

섬유모 세포의 근섬유모세포로의 분화에 대한 면역조직화학적 및 전자현미경적 연구

조선대학교 의과대학 병리학교실

서 재 홍

Immunohistochemical and Ultrastructural Study of Fibroblast Differentiation

Chae Hong Suh, M.D.

Department of Pathology, Chosun University College of Medicine

The histogenesis of the myofibroblast continues to be a controversial issue. The most popular view is that the myofibroblast is derived directly from the fibroblast. The important role of myofibroblasts in the synthesis of collagen and in wound contraction was demonstrated initially in granulation tissue in experimental animals. Four settings are recognized in which myofibroblasts are the principal proliferative cells: reparative responses, pseudoneoplastic disorders, stromal response to neoplasia, and true neoplasms, both benign and malignant.

To identify of fibroblastic cells with smooth muscle differentiation features in the nonneoplastic and neoplastic lesions, we examined a variety of histological, immunohistochemical and ultrastructural features of 7 cases of granulation tissue, 7 of hypertrophic scar, 10 of chronic persistent hepatitis, 10 of chronic active hepatitis, 7 of liver cirrhosis, 7 of fibromatosis, 42 of cervical intraepithelial neoplasia, 14 of microinvasive carcinoma, 14 of invasive carcinoma, 7 of fibroma, 20 of fibrosarcoma and 72 of malignant fibrous histiocytoma. Antibodies against α -smooth muscle actin and desmin were used in a biotin-streptavidin procedures.

The results of immunohistochemical and electron microscopical examinations yielded virtually identical findings. The identification of fibroblastic cells with smooth muscle cell differentiation features in the desmoplastic reactions of carcinomas, fibroma, fibrosarcoma and malignant fibrous histiocytoma offers also novel diagnostic and prognostic perspectives, that might help in evaluating preneoplastic lesions and malignant lesions. So degree of proliferative myofibroblasts was helpful diagnostic aid in differentiation of chronic persistent hepatitis, chronic active hepatitis and liver cirrhosis. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 106~114)

Key Words: Myofibroblast, Immunohistochemistry, Ultrastructure, Differentiation

접 수 : 1995년 2월 18일, 게재승인 : 1995년 9월 27일

주 소 : 광주광역시 동구 서석동 588, 우편번호 501-140

조선대학교부속병원 해부병리과, 서재홍

*본 연구는 1993년도 교육부 지원 교수 해외파견 연구지원금에 의해 이루어졌음.

서 론

섬유모세포는 비교적 단일형태를 가지고 있으나 다양한 기능적 성격을 가지고 있는 세포로 세포의 결체조직 요소의 조절과 합성에 필수적이다. 따라서 창상치유의 수복에 있어서 크게 기여를 하고 섬유화 과정의 병인에 관여하고 있다. 최근 섬유모세포에서의 각종 세포골격 분화표지자의 확인은 과거 형태학적으로 과소평가 되었던 이들 세포들 사이의 다양성을 제시하고 있다. 섬유모 세포들은 수복반응, 위종양성 증식성 질환, 종양에 대한 간질의 반응 그리고 근섬유모세포의 종양들에서 근섬유모세포로의 편재성 증식능을 보여준다. 근섬유모세포의 조직발생은 여전히 논란 거리로 남아 있는데, 가장 인정받고 있는 개념은 근섬유모세포가 섬유모세포로부터 직접 유래된다는 설이다¹⁻¹¹.

본 연구의 목적은 병적인 질환의 증식된 결체조직과 섬유모세포에서 기원된 각종 종양의 섬유모세포의 분화에 따른 면역조직화학적 및 초미세형태학적 관찰을 통해서 근섬유모세포들로의 분화를 하는지 검토코자 한다.

연구재료 및 방법

1. 연구재료

1985년 1월부터 1994년 1월까지 조선대학교 부속 병원 및 미국의 M.D. Anderson Hospital에서 외과적으로 절제된 정상결체 조직들중 섬유모세포들이 분포된 조직으로 난소난포막 세포 7예 그리고 장점막의 간질세포 7예를 대상으로 하였으며, 병적인 질환에서 증식된 결체조직들중 섬유모세포들이 풍부한 조직으로 육아조직 7예, 비대성 반흔조직 7예, 만성 지속성 간염 10예, 만성 활동성 간염 10예 그리고 간경변증 7예를 대상으로 하였고, 종양에 대한 간질 반응으로 정상 자궁경부 또는 경도의 만성자궁경부염 14예, 자궁경부 상피내암 I 14예, 자궁경부상피내암 II 14예, 자궁경부상피내암 III 14예, 미소침윤성 암종 14예, 그리고 침윤성 암종 14예를 대상으로 하였으며, 섬유모세포의 종양으로 섬유종 7예, 섬유육종 20예, 악성섬유성 조직구종 72예를 대상으로 하였다(Table 1).

2. 연구방법

1) 광학현미경적 검사: 선택된 각각의 증례에 대해서는 병리조직학적 검사를 위해 10% 중성포르말

린에 고정되어 파라핀에 포매된 block을 4 μ m 두께의 연속절편을 만들어 일반적인 조직소견을 보기 위해 hematoxylin-eosin염색을 실시하였다.

2) 면역조직화학적 방법: 파라핀 포매 조직의 절편을 4 μ m로 박절하여 탈파라핀과 함수과정을 거친 후 3% H₂O₂-methanol용액으로 5분간 조직내 내인성 과산화효소의 활동을 저지시키고 증류수로 행구었다. Phosphate-buffered saline(PBS)에 담근 후 단백질과의 비특이성 결합을 억제시키기 위하여 normal goat serum과 5분간 반응시킨 후 일차항체 α -smooth muscle actin, desmin을 30분간 반응시킨 후 PBS에 세척하였다. 이차항체를 가하고 10분간 PBS에 행군 후 streptavidin과 10분간 반응시키고 PBS에서 수세하였다. 발색제인 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)를 이용하여 현미경 검색하에 발색시켰다. Hematoxylin으로 대조 염색하고 crystal mount로 봉입하여 관찰하였다. 양성대조군은 α -smooth muscle actin과 desmin 염색 모두에서 양성소견을 정하는 평활근종 조직편을, 음성 대조군으로는 편평상피암 조직편을 사용하였다.

