

# 결석성 및 무결석성 담낭염의 담낭상피세포 변화에 대한 연구

조선대학교 의과대학 병리학교실

임 성 철 · 서 재 홍

## Ultrastructural Changes in Human Gallbladder Epithelium in Acalculous and Calculous Cholecystitis

Sung-Chul Lim, M.D. and Chae-Hong Suh, M.D.

Department of Pathology, Chosun University College of Medicine

Cholelithiasis is defined as the presence of stones within the lumen of the gallbladder or in the extrahepatic biliary tree.

Cholecystitis, secondary to gallstones, is a common surgical disorder in Korea. Detailed microscopic descriptions, particularly the ultrastructural changes, of these diseases were not available.

The goal of this study was to identify the ultrastructural alterations of gallbladder epithelium in cholecystitis with and without a stone, according to the degree of severity of inflammation, and the nature of the stone.

The gallbladders of the control group, and cholecystitis cases without stone and with stone were fixed and examined with routine stain, special stain, immunohistochemical stain and transmission electron microscopy. The number and the volume density of the mucin containing secretory granules were not significantly increased in the calculous cholecystitis cases compared with those of the acalculous cholecystitis cases.

Major findings were that the calculous cholecystitis cases showed a markedly reduced total lysosome area and volume density of the lysosome compared with those of the acalculous cholecystitis cases. The differences between the mucin secretory granules and lysosomes, according to the degree of severity of cholecystitis and the natures of gallstones, were statistically not significant. (*Korean J Pathol* 1995; 29: 714-726)

**Key Words:** Cholecystitis, Cholelithiasis, Ultrastructure, Mucin, Lysosome

접 수 : 1995년 1월 17일, 게재승인 : 1995년 8월 28일  
주 소 : 광주광역시 동구 서석동 588, 우편번호 501-759  
조선대학교 부속병원 해부병리과, 임성철

\* 이 논문은 1994년도 조선대학교 교내학술연구비 지원에 의해 이루어졌음.

## 서 론

담석증이란 담낭이나 간의 담관에 돌이 존재하는 것인데, 이는 흔하게는 임상증상을 초래하지 않고 경과되는 경우가 많으나, 심한 통증 및 염증소견을 나타내어 수술적 치료가 요구되는 경우가 있어, 오늘날 가장 흔한 복부수술의 원인이 되고 있으며, 매년 발생율의 증가를 보이는 추세이다<sup>1</sup>. Bouchier<sup>2</sup>가 담석이 발생할 수 있는 담즙의 형성을 초래하는 기전에 대해 연구발표를 한 바 있지만, 담석증이나 만성담낭염이 있는 환자를 대상으로 담낭 상피세포에 대한 형태학적 연구가 시행된 경우는 매우 드물다<sup>3,4</sup>. 담낭의 구조를 살펴보면 점막의 일부가 담낭벽으로 들어가서 Rokitansky-Aschoff sinuses가 형성되는데, 이의 기원이 선천적인지 후천적인지는 알 수 없으나, 염증이나 담석이 있는 경우는 86%, 정상담낭의 경우는 42%에서 발견되는데, 이는 이의 형성과정과 무관하게 담석의 응핵화(nucleation)와 염증형성의 가능성이 있는 것으로 알려져 있다<sup>5-7</sup>.

담석의 형성은 담낭의 염증, 기생충 질환, 화학적 손상등과 같은 담낭 점막의 변화에 의해 촉발되고, 담즙의 농축, 핵형성 및 부가증대의 세단계 과정을 거쳐 형성된다. 콜레스테롤 담석은 비만증, 화장질환, 다산(multiparity), 에스트로젠과 같은 약물 복용의 경우에, 색소성 담석은 고령층, 간경화증, 용혈성 질환, 정맥을 통한 장기간의 영양공급등과 같은 상황에서 발생가능성이 증가되는 것으로 알려져 있는데<sup>15</sup>, 가장 기본이 되는 원인으로서는 담즙이 콜레스테롤로 과포화 상태가 되거나 담즙산염 분비의 감소이며<sup>8</sup>, 담낭내 담즙정체시에도 수분의 재흡수 증가에 의해 담즙의 과포화 현상이 초래되는 것으로 밝혀졌다<sup>9</sup>.

담석증은 서양에서는 75%가 콜레스테롤 담석이고, 나머지가 색소성 담석인 반면 한국을 포함한 동양에서는 색소성 담석이 월등히 많다고 알려져 왔었는데, 한국도 식생활의 서구화에 의해 담석의 양상도 서구화된 변화를 보인다<sup>10</sup>.

담낭염은 비교적 흔한 질환으로서, 대부분 담석과 관련이 있고, 외과병리 영역에서 자주 접하게 되며, 이때 나타나는 육안적 소견이나 광학현미경적 소견은 잘 알려져 있으나, 전자현미경적 소견에 대한 연구보고는 많지 않다. 초미세구조는 사립체의 부종이나 와해, 자식증성공포(autophagic vacuole)나 잔류체(residual body)의 증가, 조면소포체(rough endoplasmic reticulum, 이하 RER이라 약기함)의 확장, 미세음모

의 변성, glycocalyx 막의 미세음모피복, 점막상피세포의 점액분비 소견등과 같은 비특이적 염증소견 이외에는 별로 기술되어 있지 않다. 또한 연구보고들<sup>11-16</sup>도 서양인에 흔한 콜레스테롤 담석에 국한되어 있을 뿐만 아니라, 실험동물을 대상으로한 연구보고들이 대부분이고, 우리나라에서의 연구보고는 없다.

이에 저자는 한국인을 대상으로 담낭염 환자에서 담석증의 유무와 담석의 성분에 따른 초미세구조 변화 및 염증의 정도에 따른 비교 검토를 통해 염증과 담석형성과의 상관관계를 밝히고자 광학현미경 및 전자현미경적 검색을 실시하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구재료

1992년 1월 부터 1994년 1월까지 2년동안 조선대학교부속병원 및 지방공사 군산의료원에서 실시된 담낭절제 환자중 결석성 담낭염군 87예, 무결석성 담낭염군 5예, 정상대조군 5예를 대상으로 하였다. 이중 결석성 담낭염군은 투과전자현미경 검색을 위한 표본 채취가 가능했던 예를 중심으로 콜레스테롤 담석군, 색소성 담석군으로 분류하고, 각각을 염증의 정도에 따라 경미한 담낭염군과 심한 담낭염군으로 세분화하여 전자현미경 검색을 위한 20예를 선택하였다(Table 1).

### 2. 연구방법

연구재료 총 97예중 결석성 담낭염군 87예를 대상으로 성별, 연령별 분포를 분석하고, 이중에서 본 연구에 부합되는 담석의 성분분석과 전자현미경적 검색이 가능한 20예를 담석의 성분 및 염증의 정도에 따라 4군으로 분류하여, 무결석성 담낭염군 및 정상대조군과 함께 광학현미경적, 면역조직화학적

Table 1. Materials used in this study

Groups	Case No.
Calculous cholecystitis	87
Acalculous cholecystitis	5
Control	5
Total	97

및 전자현미경적 검색을 실시하였다.

1) 광학현미경적 검사: 담낭이 자가 용해가 빠른 장기임을 감안하여 조직을 수술 즉시 10% 중성 포르말린에 고정하였으며, 선택된 30예를 대상으로 병리조직학적 검색을 위해 파라핀 포매된 블럭(block)을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 일반적인 조직소견을 관찰하기 위해 hematoxylin-eosin염색을 시행하였고, 특수염색으로 PAS 및 PAS-Alcian blue염색을 실시하였다.

2) 면역조직화학적 방법: 일반 광학현미경 검경 후, 15예를 선택하여 파라핀 포매블럭을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 탈파라핀과 합수과정을 거친후 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-methanol 용액으로 5분간 조직내 내인성 과산화효소의 활동을 저지시키고, 증류수로 수세후 phosphated buffered saline(PBS)에 담근후 단백질과의 비특이성 결합을 억제시키기 위하여 normal goat serum을 5분간 반응시켰다. 이후 일차항체를 30분간 반응시킨후 PBS에 수세하여 이차항체(biotinylated universal antibody, Dako Co. CA, USA)를 10분간 가하고, PBS에 수세후 streptavidin-biotin conjugate를 10분간 반응시키고, PBS에서 수세한 후 발색제인 3-amino-9-ethyl-carbazole(AEC)를 이용하여 현미경 검색하에 발색시킨 후 hematoxylin으로 대조염색하고 crystal mount로 봉입하여 관찰하였다. 연구에 사용된 일차항체는 제 2표와 같으며, 염색결과의 판정은 상피세포가 전혀 염색이 안되면 0, 1~10% 양성시 1+, 11~45% 양성시 2+, 46~75% 양성시 3+, 76~100% 양성시 4+로 하였다.

