대한간학회지 제 4 권 제 3 호 1998 ; 254－263

간경변증에서 섬유화 정도에 따른 Ito 세포 활성과 간세포 증식능의 변화

서울대학교 의과대학 병리학교실, 아주의대 생화학교실,1 원자력병원 방사선 영향연구실2

장기택 ▪ 정영미 ▪ 임인경1 ▪ 이윤실2
명난경 ▪ 김미란 ▪ 이민재 ▪ 장자준

=Abstract=

Ito Cell Activity and Hepatocyte Proliferation Activity According to Collagen Content in Liver Cirrhosis

Kee Taek Jang, Young Mi Jung, In Kyoung Lim,1 Yun Sil Lee,2
Nan Kyung Myung, Mi Ran Kim, Min Jae Lee, Ja-June Jang

Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine,
Department of Biochemistry, Ajou University School of Medcine,1
Laboratory of Radiation Effect, Korea Cancer Center Hospital2

Background/Aims : Liver cirrhosis is an end-stage liver disease. Ito cell is known to have central role in fibrogenesis of liver cirrhosis. But collagen content and Ito cell activity in liver cirrhosis have received little attention. So Ito cell activity and hepatocyte proliferation activity according to collagen content was investigated. WAF-1 and c-met were studied to evaluate the effect of cell cycle. **Methods** : We analyzed 56 cases of liver cirrhosis (viral:41, biliary:11, alcoholic:2, Wilson's disease:2). Collagen content was measured by spectrophotometry. Ito cell activity and proliferation index was measured by α-SMA and Ki-67 immunohistochemistry. **Results** : In viral cirrhosis, high collagen group showed increased Ito cell activity compared to low collagen group. There was no difference in hepatocyte proliferation activity between high and low collagen group in viral cirrhosis. In biliary cirrhosis, high collagen group showed increased Ito cell activity in septal zones compared to low collagen group. WAF-1 and c-met were negative in most of cases. **Conclusion** : Collagen content of liver cirrhosis is closely related to increment of activated Ito cells. Ito cell activity was prominent in septal zones than in parenchymal areas of viral cirrhosis and that was only significant in septal zones of biliary cirrhosis. There is no correlation between collagen content and hepatocyte proliferation activity. (Korean J Hepatol 1998;4:254－263)

Key Words : Cirrhosis, Collagen, Ito cell, α-SMA, Proliferation activity

책임저자 : 장자준, 서울시 종로구 연건동 28번지 서울의대 병리학 교실

본 연구는 1997년 서울대학병원 일반연구비 및 보건복지부 보건의료기술 연구개발 사업의 지원으로 이루어 졌음.

서 론

간경변증은 만성 간질환의 말기상태로 원인과 생성기전 및 형태가 다양하며, 세계보건기구(WHO)는 간경변증을 미만성 간손상에 의한 섬유화와 간세포의 재생결절이 유발되는 질환으로 정의하고 있다.[1] 특히 우리나라에서는 서구에 비해 간염바이러스의 감염율이 높아 바이러스성 간염에 따른 간경변증의 빈도가 알콜성 및 대사성 간질환에 의한 간경변증에 비해 많은 편이다. 그동안 간경변증에 대한 많은 국내 연구는 대부분 원인적 분류와 형태계측학적 특성에 관한 연구였으며[2,3] 간경변증 자체의 섬유화 정도와 재생성 결절에서의 Ito 세포 활성 및 그 특성에 관한 연구는 미진한 편이었다. 또한 기존의 많은 해외연구도 알콜성 간경변증이나 담즙성 간경변증을 대상으로 한 것이어서 우리나라에서 많은 B형 간염바이러스에 의한 간경변증은 알콜성 간경변증이 대부분인 서구와는 그 원인이 달라서 국내 간경변증을 대상으로 한 연구가 필요하다.