3) 초미세형태학적 검색: 조직편을 1 mm³의 크기로 잘라서 2% glutaraldehyde용액(pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer, 4°C)에 2시간 동안 전 고정하고,

Table 1. Materials used in this study

Materials	No. of cases
Ovarian theca cells	7
Stromal cells of intestinal mucosa	7
Granulation tissue	7
Hypertrophic scar	7
Chronic persistent hepatitis	10
Chronic active hepatitis	10
Liver cirrhosis	7
Normal uterine cervix or mild chronic cervicitis	14
Cervical intraepithelial neoplasia I	14
Cervical intraepithelial neoplasia II	14
Cervical intraepithelial neoplasia III	14
Microinvasive carcinoma	14
Invasive carcinoma	14
Fibromatosis	7
Fibroma	7
Fibrosarcoma	20
Malignant fibrous histiocytoma	72

Table 2. Immunostaining with anti- α smooth muscle actin antibody of stromal cells in different degrees of cervical neoplasia, chronic persistent hepatitis, chronic active hepatitis and liver cirrhosis

Diagnosis	Number of cases	Degree of immunoreactive cells				
		0	1+	2+	3+	4+
Normal uterine cervix or mild chronic cervicitis	14	14	—	—	—	—
CIN I	14	11	3	—	—	—
CIN II	14	8	5	1	—	—
CIN III	14	4	5	5	—	—
Microinvasive carcinoma	14	1	—	13	—	—
Invasive carcinoma	14	—	—	1	13	—
CPH	10	8	2	—	—	—
CAH	10	—	—	4	6	—
Liver cirrhosis	7	—	—	1	6	—

0: absence, 1+: 1-10%, 2+: 11-45%, 3+: 46-75%, 4+: 76-100%, CIN: cervical intraepithelial neoplasia, CPH: chronic persistent hepatitis, CAH: chronic active hepatitis

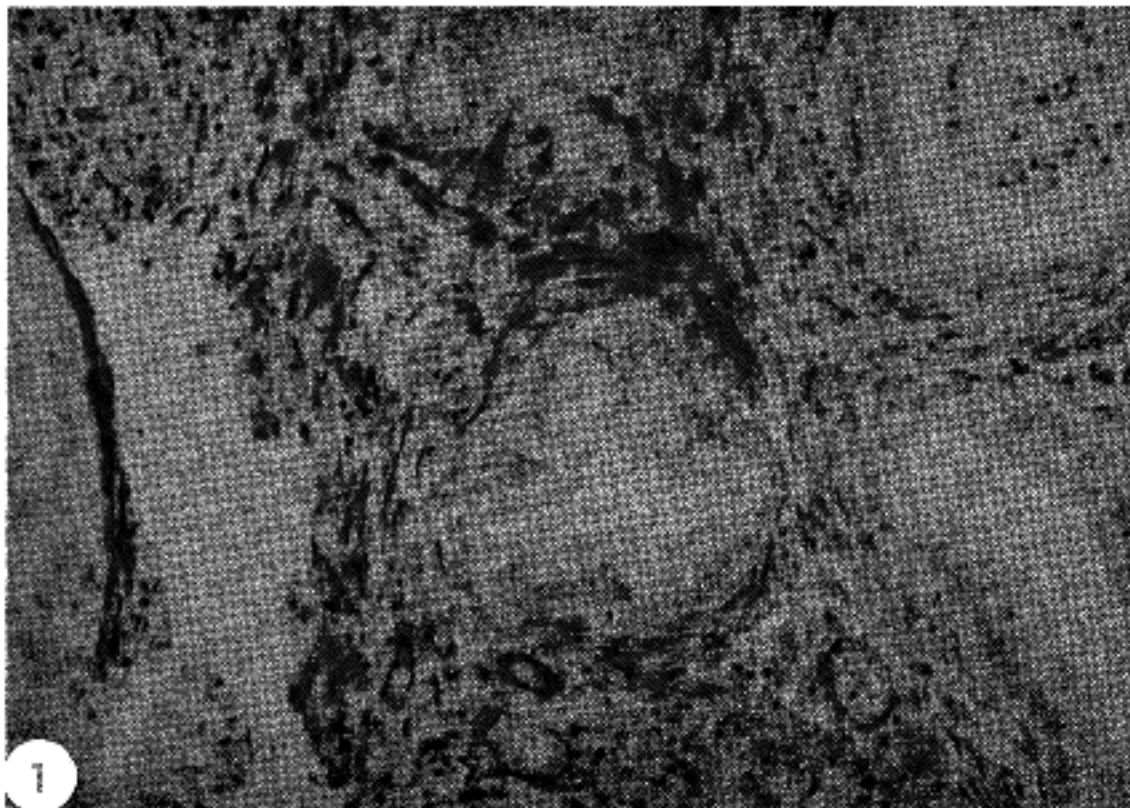


Fig. 1. α -smooth muscle actin positive stromal cells are observed in microinvasive squamous cell carcinoma. ABC method.