3) 전자현미경적 검색: 수술 즉시 담낭을 개방하여 담낭 점막의 보존이 좋은 경우는 무작위로, 담낭의 미란이나 궤양이 있는 경우는 그의 인접점막을 채취하여 조직편을 1 mm<sup>3</sup> 크기로 잘라서 2% glutaraldehyde용액(pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer, 4°C)에 2시간 동안 전 고정하고, Millonig법<sup>17</sup>에 따라 만든 OsO<sub>4</sub>용액(pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer)에 2시간 동안 고정한 후 다시 동일한 cacodylate buffer로 세척하여 계열에탄올로 탈수하고, propylene oxide를

침투시킨 다음 Epon에 포매하여 60°C에서 72시간 열중합시켰다. 이 Epon block을 1  $\mu$ m 두께로 박절하여 1% toluidine blue에 염색한 후 광학현미경으로 관찰하여, 관찰코자 하는 특징적인 부위를 선택하였다. 그 후 diatome을 부착시킨 LKB microtome으로 초박절편을 만들어 Reynolds법<sup>18</sup>에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 하여 JEM-100X II형 전자현미경으로 가속전압 80 KV하에서 관찰하였다.

4) 화상분석: 정상대조군, 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군의 점막상피를 전자현미경을 통해 한 증례당 평균 10장씩 사진촬영을 하여, 이 사진을 대상으로 측정변수로서 각 세포의 단면적, 각 세포당 mucin(또는 lysosome) granule의 총단면적 및 총수, mucin(또는 lysosome) granule의 평균 단면적, 각 세포당 mucin(또는 lysosome) granule이 차지하는 volume density를 분석대상으로 하였고, volume density는 lysosome(or mucin) area/(cell area - nucleus area)로 계산하였다.

TEM으로 촬영하여 현상인화된 사진을 대상으로 반자동 측정기구인 videoplan(IBAS 2000 FRG형)을 사용하여 세포들을 계측한 후, 그 평균치와 표준편차를 구하여 대조군과 무결석성 담낭염군 및 결석성(콜레스테롤 담석 또는 색소성 담석) 담낭염군(경미한 담낭염 또는 심한 담낭염)의 담낭점막 상피세포간의 유의한 차이를 Student's t test로 신뢰한계(P value)를 판정하였다.

5) 담석의 성분분석: 담석은 식염수 세척 후 완전 건조시켜 각 담석당 약 5 mg의 시료를 채취하여 250 mesh 정도의 분말상태로 분쇄시켜 시료 holder에 얇게 발라 x-ray 회절기에 넣어 분석하였다.

사용된 x-ray 회절기는 Geigerflex D/max 2A 기종(Rigaku사) monochromator가 부착된 detector를 사용하였다. 계기는 사용조건으로 Cu target와 K $\alpha$  wave를 사용하여 1°에서 35°까지 시행하였고, 주사속도는 분당 2°로 하였으며 가속전압은 35KV를 사용하였다.

## 연구 성적

### 1. 환자의 연령, 성별분포

본 연구의 대상이된 결석성 담낭염군은 87예로서 남자: 40명(46%), 여자: 47명(54%), 평균연령 53세(17~85세)로서 연령별 분포는 40대~60대가 전체의 79%를 차지하였으며, 60대 이상의 환자군에서는 여성이 24예중 19예(79.2%)로 30대 이하의 젊은 층이

Table 2. Primary antibodies used in this study

Primary antibody	Dilution	Source
Lysozyme	1 : 200	DAKO
Alpha-1-antitrypsin	1 : 100	DAKO
CEA	1 : 100	DAKO
Cytokeratin	1 : 100	DAKO

10예중 2예인 것에 비해 이상발생 우위를 보였다 (Table 3).

2. 광학현미경적 관찰

본 연구의 대상이 된 담낭을 관찰한 바, 그 결과는 다음과 같다.

1) 대조군: 점막 표면상피, 점막고유층, 평활근, 장막하 실체조직 및 장막층이 질서있게 배열되어 있고, 담낭으로 돌출된 추버운 한층의 원주상피에 의해 피복되어 있고, 이의 핵은 기저부에 위치하여 주벽의 중심에는 점막고유층이 위치해 있었다.

2) 결석성 담낭염군: 대조군과 비교하여 관찰할

때 경미한 염증소견부터 심한 염증소견까지 다양하게 보였고, 장막하 조직비후가 현저하였는데, 이는 주로 세포외 물질의 증가에 기인되며, 점막고유층의 증가에 의해 점막 높이가 키진 소견도 관찰되었는데, 이는 점막 고유층 내로의 단핵구 유입에 의해 초래된다. 점막상피 세포의 국소적 또는 광범위한 탈락을 수반한 담낭염 소견과 비후된 근육층내에서 Rokitansky-Aschoff sinuses가 관찰되며, 증식성 점막 병소의 매상세포 화생도 있었고, 드물게 편평상피 화생도 관찰되었다(Fig. 1).

3) 무결석성 담낭염군: 대조군과 비교하여 대개 중등도나 그 이상의 염증소견을 보였고, 장막하 조직비후는 흔하지 않았다. 비후된 근육층내에서 관찰되는 Rokitansky-Aschoff sinuses는 담석이 있는 담낭염군에 비해 드물게 관찰되고, 구성세포의 평균 높이가 더 낮았다. 점막상피세포의 국소적 또는 광범위한 탈락을 수반한 담낭염 소견은 담석이 있는 담낭염군에 비해 훨씬 드물게 관찰되었다.

Table 3. Age and sex distributions of the gallstone patient group

Age	Sex(M/F)	Total No.(%)
~20	1/ 0	1( 1.1)
20~29	1/ 1	2( 2.3)
30~39	6/ 1	7( 8.1)
40~49	13/12	25( 28.7)
50~59	14/14	28( 32.2)
60~69	3/13	16( 18.4)
70~79	2/ 5	7( 8.1)
80~	0/ 1	1( 1.1)
Total	40/47	87(100.0)

3. 면역조직화학적 관찰(Table 4)

1) 대조군: Alpha-1-antitrypsin(이하 A-1-AT라 약기함), carcinoembryonic antigen(이하 CEA라 약기함) 및 low molecular weight cytokeratin(CK 18, CK19)에 약한 양성반응을 보였으며, lysozyme에는 음성반응을 보였다.

2) 결석성 담낭염군: 대조군에서는 관찰되지 않던 lysozyme 양성소견이 화생상피에서 관찰되었는데 이는 주변이 심한 염증소견을 보일수록, 심한 점막상

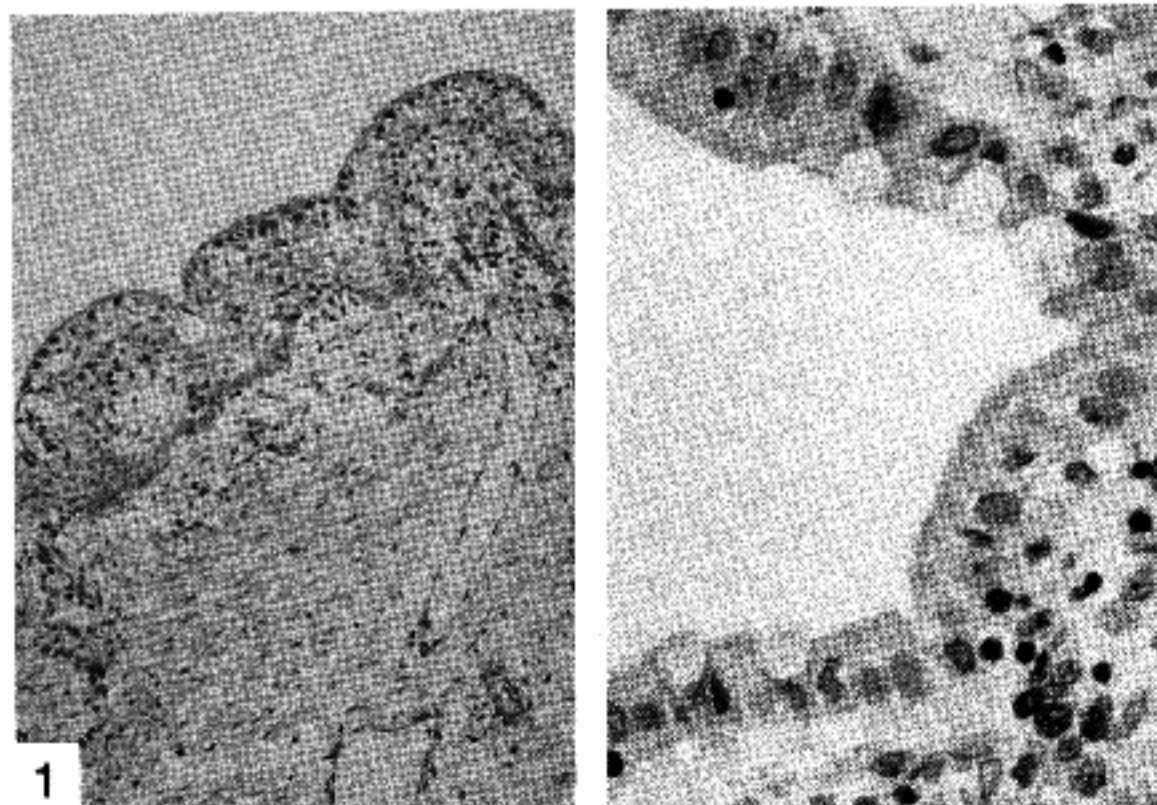


Fig. 1. The mucosa of the gallbladder is lined by a stratified squamous epithelium(left) in the pigmented stone with severe cholecystitis group, and focally metaplastic changes to the goblet cells (right) in the cholesterol stone with mild cholecystitis group are noted.