그러므로 저자는 수술로 절제된 간 조직에서 간경변증으로 진단된 예들을 대상으로 임상소견의 검토와 병리조직학적 검색을 통해 원인적인 분류를 시행하고 원인인자에 따른 섬유화 정도를 비교하였다. 특히 우리나라 간경변증의 대부분을 차지하는 B형 간염바이러스에 의한 간경변증을 중심으로 간섬유화 진행과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 Ito 세포의 활성정도와 교원질 침착량을 비교분석하였다. 또한 면역조직화학적 방법으로 세포주기 조절억제인자로 알려진 WAF-1 발현이 재생결절의 세포증식능에 미치는 영향을 알아보고자 하였으며 간세포 성장인자 (hepatocyte growth factor)의 수용체로 알려진 c-met 발현을 분석하여 간세포 성장인자가 간경변증의 재생과 섬유화 과정에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년과 1996년에 병원에서 간암으로 절제된 간 조직에서 배경병변으로 관찰된 간경변증 41예(바이러스성 간경변증 39예, 알코올성 간경변증 2예)와 어린이 병원에서 1990년부터 1996년까지 수술로 절제된 간경변증 15예(선천성 담즙성 간경변증 11예, 바이러스성 간경변증 2예, 윌슨병 2예)등 모두 56예의 파라핀 포매조직을 대상으로 하였다. 바이러스성 간경변증 41예(성인 39예, 소아 2예)중 혈청 HBsAg이 양성인 B형 바이러스성 간경변증은 34예였고, 7예는 혈청 C형 간염 바이러스 항체가 양성인 C형 바이러스성 간경변증이었다(Table 1).

2. 방법

환자의 임상기록을 검토하여 원인적 분류에

Table 1. Clinico-Pathologic Characteristics of Patients

	Case	Mean age	Sex ratio (M:F)	Collagen content
Viral cirrhosis	41	53±11.9	4:1	47.8±16.9
HBV	34	54±10.8	4:1	48.5±15.9
HCV	7	52±11.5	3:1	49.5±16.5
Biliary cirrhosis	11	4.6±4.2	1:2.7	43.1±9.5
Alcoholic cirrhosis	2	56±4.2	2(M)	42.4±5.0
Wilson's disease	2	10±0.7	2(M)	36.9±2.5

도움이 되는 간염바이러스 표지자, 음주 및 간독성 약물복용 경력, 담도 조영술, 각종 유전적 질환의 유무 등을 조사하였다. 병리 보고서를 검토하여 조직학적 특징 등의 자료를 얻은 후 헤마톡실린-에오신 염색 슬라이드를 검토하여 대표적인 블록을 선정하여 간섬유화 정도는 파라핀 조직에서 분광광도계 분석을 통해 교원질양을 측정하였고 간세포에서의 세포증식능, WAF-1 및 c-met의 발현은 면역조직화학 검사를 통해 측정하였다.

1) 교원질 양의 측정

간경변증 조직의 대표적인 파라핀 블록에서 절편을 취하여 자일렌(xylene)과 에탄올, 증류수 등에 단계적으로 녹여서 파라핀 성분을 제거하였다. 일정한 면적(50 mm^2)으로 조직을 잘라 시험관에 넣고 0.1% Fast green FCF(color index 11,3886 Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA)와 0.1% Sirius red F3BA (Direct red 80, Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA)를 포함한 0.2 ml 포화 피크릭산(picric acid) 용액에 담근 후 회전진탕기(rotary shaker)를 이용하여 실온상태에서 30분간 반응시켰다. 파이펫으로 용액을 제거하고 증류수를 이용해서 깨끗해질 때까지 씻어낸 뒤, 1 ml 0.1 N NaOH in absolute methanol(1:1)을 가하고 조직에서 색깔반응이 나타날 때까지 가볍게 흔든다. 분광광도계를 이용해서 540 nm와 604 nm에서의 최대 흡광도를 측정하고 그 차이를 이용해서 교원질 양을 계산하였다.[4,5]

