서 폐의 미세혈관구조 변화에 관한 부식주조법에 의한 주사전자현미경적 연구

단국대학교 및 서울대학교* 의과대학 병리학교실

명 나 혜 · 함 의 근*

A Scanning Electron Microscopic Study on Microvascular Changes in the Monocrotaline-induced Rat Lung by Corrosion Casting Method

Na Hye Myong, M.D. and Eui Keun Ham*, M.D.

Department of Pathology, Dan Kook University and Seoul National University*,
College of Medicine

To investigate the microvascular changes in primary pulmonary hypertension, the lungs of 24 Sprague-Dawley rats were treated by an intraperitoneal injection of 2% monocrotaline(MCT) solution and then examined with scanning electron microscopy(SEM) after microvascular corrosion casting. Histologic examination revealed significant medial thickening in the small to medium-sized pulmonary arteries. Scanning electron microscopic findings of the normal lungs showed two kinds of microvascular structures. One showed a well-formed three-dimensional basket structure of uniform flat-tubular alveolar capillaries, which were connected to each other in a T or Y shape or at right angles. The other revealed a two-dimensional reticular sheet of round tubular branches mainly in the bronchial artery-supplying regions. The MCT-treated groups showed apparent changes in both kinds of microvasculatures in comparison to the normal group but the more prominent change was found in the bronchial artery microvasculature showing the dense thick encasement around large pulmonary arteries. Alveolar microvasculature of the pulmonary artery revealed individually enlarged angular appearance, with generally deformed alveolar architecture. Quantitatively, the significant enlargement of diameter and intercapillary distance appeared in both microvasculatures of MCT-induced rat lungs, but the density was increased only in the bronchial artery microvasculature.

In conclusion, our three-dimensional microvascular study of the MCT-treated rat lungs demonstrates a new morphologic finding of vascular remodeling in primary pulmonary hypertension, which is thought to play an important vascular role in the pathogenesis in addition to interstitial fibrosis. (*Korean J Pathol* 1995; 29: 644~659)

Key Words: MCT-induced rat lung, Primary pulmonary hypertension, Microvascular changes, Scanning electron microscopy, Corrosion casting

접 수:1995년 3월 24일, 게재승인:1995년 5월 30일

주 소:충남 천안시 안서동 산 29번지, 우편번호 330-714

단국대학교 의과대학 병리학교실, 명나혜

*본 연구는 서울대학병원 지정진료 연구비(함의근, 1994)의 일부로 이루어졌음.

†본 논문의 요지는 1994년 46차 추계병리학회에서 발표되었음.

서 론

폐동맥 고혈압은 일단 병변이 진행하면 불가역적인 경과를 밟고 치료가 용이하지 않으므로 오래전부터 발생 기전을 밝히기 위해 많은 연구가 이루어져 왔으나¹ 아직도 원인을 알 수 없는 원발성 폐고혈압과 여러 질환과 동반되어 일어나는 이차적인 폐고혈압으로 분류하고 있다². 이중 식이성 인자로 지목되는 모노크로탈린(monocrotaline)은 *Crotalaria spectabilis* 라는 콩과 식물의 씨앗과 잎등에서 추출된 분자량 325.4의 pyrrolizidine alkaloid로서 이 물질의 투여는 비교적 쉽게 그리고 확실하게 원발성 폐고혈압의 병리학적 변화를 유발하여 이 병변의 발생기전을 연구하는데 널리 이용되어 온 약제이다³. 현재까지 이 약제를 이용하여 폐동맥 고혈압의 발생기전으로 밝혀진 광학현미경 및 투과형 전자현미경 검사의 연구 결과들을 요약하면, 초기에 혈관 내피세포의 손상으로 인해 폐부종, 폐포벽의 파괴, 간질의 섬유화가 일어나는 폐실질성 병변과⁴⁻⁹, 비만세포로부터 5-hydroxytryptamine의 분비 증가로 인한 폐동맥 및 폐정맥의 수축성 증가¹⁰, 혈소판응집성 혈전의 형성⁸ 및 부분적 모세혈관의 폐쇄로 인해^{11,12} 폐혈관의 중막 비후를 비롯한 구조적 변화가 후기에 일어나 재구성(remodelling)됨으로써 비가역적인 폐고혈압을 일으키는 것으로 되어있으나 분명한 발생기전은 아직 밝혀져 있지 않다. 병리학적 조직소견으로는, 1961년 Lalich 및 Merkow¹³가 최초로 폐동맥 혈관염을 보고 함을 비롯하여 심근염, 폐부종 및 출혈, 비근육성 소동맥의 근육화 등이 초기의 소견들로¹⁴, 그리고 중형 및 소형 폐동맥의 근육성 중막의 비후^{15,16}와 소동맥들의 숫적 감소 등이 폐고혈압 후기의 대표적인 소견들로 알려져 있다^{15,17,18}. 투과형 전자현미경적 소견으로는 폐포 모세혈관의 내피세포의 손상, 폐포성 상피세포와 평활근 세포의 숫적 증가와 그 세포질내에 다양한 소구조들의 증가, 그리고 혈관내 혈전 형성등이 기술되어 있다^{14,15,19}. 그후 모노크로탈린을 투여하여 폐고혈압 발생의 초기 변화를 동결할단기법(freezing fracture technique)을 이용한 주사전자현미경적 관찰로 혈관내면 형태의 변화와 혈전 형성의 관찰 등을 보고하였다²⁰. 지금까지의 이차원적인 관찰 방법들에 의한 발생기전의 연구 결과들을 종합하면, 폐동맥 고혈압의 발생에 있어 초기에는 내피세포의 손상이 중요하며 이어서 비가역적인 혈관 구조의 재구성이 일어난다. 여기서 폐혈관 구조의 변화에 대한 소견은 평면적인 관찰방법의 제한성 때문에 주로

소동맥 이상의 혈관에 관하여 기술되어 있고, 미세혈관들의 변화를 알기 위해 형태학적인 소견을 관찰하거나 발생기전에 있어서 미세혈관의 역할 등을 연구한 것은 드물다. 미세혈관 구조의 연구에는 methacrylate와 같은 액상의 polymer resin 계통의 물질을 혈관과 같은 내강이 있는 구조물에 주입하고 나서 굳히는 부식주조기법(corrosion casting technique)을 이용하여 만든 혈관의 복제(replica)를 주사전자현미경으로 관찰하는 방법이 가장 좋은 것으로 알려져 있고^{21,22}, 이 방법으로 정상 폐의 미세혈관계는 크게 두 종류로, 하나는 폐동맥 기원의 매우 낮은 압력을 유지하는 폐포 주위 바스켓 구조이고 다른 하나는 기관지 동맥에서 기원한 평면상으로 연결된 미세혈관들이라는 사실이 밝혀져 있다²². 이를 토대로 폐고혈압을 비롯한 폐혈관 질환에서의 미세혈관 구조에 일어난 변화를 연구하여 현재까지 밝혀져 있는 사실들은 폐고혈압에서 정상에 비해 폐포의 미세혈관의 밀도가 감소되어 있음과 기관지 동맥 기원의 미세혈관 형성이 폐동맥 주위에 주로 일어남이 소수 알려져 있을 뿐^{23,24}, 폐고혈압에서의 미세혈관들의 전반적인 형태학적 그리고 정량적인 변화에 대한 기술은 아직 되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 백서에 모노크로탈린을 투여하여 폐고혈압을 일으킨 후 부식주조법으로 폐의 모든 미세혈관의 복제(replica)를 만들어 주사전자현미경으로 관찰함으로써 폐고혈압에서의 미세혈관구조의 전반적인 형태 및 정량적인 변화들을 밝히고 그 결과를 바탕으로 원발성 폐고혈압의 발병기전의 일부를 설명해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

실험동물은 Sprague-Dawley 종 자웅 백서 각 12마리씩 24마리로서 이들에게 4주간 고형압착 사료와 식수를 자유롭게 먹도록 하고 동일 조건하에서 사육하여 체중이 150~200g이 된 후에 사용하였다. 실험 첫날은 실험군인 모노크로탈린 투여군으로 자웅 백서 각 8마리씩 16마리에 체중 kg 당 60~100mg의 모노크로탈린을, 대조군은 자웅 백서 각 4마리씩 8마리에 동량의 생리식염수를 복강내로 주사하였다. 각 군에서 2마리씩 평균 1주간격으로 한달간 투여군에서 자웅 백서 2마리씩 4마리와 대조군 자웅백서 1마리씩 2마리를 골라 하대정맥을 통해 관류를 실시하였다. 그러나 사육도중 투여군에서 3마리, 대조군에서 2마리가 자연사하여 관

류 실험에는 실험군 13 마리, 대조군 6 마리가 이용되었고, 관류에서 다시 각각 2 마리와 5 마리에 실패하여, 결국 주사전자현미경적 관찰이 가능했던 백서의 숫자는 투여군 11 마리(1 주 3 마리, 2 주 1 마리, 3 주 2 마리, 4 주 5 마리), 대조군 1 마리였다.

실험동물에 투여한 약제인 모노크로탈린은 분자량 325.4의 crystalline monocrotaline(No. C-2401, Crota-line, 미국 Sigma chemical company)으로서 Hayashi 및 Lalich²⁵의 방법을 따라 모노크로탈린 200 mg을 1.2 ml의 1 N 염산에 녹인후 5~6 ml 가량의 증류수로 희석하여 0.5 N 수산화나트륨으로 pH 7.4로 중화시킨 후 증류수를 섞어 전체 용량이 10 ml 가 되게 하여 2% 모노크로탈린 수용액을 만들어 사용하였다. 투여 용량과 방식은 쥐의 체중 kg 당 60~100 mg 을 복강내에 주사하였고 대조군에는 같은 용량의 생리식염수를 복강내에 주사하였다.

2. 연구방법

1) 관류와 부식주조 기법: 총 4 주 동안 평균 1 주마다 쥐의 복강내에 Entobar 0.3 ml 를 주입하여 마취하고 흉부와 복부를 절개한 다음 heparin 0.3 ml 를 심실내로 주사하고 나서 하대정맥으로 도관을 넣은 후 생리식염수를 주입하면서 좌심방을 절개하여 폐를 관류하고 나온 희석된 혈액이 나오도록 하였다. 생리식염수는 분당 4 ml 속도로 관류하여 폐내 혈액을 완전히 제거한 다음 0.5% glutaraldehyde 와 0.5% paraformaldehyde 를 혼합한 고정액으로 20 분간 혈관을 관류시켜 혈관벽을 고정하였다. 주조물질로는 Plastic 제재인 Mercox CL-2B(DINIPPON Ink and Chemicals, Tokyo) 10 ml 에 MA catalyst 0.3 gm 을 섞어서 분당 2 ml 속도로 하대정맥으로 주입하여 폐혈관을 채운 후 여분의 Mercox 주조물질은 좌심방의 절개공을 통해 빠져나오도록 하였다. Mercox CL-2B 로 폐혈관 주조를 마친후 하대정맥 및 좌심방을 결찰하고 상온에서 2 시간 이상 방치하여 Mercox 주조를 경화시켰다. 경화된 양측폐 전체를 떼어내어 이중 주조물질이 주입되지 않은 부위에서 광학현미경적 검사용 조직을 일부 얻고, 주사전자현미경적 관찰을 위해서 경화가 잘 일어난 곳의 조직을 면도칼로 세절하여 60℃ 의 20% NaOH 용액에 담구고 12 시간 이상 항온수조내에서 방치하여 조직을 완전히 용해시킨 후 남은 혈관주조를 충분한 증류수로 세척하고 공기중에서 건조시켰다.