Table 4. The results of the immunohistochemical staining

Primary Ab.	Group	C.S.S						
		Control	C.S.S		Cholecystitis with stone			
			Mild	Severe	Cholesterol stone		Pigmented stone	
Mild	Severe	Mild	Severe	Mild	Severe			
Lysozyme	o	N/A	o	2+	3+	2-	3+	
A-1-AT	1+	N/A	1+	1+	1+	1+	1-	
CEA	1+	N/A	1+	1+	1+	1+	1+	
Cytokeratin	1+	N/A	1+	1+	1+	1+	1+	

o: no staining, 1+: 1~10% staining, 2+: 11~45% staining

3+: 46~75% staining, 4+: 76~100% staining,

C.S.S: cholecystitis without stone

Mild: mild inflammation, Severe: severe inflammation,

N/A: not applicable

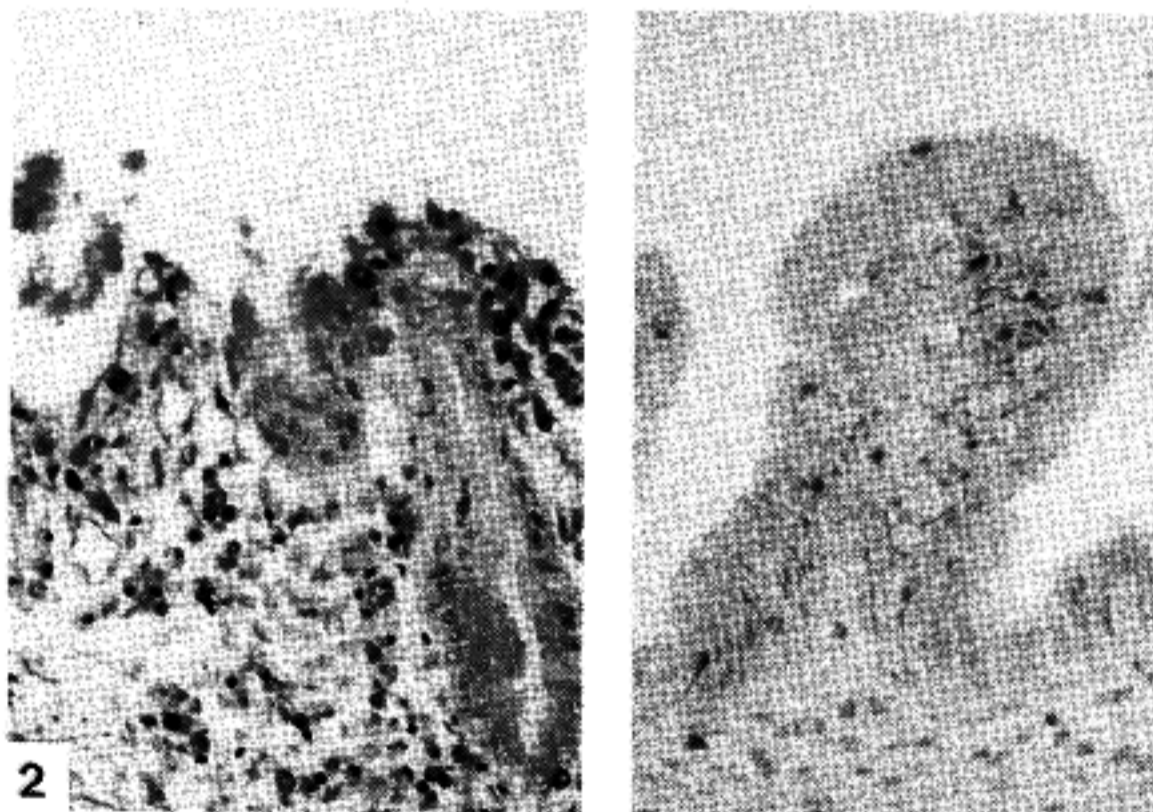


Fig. 2. The metaplastic epithelial lining is strongly(left) or weakly(right) immunoreactive for lysozyme according to the severity of inflammation. Avidin-Biotin Complex. Pigmented stone with severe(left) and mild(right) cholecystitis group.

외의 탈락소견이 관찰될수록 강한 양성율을 보였다 (Fig. 2). 또한 A-1-AT, CEA 및 low molecular weight cytokeratin에 대해서도 일부 상피세포에서 양성소견을 보였다.

3) 무결석성 담낭염군: 염증의 정도에 관계없이 lysozyme은 상피세포내에서 증명되지 않았고, A-1-AT, CEA 및 low molecular weight cytokeratin은 상피세포 일부에서 양성소견을 보였다.

#### 4. 전자현미경적 관찰(Table 5)

상피세포 내부에서 mucin 분비과립이 관찰되었

는데, 주로 세포의 정점에 막에 둘러싸여 있었으며, 이는 lysosome과 삼빔을 요한다. Lysosome은 더욱 더 크고, 그 내용물이 mucin 과립에 비해 더욱 불균질성이었고 더욱 열린(열기)상으로 되어 있어서 감별이 가능하였다. 또한 정점하부(subapical portion) 및 핵상부(supranuclear portion)에는 정점부(apical portion)에서 관찰되었던 것과 동일한 분비과립 및 사립체(mitochondria), 조단소포체와 ribosome이 관찰되었다.

정상대조군의 경우는 정막상부에 잘 발달된 미세융도가 관찰되고, 그 하부에 lysosome과 mucin 분비

Table 5. Ultrastructural changes of the gallbladder epithelium

Substructure	Group	C.S.S		Cholecystitis with stone				
		Control	Mild	Severe	Cholesterol stone		Pigmented stone	
					Mild	Severe	Mild	Severe
Microvilli								
Shape irregularity	o	N/A	2+	2+	3+	2+	3+	
Effacement	o	N/A	1+	2+	3+	2+	3+	
Phagolysosome	4+	N/A	1+	1+	1+	1+	1+	
Irregularity of lysosome	3+	N/A	1+	1+	1+	1+	1+	
Mucin granule								
Number	-	N/A	↑	↑	↑	↑	↑	
Size	S	N/A	M	M	L	M	L	
Edema(RER, Mitochondria)	o	N/A	2+	2+	2+	2+	2+	

o: absence, 1+: 1~10%, 2+: 11~45%, 3+: 46~75%, 4+: 76~100%, ↑: increased  
 S: small size, M: medium size, L: large size, N/A: not applicable,  
 C.S.S: Cholecystitis without stone, Mild:mild inflammation,  
 Severe:severe inflammation