교원질 양의 계산법

① non-collagenous protein (mg) = absorbance at 605 nm/2.08

② collagen (μg) = (absorbance at 540 nm-0.26 ×absorbance at 605 nm)/38.4

③ collagen content (μg/mg total protein) = μg collagen/(μg collagen + mg non-collagenous protein)

2) 면역조직화학검사

연구에 사용된 단일클론항체는 α-SMA(Sigma Lab., St Louis, USA), Ki-67(MIB-1, Zymed Lab., San Francisco, USA), WAF-1(Anti-Cip1, Transduction Lab., Kenturky, USA), c-met (SC-161, Santa Cruz Lab., USA) 등을 이용하여 통상적인 avidin-biotin peroxidase complex에 의한 immunoperoxidase 염색을 시행하였다.

3) Ito 세포 활성, Ki-67, WAF-1 및 c-met 양성 세포의 정량화

α-SMA 양성 세포중 방추형의 돌기를 보이는 세포를 활성화된 Ito 세포로 간주하였으며, 고배율(400배)에서 섬유성 격막과 간실질에서 무작위로 10군데를 관찰하고 고배율의 면적(1.81 mm^2)으로 나누어 평균±표준편차로 표시하였다. Ki-67 양성 간세포와 WAF-1 양성 간세포는 10군데의 고배율에서 관찰하여 단위 면적당 양성 세포로 측정하였다. c-met 양성반응은 염색의 강도(0: 없음, ±: 매우흐림, 1+: 약함, 2+: 중등도, 3+: 강함)에 따라 등급을 나누어 판독하였다. 비특이적으로 발현되는 α-SMA 양성 fiber와 혈관주변세포에서 나타나는 양성반응은 활성화된 Ito세포가 가지는 형태학적 특성으로 감별하였다.

4) 통계 분석

사용된 통계 팩키지는 PC-SAS for DOS (Version 6.04)였고 자료의 통계적 유의성은 Wilcoxon's rank sum test, Student's t-test, ANOVA test 등을 이용하였다. 각 변수간의 상관관계는 Spearman's correlation test를 이용하였다.

결 과

1. 간경변증에서 섬유화 정도와 α-SMA 양성 Ito 세포의 활성도 비교

바이러스성 간경변증 조직의 교원질 양은 최소

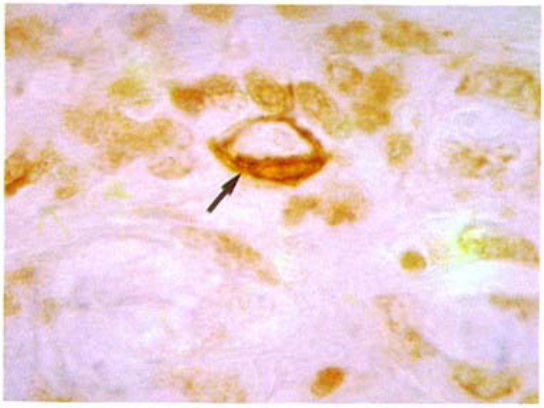

Figure 1. α-SMA positive hepatic stellate cells (arrow) in septal zone of viral cirrhosis. These cells are large and possess distinct cytoplasmic processes.

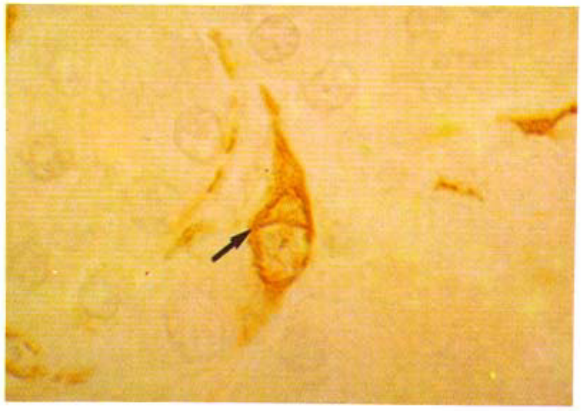

Figure 2. α-SMA positive hepatic stellate cells (arrow) in parenchymal area of viral cirrhosis.