Millonig법¹²에 따라 만든 OsO₄용액(pH 7.4, 0.1M, Cacodylate buffer)에 2시간 동안 고정하였다. 다시 동일한 Cacodylate buffer로 세척하여 계열 에칠알콜로 탈수하고, propylene oxide를 침투시킨 다음 Epon에 포매하여 60°C에서 72시간 열중합시켰다. 이 Epon block을 1 μ m로 박질하여 1% toluidine blue에 염색한 후 광학현미경으로 특징적인 부위를 diatome를 부착시킨 LKB microtome으로 초미절편을 만들어

Reynolds법¹³에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색을 하였다. JEM 100CXII형 전자현미경으로 가속전압 80KV하에서 관찰하였다.

연구 성적

1. 면역조직화학적 염색

1) 정상 결체조직들중 섬유모세포들이 분포된 조직: 난소 난포막세포 및 장점막의 간질세포는 모두

Table 3. Pathologic conditions associated with stromal cells displaying ultrastructural and immunohistochemical features of smooth muscle cell differentiation

Diagnosis	Number of cases	Positive findings
Granulation tissue	7	7(3+)
Hypertrophic scar	7	7(2+)
Fibromatosis	7	7(2+)
Fibroma	7	7(2+)
Fibrosarcoma	20	10(1+)
Malignant fibrous histiocytoma	72	13(1+)
storiform/pleomorphic type	42	11(1+)
myxoid type	19	2(1+)
giant cell type	9	0(0)
angiomatoid type	2	0(0)

0: absence, 1+: 1~10%, 2+: 11~45%, 3+: 46~75%, 4+: 76~100%

α -smooth muscle actin과 desmin에 양성반응을 보였다.

2) 병적인 질환에서 증식된 결합조직들중 섬유모세포들이 풍부한 조직: 육아조직에서는 α -smooth muscle actin에 양성인 세포들이 풍부하게 관찰되었다. 또한 수복성 병변인 비대성 반흔조직에서도 α -smooth muscle actin에 양성인 세포들이 관찰되었다.

만성지속성 간염과 만성활동성 간염의 경우 평활근 세포로 분화해가는 세포의 표식자인 α -smooth muscle actin과 desmin에 대해서 전자는 정상과 거의 유사하나, 후자에서는 질환의 심해짐에 따라 양성 정도가 강하게 나타났고 간 경변기의 결절성 구조 주변이나, 재생결절이 형성되는 부위를 둘러싸는 섬유성 조직에서는 α -smooth muscle actin이 양성으로 나타났다(Table 2).

3) 종양에 대한 간질변화: α -smooth muscle actin 면역조직화학적 염색결과 정상 자궁경부 및 경도의 단성자궁 경부염의 경우에는 양성세포들을 발견할



Fig. 2. α -smooth muscle actin positive stromal cells are observed in infiltrating squamous cell carcinoma, ABC method.

수 없었으나, 자궁경부 상피내암 I형에서는 3예, II형에서는 6예, III형에서는 10예, 그리고 미소침윤성 자궁경부암에서는 13예(Fig. 1) 자궁 경부암에서는 14예(Fig. 2)에서 양성세포가 관찰되었다(Table 2).

4) 섬유모 세포의 종양: 섬유종 7예 전부에서, 섬유육종 20예중 10예에서, 그리고 악성 섬유성조직구종에서는 72예중 13예에서 α -smooth muscle actin이

양성으로 관찰되었는데, 특히 storiform/pleomorphic type에서 강하게 양성을 보였다(Table 3).

2. 전자현미경적 소견

종양에 대한 간질변화(Fig. 3), 육아조직, 만성지속성 및 활동성 간염, 간경화증, 섬유종(Fig. 4), 악성

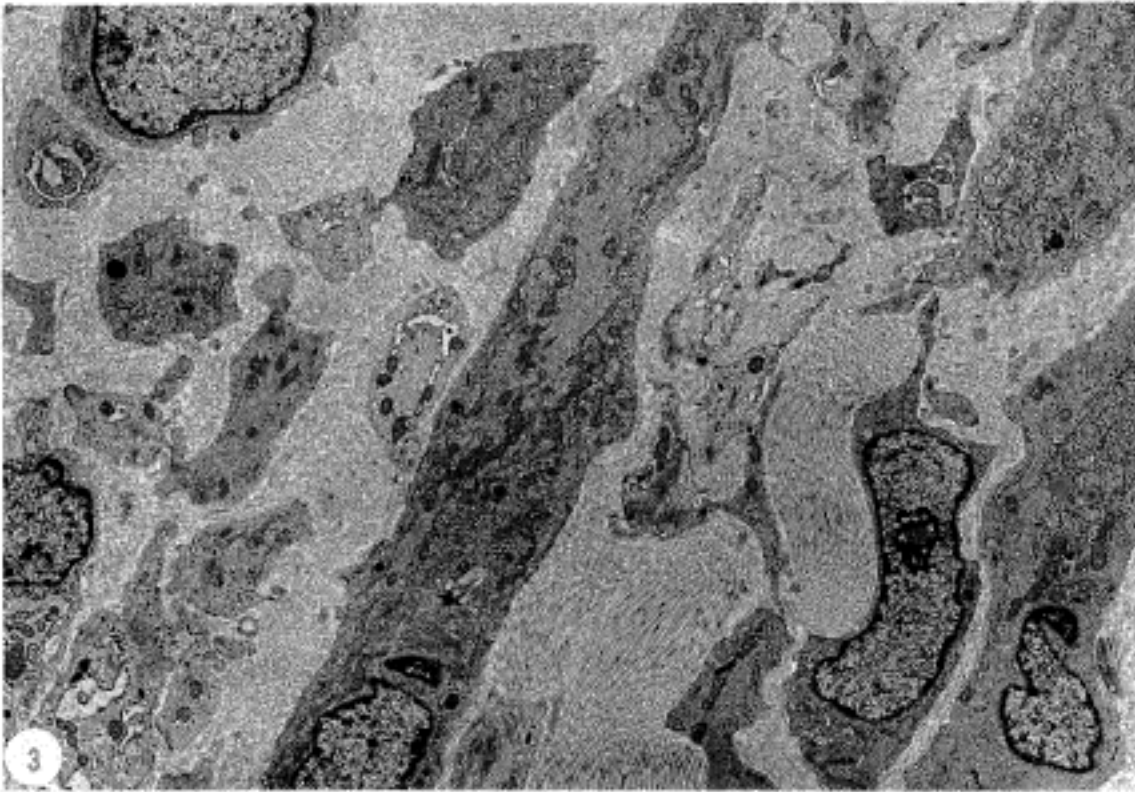


Fig. 3. Electron micrograph of invasive squamous cell carcinoma, the myofibroblasts demonstrate microfilaments with dense body at the periphery of the cell (open arrow)(uranyl acetate and lead citrate, $\times 2,500$)