2) 주사전자현미경적 검사: 건조된 혈관 주조의 복제(cast replica)를 Eiko 회사제 IB-3 ion형 coater를 사

용하여 250~300 Å의 두께로 금을 사용하여 이온 증착한 다음 Hitachi S-520 형 주사전자현미경으로 가속전압 15 KV, working distance 15 내지 30 mm 상태에서 폐장의 미세혈관구조를 관찰하였다. 주사전자현미경적 관찰에서 혈관구조의 대부분을 차지하고 특정한 방향이 없이 분지되어 있는 가장 작은 혈관구조들을 폐포 모세혈관으로 정의한 다음 이들의 형태학적 변화를 살펴보고, 폐포 모세혈관의 주행과 동정맥 문합등의 소견을 찾기 위해서 저배율로 관찰하였다. 혈관구조의 정량적인 변화에 대한 연구로서 모세혈관의 직경, 밀도, 분지의 양상 및 빈도, 미세혈관 사이의 간격을 측정하였다. 먼저 직경은 주사전자현미경의 길이 측정 눈금을 이용하여 폐포 모세혈관과 기관지 동맥 기원의 미세혈관, 그리고 폐동맥과 폐정맥들을 측정하였고, 혈관밀도는 Schraufnagel등²⁷의 측정방법에 따라 폐포 및 늑막에 있는 모세혈관들을 각각 500 배의 배율로 사진을 찍은 뒤 무작위로 10~50 부위를 선정하여 실시하였는데, 90 개의 점으로 이루어진 사각 모눈종이를 이용하여 각 점에 걸리는 것이 각각 모세혈관일 때와 빈공간일 때를 세어서 그 합으로 모세혈관위에 오는 점의 수를 나눈 값으로 정의하였다. 다음 분지의 빈도를 알아보기 위해서는 가능한 한 멀리 모세혈관을 추적하여 한 회로의 길이를 잰 뒤 뻗어나간 분지의 숫자를 세는데 이때 분지의 형태에 상관없이 각 가지를 분지로 인정하였다. 여기에서 분지의 빈도를 재는데 기준이 된 한 회로의 길이는 동맥이 끝나고 분지가 시작되는 점으로부터 정맥이 시작되는 점까지를 측정하였다. 미세혈관들 사이의 간격은 폐포 공간의 최대 직경과 평행선 상의 두 늑막 미세혈관사이를 각각 측정하였다. 핵의 크기는 폐동맥의 주조 부위를 찾아 표면상에 보이는 홈의 장경을 측정하였다. 이상의 조사 항목들의 값들을 대조군 및 실험군에서 측정된 후 Wilcoxon rank sum test 에 의한 통계치리로 두 군 차이의 유의성을 검정하였다.

3) 광학현미경적 검사: 폐고혈압 발생의 간접적인 증명을 위해 폐고혈압에서 주로 변화를 보이는 혈관인 소동맥군의 % 중막 두께를 구하여 대조군과 실험군에서 비교하였다. % 중막 두께는 한 마리당 10 개씩의 혈관을 골라 Olympus 제 현미경의 마이크로미터를 이용하여 중막의 두께를 측정하여 그 혈관 직경의 반으로 나눈 값으로 하였다. 10개 값의 평균을 한 마리의 대표값으로 하여 두 군의 측정값들을 Wilcoxon rank sum test를 이용한 통계치리로 두 군의 평균 중막 두께의 차이의 유의성을 구하였다. p 값이 0.05 이하이면 실험군의 혈관벽 중막의 % 두께

가 대조군에 비해 유의하게 증가된 것으로 판정하였다.

결 과

Sprague-Dawley 종 백서 24 마리중 사육 도중 사망한 5 마리를 제외한 대조군 6 마리, 실험군 13 마리등 모두 19 마리의 쥐들에 대해서는 모두 광학현미경적 소견을 얻었고, 이중 부식주조법까지 성공적으로 실시한 투여군 11 마리와 대조군 1 마리에서는 주사전자현미경으로 미세혈관의 소견을 관찰하였다.

1. 육안 및 광학현미경적 소견

실험 기간 4 주 동안 적출된 모노크로탈린-투여군 (이하 투여군으로 함)과 대조군의 폐의 육안소견상 두 군 모두 현저한 변화는 관찰되지 않았으나 소수에서 늑막하 부위에 미만성으로 점상출혈과 가끔 회백색의 결절들이 흩어져 있는 소견이 관찰되었다. 광학현미경적으로는, 대조군의 폐에서는 별 변화를 보이지 않은 반면, 투여군에서는 5 일째 부터 폐부종과 혈관주위의 림프관 확장의 소견이 혈관염, 폐포벽의 파괴, 폐포세포의 증식 등의 폐실질 병변들과 함께 관찰되었고, 근육성 동맥의 중막이 동심원상으로 비후된 폐혈관의 변화도 미약하나마 관찰되었다(Fig. 1). 약 2 주째 부터는 폐포벽이 모세혈관의 증식과 미약한 섬유증으로 두꺼워지고 국소적으로 괴사성 소동맥염과 큰 기관지 주위의 결체조직내 염증세포의 침윤이 관찰되었으며, 그후 4 주 까지는 근육화된 폐소동맥들의 출현, 중소 근육성 동맥들의 중막 비후, 말초 폐동맥들의 감소 등의 주로 폐혈관의 구조적 변화가 관찰되었다(Fig. 2). 모노크로탈린을 투여한지 5 일째 부터 직경과 중막의 두께가 증가된 것이 관찰되었으므로 투여군 모두를 고혈압군에 포함시켜 중막의 % 두께를 계산하였는데, 그 결과 투여군의 % 혈관벽 두께가 14.9%, 대조군이 6.31%로서 이 차이는 Wilcoxon rank sum test 를 이용하였을 때 p 값 0.01 이하로 유의하였으므로 투여군의 혈관들에서 폐고혈압의 발생을 의미하는 변화가 생긴 것으로 판단하였다(Table 1).

2. 주사전자현미경적 소견

1) 폐혈관 구조의 복제내 미세혈관의 형태학적 소견:

정상대조군: 혈관 복제의 대부분은 미세혈관들로 구성되어 있었고 나머지는 폐문에서 기시하는 큰 혈관들과 중간 크기의 동정맥들로서 표본 중 적은 부분만을 차지하고 있었다. 이중 미세혈관계는 크게

Table 1. Measurement of the % medial thickness of pulmonary arterioles in the histologic sections of 7 control and 13 experimental rats

Experimental days after MCT injection	% medial thickness*	
	Control group(7)**	MCT-treated group(13)**
5 days	4.73	14.7
5 days	7.26	14.0
5 days	7.47	11.5
5 days	4.89	7.57
12 days	6.14	12.2
12 days	3.49	8.93
21 days	9.99	6.30
21 days	5.24	6.50
25 days	7.55	35.6
25 days	\	14.0
25 days	\	25.3
25 days	\	12.3
25 days	\	24.9
Mean ± S.D	6.31 ± 1.97	14.9 ± 8.65
p-value	0.0013	

*: [the medial thickness(μm) ÷ the shortest radius(μm) of an arteriole] x100.

** : the number of each group

S.D.: standard deviation

두 종류로 하나는 삼차원적인 바스켓구조를 형성하는 폐동맥 기원의 폐포 주위의 미세혈관들이며 또한 종류는 늑막과 큰 기관지 공간 또는 폐동맥 구조의 주변에서 평면상으로 연결된 망상구조를 보이는 기관지 동맥 기원의 미세혈관들이었다(Fig. 2). 먼저, 폐동맥 기원의 혈관들은 폐문부위에서 시작되는 큰 폐동맥이 기관지와 평행하게 주행하다가 소엽 또는 선방(acinus) 구조의 중심부위에서 급격히 직경이 작아지는 관모양의 소동맥(small artery)이 된후 여기에서 직각으로 세동맥(arteriole)들을 내며 짧은 모세혈관전 분절(precapillary segment)을 거쳐 모세혈관들이 분지되면서 직각 또는 Y 자 모양으로 연결되어 폐포 주위에 바스켓 구조를 형성하였고(Fig. 3), 단면상에서는 원형 또는 육각형의 구조를 보였다. 개개의 모세혈관들의 직경은 비교적 균일하였고 두께는 폐포공간에 눌러 있는 듯이 납작하였으며 혈관구조의 표면에 핵의 흔적들은 거의 관찰되지 않았다. 폐포의 크기는 비교적 다양하였지만 한 층의 모세혈관들

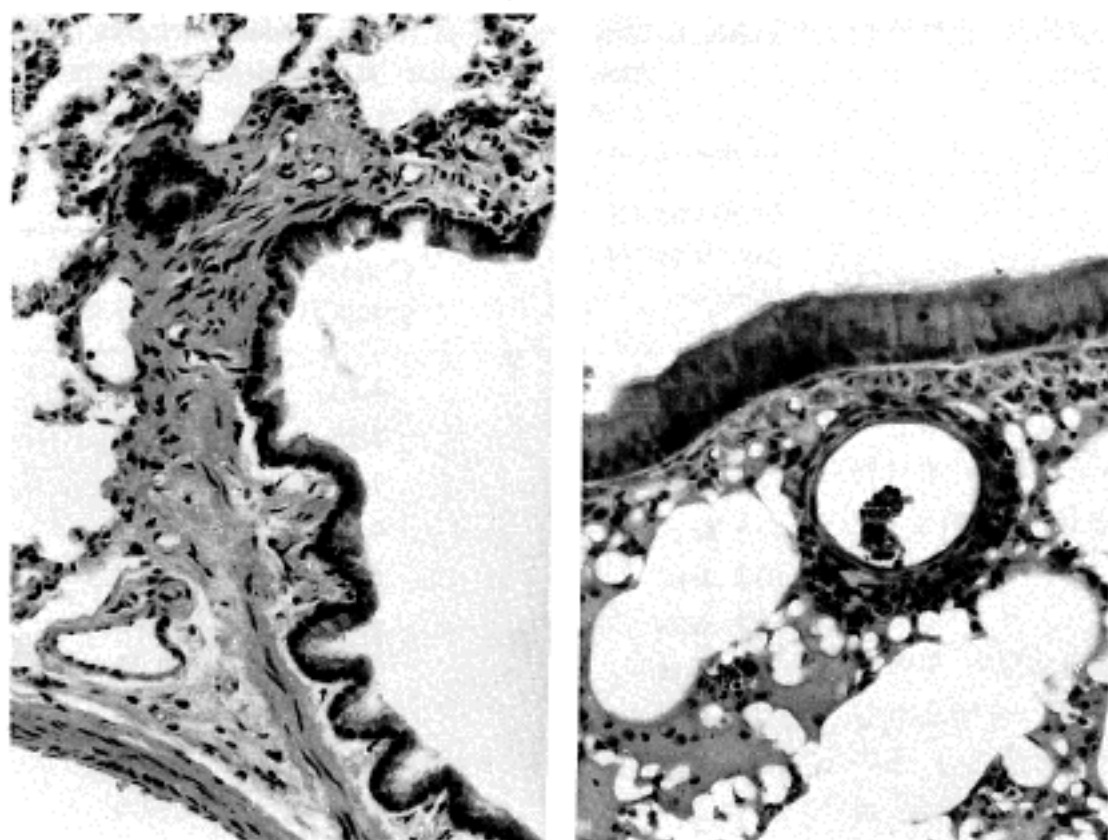


Fig. 1. A pulmonary arteriole near a bronchiole shows prominent medial thickening with muscularization in the rat lung at the 12th day after MCT treatment (right) in comparison to the normal one (left).