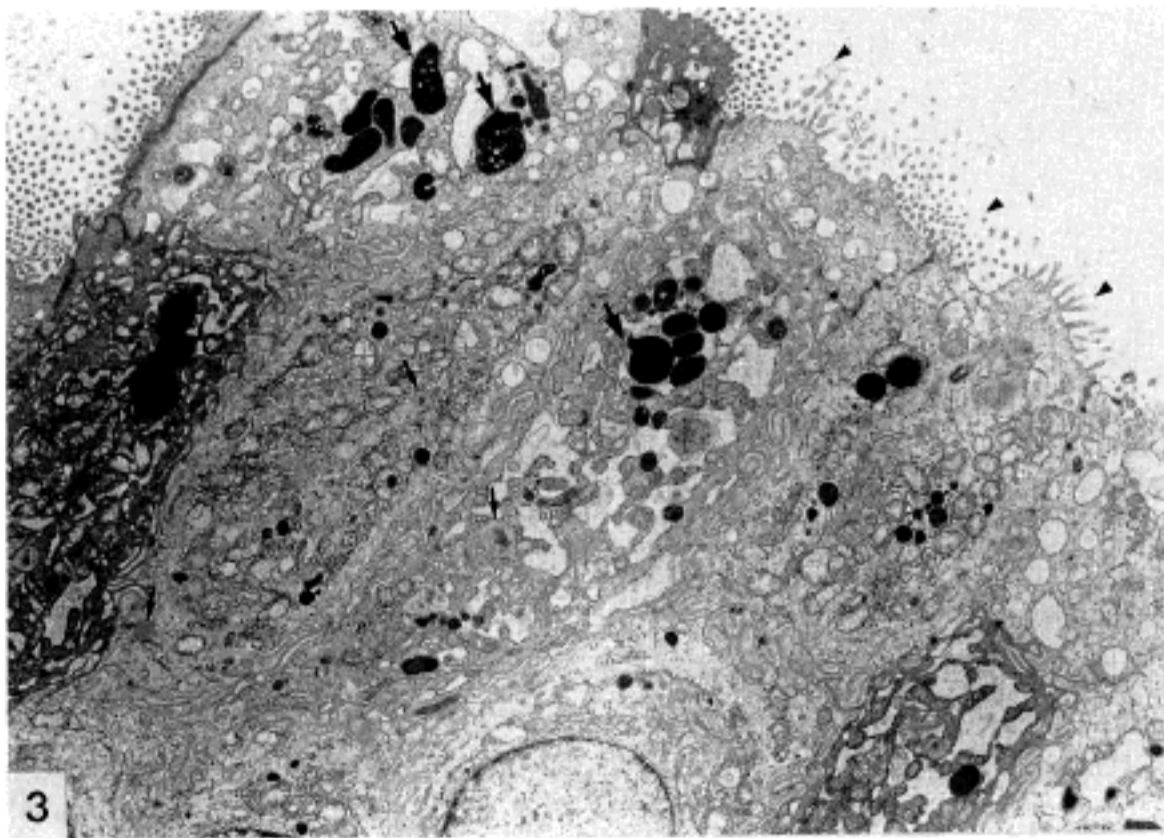
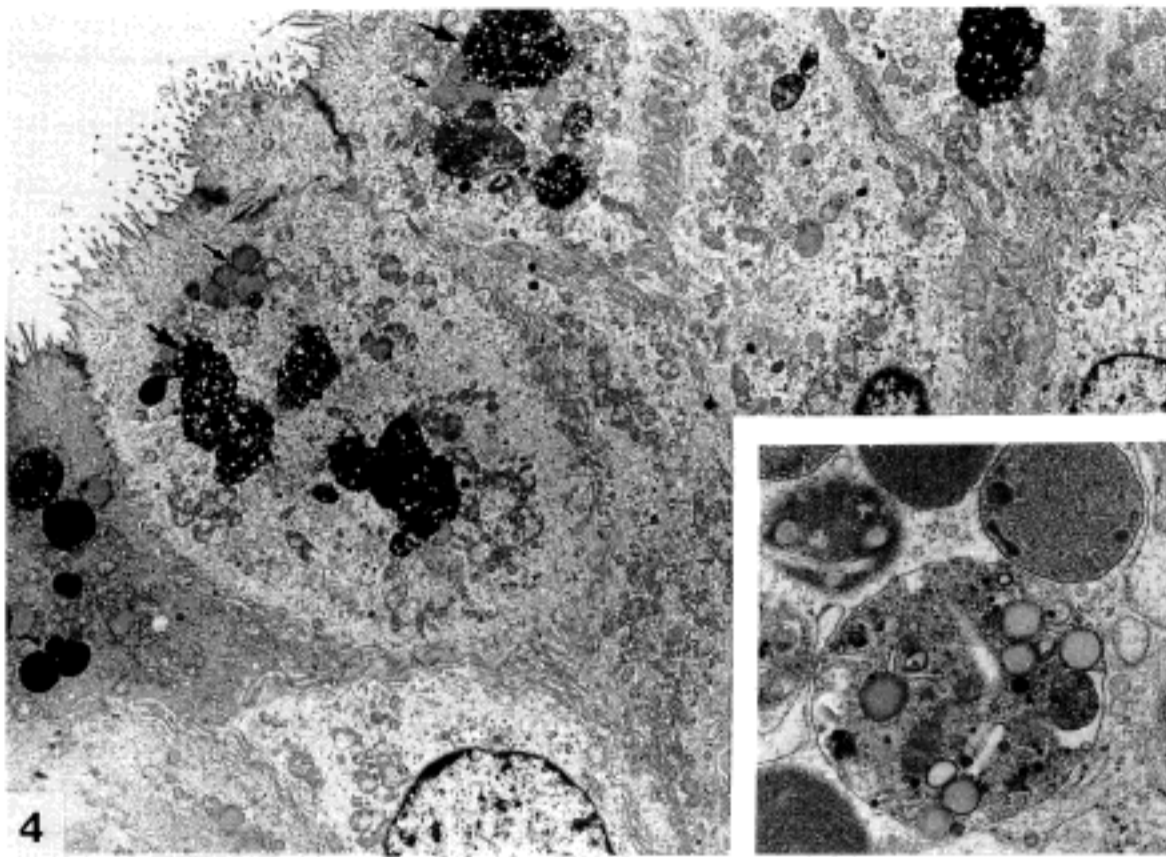


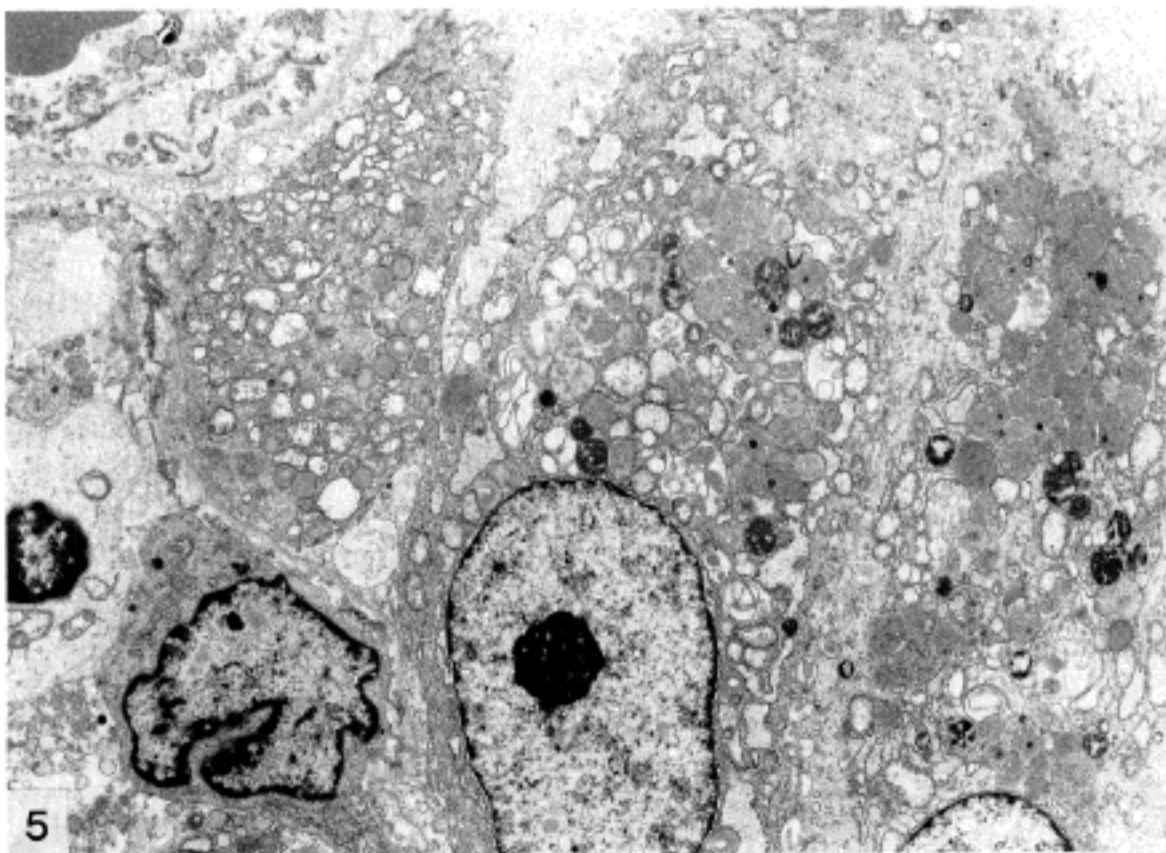
Fig. 3. The apical portions of the gallbladder epithelium showing well preserved microvilli(arrow head), lysosome(thick arrow) and mucin granules(thin arrow), control group, ×2,800.

과립이 존재하는데, 다른 실험군에 비하여 lysosome의 발달이 현저하여 난원형의 형태로 부터 불규칙한 형태까지 다양하였고, 명백한 mucin 과립은 물론 정체를 알 수 없는 여러 형태의 물질까지 다양한 내용물을 갖는 phagolysosome이 관찰되었다. 또한 mucin 과립은 존재하나 현저하지 않고, 그 크기도 작아 위축된 듯한 모습을 보였다(Fig. 3, 4).