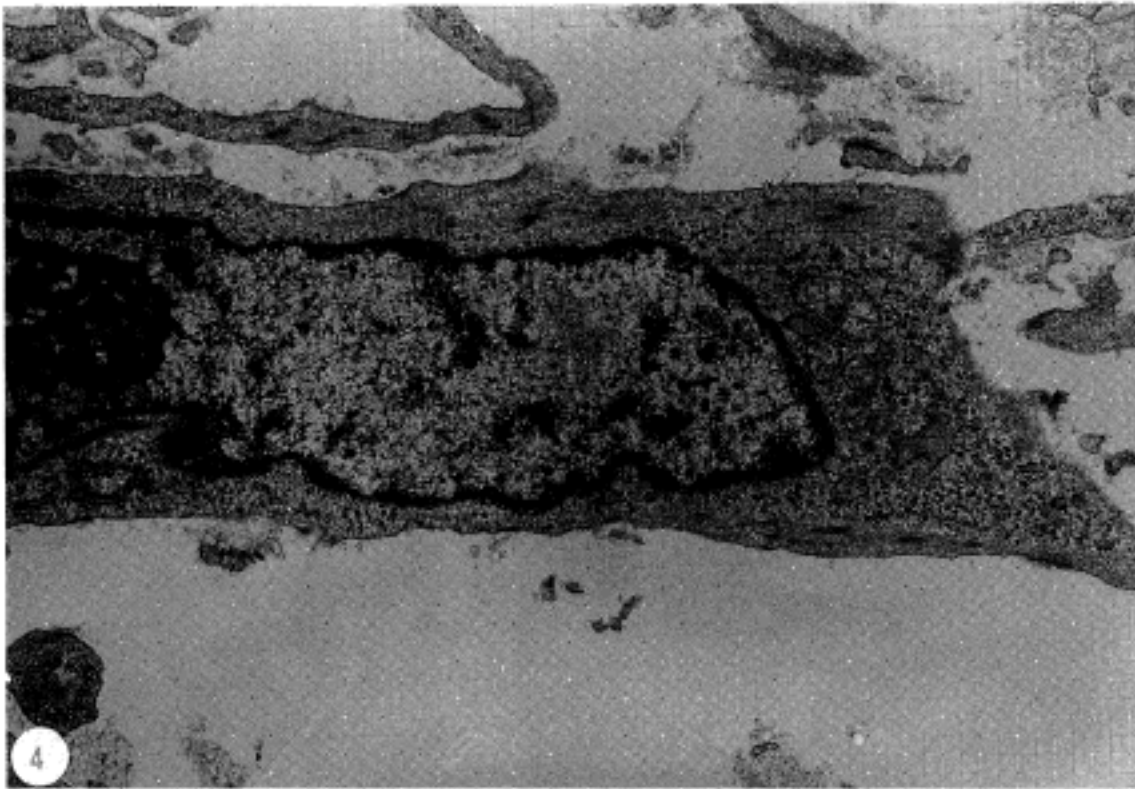


Fig. 4. Electron micrograph of fibroma, the myofibroblasts demonstrate microfilaments with dense body at the periphery of cell (arrow head) and attach to subplasmalemmal dense plaques. In the extracellular matrix, loose fibrillary components are noted (uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$).

섬유성 조직구종(Fig. 5) 그리고 섬유육종(Fig. 6)에서 흔히 근섬유모세포로의 분화를 보이는 간엽 세포를 관찰할 수 있었다. 그 세포들의 세포질에서 잘 발달된 조면소포체와 근섬유양 구조인 조밀체를 동반한 미세섬유의 집합이 보였다. 세포변연에서 구조인 소수의 포음소포(pinocytotic vesicle)가 관찰되었다.

고 찰

근섬유모세포가 섬유모세포가 분화한 것이라고

하는 것은 1960년 Karrer¹⁴가 처음 주장하였다. 그는 병아리 배자 대동맥의 배양세포에서 섬유모세포의 특징인 조면형질내세망이 풍부하며, 말초평활근형의 근세사를 갖는 교합간엽세포의 존재를 처음으로 입증하였다. Gabbiani등¹⁵은 육아조직에서 근섬유모세포의 역할인 창상수축에 있어서의 섬유모세포의 일시적 존재와 역할을 규명하였다. Ehrlich등¹⁶은 미소관(microtubule) 파괴약물을 사용하여 실험한 결과 창상수축이 억제됨으로 미루어 미소관이 창상수축에 작용한다는 증거를 제시하였다. Major등¹⁷은 육