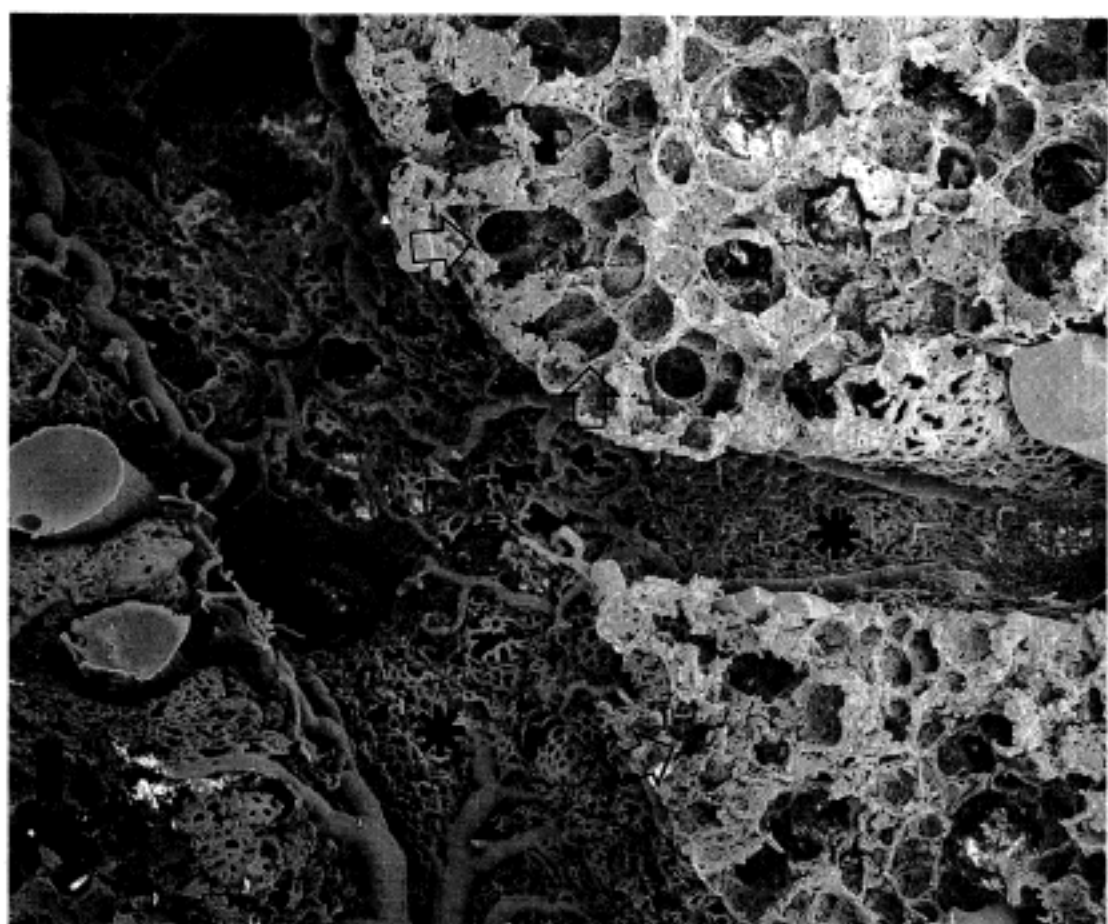


Fig. 2. Two kinds of normal pulmonary microvascular replica; three-(arrows) and two (asterisks) dimensional structures, respectively of the alveolar and the bronchial capillaries. (SEM, Bar = 86 μ m)

에 의해 등근 공간이 잘 유지되었다. 한편 기관지 동맥은 폐동맥보다 훨씬 직경이 작고 분지없이 긴 주행을 하며 분지를 한 곳에서 기시하여 원통형 관상 형태의 모세혈관들이 성근 망상의 평면적인 미세혈관총 (capillary plexus)을 형성하는 양상을 보였다 (Fig. 4). 이들은 주로 큰 기관지와 폐동맥을 감싸고 있는 소견을 보였으며 기관지 동맥과 정맥의 직접 문합도 관찰되었다. 폐동맥과 기관지 동맥 기원의

미세혈관계 사이의 문합은 기관지 주위, 큰 폐동맥 주위, 그리고 늑막하 부위 등에서 바스켓 구조가 망상 평면 구조와 만나는 소견으로 관찰되었다.

투여군: 저배율 시야에서 혈관 구조의 구조가 전반적으로 현저한 변화를 보여주었는데, 먼저 폐포 주위 모세혈관들에 둘러싸인 거의 모든 폐포 공간들에는 구조 물질들이 유출되어 있었고 일부에서는 폐포의 모양이 없어지거나 변형되어 보이면서 (Fig. 5),

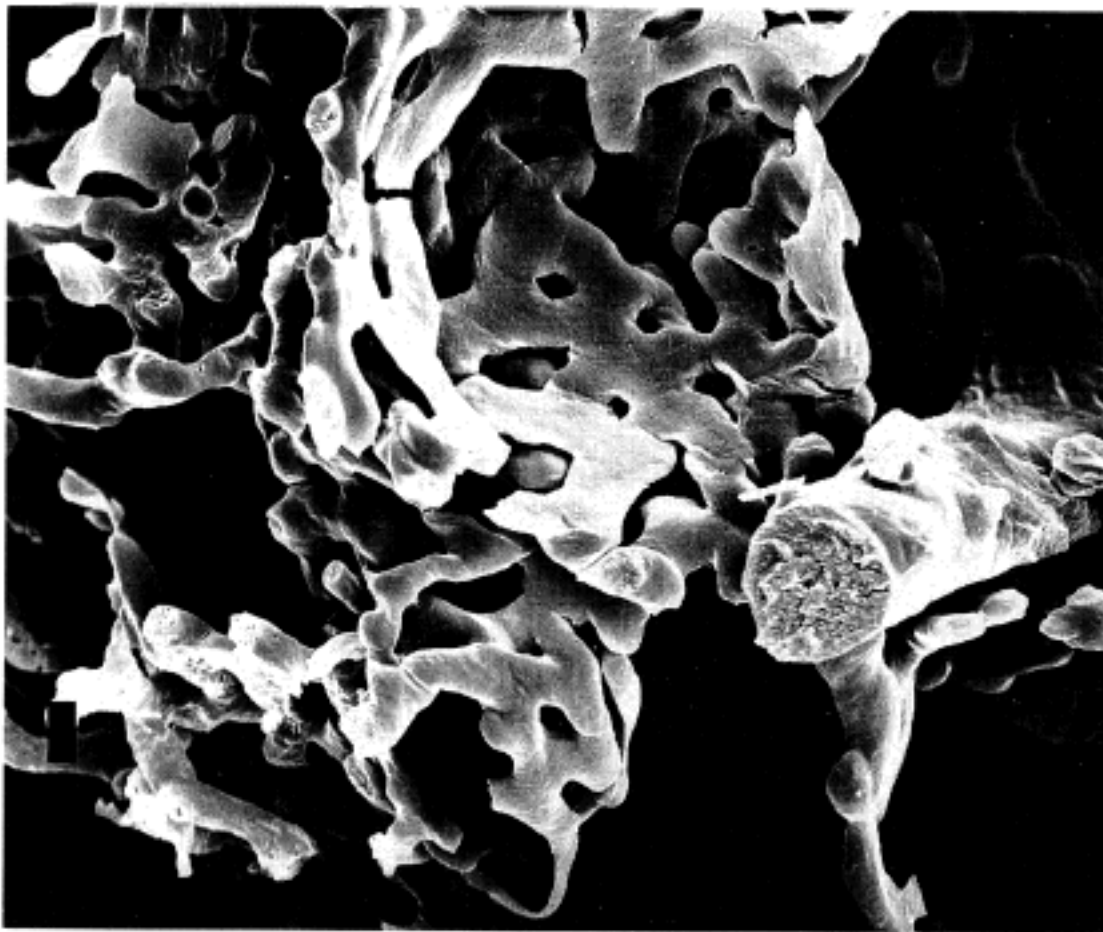


Fig. 3. Normal pulmonary arteriolar casting showed radiating tubular alveolar capillaries that are interconnected to form a well-formed basket-like structure. (SEM, Bar = 7.6 μ m)



Fig. 4. Normal bronchial arterial casting showing long and thin bronchioles(asterisks) that are branched out to form a reticular capillary sheet and direct arterio-venous anastomoses(arrows). (SEM, Bar = 20 μ m)

불규칙하게 두꺼워진 관상모세혈관들이 방향성 없이 분지되거나 사각형 또는 불완전한 폐포 공간을 만들고 있었다(Fig. 6). 개개의 혈관들은 대개 직경이 늘어나고 짧고 각이 진 모습을 취하였고, 이들이 여러 층을 이루어 일부에서는 둥근 폐포 공간을 만들

고 있었다. 즉 벌집 모양을 보인 곳에서도 정상에서는 한 점의 모세혈관들이 폐포 격막을 구성하는데 비해 투여군에서는 대개 두 층 이상으로 두꺼워져 있었고 뭉툭한 끝을 가진 돌출 부위를 폐포내로 내어 폐포의 공간도 감소시키고 있었다(Fig. 7). 모세혈



Fig. 5. A MCT-induced pulmonary microvasculature of a rat lung revealed extensively destroyed alveolar spaces which are partly filled with leaked cast globules. (SEM, Bar = 49.2 μ m)