무결석성 담낭염군, 콜레스테롤 담석군 및 색소성 담석군은 염증의 심한 정도에 비례하여 미세음모의 소실, 부종 및 공포화등이 관찰되었고, 점막상피간의 간극이 벌어지고, 곳에 따라서는 세포벽의 파괴 현상도 있었다. 또한 세포질내의 부종현상이 심하여 조면소포체(RER) 및 사립체의 부종이 현저하였다. 그리고, 정상대조군에 비하여 lysosome의 감소 및



**Fig. 4.** The apical epithelium showing phagolysosome(thick arrow) and mucin granules(thin arrow),  $\times 2,800$ .  
Inset: Higher magnification of the phagolysosome, control group,  $\times 10,000$ .



**Fig. 5.** Total effacement of microvilli in one epithelium with increment of mucin secretory granules and decrement of lysosome granules are evident, cholesterol stone with severe cholecystitis group,  $\times 2,800$ .

mucin 과립의 증가가 현저했는데, 이는 염증의 심한 정도에 비례하였으나, 담석의 성분에는 영향이 없었다(Fig. 5, 6).

Phagolysosome과 수초도(myelene figure)가 관찰되었으나, phagolysosome의 출현은 정상대조군에 비해 훨씬 희박하였고, lysosome의 형태도 주로 난원형으로만 관찰되었다. 콜레스테롤 담석군의 일부에서는 미세융모가 소실된 점막상부에서 무정형의 물질이 관찰되었는데, 이는 glycocalyx로 여겨지며 이것이

담석형성의 응핵(nidus)으로 작용될 수 있으리라 사료된다(Fig. 7).

### 5. 영상분석

각각의 세포에서 관찰되는 구조변화중 점액과립과 lysosome에 대한 정량분석을 실시하였는데, 대조군의 경우 점액분비과립의 volume density는  $3.1 \pm 0.9\%$ , total granule area는  $5.1 \pm 1.9 \mu\text{m}^2$ , 각 세포당 과립의 수는  $12.2 \pm 2.3$ 개, 평균과립 면적은  $0.3 \pm 0.1$

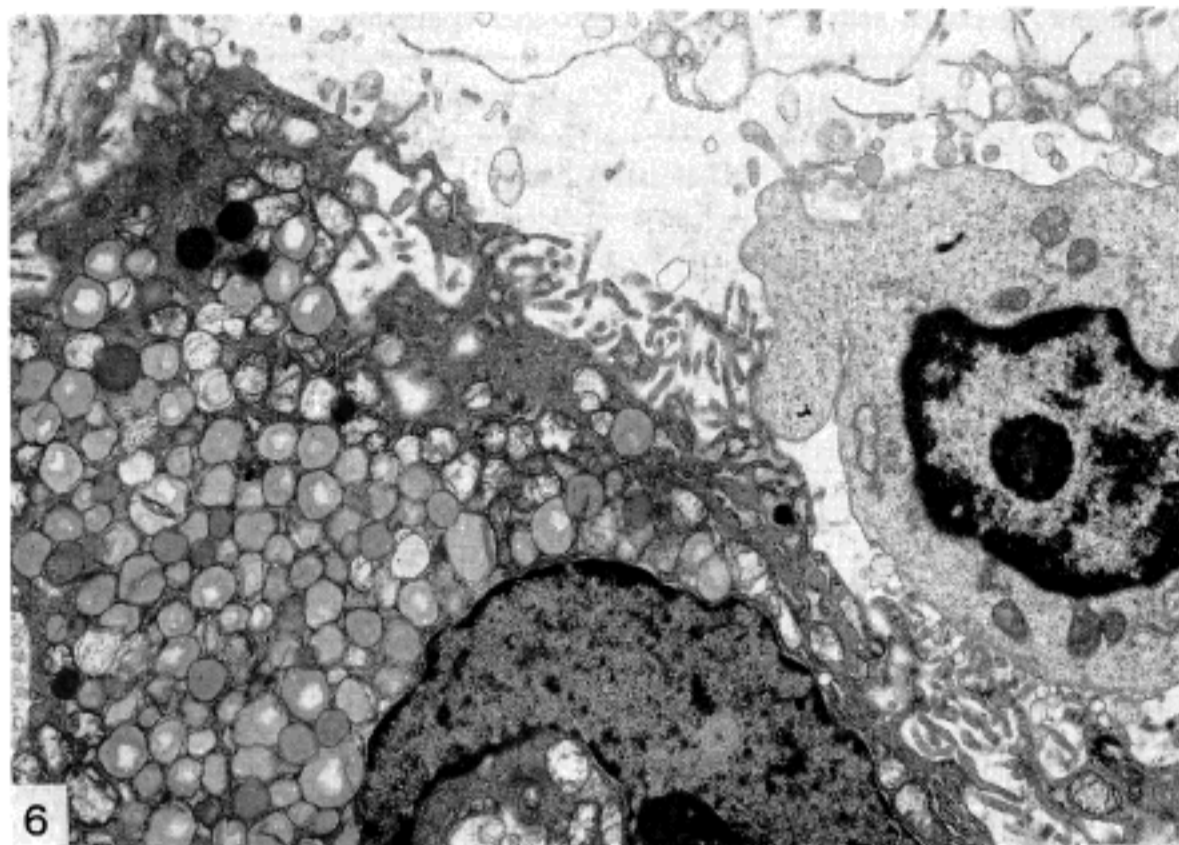


Fig. 6. An apical epithelial cell showing marked increased number of mucin secretory granules with decreased lysosome, pigmented stone with severe cholecystitis group,  $\times 4,000$ .

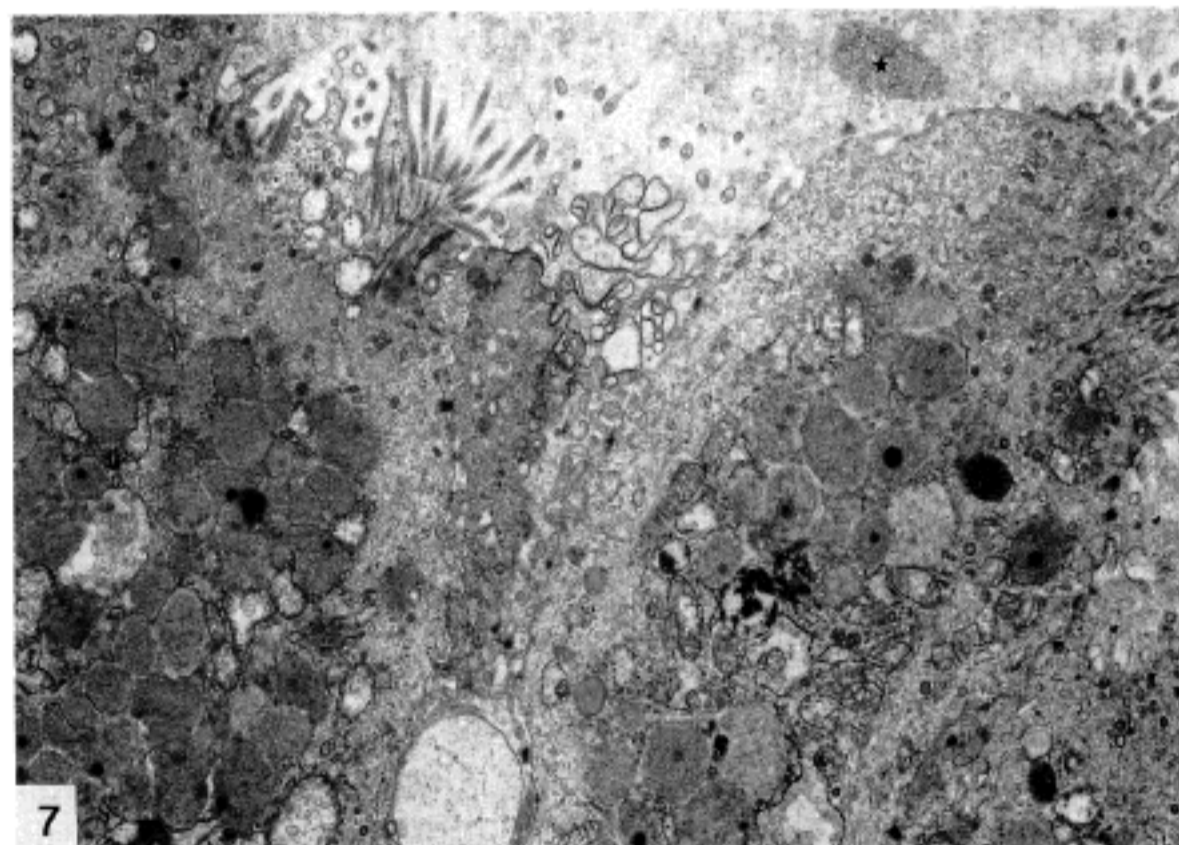


Fig. 7. Focal loss of microvilli with luminal amorphous material suggesting glycocalyx(asterisk) is noted, cholesterol stone with severe cholecystitis group,  $\times 4,000$ .