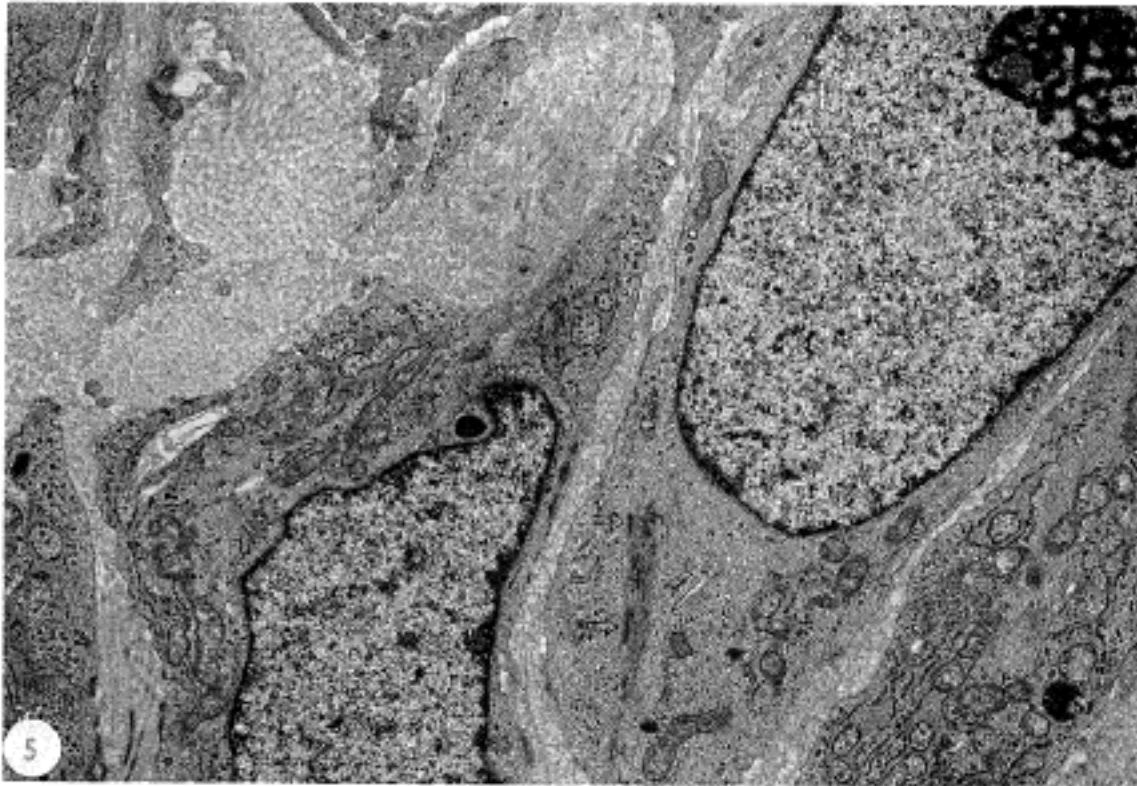


Fig. 5. Electron micrograph of malignant fibrous histiocytoma, the abundant cytoplasm contains many cisternae of rough endoplasmic reticulum. At the periphery of the cell, there are parallel bundles of longitudinally oriented filaments that are predominantly actin with associated dense bodies(open arrow)(uranyl acetate and leadcitrate, $\times 4,000$).

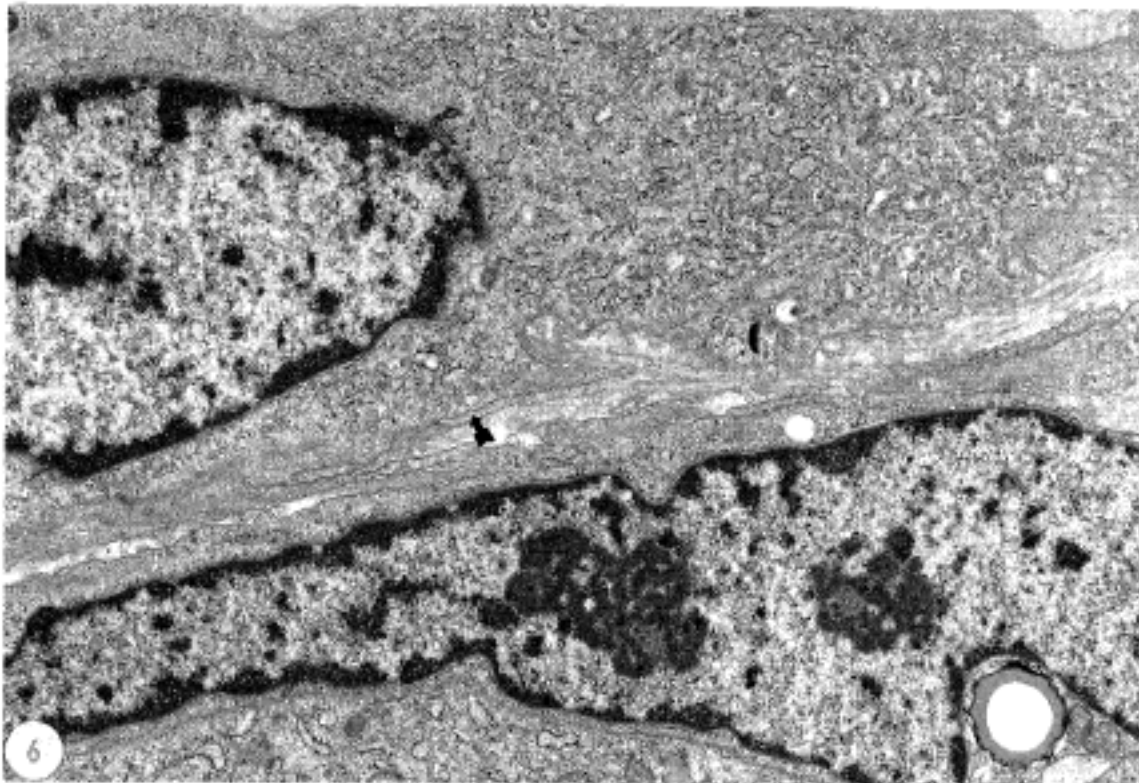


Fig. 6. Electron micrograph of fibrosarcoma, the myofibroblasts demonstrate microfilaments with dense body at the periphery of cell. There are a few pinocytotic vesicles(black arrow) along side the linear densities(uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$).