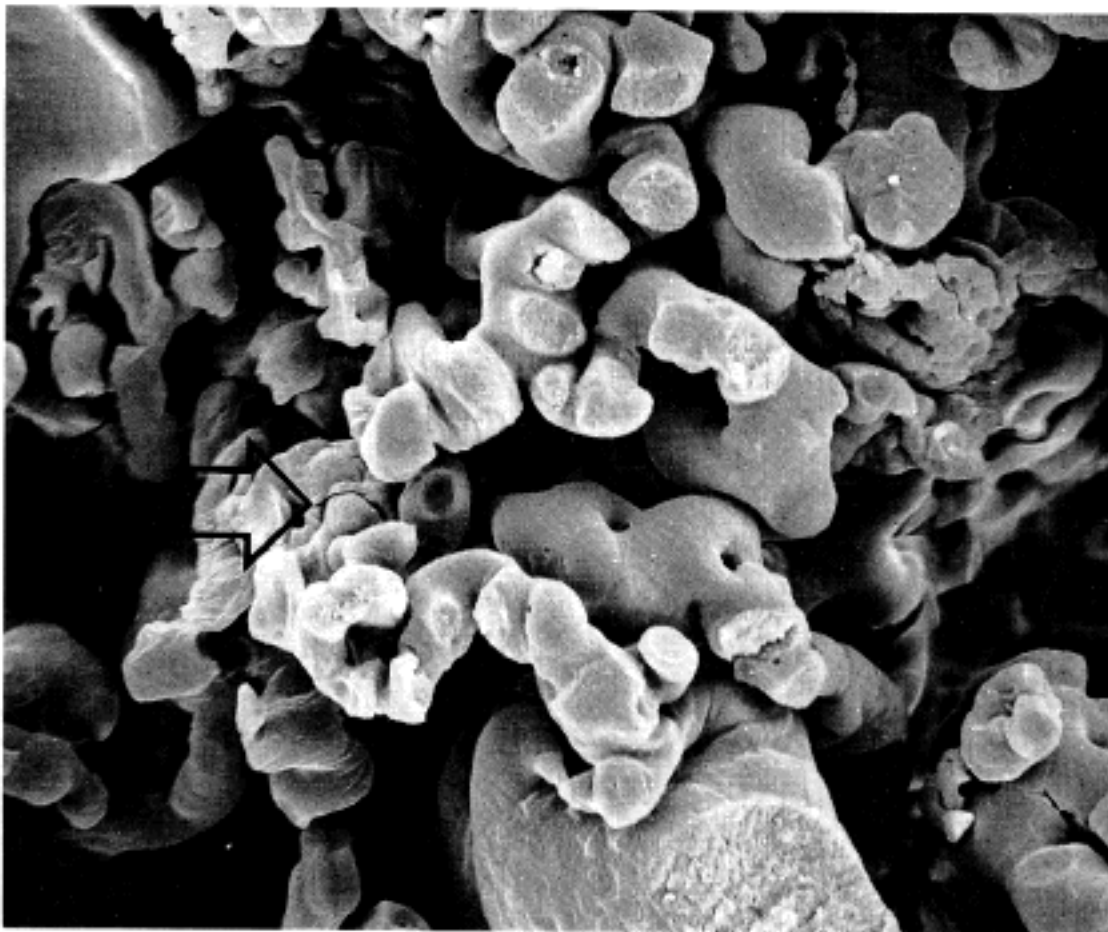


Fig. 6. A perialveolar microvascular casting of a hypertensive rat lung disclosed irregularly deformed or rectangular (arrow) alveolar spaces formed by interwoven enlarged tubular capillaries. (SEM, Bar = 8.6 μ m)

관들의 표면을 비롯하여 소정맥이나 소동맥들의 구조의 표면에서는 정상군에서는 보이지 않던 핵의 흔적이 크기의 증가와 함께 뚜렷이 관찰되었으며(Fig. 8), 가끔 새로이 생성된 고리 모양의 작은 미세혈관 구조들이 관찰되었다(Fig. 9). 한편 늑막, 큰 폐동맥

및 기관지 벽 주위에서 관찰되는 기관지 동맥 기원의 미세혈관계에서도 현저한 변화가 관찰되었는데, 즉 저배율에서 미세혈관성 망상 평면구조의 크기가 전체적으로 증가되어 있었고 기관지 동맥의 주행상 분지횟수는 감소되어 보였다(Fig. 10). 개개의 미세혈

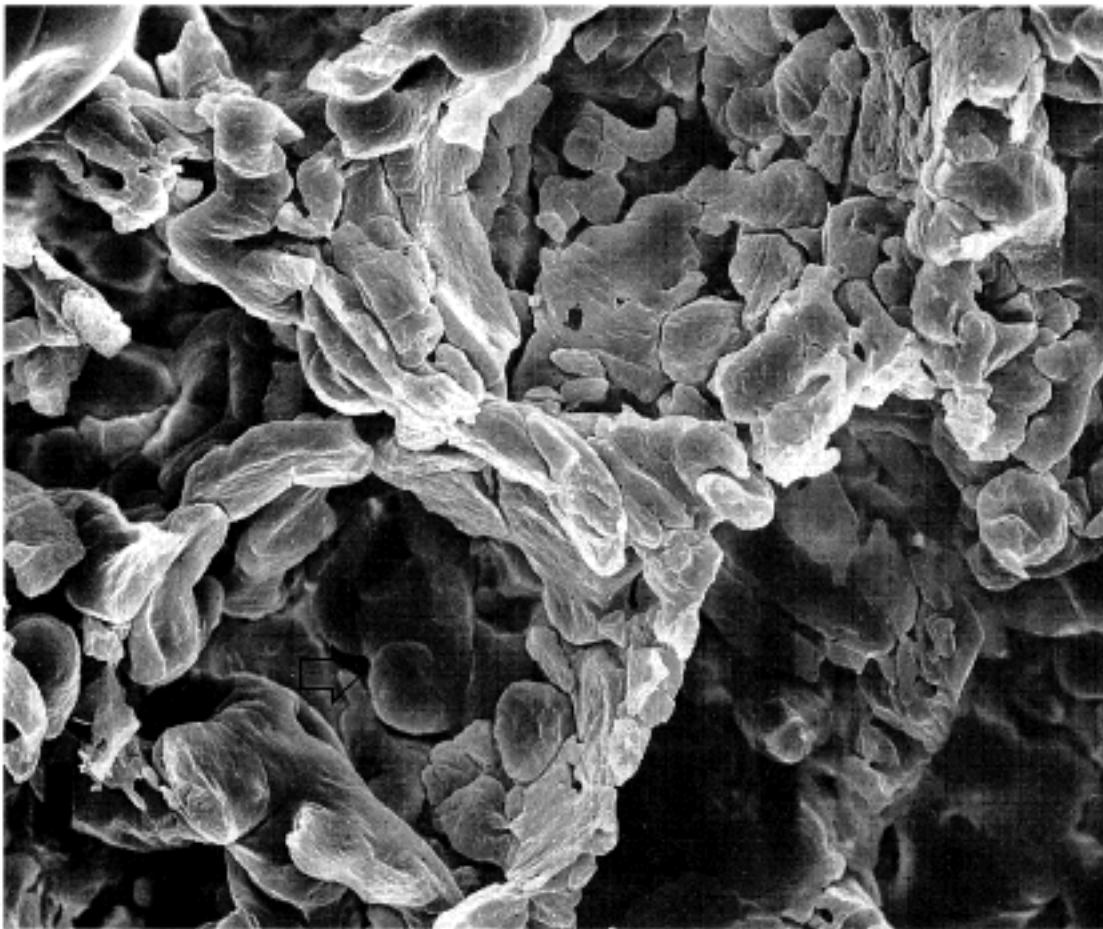


Fig. 7. Hypertensive alveolar capillary baskets showed diffusely thickened septal walls with a few intra-alveolar buds(arrow). (SEM, Bar = 8.6 μ m)

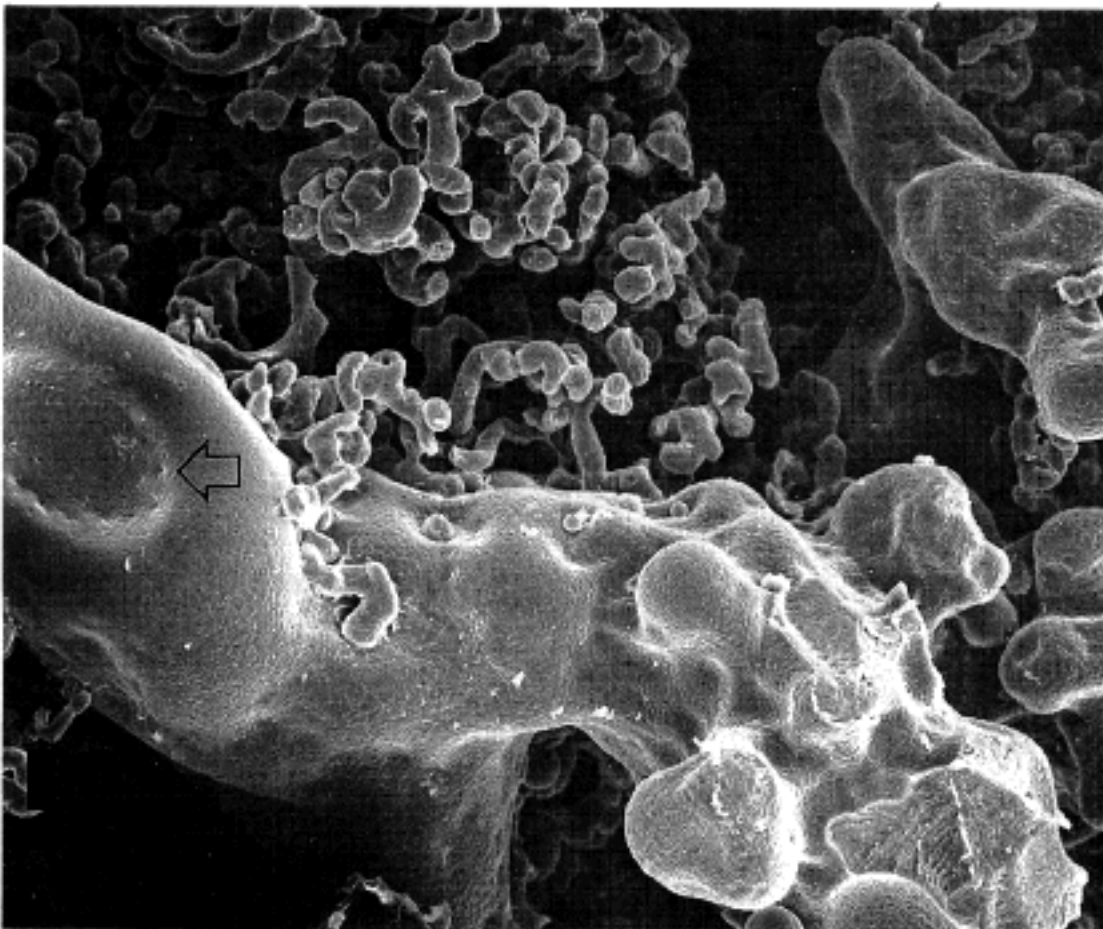


Fig. 8. A MCT-induced huge and irregularly thickened pulmonary vein cast showing an enlarged nuclear marking(arrow) and several blind-ended outpouchings of the surface. (SEM, Bar = 25 μ m)

관들은 직경이 커지고 간격은 불규칙하지만 증가된 모습을 보였다. 늑막 부위에서도 미세혈관들이 이와 비슷한 변화를 보이면서 기관지 동맥과 정맥의 직접 문합성 부위들이 소수 관찰되었다. 특히 큰 폐동맥의 주변에서는 기관지 동맥의 공급을 받아 비

교적 얇은 한 겹의 미세혈관성 망상 구조로 감싸고 있던 정상과는 달리, 투여군에서는 미세혈관들의 직경과 두께가 불규칙하게 증가되고 숫적으로 증식된 망상 미세혈관 구조가 폐동맥을 감싸고 있는 모습이 었다(Fig. 11). 이상의 대조군과 투여군에서의 미세