16.3 μg/mg에서 최고 102.7 μg/mg으로 측정되었다. 중앙값 41.3 μg/mg을 기준으로 고교원질군과 저교원질군으로 구분했을 때 고교원질군의 섬유성 격막(Figure 1)과 간실질(Figure 2)에서 관찰되는 α-SMA 양성 세포의 평균값은 58.7/ mm2 와 28.9/mm2 로 저교원질군의 35.7/mm2 와 16.0/mm2 에 비해 유의하게 높게 관찰되었고(p=0.005) 교원질 양의 증가에 따른 α-SMA 양성 세포 증가 양상도 섬유성 격막(Spearman correlation coefficient=0.66)과 간실질(correlation coefficient=0.53) 모두에서 유의한 상관관계를 보였다(Table 2).

담즙성 간경변증 조직의 교원질 침착양은 최소 26.6 μg/mg에서 최고 63.3 μg/mg으로 측정되었다. 중앙값 42.6 μg/mg을 기준으로 고교원질군과 저교원질군으로 구분했을 때 섬유성 격막에서 α-SMA 양성 세포의 평균값은 고교원질군이 69.1/mm2로 저교원질군의 42.5/mm2에 비해 유의하게 높게 관찰되었으나(p=0.008) (correlation coefficient=0.82) 간실질에서는 유의한 차이가 없었다.

Table 2. α-SMA Positive Ito Cells According to Collagen Content in Viral and Biliary Cirrhosis

	Collagen content	
	High group	Low group
Viral cirrhosis		
Septal zone	57.4±26.8*	35.9±18.0
Parenchymal area	28.4±16.2	15.9±7.4
Biliary cirrhosis		
Septal zone	69.1±9.8†	42.5±15.3
Parenchymal area	19.2±4.0	15.7±0.9

High group represents cases of which collagen content is more than median value.
Data represent mean±SD (viral and biliary cirrhosis) of α-SMA positive cells/㎟ section area.
*Statistically significant compared with low collagen group ($p<0.005$) by Student's t-test.
†Statistically significant compared with low collagen group ($p<0.005$) by Wilcoxon's rank sum test.

Table 3. Ki-67 Positive Hepatocytes According to Collagen Content

	Collagen content	
	High group	Low group
Viral cirrhosis	10.2±7.9a	12.9±5.5
Biliary cirrhosis	6.2±5.4b	5.8±5.4

Data represent mean±SD of Ki-67 positive cells/㎟ section area (a, Student's t-test, b, Wilcoxon's rank sum test).

2. 간경변증에서 섬유화 정도와 간세포 증식능의 비교

바이러스성 간경변증 조직의 교원질양 중앙값을 기준으로 구분했을 때 Ki-67 양성 간세포의 평균값은 고교원질군과 저교원질군에서 각각 10.0/mm2와 12.9/mm2로 측정되었으며 교원질 양의 증가에 따른 유의한 상관관계는 없었다(Table 3). 담즙성 간경변증 조직의 교원질양의 중앙값을 기준으로 구분했을 때 Ki-67 양성 세포의 평균값은 고교원질군과 저교원질군에서 각각 15.9/mm2와 9.0/mm2로 측정되었으며 교원질 양의 증가에 따른 유의한 상관관계는 없었다(Table 3).

3. 알코올성 간경변증 및 윌슨병의 섬유화 정도에 따른 Ito 세포 활성 및 간세포 증식능

알코올성 간경변증에서 교원질 양의 평균값은 42.4 ㎍/mg이었고 섬유성 격막과 간실질에서의 α-SMA 양성 세포는 각각 36.2/mm2와 31.7/mm2였다. Ki-67 양성 세포는 18.1/mm2로 관찰되었다. 윌슨병에 의한 간경변증 조직의 교원질양의 평균값은 36.9 ㎍/mg이었고 섬유성 격막과 간실질에서의 α-SMA 양성 세포는 각각 33.5/mm2와 15.4/mm2 였다. Ki-67 양성 세포는 1.8/mm2 로 관찰되었다.