아조직과 평활근간의 기능적 유사성을 기술하였고, 섬유모세포가 어떤 상황하에서는 수축세포로 전환될 수 있다고 하였다. 교원질의 합성과 창상의 수축에 있어서의 근섬유모세포의 중요성은 실험동물의 육아조직에서 입증되었다. 이들 세포들은 여러 수복성 병변, 즉 비대성 반흔, 죽상동맥경화성 반(plaque), 간경변증, 화상구축(burn contracture)등에서 관찰됨이 기술되었다. 이러한 개개의 수복현상은 2가지의 기본적 현상을 특징으로 하는데 교원질 침착과 수축이다. 여러가지 원인에 의한 감염성 질환이

나 종양으로 세포손상이 야기되면 우리인체에는 수복기전에 의한 재생이나 대치가 일어난다. 그 중 대치과정에서 가장 현저한 변화가 섬유화이고 이들 섬유화 과정중에는 여러가지 세포들이 출현하게 된다. 즉 섬유모세포, 근섬유모세포, 근섬유양세포 그리고 섬유세포 같은 간질세포들의 증식을 보게 된다. 많은 저자들에 의해 전자현미경적 관찰이나 면역조직화학적 관찰을 통하여 근섬유모세포가 평활근 세포와 섬유모 세포의 중간형태를 취한다고 알려졌다^{15,18}. 면역조직화학적으로 α -smooth muscle ac-

tin, vimentin 그리고 desmin항체를 이용하여 근섬유모세포들을 감별하는데, α -smooth muscle actin은 평활근 세포의 특징을 나타내는 actin의 이소체로서 평활근 세포로 분화해가는 모든 세포의 좋은 표식자이다. 또한 근상피세포에서도 양성으로 관찰된다. Actin에는 amino terminal peptide의 아미노산 서열에 따라 적어도 6가지 이상의 이소체가 알려졌다¹⁹. Desmin은 간질세포 특히 평활근이나 횡문근 세포에서 나타나는 중간형 사상체이다²⁰. 이들 단백성분을 면역조직화학적 방법에 의해 인지함으로써 그 세포의 기원을 알 수 있다.

본 연구에서 육아조직 그리고 만성지속성 간염과 만성활동성 간염의 면역조직화학적 염색에서 평활근 세포로 분화해 가는 세포의 표식자인 α -smooth muscle actin 그리고 desmin에 대한 양성도가 달랐다. 만성지속성 간염에서는 정상과 거의 유사하였으나, 만성활동성 간염에서는 질환의 정도가 증가함에 따라 양성정도가 강하고 더 많은 세포에서 관찰되는 점이 달랐다. 또한 경변전기의 결절성 구조주변이나, 재생결절이 형성되는 부위를 둘러싸는 섬유성 조직이 α -smooth muscle actin에 양성으로 나타나는 점과 전자현미경적으로 간경변증에서 근섬유모세포를 관찰할 수 있었던 것은 Bhathal²¹의 연구와 일치하는 소견이라 하겠다. 이들 근섬유모세포들은 간섬유화가 발생한 부위에서 모두 나타났다. 결과적으로 α -smooth muscle actin에 대한 면역조직화학적 염색을 통하여 만성지속성 간염과 만성활동성 간염의 감별진단에 이용할 수 있고, 근섬유모세포에 의한 수축을 예견할 수 있으며, 예후 판단에 도움을 줄 수 있으리라 여겨진다. 위종양성 증식성 질환인 섬유종증에서의 주된 증식세포가 근섬유모세포라는 개념은 Gabbiani등¹⁵의 연구에서 기원되는데, 그들은 Dupuytren구축에서 이들 세포들의 존재를 기술하였다. 근섬유모세포는 침습성 그리고 국한성 섬유종증이라고 명명한 다양한 질환에서 나타난다. 근섬유모세포들은 광학현미경상 육종과 혼동될 수 있는 많은 비종양성 질환들, 즉 결절성 근막염, 증식성 근막염, 증식성 근염, 증식성 정삭염, 화골성 근염등에서 증식되며²²⁻²⁵, 섬유모세포에서 기원한 많은 육종에서 근섬유모세포가 발견된다고 보고되었다. Tazy와 Battifora²⁶는 악성섬유조직구종에서 근섬유모세포가 관찰되며, 활막육종²⁷, 섬유황색육종²⁸ 그리고 섬유육종²⁹에서도 이들이 존재한다고 보고하였다. 근섬유모 세포는 피부섬유종에서도 나타나는데 종양내에서의 근섬유모세포의 존재 가치가, 이들 세포가 곧 종양세포라는 사실을 보장하는 것은 아니다. 종