$\mu\text{m}^2$ 이었고, lysosome의 volume density는  $3.7 \pm 0.4\%$ , total lysosome area는  $5.5 \pm 0.6 \mu\text{m}^2$ , 각세포당 lysosome의 수는  $5.5 \pm 1.5$ 개, 평균 lysosome 면적은  $1.5 \pm 0.5 \mu\text{m}^2$ 이었다.

무담석성 담낭염군의 경우 점액분비과립의 volume density는  $4.1 \pm 1.3\%$ , total granule area는  $5.7 \pm 1.9 \mu\text{m}^2$ , 각 세포당 과립의 수는  $16.7 \pm 3.7$ 개, 평균 과립면적은  $0.4 \pm 0.1 \mu\text{m}^2$ 이었고, lysosome의 volume density는  $1.2 \pm 0.3\%$ , total lysosome area는  $1.6 \pm 0.3 \mu\text{m}^2$ , 각 세

포당 lysosome의 수는  $3.5 \pm 0.7$ 개, 평균 lysosome 면적은  $0.5 \pm 0.3 \mu\text{m}^2$ 이었다.

콜레스테롤 담석이 있는 경미한 담낭염군의 경우 점액분비과립의 volume density는  $3.7 \pm 0.5\%$ , total granule area는  $5.4 \pm 1.7 \mu\text{m}^2$ , 각 세포당 과립의 수는  $14.5 \pm 3.2$ 개, 평균 과립 면적은  $0.3 \pm 0.1 \mu\text{m}^2$ 이었고, lysosome의 volume density는  $1.4 \pm 0.5\%$ , total lysosome area는  $1.9 \pm 0.6 \mu\text{m}^2$ , 각 세포당 lysosome의 수는  $3.6 \pm 1.0$ 개, 평균 lysosome 면적은  $0.7 \pm 0.2 \mu\text{m}^2$ 이



Table 6. Mucin secretory granules and lysosome in gallbladder epithelium

Parameter	Group	Control (n=5)	C.S.S (n=5)		Cholecystitis with stone			
			Mild	Severe	Cholesterol stone		Pigmented stone	
					Mild (n=5)	Severe (n=5)	Mild (n=5)	Severe (n=5)
<b>Mucin granules</b>								
Volume density(%)		3.1±0.9	N/A	4.1±1.3	3.7±0.5	4.0±1.8	3.9±0.6	4.0±1.1
Total granule area(μm <sup>2</sup> )		5.1±1.9	N/A	5.7±1.9	5.4±1.7	5.9±2.0	5.2±1.6	5.5±1.8
No.of granules per cell(n)		12.2±2.3	N/A	16.7±3.7	14.5±3.2	18.1±5.9	16.5±3.2	17.5±4.1
Mean granule area(μm <sup>2</sup> )		0.3±0.1	N/A	0.4±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1
<b>Lysosomes</b>								
Volume density(%)		3.7±0.4	N/A	1.2±0.3**	1.4±0.5**	0.9±0.1**	1.3±0.2**	1.0±0.2**
Total lysosome area(μm <sup>2</sup> )		5.5±0.6	N/A	1.6±0.3**	1.9±0.6**	1.0±0.3**	1.5±0.6**	1.5±0.4**
No.of lysosome(n)		5.5±1.5	N/A	3.5±0.7	3.6±1.0	3.4±1.1	3.5±0.5	3.7±0.9
Mean lysosome area(μm <sup>2</sup> )		1.5±0.5	N/A	0.5±0.3*	0.7±0.2*	0.4±0.1*	0.7±0.2*	0.5±0.2*

\*: Significantly different from control(P<0.05)

\*\* : P<0.001

Mild: mild inflammation, Severe: Severe inflammation

C.S.S: Cholecystitis without stone, N/A: not applicable

었다.

콜레스테롤 담석이 있는 심한 담낭염의 경우 점액 분비과립의 volume density는 4.0±1.8%, total granule area는 5.9±2.0 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 과립의 수는 18.1±5.9개, 평균과립면적은 0.4±0.1 μm<sup>2</sup>이었고, lysosome의 volume density는 0.9±0.1%, total lysosome area는 1.0±0.3 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 lysosome의 수는 3.4±1.1개, 평균 lysosome 면적은 0.4±0.1 μm<sup>2</sup>이었다.

색소성 담석이 있는 경미한 담낭염군의 경우 점액분비과립의 volume density는 3.9±0.6%, total granule area는 5.2±1.6 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 과립의 수는 16.5±3.2개, 평균과립면적은 0.4±0.1 μm<sup>2</sup>이었고, lysosome의 volume density는 1.3±0.2%, total lysosome area는 1.5±0.6 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 lysosome의 수는 3.5±0.5개, 평균 lysosome 면적은 0.7±0.2 μm<sup>2</sup>이었다.

그리고 색소성 담석이 있는 심한 담낭염의 경우 점액분비과립의 volume density는 4.0±1.1%, total granule area는 5.5±1.8 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 과립의 수는 17.5±4.1개, 평균과립면적은 0.3±0.1 μm<sup>2</sup>이었고, lysosome의 volume density는 1.0±0.2%, total lysosome area는 1.5±0.4 μm<sup>2</sup>, 각 세포당 lysosome의 수는 3.7±0.9개, 평균 lysosome 면적은 0.5±0.2 μm<sup>2</sup>이었다(Table 6).

이상의 분석결과를 요약하면 제 6표와 같은데, 점액 분비과립의 volume density와 수, total granule area, mean granule area는 대조군에 비해 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 약간 증가하는 경향이 있었고, 결석성 담낭염군에서는 이에 수반된 염증의 정도가 심할수록 증가하는 경향이 있었다. 그러나 이런 수치들의 증가는 통계학적으로 유의할 정도는 아니었다.

Lysosomes은 volume density, total lysosome area 및 mean lysosome area가 대조군에 비해 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 통계학적으로 유의할 정도로 감소함을 보였고, 결석성 담낭염군의 경우는 담낭염의 정도가 심해질수록 약간의 감소는 있으나, 통계학적 의의는 없었다.

## 6. 담석의 성분분석

콜레스테롤 담석군에 속하는 10예는 순수 콜레스테롤 담석이 4예, 주성분인 cholesterol과 소성분인 calcium bilirubinate가 혼합된 담석이 5예, calcium palmitate와의 혼합담석이 1예였고, 색소성 담석군에 속하는 10예는 calcium bilirubinate 5예, calcium palmitate 3예, calcium carbonate 2예였다.

## 고 찰

담낭염 및 담석증은 오늘날 서양에서 중요복부 수술의 가장 흔한 이유가 되는데<sup>14</sup> 우리나라도 예외가 아닌 추세로 진행되고 있다. 따라서 외과병리 검체로 절제된 담낭을 접하기란 흔한 일이나, 이들의 전자현미경적 변화에 대한 관찰은 최소화하다. 또한 이들에 관한 연구가 서양인에 많은 콜레스테롤 담석에 국한되어져 있었다. 한국을 포함한 동양의 경우는 담석의 대부분이 색소성 담석인 것으로 알려져 있으나, 김<sup>10</sup>의 연구에 의하면 담낭내 담석의 경우 콜레스테롤 담석이 72.2%, 색소성 담석이 24.1%, 기타 혼합형이 3.7%를 차지하여, 기존에 알려진 바와는 달리 한국인도 식생활 양상의 변화에 의해 콜레스테롤 담석이 증가하는 경향이 있다.

콜레스테롤 담석은 대개 황색 또는 갈색이고, 둥글거나 작은편을 갖는 반면 색소성 담석은 흑색이고 모양이 불규칙하여 만지면 잘게 부스러지고 벗겨지는 경향이 있고, 성분은 calcium bilirubinate, complex bilirubin polymers, inorganic solids와 unidentified organic solids로 되어 있다<sup>1,19</sup>.

콜레스테롤 담석은 담석중량의 50~100%가 콜레스테롤로 구성된 경우를 말하며 색소성 담석이 남녀성별의 차이를 보이지 않는데 반해, 여성에서 3배 더 호발하는 것으로 알려져 있고, 특히 비만, 다산(multiparity), 피임약복용과 관련되어 있다. 콜레스테롤은 물에 녹지 않으며, 정상적으로는 담즙산염 미포(micelle)내에서 운반되어 지는데, 미포의 수송능력에 비해 콜레스테롤이 과다할 경우 콜레스테롤 담석이 형성되는 것으로 알려져 있다. 즉 담즙산염이 감소되거나, 콜레스테롤 농도가 증가되는 경우이다<sup>1,20,21</sup>. 그러나 콜레스테롤 담석과는 달리 색소성 담석은 비만이나 담즙산포화와 무관하여, 간경화증이나 용혈성 질환이 소인이 되긴 하지만 대부분의 환자에서 이런 질환은 동반되지 않는다. 또한 일부 환자의 경우 Clonorchis sinensis나 Ascaris같은 기생충이 유발인자가 될 수 있으며, 기생충질환이 있는 담즙이 beta-glucuronidase를 생성하는 E.coli로 오염되면 이 효소가 bilirubin을 탈포합(deconjugate)시키고 이의 용해력이 떨어져 calcium이 침착되어 담석을 초래케 된다<sup>1,22</sup>.