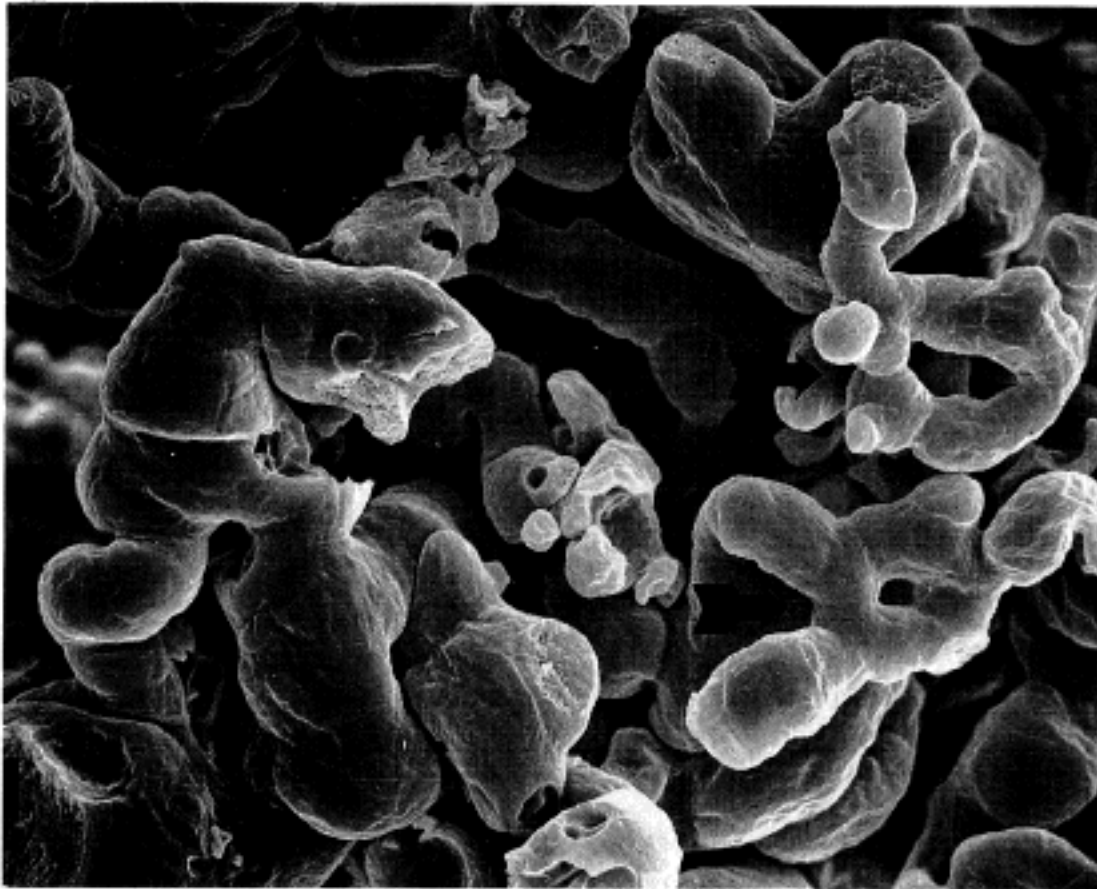


Fig. 9. A hypertensive rat lung in the MCT group showed loss of basket-like alveolar capillaries, that are replaced by largely short angular capillaries and new ring-like structures(arrows). (SEM, Bar = 6 μ m)

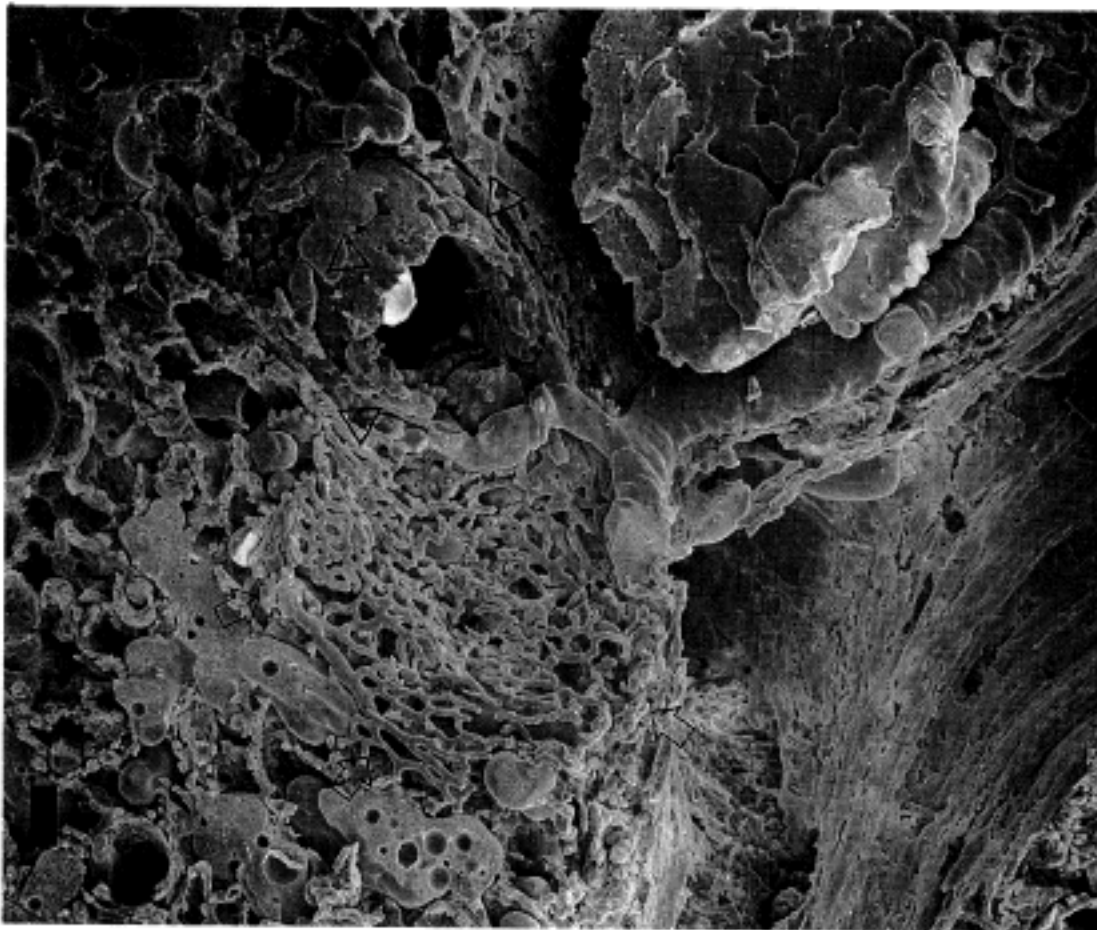


Fig. 10. A MCT-induced rat lung revealed the bronchial artery-supplying micro-vascular cast with the general enlargement of bronchopulmonary anastomosis (arrows) and a dense thick capillary sheath encasing a pulmonary artery (arrowheads). (SEM, Bar = 60 μ m)

혈관 구조의 SEM 소견을 요약하면 Table 2와 같다.

2) 계측학적 소견: 미세혈관계의 변화를 정량적으로 알아보기 위하여 정상군 1 마리와 투여군 11 마리의 주사전자현미경 사진을 이용하여, 폐포주위의 폐동맥계 미세혈관들과 기관지 또는 늑막, 큰 폐동맥을 둘러싸는 기관지 동맥계의 미세혈관들에서 직

경, 밀도, 분지빈도, 간격 및 폐동맥 표면의 핵 흔적 크기 등을 연구방법에서 서술한 방식에 따라 각각 그 수치를 측정하고 투여군과 대조군을 비교하여 얻은 결과는 다음과 같다.

(1) 미세혈관의 직경 (Table 3); 폐포와 기관지주위에서 각각 50 부위를 선택하여 미세혈관들의 직경을

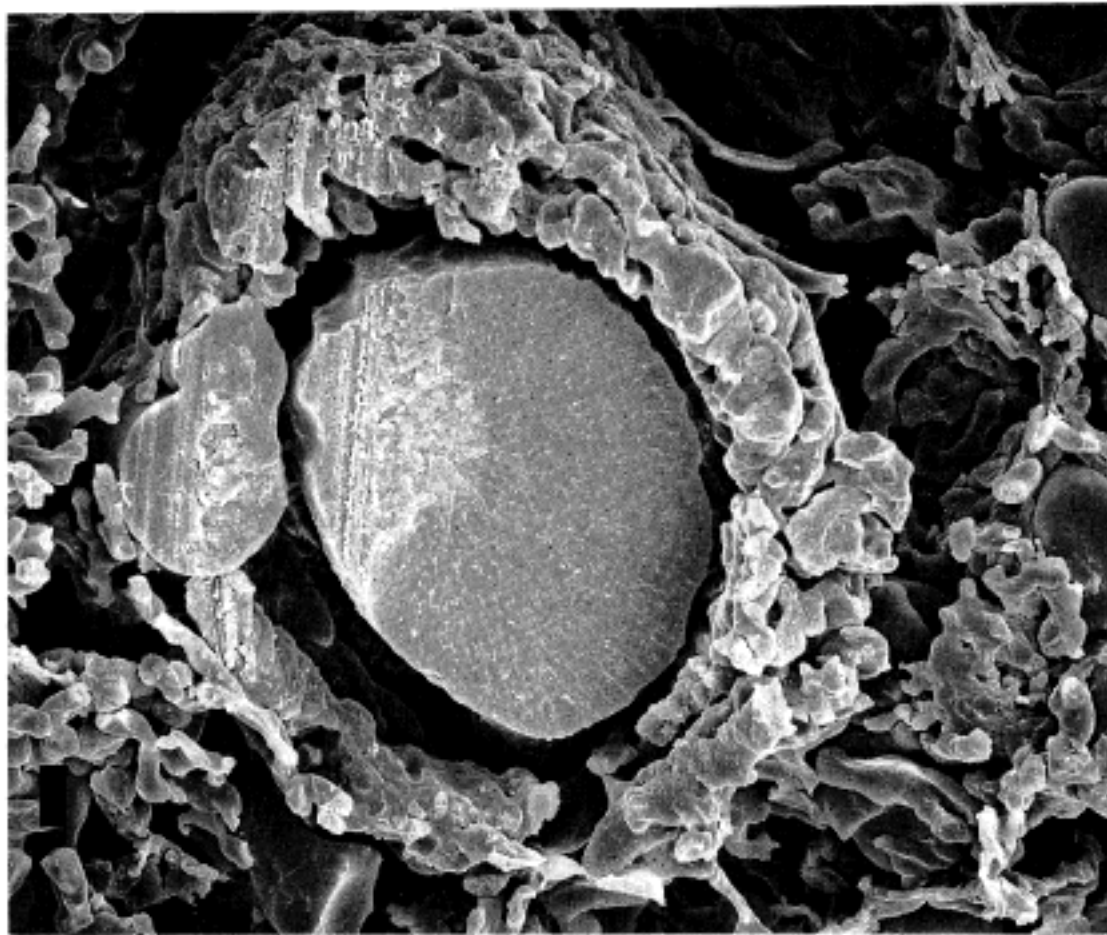


Fig. 11. A characteristic MCT-induced bronchial artery microvascular change showing a dense and thick periarterial capillary encasement of a large pulmonary artery. (SEM, Bar = 17.2 μ m)

Table 2. The summarized scanning electron microscopic findings of alveolar capillaries and bronchial artery microvasculature in normal and MCT-treated groups

	Normal group	MCT-treated group
Alveolar capillaries	A dense single-layered network of interconnected flat tubes to form basket structures	Poorly-formed alveolar spaces by irregularly branching and enlarged short tubular capillaries
Bronchial artery microvasculature	Evenly woven reticular sheet with round tubular branches	Dense and thickened sheets of the enlarged capillaries encasing pulmonary arteries

Table 3. Mean diameters(μ m) of alveolar capillaries and bronchial artery microvasculature of two groups of rats (n: number of measured areas)

	Control group	MCT-treated group
Alveolar capillaries* (n=50)	4.73 (± 1.80)**	10.84 (± 5.25)
Bronchial artery microvasculature* (n=12)	6.23 (± 1.26)	9.03 (± 3.48)

*: p-value = 0.001 *: p-value = 0.015

() **: \pm Standard deviation

측정한 결과 두 종류의 미세혈관계 모두에서 투여군의 직경이 통계적으로 유의하게 늘어나 있었다.