4. 바이러스성 간경변증에서 Child 등급에 따른 교원질 양과 Ito 세포 활성 및 간세포 증식능

Child 등급을 A, B, C로 분류하고 섬유화 진행에 따른 교원질 양과 α-SMA 양성 세포 및 Ki-67 양성 세포의 수치를 비교했을 때 각군간의 유의한 차이는 없었다(Table 4).

5. 간경변증 조직의 간실질세포에서의 WAF-1과 c-met 발현양상

원인별 분류와 상관없이 대부분의 간경변증

Table 4. Collagen Content, α-SMA Positive Ito Cells or Ki-67 Positive Hepatocytes in Viral Cirrhosis According to Child-Pugh Classification

	A	B	C
Case number	32	8	1
Collagen content(㎍/mg)	48.5	46.2	37.8
α-SMA(+)cells/㎟ in septal zones	48.1	39.6	67.0
α-SMA(+)cells/㎟ in parenchymal area	22.3	21.9	27.2
Ki-67(+)cells/㎟	10.8	14.0	16.3

Data represent mean values of each parameter.

조직에서 WAF-1 양성 세포는 관찰되지 않았으며 c-met 발현양상은 대개 음성(-)이거나 매우 흐린(±)정도의 염색강도를 보였다.

고 찰

간경변증은 간세포 괴사에 따른 섬유화 및 간세포 재생결절의 형성으로 이루어지는 간질환의 말기 병변이며, 간세포 괴사는 바이러스나 약물 및 알코올 등의 간독성물질, 면역이상, 유전적 대사장애 등 여러 가지 원인에 의해 초래될 수 있다.[7,8] 이렇게 간경변증의 원인은 매우 다양하지만 형태적으로는 비교적 단순하며 괴사나 염증의 활성도에 따라 결절의 크기가 변할 수 있기 때문에 형태학적 분류에 의한 원인 규명에는 한계가 있다. 우리나라와 서구의 간경변증을 비교할 때 가장 큰 차이점은 우리나라의 경우 B형 바이러스성 간염에 의한 간경변증이 70% 이상을 차지하는 것으로 본 연구에서도 이러한 사실을 확인할 수 있었고, 알코올성 간경변증은 4.9%(2예)에 불과했다.[9,10]

원인적 분류에 관한 연구는 주로 침생검 조직을 대상으로 하였는데,[3] 이 경우 다양한 임상경과를 보일 수 있다는 장점이 있으나 섬유화 정도에 따른 교원질 양의 정량적 측정에 한계가 있다. 따라서 침생검조직을 이용한 교원질 양의 측정은 형태계측학적 방법이 주로 이용되었으며[11] 관찰자간의 오차와 계산방법의 복잡성으로 인해 간경변증의 섬유화 정도를 객관적으로 평가하기 어려웠다. 따라서 저자들은 수술검체 간조직을 대상으로 교원질에 특이하게 반응하는 Sirius red F3BA 염색액 양을 분광광도계를 통해 측정하여 교원질 양을 산정하는 방법을 사용하였는데 이러한 방법은 동물실험 등에서는 정상 장기의 미세한 교원질 양 측정에 이용되었으며[4] 실험적으로 유발된 간경변증 조직의 교원질 양의 측정에서도 영상 분석기를 이용한 교원질 양의 측정과 유의한 상관관계를 보여[5] 수술검체 간조직을 대상으로한 교원질 양을 객관적으로 정량화 할 수 있다고 보았다.