이처럼 색소성 담석은 여러 경로를 통한 비포합 빌리루빈(unconjugated bilirubin)의 상승이 초래되고, 이것이 calcium bilirubinate로 침착되어 일어나는데 아마도 점액성 당단백질 핵(nidus) 주변에 침착되어

시작된다. 이와같이 담석의 형성은 복잡하고, 불분명한 여러 경로를 통해 이루어지지만 다음과 같은 몇가지 공통된 의문점이 남게된다. 즉, 비정상 담즙을 갖는 모든 사람이 담석을 형성하지는 않는가? 담석형성은 주로 담낭에서 일어나는가? 담낭절제술이 근치적 치료법인가? 이다. 즉, 담낭이 담석 형성과정에서 있어서 분명히 중요한 역할을 담당하고 있으며, 아마도 결정체 형성을 위한 핵을 제공하는듯 한데, 여기에는 여러 유발인자가 관여된다. 즉, 패혈증, 심한 외상, salmonella typhosa에 의한 담낭의 감염, 결절성 다발동맥염등과 연루되어 발생하는데, 병인론적으로는 아마도 담낭상피에 대한 만성자극 및 화학적 손상에 의하는 것으로 일부학자들에 의해서 주장되었다<sup>1,5</sup>. 따라서 저자는 담석증과 담낭염간의 상호관계를 규명하는 것이 담석 형성과정을 이해하는 시발점이 되리라 생각하여 본 연구를 시행하였다. 본 연구 결과 점액분비과립 용적이 무결석성 담낭염군에 비해 결석성 담낭염군에서, 그리고 결석성 담낭염군은 그 수반된 염증이 심할수록 더 증가하였으나, 통계학적 유의성은 없었다. 그리고, 콜레스테롤 담석과 색소성 담석간의 차이는 없었다. 따라서 이 결과를 토대로 보면 결석성 담낭염군의 경우 담낭상피세포내의 당단백질 함유량이 상승 될 수 있다는 근거를 제공치 못하고 있다. 하지만 본 연구의 경우 담석증 환자는 담낭내 담즙으로의 점액분비가 증가되어 있고, 담즙내 점액 함유량이 상승 될 수 있다는 가능성은 추후 연구대상이라 하겠다. 또한 콜레스테롤 담석의 형성에는 당단백질이 중요한 역할을 하는데, 담낭점액이 콜레스테롤 결정의 핵형성(nucleation)을 가속화 시키는 것으로 알려져 있다. 즉 점액이 농축 담즙내에서 콜레스테롤 결정의 형성에 전해형성물질(pronucleating agent)로 작용하는데 이는 콜레스테롤의 소수성 결합(hydrophobic binding) 때문이다<sup>1,15,16,18,23~27</sup>.

Lysosome은 Golgi complex의 소포나 endoplasmic reticulum으로 부터 유래되는 세포소기관으로서 많은 수의 가수분해 효소 특히, acid phosphatase, lipase, esterase, phospholipase 및 glucuronidase를 함유하고 있는데<sup>28,29</sup>, lysosome이 점액과립과 유사하게 염색되는것으로 보아 같은 기원일 것으로 여겨지며 분비 자극이 감소된 시기에는 분비과립을 소화시키는 것으로 추측된다<sup>30~32</sup>.

Lysosome은 점액분비 과립에 비해 더욱 크고, 내용물이 더욱 이질성분으로 구성되어 있고, 세포의 정점부위(apical part)에 더욱 풍부하게 존재한다. 또한 lysosome이 분비과립에 비해 더욱 분열상을 보이

는 점도 중요한 감별소견이 된다<sup>30-33</sup>.

Kouroumalis 등<sup>34,35</sup>에 의하면 lysosome의 위치를 보기 위해서는 acid phosphatase 활성이 좋은 지표가 된다고 하였다. Lysosome은 원래 정상적으로 점액과립의 세포내 변성에 관여하는데, 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 이 세포소기관이 감소된 것은 점액과립의 제거에 장애가 있음을 반영해 주며, 이의 일부가 담낭 내강내로 유리되어 담석형성의 핵으로 될 수 있음을 시사해준다. 또한 lysosome 내의 효소가 점액과립과 함께 담낭 내강내로 유리되어져 여기에서 포함 빌리루빈을 calcium bilirubinate로 쉽게 침전될 수 있는 비포함 빌리루빈으로 가수분해시켜 담석의 핵이 형성되게 할 수 있다. 결국 acid phosphatase, neutral 및 acid esterase등과 같은 lysosome내의 효소 활성도가 담석 형성에 관여하게 되는데, 무결석성 환자가 결석성 환자에 비해 점막의 esterase, acid phosphatase 및 beta-glucuronidase 활성도가 높다는 것이 보고되었다<sup>35</sup>. 본 연구관찰의 주된 소견은 lysosome의 volume density가 대조군에 비해 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 3~4배 감소했으며, 결석성 담낭염군에서는 담낭염의 심도에 따라 약간의 감소는 있었으나, 통계학적 유의성은 없었고, 담석의 조성에 따른 변화도 유의성은 없었다. 또한 본 연구의 대상이 무결석성 담낭염군과 결석성 담낭염군의 경우 그 결석의 성분에 따른 군 및 담낭염의 정도에 따른 군으로 나누었듯이 담낭염과 담석증의 상호관계과악, 담석성분에 따른 형태변화, 담석증의 선행요인으로 담낭염이 관계되는가를 보고자 하였는데, 결과에서 보듯이 본 연구의 대상변량으로는 결석성 담낭염군(콜레스테롤 담석, 색소성담석), 무결석성 담낭염군 모두 공통된 변화만을 보였고, 담낭염의 정도변화에 따른 의미있는 변화는 관찰되지 않았다.

따라서 본 연구를 종합해 보면 담낭의 염증소견이 심할수록 담석형성의 가능성이 증가되리라는 생각은 수용할 수 없으나, 담석의 형성에 염증변화가 충분히 기여하고 있음은 보여 주고 있다. 반대로 담낭상피세포내의 점액분비과립의 증가, lysosome의 감소가 담석형성에 기여한 일차적인 소견일 가능성을 더욱 시사해 준다. 그러나, lysosome의 감소가 원인이 되어 담낭의 염증이 초래되었으리라는 추측보다는, 앞에 언급된 바 있는 여러 시발인자에 의한 담낭상피의 만성자극 및 화학적 손상에 의해 염증이 선행되고 이에 의해 이차적 소견으로 lysosome의 감소가 초래되어 점액분비과립 처리능력 감소로 점액과립의 증가가 일어나 담석형성을 일으켰으리라

여겨진다. 따라서 담낭염은 담석증의 선행요인으로 작용 되었으리라 추측된다. 또한, 위형화생(gastric metaplasia)이나, 장형화생(intestinal metaplasia)이 초래된 담낭상피의 경우, 정상상피에서는 볼 수 없는 lysozyme이 관찰되었고<sup>36,37</sup>, 이는 주변의 염증소견이 심할수록, 점막상피세포 탈락이 심한 부위일수록 강한 양성 소견을 보였다. 또한 alpha-1-antitrypsin이 정상 및 화생상피에서 관찰되었고, CEA에 대해서도 국소적인 약양성 소견이 보였는데, 이는 Aroni 등<sup>37</sup>과 Albores-Saavedra 등<sup>38</sup>의 관찰소견에서도 나타났다<sup>39</sup>.

## 결 론

무결석성 담낭염군과 결석성 담낭염군을 대상으로 정상 대조군과 비교하여 점막상피세포에서 어떠한 형태학적 변화가 수반되는 지를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin염색, PAS및 PAS-alcian blue염색과 면역조직화학적 염색을 통한 광학현미경적 관찰, 전자현미경적 관찰과 IBAS 영상분석기를 통한 검색을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 담석이 있는 경우 세포외 물질의 증가에 의해 장막하 비후가 현저했으며, 염증세포 침윤 및 부종에 의한 점막고유층의 증가에 의해 점막높이가 증가되고, 이 부위에서는 점막의 과증식이 관찰되었고, 위형 화생, 편평상피화생, 배상세포 화생도 있었으며, 흔하게 Rokitansky-Aschoff sinuses도 관찰되었다.