(2) 모세혈관의 밀도 (Table 4); 모두 13 부위에서 재었을 때, 폐포주위 미세혈관들에서는 대조군이 61%, 투여군이 42% 로 p 값 0.01 이하에서 유의한 감소를 보였고, 기관지 동맥계의 미세혈관들은 대조군이 70%, 투여군이 91% 의 밀도를 보여 p 값 0.03 이하에서 유의한 밀도의 증가를 보였다.

(3) 분지빈도 (Table 5): 12 부위에서 한 회로의 길이중 100 μ m 당 분지하는 빈도가 폐포주위 혈관의 경우 대조군이 13.4 회, 투여군이 9.96 회 였고, 기관지 동맥계가 각각 7.36 회 및 7.0 회로서 두 미세혈

Table 4. Comparison of mean densities(%) of alveolar capillaries and bronchial artery microvasculature between control and MCT-treated groups. (n : number of measured areas)

	Control group	MCT-treated group
Alveolar capillaries* (n=13)	61 (±5.1)**	42 (±16.8)
Bronchial artery microvasculature* (n=5)	70 (±7.84)	91 (±7.84)

*: p-value = 0.0082 †: p-value = 0.0119
() **: ± Standard deviation

Table 5. Differences in mean branching frequencies(times/100 μ) of alveolar capillaries and bronchial artery microvasculature in the normal and hypertensive rats. (n: number of measured areas)

	Control group	MCT-treated group
Alveolar capillaries* (n=12)	13.4 (±4.17)**	9.96 (±3.41)
Bronchial artery microvasculature* (n=12)	7.36 (±2.91)	7.0 (±1.18)

*: p-value = 0.0493 †: p-value = 0.9768
() **: ± Standard deviation

관계 모두 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않았다.

(4) 미세혈관들 사이의 간격 (Table 6): 12 부위의 폐포혈관들에서 대조군은 5.1 μm 인데 비해 투여군은 21.2 μm 로 현저한 증가를 보였고, 기관지 동맥계의 미세혈관들도 통계적으로 유의하게 간격이 늘어나 있었다(p<0.05).

(5) 핵흔적들의 크기 (Table 7): 소동맥 주조의 표면 12 부위에서 핵의 흔적들을 측정하였는데 평균장경이 대조군이 9.05 μm 인 것에 비해 투여군은 19.8 μm 로서 통계적으로 유의하게 핵이 커져 있었다.

고 찰

부식주조기법(corrosion casting technique) 은 혈관과 같이 내강이 있는 인체의 구조물에 액상의 물질을

Table 6. Comparison of mean intercapillary distances(um) of the alveolar capillaries and bronchial artery microvasculature between normal and hypertensive groups. (n: number of measured areas)

	Control group	MCT-treated group
Alveolar capillaries* (n=12)	5.1 (±2.71)**	21.2 (±6.77)
Bronchial artery microvasculature* (n=12)	4.22 (±2.12)	8.8 (±5.49)

*: p-value = 0.0001 †: p-value = 0.018
() **: ± Standard deviation

Table 7. Sizes of nuclear impressions on the surfaces of pulmonary arteries of two groups of rats.(n : number of measured areas)

	Control group	MCT-treated group
Mean sizes(μ m) ± S.D. (n=12)	9.05 ± 2.31	19.8 ± 11.23

p-value: 0.0001
S.D.: standard deviation

주입하여 굳힌 후 조직을 녹여내고 남은 그 복제물(replica)을 통하여 주로 혈관의 삼차원적인 구조를 관찰하는데 쓰여왔던 방법이다²⁷. 1971년 부터는 Murakami등이 혈관내에 주입하는 물질로서 methyl-methacrylate 라는 polymer resin 계통의 물질을 쓰면서 미세혈관까지의 관찰이 용이하게 되었다^{22,26}. methylmethacrylate 는 모세혈관을 포함한 모든 단계의 혈관 내강을 확실하게 채울 뿐 아니라 굳은 후에도 수축이 적고 주조의 표면에 동정맥 각각의 내피세포의 핵들의 특징적인 흔적을 잘 보여주어 핵의 변화를 관찰하거나 동정맥을 감별하는데도 좋은 재료로 되어 있다^{21,27}. 폐혈관 구조의 연구에 주조기법을 사용하기 시작한 것은 1661년 Malphigi 가 수은을 함유한 여러물질을 폐동맥에 주입하여 폐순환의 삼차원적 특징을 연구한데서 비롯되어 Nowell등²⁸은 주조된 혈관을 주사전자현미경으로 관찰하였으며 현재는 폐의 미세혈관 구조를 연구하는데 가장 좋은 방법으로 되어 있다. 그 이유로는 평면적인 관찰 방법으로는 모세혈관의 식별 및 다양한 변화들을 인지하기가 힘든 반면, 주사전자현미경으로 미세혈관들의 주조

를 관찰하면 그들의 삼차원적인 상관관계, 분지의 양상, 최대직경, 동정맥간의 연결, 이상한 크기와 모양의 모세혈관들, 발생과 증식, 각 질환에서의 신생혈관 구조 및 변화 등을 쉽게 볼 수 있기 때문이다^{22,27}. 따라서 본 실험에서도 폐고혈압에서의 미세혈관의 변화를 잘 관찰하기 위해 methylmethacrylate 를 사용하여 Sprague-Dawley 백서의 폐혈관에 부식주조법을 실시하였다. 실험동물로 많이 사용되고 있는 백서는 다루기 쉽고 경제적이며 폐동맥의 혈관벽이 얇고 동맥의 크기별 구조도 사람의 폐동맥과 비슷하지만 직경은 사람보다 1/5~1/8 정도로 훨씬 작다²⁹. 따라서 폐혈관들의 정량적 변화의 계산시 사람과 쥐의 혈관의 실제 크기가 차이를 고려하여 대조군과 투여군 혈관들의 측정값 자체는 해석하지 않고 두 군간의 차이를 분석하였다. 투여군 및 대조군 백서의 일부는 부식주조법까지 시행하지 못하였는데 이는 주조 단계에서 도관을 이용하는 관류시 쥐들의 혈관을 찢거나, 주조 물질의 주입시 압력이 지나치게 높아져 원래 얇은 폐동맥 혈관벽을 뚫고 주조물질이 다 유출된 경우 등이었고, 주조에 성공한 대조군 백서들은 폐포 구조를 유지하며 둘러싼 바스켓 혈관 구조의 모습을 잘 보여주어 미세혈관의 전반적인 구조상태는 병변의 존재를 관독하는데 양호한 것으로 생각하였다. 그러나 methacrylate 는 혈관 성분들을 채울때 낮은 압력으로 주입되면 충만 결손이 생겨서 관독상의 오류가 생길 수 있음을 주의해야 하는데, 본 연구에서도 모노크로탈린을 투여한 군에서 불충분한 주입이 의심되는 끝이 막힌 모세혈관들이 늑막을 비롯하여 폐포주위 혈관 등에서도 관찰되었다. 끝이 막혀 있고 서로 연결됨이 없는 모세혈관 분절(nonconnecting capillary segments or blind ends)은 일반적으로 주입 불량 신호로서 주입 압력이 낮음에 의한 인공적인 경우가 많으나 폐혈관 질환에서는 정상에 비해 더 자주 관찰된다²². 본 연구에서도 끝이 막힌 미세혈관들이 정상군에서는 거의 나타나지 않으면서 주로 투여군에서 관찰되었던 것으로 미루어 이 군에 혈관폐쇄성 병변이 존재함을 시사하였다.

폐동맥 고혈압은 크게 원인을 찾지 못한 원발성 고혈압과 이차적으로 삼첨판 전후의 단락혈류(pre- and post-tricuspid shunt flow), 만성 저산소증, 폐섬유증, 반복적인 폐색전증, 다양한 식이 인자, 폐순환의 발생학적 기형, Takayasu's arteritis 등과 동반되어 일어나는 경우로 나눌 수 있는데³⁰, 이차성 폐고혈압의 유발 원인들은 실험적으로 폐동맥 고혈압을 유발하는데 다시 응용되고 있다^{29,31}. 그 예로 대표적인 식

이 인자의 하나인 모노크로탈린은 투여량과 투여 방식에 크게 구애를 받지 않으면서도 원발성 폐고혈압과 거의 동일한 병리학적 소견을 잘 보여주므로 이 병의 연구에 오랫동안 쓰여온 약제인데^{34,14,32}, 광학현미경적 변화들로 알려져 있는 것을 보면 폐동맥간(pulmonary trunk)과 근육성 폐동맥의 평활근의 비후, 비근성 폐소동맥의 근성화, 혈관 중막의 근육성 괴사 및 증식¹⁶, 폐소정맥 내막의 현저한 근섬유성 비후 등의 특징적인 고혈압성 혈관변화와²⁹, 상피세포의 증식, 급성 폐동맥염, 모세혈관의 변화를 주로 보이는 곳인 늑막하 부위와 혈관주변 조직에 비만세포가 침윤되는 실질성 변화들이다³³. 본 실험의 광학현미경적 소견상 대조군은 부분적인 폐부종의 소견을 보인 것 외에는 특이할 만한 변화는 없었던 반면, 모노크로탈린 약제를 투여한 군에서는 5 일째 부터 폐부종과 폐포벽의 비후, 그리고 소혈관의 중막이 두꺼워지기 시작하는 소견들이 관찰되기 시작하여 4 주째까지 괴사성 동맥염, 늑막 및 간질의 섬유증, 소동맥 중막의 비후, 비근성 소동맥의 근육화, 혈관 밀도의 감소 등 비가역적인 고혈압성 혈관 변화를 나타내었다. 폐고혈압이 발생한 것을 좀 더 객관적으로 평가하는 방법은 폐동맥의 압력을 측정하는 것이겠지만, 일반적으로 폐혈류의 혈액학적인 특징과 폐혈관의 구조적 변화간에는 긴밀한 연관성이 있다고 알려져 있으므로 흔히 폐혈관의 조직학적 소견을 폐동맥 압력의 지표로 이용하고 있다^{31,34}. Meyrick등³⁵도 광학현미경상 폐동맥의 구조적 변화는 폐동맥의 혈액학적 변화를 잘 대변하여 줄을 보고하면서, 모노크로탈린을 주사한 후 7일경 부터 산소 소비량 및 심장 지수가 증가하고 14 일경 부터는 동맥압이 증가하는데 그 정도는 폐동맥 중막의 비후 및 우심실 비대와 비례한다고 하였다. 따라서 본 연구에서도 폐동맥의 압력을 재는 대신 투여군 및 대조군의 H&E 슬라이드 상에서 폐소동맥들의 중막이 혈관의 내경중 차지하는 비율을 구하여 그 값이 모노크로탈린을 투여한 군에서 대조군에 비해 유의하게 증가된 경우에 투여군 백서의 폐동맥압이 상승되었다고 판단하였다.