양이라는 결론을 내리기전에 이들이 간질세포일 가능성을 배제해야만 한다. 최근엔 근섬유모세포의 육종이 보고된 바^{30,31} 있다. 본 연구에서도 α -smooth muscle actin은 육아종, 섬유종, 섬유종, 섬유육종 그리고 악성섬유성 조직구종에서 양성을 보였다. 상피와 간질요소사이의 상호작용은 배형성(embryogenesis)과 종양에서 분명한 역할을 나타내며, 교원질 생성과 퇴행은 일반적으로 섬유모세포성 간질세포에 의해 좌우된다. 이 세포는 평활근 세포와 비슷한 후천적 형태학적 특징을 보이므로 근섬유모세포로 명명하였다¹⁴. 이 근섬유모세포는 일시적 또는 영구적으로 정상 평활근 세포에서 나타나는 α -smooth muscle actin이 나타나며 여러장기들의 간질과 상피요소들의 발육시 중요한 결과를 보여준다³²⁻³⁸. 진행성 상피종양의 간질은 결합조직 형성이라고 명명된 현저한 근섬유모세포와 섬유모세포들의 증식을 보이는 섬유화 반응을 보인다. 결합조직의 형성은 간질에서 종양세포들의 존재에 대한 국소반응이며 간질요소들의 과도한 축적에 의해서 특징지어졌다. 종양세포들은 섬유모세포 또는 근섬유모 세포들의 화학주성 그리고 분열유발성 반응을 끌어내는 수용성 인자를 생산해서 결합조직 형성을 일으킨다고 알려져 있다^{39,40}. 자궁경부종양에서는 인체종양 진행에 있어서 잘 정의된 상황을 나타내며 간질의 변화는 상피세포들의 변화와 상관관계를 가진다. 즉 α -smooth muscle actin양성 간질세포들의 존재와 상피성 병변과는 상관관계를 가지고 있다. 이는 암종과정 진행중 간질세포와 상피세포의 공통적 관여를 제시하며 종양으로의 변형 당시 간질 변화의 평가는 자궁상피성암의 진단적 그리고 예후적 기준을 결정하는데 유용하다 하였다^{41,42}. 본 연구에서 정상자궁경부 및 만성자궁경부염증의 경우에는 α -smooth muscle actin양성세포를 발견할 수 없으나 상피내암 I형에서는 3예, II형에서는 6예, III형에서는 10예, 그리고 미소침윤성 자궁경부암에서는 13예와 침윤성 자궁경부암에서는 14예에서 양성세포가 관찰되어서 상피종양의 침윤성 진행이 심할수록 간질에서는 결합조직 형성이라고 명명된 현저한 근섬유모 세포와 섬유모세포들의 증식을 동반한 섬유화 반응을 보여 유사한 결과를 보여 주었다.

근섬유모세포는 초미세형태학적으로 핵은 신장되어 있고 불규칙한 윤곽을 가지며 nuclear body를 갖기도 하고, 하나 이상의 핵소체를 갖는다. 풍부한 세포질은 많은 조면형질내세망의 조와 잘 발달된 골지체를 갖는다. 세포의 변연부에 종축으로 배열된 직경 4~8 nm의 세사들의 평행다발들이 있고 이들

은 다수의 조밀체를 갖는다. 이 세사들은 성분이 actin이다. 단면에 따라 세사들이 세포질내에 더 깊게 위치해서 나타나기도 하지만 보통은 형질막하 부위에 집중되어 있다^{8,25,30}.

근세사들은 형질막에 평행하게 주행하거나 형질막하 조밀반(subplasmalemmal dense plaque)에 부착되어 있다. 때로 이들은 막을 벗어나서 고배율상 정교한 섬유양상을 갖는 조밀대(dense band)로서 간질내로 확장되어 나타나고, 간질내로 진행되면서 소실되는데, 이것들이 고착섬유(anchoring fiber)이다. 이들은 또한 미소건(microtendon) 혹은 fibronex이라고도 불린다. 근섬유모세포의 내부와 주변 간질사이의 이러한 연결복합체(junctional complex)는 조직내 수축력의 전달에 관여하리라 믿어진다⁴³.

또한 세포의 다른 구조적 특성은 linear density를 따라 위치하는 소수의 포음소포(pinocytotic vesicle)와 세포막에 인접한 기저층과 유사한 물질(basal lamina-like material)의 불연속성의 얇은 띠이다. 세포내 교원 원섬유는 육아조직과 배양된 섬유모세포에서 발견된다. 세포표면은 부착단백인 fibronectin을 갖고 있고, 초미세구조(transmembranous association)을 형성하는데 이것이 근섬유모세포로부터 인접 교원원섬유로 수축력을 전달하는데 필수적이다. 본 연구에서도 간질세포에서 잘 발달된 조면소포체의 조와 근섬유양의 구조인 조밀체를 동반한 미세섬유의 집합이 보이며, 세포변연에서도 형질막하 조밀반이 관찰되고, 고착섬유, 그리고 소수의 포음소포와 세포막에 인접한 기저층과 유사한 물질이 관찰되어 근섬유모세포로의 분화를 전자현미경적으로 확인할 수 있었다.

결 론

섬유모세포들의 세포골격 분화에서 이질성의 인식은 세포성숙과 수복과정을 이해하는데 도움을 주며, 평활근세포로의 분화를 보이는 섬유모세포들은 정상 창상치유 과정의 육아종성 조직에서는 일시적으로 관찰되고, 만성질환인 비대성 반흔조직 및 간 섬유화에서는 영구적으로 관찰된다. 근염을 비롯한 각종 암의 섬유화반응과 섬유종, 섬유육종, 그리고 악성섬유조직구종에서 평활근세포의 분화특징을 동반한 근섬유모세포들이 확인되어 근섬유모세포의 출현여부만으로 감별진단을 하기는 어려우나 만성 질환일수록, 침습성이 높은 암일수록 근섬유모세포들이 더 많이 관찰되어 질병진단과 예후전망 그리고 전암병소를 평가하는데 보조적인 도움을 줄 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Barsky SH, Green WR, Grotendrost GR, Liotta L. Desmoplastic breast carcinoma as a source of human myofibroblasts. *Am J Pathol* 1983; 115: 329-37.
2. Gabbiani G, Ryan GB, Majno G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia* 1971; 27: 549-50.
3. Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR, Magno G. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. *J Exp Med* 1972; 135: 719-31.
4. Majno G, Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR. Contraction of granulation tissue in vitro: similarity to smooth muscle. *Science* 1971; 173: 548-9.
5. Rudolph R, Mc Lure WJ, Woodward M. Contractile fibroblasts in chronic alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* 1979; 76: 704-21.
6. Seemayer TA, Schurch W, Lagace R. Myofibroblasts in the stroma of invasive and metastatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1979; 3: 525-33.
7. Seemayer TA, Lagace R, Schurch W, Thelmo WI. The myofibroblast: biologic, pathologic and theoretical considerations. *Pathol Annu* 1980; 15: 443-70.
8. Sappino AP, Schurch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: Expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab invest* 1990; 63: 144-53.
9. Jimenez SA, Freundlich B, Rosenbloom J. Selective inhibition of human diploid fibroblast collagen synthesis by interferons. *J Clin Invest* 1984; 74: 1112-23.
10. Rosenbloom J, Feldman G, Freundlich B, Jimenez S. Inhibition of excessive scleroderma fibroblast collagen production by recombinant r-interferon. *Arthr Rheum* 1986; 29: 851-67.
11. Rubbia L, Sappino AP, Hansson HK, Gabbiani G. Action of different cytokines on actin isoform expression of fibroblasts in vitro(Abstr.). *Experientia* 1989; 45: A49.
12. Millonig GA. *Electron microscopy processing*. 5th ed. New York: Academic press, 1962; 2: 8-9.
13. 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.
14. Karrer ME. Electron microscopic study of developing chick embryo aorta. *J ultrastruct R-S*. 1960; 4: 424-54.
15. Gabbiani G, Ryan GB, Majno G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia* 1971; 27: 549-50.