2) 면역 조직화학적 검색 결과 Lysozyme, alpha-1-antitrypsin, low molecular weight cytokeratin, CEA가 화생이 발생한 점막상피에서 관찰되었는데, 정상 대조군의 경우는 alpha-1-antitrypsin, cytokeratin 및 CEA에 양성반응인 반면, lysozyme에는 음성소견이었고, 화생이 있는 점막의 경우 염증이 심한 정도에 비례하여 lysozyme 양성율이 증가되었다.

3) 점막상피세포의 소실이나 형태변화, 세포내 소기관의 부종성 변화등은 염증이 심할수록 비례하여 증가되었다.

4) Phagolysosome과 lysosome의 수는 정상대조군에 비해 결석성 담낭염군에서 염증이 심할수록 감소되는 역비례관계를 형성하였다.

5) 점액 분비과립에 대한 정량분석을 시행한 바, 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 약간 증가된 소견을 보였다. 그러나 통계학적 의의는 없었다.

6) Lysosome에 대한 정량분석 결과 무결석성 담낭염군 및 결석성 담낭염군에서 의미있게 감소를 보

였으며, 결석성 담낭염군의 경우 염증정도에 따라 감소소견을 보이거나, 통계학적으로 유의성은 없었다.

7) Lysosome과 점액분비과립의 변화는 lysosome의 수 및 체적이 감소함에 따라 점액분비과립의 수 및 체적이 증가되는 역비례 관계를 형성하였다.

8) 콜레스테롤 담석군과 색소성 담석군간의 형태 변화상 점액분비과립과 lysosome의 변화에는 유의성이 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 담석의 유무나 성분에 관계없이, 담낭염 생성시 세포내 소기관인 lysosome이 감소되나, 담석에 의한 변화로 여겨지는 이차적인 염증의 정도와는 관계가 없었다. 따라서 상피세포내의 점액 분비과립의 증가나 lysosome의 감소가 담낭염시 관찰되는 대표적인 미세구조 소견으로서 담석형성에 관련된 중요한 인자로 사료된다.

### 참 고 문 헌

1. Malet PF, Soloway RD. Diseases of the gallbladder and bile ducts, In: Wyngaarden JB, Smith LH, Bennet JC(ed), Cecil Textbook of medicine, 19th ed, Philadelphia: Saunders, 1992: 804-16.
2. Bouchier IAD. Gallstones in modern trends in gastro-enterology. London:Butterworths, 1975: 201-33.
3. Fox H. Ultrastructure of human gallbladder epithelium in cholelithiasis and chronic cholecystitis. J Pathol 1972; 108: 157-64.
4. Bader G. Die submikroskopische Struktur des Gallenblasenepithels. III mitteilung das Epithel der Steingallenblase des Menschen. Frankfurter Z Pathol 1965; 75: 501-11.
5. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Biliary system. In: Pathologic basis of disease. 5th ed, Philadelphia: Saunders, 1989: 883-96.
6. Elfving G. Crypts and ducts in the gallbladder wall. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand(Suppl) 1960; 49: 1-45.
7. Robertson HE, Ferguson WJ. The diverticula (Luschka's crypts) of the gallbladder. Arch Pathol Lab Med 1945; 40: 312-33.
8. Weisberg HF. Pathogenesis of gallstones. Ann Clin Lab Sci 1984; 14: 243-57.
9. Roslyn JL. Enhanced gallbladder absorption during gallstone formation: The roles of cholesterol saturated bile and gallbladder stasis. Am J Med Sci 1986; 292: 75-87.
10. Kim SH. Study of gallstone composition and its fragmentation rate by extracorporeal shock wave lithotripsy. 조선대학교 대학원 의학박사 학위논문, 1990.
11. Smith BF. Dissolution of cholesterol gallstones in vitro. Gallstone matrix content and diameter, not cholesterol content, predict gallstone dissolution in monoctanoin. Gastroenterol 1987; 93: 98-105.
12. Mingrone G, Greco AV, Arcieri Mastromattei E. Free fatty acids stimulate mucin hypersecretion by rabbit gallbladder epithelium in vitro. Clin Sci 1990; 78: 175-80.
13. Haley-Russell D, Husband KJ, Moody FG. Morphology of the prairie dog gallbladder: Normal characteristics and changes during lithogenesis. Am J Anat 1989; 186: 133-43.
14. Hopwood D, Kouroumalis E, Milne G, Bouchier IAD. Cholecystitis: A fine structural analysis. J Pathol 1980; 130: 1-13.
15. Moody FG, Russell DH, Li YF, Husband KJ, Weisbrodt NW, Dewey RB. The effects of lithogenic bile on gallbladder epithelium. Ann Surg 1989; 210: 406-15.
16. Pemsingh RS, MacPherson BR, Scott GW. Morphological observations on the gallbladder of ground squirrels fed a lithogenic diet. J Pathol 1987; 152: 127-35.
17. Millonig GA. Electron microscopy processing. 5th ed, Academic Press 1962: 8-9.
18. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 1963; 17: 208-16.
19. Trotman BW, Ostrow JD, Soloway RD. Pigment vs cholesterol cholelithiasis: Comparison of stone and bile composition. Am J Dig Dis 1974; 19: 585-90.
20. Duane WC. Pathogenesis of gallstones: Implications for management. Hosp Pract 1990; 25: 65-71.
21. van Erpecum KJ, van Gerge Henegouwen GP, Stoelwinder B. Bile concentration is a key factor for nucleation of cholesterol crystals and cholesterol saturation index in gallbladder bile of gallstone patients. Hepatology 1990; 11: 1-35.
22. Leung JWC, Sung JY, Costerton JW. Bacteriological and electron microscopy examination of brown pigment stones. J Clin Microbiol 1989; 27: 915-21.
23. Mac Pherson BR, Pemsingh RS, Scot GW. Experimental cholelithiasis in the ground squirrel. Lab Invest 1987; 56: 138-45.
24. Smith BF, LaMont JT, Small DM. Editorial. The sequence of events in gallstone formation. Lab Invest 1987; 56: 125-6.

25. Pemsingh RS, Mac Pherson BR, Scott GW. Characterization of lipid accumulation in the gallbladder mucosa of the ground squirrel fed a lithogenic diet. *J Pathol* 1988; 154: 173-80.
  26. Levy PF, Smith BF, LaMont JT. Human gallbladder mucin accelerates nucleation of cholesterol in artificial bile. *Gastroenterol* 1984; 87: 270-5.
  27. Gallinger S, Taylor RD, Harvey PRC, Petrunka CN, Strasberg SM. Effect of mucous glycoprotein on nucleation time of human bile. *Gastroenterol* 1985; 89: 648-58.
  28. De Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosome. *Ann Rev Physiol* 1966; 28: 435-92.
  29. Novikoff A, Holtzman E. Cells and organelles. New York: Holt Reinhart and Winston 1970: 1-57.
  30. Weiss L. The structure of the cell. In: Weiss L(ed), Cell and tissue biology: A textbook of histology. 6th ed, Baltimore: Urban and Schwarzenberg, 1988: 18-60.
  31. Sahlin S, Ahlberg J, Einarsson K, Henriksson R, Danielsson A. Quantitative ultrastructural studies of gallbladder epithelium in gallstone free subjects and patients with gallstones. *Gut* 1990; 31: 100-105.
  32. Hand R. The effects of acute starvation of parotid acinar cells. Ultrastructural and cytochemical observation on ad libitum-fed and starved rats. *Am J Anat* 1972; 135: 71-92.
  33. Koga A. Electron microscopic observations on the mucous secretory activity on the human gallbladder epithelium. *Z Zellforsch* 1973; 139: 463-71.
  34. Kouroumalis E, Hopwood D, Ross PE, Bouchier IAD. Human gallbladder epithelium: non-specific esterases in cholecystitis. *J Pathol* 1984; 142: 151-9.
  35. Kouroumalis E, Hopwood D, Ross PE, Milne G, Bouchier IAD. Gallbladder epithelial acid hydrolases in human cholecystitis. *J Pathol* 1983; 139: 179-91.
  36. Tsutsumi Y, Nagura H, Osamura Y, Watanabe K, Yanahihura N. Histochemical studies of metaplastic lesions in the human gallbladder. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 917-21.
  37. Aroni K, Kittas C, Papadimitriou CS, Papacharalampous NX. An immunocytochemical study of the distribution of lysozyme, alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin. In the normal and pathological gallbladder. *Virchows Arch[A]* 1984; 403: 281-9.
  38. Albores-Saavedra J, Nadji M, Morales AR, Henson DE. Carcinoembryonic antigen in normal, preneoplastic and neoplastic gallbladder epithelium. *Cancer* 1983; 52: 1069-72.
  39. Sternberg SS. Gallbladder and extrahepatic biliary system. In: *Histology for pathologists*. NewYork: Raven Press, 1992: 639-55.
-