간경변증의 섬유화 진행과정에서 Ito 세포가 활성화되어 교원질 침착을 유도한다는 사실은 인체 간 조직[12,13]과 동물실험의 간 섬유화[14]에서 잘 알려져 있다. 이러한 과정에서 활성화된 Ito 세포가 근섬유모세포로 분화한다는 것은 쥐를 이용한 동물실험에서 노던 블롯(Northern blot) 분석을 통해 α-SMA 유전자 발현이 증가한다는 사실[15]과 면역 전자현미경 검사를 통해 동모양 혈관 주위 세포들 가운데 Ito 세포만이 α-SMA 염색에 양성반응을 보이는 것으로도 알 수 있다.[13] 이러한 섬유화 진행에 따른 Ito 세포의 활성정도를 정량적으로 분석하기 위한 연구가 있었으나 인체 간 조직의 교원질 양 분석방법의 한계로 인해 원발성 담즙성 간경변증에서 섬유화 진행정도를 정성적으로 분류하고 이에 따른 Ito 세포 활성 정도를 α-SMA 면역화학 염색을 통해 비교 분석하거나[16] 알코올성 간경변증에서 지방증(steatosis)정도를 정성적으로 분류하고 이에 따른 Ito 세포의 활성 정도를 비교 분석하는 연구[17] 등이 있을 뿐이다. 본 연구에서는 α-SMA 면역화학 염색을 통해 세포질에서 양성반응을 보이면서 분명한 세포돌기를 가지는 세포를 활성화된 Ito 세포로 간주하였으며 이러한 형태는 주변의 비특이적 염색반응과도 쉽게 구별되고 기존의 연구결과에서 Ito 세포가 활성화되면서 α-SMA을 발현한다는 사실과도 잘 부합되는 소견이다. 본 연구 결과 간경변증의 원인에 관계없이 교원질 양의 증가와 Ito 세포의 활성은 정비례의 상관관계를 보여 지금까지의 연구들과 일치된 소견을 보였다. 그러나 바이러스성 간경변증에서는 섬유성 격막에서 간실질에 비해 Ito 세포 활성이 높았고, 담즙성 간경변증에서는 섬유성 격막에서만 유의한 Ito 세포 활성이 관찰되었다. 이러한 Ito 세포의 활성은 원인 간질환에서의 염증과 괴사가 심한 부위에서 Ito 세포의 활성이 증가되었다는 것을 알

수 있고 원인 간질환에 따른 염증과 괴사가 Ito 세포의 활성화에 직접 관련성이 있음을 시사하는 소견이다.

Ito 세포의 활성화 기전에 대해서는 손상된 간세포에 의한 직접자극 경로와 쿠퍼세포 활성화를 통한 간접자극 경로(paracrine pathway) 등 여러 가지 가설이 제시되고 있으나[18,19] 아직 그 기전은 명확히 밝혀져 있지 않다. 바이러스성 간경변증 조직의 섬유성 격막에서 α-SMA 양성 Ito 세포의 증가 양상이 더욱 두드러진 것은 교원질이 침착되는 섬유성 격막 주변의 염증과 괴사가 Ito 세포의 활성화에 보다 많은 영향을 주기 때문으로 생각된다. 특히 B형 간염바이러스에 의한 간경변증에서는 문맥 주변의 염증과 괴사 소견이 간실질에 비해 두드러진다는 점에서 섬유성 격막에서의 높은 Ito 세포의 활성을 예측할 수 있다. 담즙성 간경변증 조직에서는 섬유성 격막에서만 교원질 양과 Ito 세포의 활성이 정비례적 상관관계를 보였다. 이는 원발성 간경변증 조직을 대상으로 한 연구결과[16]와 유사한 소견으로 담즙성 간경변증에서는 염증과 괴사소견이 대부분 담관과 그 주위에 집중되기 때문에 섬유성 격막의 교원질 증가에 따라 Ito 세포 활성의 증가 양상이 잘 나타나지만 간실질세포에서는 유의한 상관관계가 보이지 않은 것으로 생각된다. 따라서 담즙성 간경변증에서도 섬유성 격막 주변의 염증과 괴사가 Ito 세포의 활성화에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다. 알코올성 간경변증에서는 섬유성 격막과 간실질에서 Ito 세포의 활성이 비슷한 정도의 증가 소견을 보였는데 이는 간실질세포의 손상이 바이러스성 간경변증이나 담즙성 간경변증에 비해 알코올성 간경변증에서 더 심하고 이로 인한 Ito 세포의 활성이 증가된 것으로 보이나 제한된 증례(2예)로 인해 비교분석은 어려웠다.