모노크로탈린으로 유도된 폐동맥 고혈압의 발생기전은 아직 확실히 밝혀져 있지는 않지만, 현재까지 알려진 바에 의하면 먼저 내피세포가 손상을 입고 나서 폐소동맥내 혈소판 응집을 일으켜 혈관의 부분적인 폐쇄를 초래하고 비만세포들의 응집부위에서는 5-hydroxytryptamine 등이 분비되어 지속적인 혈소판 응집과 함께 혈관이 수축되면서 결국 혈관들이 구조적인 재구성을 일으켜 후기에 비가역적인 고혈압이

일어나는 것으로 생각하고 있다^{16,33,36,37}. 많은 연구자들은 혈관내피 세포의 손상이 발생기전에 있어 가장 초기에 일어나고 중요하며 간질의 섬유화 및 혈관 변화들은 그 이후에 이차적으로 일어나는 것으로 보고하고 있다^{6,7,34}. 그 근거로서 내피세포는 모노크로탈린이 완전히 대사되어 배설되기 이전인 24 시간내에 주로 손상을 입는 부위로서 histamine 이나 serotonin 등의 각종 혈관활성 물질(vasoactive substance)을 생산할 수 있고 이 곳에 염증 세포 및 혈소판이 부착되면서 혈소판에서 분비되는 물질에 의해 혈관내피세포의 증식과 비대가 일어나 혈관 내강의 축소와 수축을 유발할 수 있기 때문이다^{1,8,35}. 본 연구에서는 주사전자현미경을 통해 투여군의 폐혈관 구조의 표면에서 내피세포의 핵 혼적의 크기가 증가하고 모양이 불규칙해진 것을 관찰하여 발생기전에서 주된 역할을 하는 내피세포의 형태 및 정량적인 변화를 직접 확인할 수 있었다(Table 7).

현재까지 모노크로탈린으로 폐고혈압을 일으킨 후 부식구조법을 실시하고 나서 주사전자현미경으로 관찰하는 방법을 이용하여 미세혈관에 일어난 변화를 연구한 것은 1989년 Schraufnagel 및 Schmid등²³이 폐포와 늑막 모두의 모세혈관의 밀도가 감소되고 국소적으로 소실된다는 것과 Schraufnagel²⁴이 미세혈관들의 변화가 주로 늑막과 기관지 및 큰 폐동맥 주위의 기관지 동맥계 미세혈관들에서 직경과 밀도 증가로서 관찰된다고 한 것 등이다. 두 연구에서는 폐포 모세혈관의 밀도가 감소한 것을 미루어 모노크로탈린으로 유도한 폐고혈압의 발병기전이 소동맥내 혈전형성으로 인한 폐쇄임을 주장하였고, 폐고혈압을 비롯한 여러 질병에서 증식반응을 보이는 혈관은 주로 기관지 동맥에서 기원한 미세혈관들이고 폐포 주위의 모세혈관은 크기나 모양, 숫적인 변화를 나타내지 않으며 기관지 동맥계와 폐동맥계는 기원 및 구조뿐 아니라 서로 다른 혈관 생성 능력을 가지고 있다고 해석하였다. 본 연구에서도 폐동맥 고혈압을 보인 예들의 미세혈관 구조의 변화는 늑막, 기관지 및 큰 폐동맥 주변에서 더 현저하여 증식의 양상으로 기관지 동맥계 미세혈관들에서 관찰되었는데, 특히 큰 폐동맥 벽을 공급하는 기관지 동맥계의 미세혈관들은 정상보다 높은 밀도로 불규칙한 모양과 독특한 끝을 보인 관상 혈관들이 망상으로 연결된 두터운 환(ring)을 형성하여 폐동맥을 감싸고 있는 소견이 특징적이었다(Fig. 11). 이 소견은 Schraufnagel²⁴이 주장한 맥관형성(angiogenesis)의 소견과 매우 비슷하며 그들의 해석에 의하면 이는 새로운 맥관형성이 일어난 것이거나, 기관지 동맥계와 폐동맥계의

모세혈관이 문합되는 장소에서 일어나는 기관지 동맥의 보상성 증식의 결과로 생각할 수 있다. 일반적으로 폐는 폐동맥과 기관지 동맥의 이중 지배를 받는 대표적인 기관으로서, 폐동맥의 혈류를 차단한 실험등에서 밝혀져 있듯이 기관지 동맥은 소동맥 단계에서 폐동맥과 활발한 문합을 이루고 있다³⁸ 폐동맥 폐색등의 병변이 있을때 측부혈관들(collateral vessels)을 형성하고, 기관지 동맥 자체는 보상성 증식등을 일으킨다^{2,29,39}. 폐고혈압을 비롯하여 주로 폐 실질이 파괴되고 난후 섬유화가 되는 병적인 상태에서는 기관지 동맥이 커지고 증식되며 정상적인 기관지폐 동맥 문합(bronchopulmonary arterial anastomosis)의 크기 또한 증가한다고 알려져 있다^{2,38}. 맥관형성이 일어나는데는 내피세포의 비대 및 투과성 증대, type 4 elastase 를 비롯한 다양한 효소, 기저막 성분의 생산, 내피세포의 맥관형성 인자에 대한 반응 능력 및 섬유모세포와 혈관주위세포의 모세혈관 고리로의 이동 등 몇가지의 요소들이 필요하다고 볼 때, 다시 한번 혈관 내피 세포의 중요성을 알 수 있고²⁴, 기관지 동맥만이 증식되는 현상은 이미 문헌상에 기술되어 있는 폐동맥 계와 기관지 동맥 계의 내피세포의 차이로 맥관형성 능력의 차이를 설명하여 볼 수 있다^{2,24}. 즉 폐동맥계의 내피세포는 모노크로탈린에 의해 먼저 손상을 받은 후 혈관 자체의 형태학적 변화는 일으키지만 혈관의 신생은 일어나지 않는 비증식성의 반응을 보이는 반면, 기관지 동맥의 내피세포는 위에 기술한 맥관형성의 요소들을 충족시키면서 보상성 증식으로 새로운 혈관을 형성하는 것으로 생각된다. 본 실험에서도 폐동맥계 미세혈관들과는 달리 기관지 동맥 기원의 미세혈관에서만 밀도가 증가한 것으로서 확인되었다(Table 4).

본 연구에서는 아직 전반적으로 기술이 되어 있지 않은 폐동맥 기원의 미세혈관계인 폐포주위 미세혈관들의 전반적인 구조 변화 및 모세혈관 자체의 정량적, 형태학적 변화등을 관찰하였다. 정상에서는 규칙적인 직경을 가지는 관상 혈관들이 서로 바스켓 내지 벌집 모양의 3 차원적 구조로 Sobin등⁴⁰이 말한 소위 sheet-flow model 을 보이는데, 이는 폐포 주위의 위아래 경계는 각각 한 층의 내피세포들로서 벌집 모양으로 연결되어 있고 그 사이의 간격은 폐간질 조직 기둥들이 받쳐서 유지하는 모형으로서 매우 낮은 혈류압을 유지할 수 있는 구조이다. 그러나 모노크로탈린을 투여한 쥐의 미세혈관들은 폐포 공간들의 정상적인 벌집 구조를 대부분 소실하고 일부는 사각형 폐포 공간으로 변형된 소견을 보였고, 불규칙한 직경의 미세혈관 분지들과 작은 고리모양의 미

세혈관 구조들이 새로이 관찰되었다. 고리 모양의 소구조는 혈관을 새로 만드는 처음 단계에서 보이는 구조이고 미숙한 폐포벽에서는 혈관이 두겹이었다가 성숙의 과정을 거치면서 융합되어 한겹이 된다는 보고들을 생각할 때²¹, 본 연구의 폐고혈압군에서의 폐포 주위 혈관 구조의 전체적인 소견은 폐포의 혈관들이 파괴되고 난 후 새로이 형성된 혈관들에 의한 소견으로 해석된다. 이상의 폐포 주위 혈관 구조의 소견을 종합하여 볼때, 폐고혈압때는 폐포공간의 소실 및 정상에서는 한 겹의 모세혈관으로 이루어지는 폐포벽이 두 겹 이상으로 두꺼워지는 등 삼차원적 혈관구조의 변화를 보여 결국 폐혈류가 정상에서와 같이 sheet-flow model 일때의 낮은 압력을 유지하지 못한다고 생각된다. 또한 이 소견은 폐고혈압의 후기의 변화로서 이해되고 있는 혈관의 구조적 재구성 (structural remodelling) 중 확실히 밝혀져있지 않았던 소동맥 이하의 미세혈관 단계에서의 형태학적 변화로 여겨진다.

한편 폐의 섬유증에서도 모노크로탈린으로 일으킨 폐고혈압에서의 미세혈관 구조에서 관찰된 변화들과 비슷한 소견들이 보고되어 있었는데, bleomycin 으로 폐에 섬유증을 일으킨후 부식주조법으로 미세혈관의 변화를 알아본 실험들에 의하면^{26,41,42}, 직경 5 μm 이하의 작은 모세혈관들이 출현하고 끝이 막힌 혈관들이 늑막과 늑막하 부위에서 자주 관찰되며 늑막과 폐포주위 모세혈관들 사이에 왕성한 문합을 보이면서 폐포 모세혈관들 사이의 간격이 넓어지고 폐포공간들의 규칙성이 감소한다고 하였다. 또한 19 μm 의 직경을 가진 거대한 모세혈관이 나타날 수 있고 폐포와 늑막 모두의 모세혈관의 직경이 증가하며 밀도는 늑막에 있는 모세혈관들에서만 증가됨을 보고하였고, 이들은 폐섬유증에서의 미세혈관들의 재구성적 소견들이라고 하였다. 또 다른 이들은 폐의 간질성 섬유증의 발생기전에 있어서 모세혈관의 변화가 중요한 역할을 함을 주장하였다⁴³. 모노크로탈린으로 유도한 폐고혈압에서 나타난 미세혈관 구조의 변화들도 간질성 섬유증에서와 형태학적으로 비교적 잘 일치하는 결과들임을 알 수 있었고, 정량적인 측정 결과에서도 폐포의 미세혈관들은 직경이 커지고 밀도는 감소한 반면 기관지 동맥의 공급을 받는 미세혈관들은 직경과 밀도가 모두 증가됨을 나타내어, 섬유증때와 비슷한 양상을 보였다. 폐섬유증은 이미 원발성 폐고혈압의 원인의 하나로 알려져 있고, 본 연구에서 관찰한 폐의 미세혈관 구조의 변화와 폐의 섬유증에서 연구된 재구성적 미세혈관들의 소견이 상당히 일치하였으므로, 폐고혈압의 발생기전에 혈

관 내피세포의 손상 다음으로 섬유증이 중요하게 작용하리라고 추측된다.