16. Ehrlich HP, Grislis G, Hurt TK. Evidence for the involvement of microtubules in wound contraction. *Am J Surg* 1977; 133: 706-9.
17. Majno G, Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR. Contraction of granulation tissue in vitro; similarity with smooth muscle. *Science* 1971; 173: 548-9.
18. Skalli O, Schurch W, Seemayer T, Lagace R, Montandon D, Pittet B, Gabbiani G. Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogenous in their content of actin isoforms and intermediate filament proteins. *Lab Invest* 1989; 60: 275-85.
19. Vandekerckhove J, Weber K. At least six different actins are expressed in a higher mammal. An analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal typic peptide. *J Mol Biol* 1978; 126: 783-802.
20. Miettinen M, Lehto VP, Virtanen I. Antibodies of intermediate filaments proteins in the diagnosis and classification of human tumors. *Ultrastruct Pathol* 1984; 7: 83-107.
21. Bhathal PS. Presence of modified fibroblasts in cirrhotic livers in human. *Pathology* 1972; 4: 139-44.
22. Wirman JA. Nodular fasciitis, a lesion of myofibroblasts. An ultrastructural study. *Cancer* 1976; 38: 2378-89.
23. Chung EB, Enzinger FM. Proliferative fasciitis. *Cancer* 1975; 36: 1450-8.
24. EL-Jabour JN, Bennett MH, Burke MM, Lessells A, Halloran Ho. Proliferative myositis. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 654-9.
25. Porysil C, Matejovsky Z. Ultrastructural evidence of myofibroblasts in pseudomalignant myositis ossificans. *Virchows Arch Pathol Anat* 1979; 381: 189-203.
26. Tazy JB, Battifora H. Malignant fibrous histiocytoma. An electron microscopic study. *Cancer* 1977; 40: 254-67.
27. Gabbiani G, Kaye GI, Lattes R, Majno G. Synovial sarcoma: Electron microscopic study of a typical case. *Cancer* 1971; 28: 1031-6.
28. Merkow LP, Frich JC Jr, Slifkin M. Ultrastructure of a fibroxanthosarcoma(malignant fibrosanthoma). *Cancer* 1971; 28: 372-83.
29. Kalenkamp D, Stiller D. Cellular composition of the so-called dermatofibroma chistiocytoma cutis. *Virchows Arch Pathol Anat Histol* 1975; 367: 325-36.
30. Vasudev KS, Harris M. A sarcoma of myofibroblasts: An ultrastructural study. *Arch pathol Lab Med* 1978; 102: 185-8.
31. Eyden BP, Bayenjeess, Harris M. A study of spindle cell sarcoma showing myofibroblastic differentiation. *Ultrastruct Pathol* 1991; 15: 367-78.
32. McGuire WI, Zava DT. Steroid receptors in breast tumors-current status. In *current topics in experimental endocrinology*. New York: Academic Press 1978; 3: 93-109.
33. Carr, DH. Cytogenetics and the pathologist. In *pathology Annual*. New York: Apple-ton-century-crofts, 1975; 10: 93-144.
34. Fialkow, PJ. The origin and development of human tumors studied with cell markers. *N Engl J Med* 1974; 291: 26-35.
35. Mackay B, Osborne BM. The contribution of electron microscopy to the diagnosis of tumors. In *pathobiology Annual*. New York: Raven Press, 1978: 359-405.
36. Havenith MG, Dingemans KP. Basement membranes in bronchogenic squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Ultrastructural Pathol* 1990; 14: 51-63.
37. Darby I, Skalli O. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest* 1990; 63: 21-9.
38. Applino AP, Skalli O. Smooth muscle differentiation in stromal cells of malignant and non-malignant breast tissues. *Int J Cancer* 1988; 41: 707-12.
39. Kratochwil K. The stroma and the control of cell growth. *J Pathol* 1986; 149: 23-4.
40. Liotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab Invest* 1983; 49: 636-49.
41. Schurch W, Lagace R. Stromal myofibroblasts in primary invasive and metaplastic carcinomas: A combined immunological, light and electron microscopy study. *Virchows Arch(A)*, 1981; 391: 125-39.
42. Cin Torino M, De Marco EB. Expression of alpha-smooth muscle actin in stromal cells of the uterine cervix during epithelial neoplastic changes. *Int J Cancer* 1991; 47: 843-52.
43. Singer II. The fibronexus: A transmembrane association of fibronectin-containing fibers and bundles of 5nm microfilament in hamster and human fibroblasts. *Cell* 1979; 16: 675-85.