간경변증 조직은 정상 간조직에 비해 간세포 증식능이 높은 것으로 알려져 있으며 이것은 간경변증 조직의 간세포가 재생성 결절을 형성하는데서도 알 수 있다. 간세포의 괴사나 염증이 심할수록 보상기전에 의해 높은 간세포 증식능을 보이는 것으로 알려져 있으나[20,21] 본 연구 결과 섬유화 정도가 심한 증례들이 오히려 낮은 간세포 증식능을 보이는 경향이 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 그러나 본 연구대상의 간경변증 증례들이 간암환자의 수술검체 주위의 간경변증 조직에 한정되었다는 점에서 순수한 간경변증 환자의 부검이나 간이식 조직 등 임상경과가 다양한 증례들을 포함한다면 보다 다양한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

Child-Pugh 분류체계에 따라 A, B, C군으로 나누어 교원질 양과 α-SMA 양성 Ito 세포 및 Ki-67 양성 간세포의 평균값을 비교분석 했을 때 각 군 간에 Child 등급에 따른 각 지표들의 변화는 유의한 차이를 보이지 않았다. 일반적으로 간암 등의 종양에서 암세포 증식능이 높을수록 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다. 그러나 간암을 동반하지 않은 간경변증에서 간세포 증식능은 잔존 간 조직의 재생성 증식능을 반영하는 지표로서 간세포 증식능 지수가 높을수록 간세포의 재생성 증식능이 활발하다는 것을 반영한다. 임상적으로 간 조직의 기능과 예후를 잘 반영하는 것으로 알려진 Child-Pugh 등급과 간세포 증식능 지수(PCNA index)와의 상관관계에서 각종 임상 간기능 지수가 감소한 Child 분류상 고등급일수록 간세포 증식능 지수가 감소하는 것으로 알려져 있다.[21] 본 연구에서는 바이러스성 간경변증에서 Child 등급에 따른 간세포 증식능의 차이는 관찰할 수 없었다. 이는 연구대상으로 한 간 조직이 침생검조직이 아닌 수술로 절제된 간 조직이었기 때문에 수술대상이 되지 못하는 Child 분류상 고등급(Class C) 증례가 극히 드물고 수술전 임상경과가 양호한 간 조직이 주로 포함되었기 때문으로 생각된다. 바이러스성 간경변증의 원인에 따라 구분했을

때 B형이 34예였고 C형이 7예였다. 이들간에 교원질 양과 α-SMA 양성 Ito 세포 및 Ki-67 양성 간세포 값은 유의한 차이가 없었다. 이는 간경변증이 원인 바이러스에 따라 섬유화 및 세포증식능에서 차이를 보이지 않는 것을 시사하는 소견으로 간경변증이 만성 간질환에 의한 말기상태를 반영한다고 볼 때 일단 섬유성 격막이 형성된 간경변증 조직에서는 원인적 인자에 따른 교원질 침착이나 간세포 증식능에 차이가 없기 때문으로 생각된다. 기타 원인에 의한 간경변증에서 알코올성 간경변증(2예)과 윌슨병에 의한 간경변증(2예)은 제한된 숫자로 인해 바이러스성 간경변증과의 통계적 비교분석이 어려웠다.

세포주기 조절억제 인자로 알려진 WAF-1은 동물실험에서 정상 간세포의 성장과 증식을 억제하는 것으로 알려져 있으며[22] 이러한 사실은 p21 과발현 유전자이식 마우스를 이용한 동물실험에서도 세포주기 중 G2 시기에 선택적으로 반응하여 정상 간세포의 성장과 재생성 증식을 억제한다고 밝혀진 바 있다.[23] 간경변증은 손상된 간세포 괴사에 따른 섬유화와 더불어 재생성 결절을 형성하는 병변으로 이러한 재생성 결절 간세포에서 세포주기 조절억제 인자로 알려진 WAF-1의 발현양상과 이에 따른 재생성 증식능 및 교원질 양과의 관계에 대해서 분석하고자 하였으나 본 연구에서는 간실질세포 대부분에서 음성반응을 보여 간경변증의 재생성 결절에서 WAF-1인자가 간세포의 재생성 증식능에 직접적인 영향이 없는 것으로 생각된다.