본 연구의 결과중 두 미세혈관계에서 공통적으로 나타난 직경의 증가는 폐간질의 섬유증에 의한 기계적인 영향 또는 혈류의 만성적인 증가 때문이고, 크고 불규칙한 미세혈관의 출현은 내피세포의 손상후 일어나는 재생 과정중 나타난 것으로 생각되었다²⁶. 직경과 밀도의 증가외에 고혈압군에서 미세혈관들의 간격과 폐소동맥 구조의 표면에 나타난 핵들의 크기가 유의하게 증가되어 있었는데, 간격은 원래 간질세포의 자리로서 그 증가는 내피세포의 손상후 이차적으로 발생하는 폐섬유증에서 간질성 섬유모세포들이 증대되기 때문으로 생각하는 사람들이 있었고^{26,43}, 핵 크기의 증가는 모노크로탈린성 병변에서 핵이 8 배까지 커질수 있고 세포질내 소구조들의 증가로 인해 기능도 활발해진다는 보고들이 있었다⁴⁴. 손상된 핵이 재생과 더불어 커지면서 폐고혈압성 혈관 변화를 일으키는 발생기전의 일부를 보여준 것으로 생각되고, 본 연구에서 내피세포의 손상은 일반적으로 취약해진 부위를 통해 구조물질이 유출된다는 보고를 근거로²¹ 투여군의 폐포공간내에 유출되어 있던 구조 물질들을 관찰한 것으로써 알 수 있었다(Fig. 5).

결론적으로, 본 연구에서 관찰한 백서 폐의 고혈압성 미세혈관 구조는 정상에 비해 형태 및 정량적으로 변화를 보였는데, 이는 종래에 알려져 있던 소동맥 크기 이상의 혈관들의 재구성에서 제시한 소견에 더하여 밝혀진 삼차원적 측면에서의 새로운 병리학적 소견으로 여겨지며, 폐고혈압의 발생기전에 중요한 혈관 내피세포와 폐의 간질성 섬유증을 미세혈관들의 입체적 관찰로 확인하였다. 또한 본 연구에서 나타난 폐고혈압에서의 미세혈관 구조의 변화에는 기관지 동맥이 중요하게 기여할 것으로 생각되므로 앞으로의 연구과제로서 폐의 기관지 동맥계의 미세혈관계의 형태학적 변화를 좀더 세밀히 연구하는 과정이 필요할 것으로 사료된다.

결 론

모노크로탈린을 Sprague-Dawley 백서에 일회 주사하여 폐동맥 고혈압을 일으킨 투여군의 폐에 methylmethacrylate 로 부식주조법(corrosion casting method) 을 실시하고 주사전자현미경으로 미세혈관계의 형태 및 정량적인 변화를 대조군과 함께 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

폐의 미세혈관계는 폐동맥과 기관지 동맥에서 기

원하는 두 종류로, 정상에서는 각각 폐포 주위로 분포하는 바스켓 구조와 기관지, 늑막 및 큰 폐동맥 주위로 분포하는 평면적인 망상 구조의 소견을 보였으나, 투여군에서는 정상 폐포공간이 소실되고 두꺼워진 폐포벽과 불규칙하게 분지되고 짧고 굵어진 모세혈관들의 증식으로 대체되었고, 평면적인 미세혈관 구조내에서는 밀도가 증가되고 폐동맥 주위에 두터운 모세혈관들이 증식되는 특징적인 형태학적 변화가 관찰되었다. 정량적인 변화들로는 투여군의 폐포주위 미세혈관들의 직경과 간격은 증가되고 밀도는 감소되어 있었으며, 기관지 동맥계 미세혈관들은 직경과 간격 뿐 아니라 밀도도 증가되어 있었다. 따라서 원발성 폐고혈압에서 미세혈관들의 구조의 변화는 분명히 일어나며, 이는 비가역성 폐고혈압의 일반적인 혈관의 재구성에서 미세혈관 단계의 소견으로서 발생기전상 중요하고 특히 폐고혈압에서 폐동맥의 소실에 따른 기관지 동맥계 미세혈관들의 보상적 증식의 역할이 클 것으로 결론지었다.

참 고 문 헌

1. 양우익, 조상호, 최인준, 이유복. Monocrotaline 투여 백서 폐동맥 고혈압에서 혈관내피세포와 폐신경내분비세포의 변화에 대한 형태학적 연구. 대한병리학회지 1992; 26: 582-592.
2. Spencer H. Pathology of the lung 4th ed. Pergamon Press Ltd. Oxford, 1985, vol 1, p 53 and vol 2. p 631.
3. Barnes JM, Magee PN, Schoental R. Lesions in the lungs and livers of rat poisoned with the pyrrolizidine alkaloid fulvine and its N-oxide. J Path Bact 1964; 88: 521-31.
4. Valdivia E, Lalich JJ, Hayashi Y. Alteration in pulmonary alveoli after a single injection of monocrotaline. Arch Path 1967; 84: 64-76.
5. Allen JR, Carstens LA. Pulmonary vascular occlusions initiated by endothelial lysis in monocrotaline-intoxicated rats. Exp Mol Pathol 1970; 13: 159-71.
6. Butler WH. An ultrastructural study of the pulmonary lesion by pyrrole derivatives of the pyrrolizidine alkaloids. J Pathol 1970; 102: 15-9.
7. Ghodsi F, Will JA. Changes in pulmonary structure and function induced by monocrotaline intoxication. Am J Physiol 1981; 240: H149-55.
8. Hilliker KS, Bell TG, Lorimer D, Roth RA. Effects of thrombocytopenia on monocrotaline pyrrole-induced pulmonary hypertension. Am J Physiol 1984; 246: H747-53.
9. Sugita T, Hyers TM, Dauber IM, Wagner WW, McMurtry IF, Reeves JT. Lung vessel leak precedes right ventricular hypertrophy in monocrotaline-treated rats. J Appl Physiol Resp Environ Exper Physiol 1983; 54: 371-4.
10. Turner JH, Lalich JJ. Experimental cor pulmonale in the rat. Arch Path 1965; 79: 409-18.
11. Sonnad J, Valdivia, Hyashi Y. Electron microscopy of the early pulmonary lesions produced by monocrotaline. Am J Path 1966; 46: 35a.
12. Lalich JJ, Johnson WD, Raczniak TJ, Shumaker RC. Fibrin thrombosis in monocrotaline pyrrole-induced cor pulmonale in rats. Arch Pathol Lab Med 1977; 101: 69-73.
13. Lalich JJ, Merkow L. Pulmonary arteritis produced in rats by feeding *Crotalaria spectabilis*. Lab Invest 1961; 10: 744-50.
14. Merkow L, Kleinerman J. An electron microscopic study of pulmonary vasculitis induced by pulmonary hypertension. Lab Invest 1966; 15: 547-64.
15. Kay JM, Smith P, Heath D. Electron microscopy of *Crotalaria* pulmonary hypertension. Thorax 1969; 24: H511-26.
16. Hislop A, Reid L. Arterial changes in *Crotalaria spectabilis*-induced hypertension in rats. Br J Exp Pathol 1974; 55: 153-63.
17. Smith P, Heath D. Ultrastructure of hypoxic hypertensive pulmonary vascular disease. J Path 1977; 121: 93-100.
18. Gillespie MN, Olson JW, Reinsel CN. Vascular hyperresponsiveness in perfused lungs from monocrotaline-treated rats. Am J Physiol 1986; 251: H109-14.
19. Rabinovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN, Williams WG, Trusler GA, Rowe RD, Olley PM, Cutz E. Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. A correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. Lab Invest 1986; 55: 632-53.
20. 박인에, 함의근. Monocrotaline 을 투여한 백서 폐의 초기 혈관 병변에 관한 주사전자현미경적 관찰. 한국전자현미경학회지 1991; 21: 86-107.
21. Caduff JH, Fischer LC, Burri PH. Scanning electron microscope study of the developing microvasculature in the postnatal rat lung. Anat Rec 1986; 216: 154-64.
22. Schraufnagel DE. Microvascular corrosion casting of the lung. A state-of-the-art review. Scanning Microscopy 1987; 1: 1733-47.
23. Schraufnagel DE, Schmid A. Pulmonary capillary

- density in rats given monocrotaline. A cast corrosion study. *Am Rev Respir Dis* 140: 1989; 1405-9.
24. Schraufnagel DE. Monocrotaline-induced angiogenesis. Differences in the bronchial and pulmonary vasculature. *Am J Path* 1990; 137: 1083-90.
 25. Hayashi Y, Lalich JJ. Renal and pulmonary alterations induced in rats by a single injection of monocrotaline. *Proc Soc Exper Biol and Med* 1967; 124: 392-6.
 26. Schraufnagel DE, Metha D, Harshbarger R, Treviranus Kim, Wang N-S. Capillary remodeling in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Path* 1986; 125: 97-106.
 27. Hodde KC, Nowell JA. SEM of micro-corrosion casts. *SEM* 1980; II: 89-106.
 28. Nowell JA, J Pangborn and WS Tyler. SEM of avian lung. *SEM* 1970; 249-56.
 29. Harris P, Heath D. The human pulmonary circulation its form and function in health and disease. 3rd ed. Churchill Livingstone. Edinburgh, 1986; p 414-32.
 30. Wagenvoort CA, Wagenvoort Noeke. Primary pulmonary hypertension. A pathologic study of the lung vessels in 156 diagnosed cases. *Circulation* 1970; 42: 1163-84.
 31. Blank RH, Muller WH Jr, Damman F Jr. Experimental pulmonary arterial hypertension. *Am J Surg Path* 1961; 101: 143-153.
 32. Smith P, Kay JM, Heath D. Hypertensive pulmonary vascular disease in rats after prolonged feeding after *Crotalaria spectabilis* seeds. *J Path* 1970; 102: 97-106.
 33. Kay JM, Guillund TD, Heath D. Mast cells in the lungs of rats fed on *Crotalaria spectabilis* seeds. *Am J Path* 1967; 51: 1031-44.
 34. Rosenberg HC, Rabinovitch M. Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 1988; 255: H1484-91.
 35. Meyrick B, Gamble W, Reid L. Development of *Crotalaria* pulmonary hypertension: hemodynamic and structural study. *Am J Physiol* 1980; 239: H692-702.
 36. Meyrick B, Reid L. Development of pulmonary artery changes in rats fed *Crotalaria spectabilis*, 1979; 94: 37-50.
 37. 김선용, Verapamil과 Aspirin이 Monocrotaline 투여로 인한 백서 폐혈관에 미치는 효과에 대한 형태학적 연구. 연세의대학위논문집 1989; 제 1 학기: 45-55.
 38. Liebow AA, Hales MR, Bloomer W, Harrison W, Lindskog GE. Studies on the lung after ligation of the pulmonary artery. II. Anatomical changes. *Am J Path* 1950; 16: 177-95.
 39. Downing SE, Vidone RA, Brandt HM, Liebow AA. The pathogenesis of vascular lesions in experimental hyperkinetic pulmonary hypertension. *Am J Path* 1963; 43: 739-65.
 40. Sobin SS, Tremmer HM, Fung YC. Morphometric basis of the sheet-flow concept of the pulmonary alveolar microcirculation on the cat. *Circ Res* 1970; 26: 397-414.
 41. 권건영, 박관규, 장은숙. 흰쥐 폐장 미세혈관 구조의 Corrosion Casting에 의한 주사전자현미경적 관찰. 계명의대논문집 1990; 9: 71-80.
 42. Kwon KY, Park KK, Chang ES. Scanning electron microscopic study of capillary change in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Kor Med Sci* 1991; 6: 234-45.
 43. Hijiya K, Okada Y. Scanning electron microscope study of the cast of the pulmonary capillary vessels in rats. *J Electron Microsc* 1978; 27: 49-53.
 44. Reidel JF, Roth RA. The effects of monocrotaline pyrrole on cultured bovine pulmonary endothelial and smooth muscle cells. *Am J Path* 1991; 138: 707-19.