간세포 성장인자(hepatocyte growth factor, scatter factor)의 수용체로 알려진 c-met는 간암을 포함한 여러 가지 간질환과 유방질환[24] 등에서 과발현되는 것으로 알려져 있다. 특히 간암에서는 암세포의 증식능과 유의한 상관관계가 있는 것으로 알려져 있으며[25] 일부 간경변증 조직에서도 유전자 발현이 밝혀져 있다.[26] 그러나 면역조직화학 염색을 통한 본 연구에서는 간실질세포 대부분에서 음성(-)이거나 매우 흐림(±) 정도의 반응을 보였다. 이는 대상으로 한 간경변증 조직이 이미 심한 섬유화로 인해 보상기전에 의한 재생성 증식능이 감소된 상태이거나 c-met 발현이 섬유화가 심한 간경변증 조직에서는 큰 영향을 미치지 못하기 때문으로 보인다.

요 약

목적 : 간경변증의 섬유화 진행에서 Ito 세포가 중추적인 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 섬유화 진행에 따른 교원질 양의 변화에 따른 Ito 세포의 활성도 변화에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 기존의 연구들도 담즙성 간경변증에서 반정량적 섬유화 정도 평가와 Ito 세포 활성도에 관한 비교분석이 대부분이다. 본 연구는 바이러스성 간경변증을 주대상으로 교원질 양의 정량적 분석과 이에 따른 Ito 세포 활성도 및 간세포의 재생성 증식능을 비교분석 하고자 하였다. **대상 및 방법** : 바이러스성 간경변증 41예, 담즙성 간경변증 11예, 알코올성 간경변증 2예, 윌슨병 2예 등을 대상으로 교원질에 특이하게 반응하는 Sirius-red 염색후 분광광도계 분석을 통해 교원질양을 측정하고 α-SMA 면역화학 염색을 통해 Ito 세포 활성도를 측정하였다. Ki-67, WAF-1, c-met 면역화학 염색을 통해 간경변증 조직에서 간세포 증식능 지수와 이들 인자들의 발현양상을 검색하였다. **결과** : 바이러스성 간경변증에서 섬유성 격막과 간실질 모두에서 Ito 세포의 활성도 증가와 교원질 양 증가는 정비례적 상관관계를 보였으며 담즙성 간경변증에서는 섬유성 격막에서만 유의한 상관관계를 보였다. 간세포의 재생성 증식능은 교원질양의 증가에 따라 감소하는 추세를 보였으나 통계적으로 유의한 결과를 보이지는 않았다. 임상적 지표인 Child 등급에 따른 교원질 양, Ito 세포의 활성 및 간세포 증식능은 유의한

차이를 보이지 않았다. WAF-1과 c-met 염색은 대부분의 간실질세포에서 음성이었다. 결론 : 간경변증에서 활성화된 Ito 세포의 증가는 섬유화에 따른 교원질양의 증가와 밀접한 관련성이 있음을 알 수 있었다. 또한 바이러스성 간경변증과 담즙성 간경변증에서 간실질보다 섬유성 격막에서 Ito 세포의 활성이 유의하게 증가하는 것은 원인 간질환의 염증과 괴사가 Ito 세포의 활성화에 직접적으로 관련되고 있음을 시사하고 있다.

참고문헌

1. Anthony PP, Ishak KG, Sadikali F, et al. The morphology of cirrhosis: Definition, nomenclature and classification. Bull WHO 1977;55:521-540.
2. 강경훈, 김용일. 간세포암종을 동반한 간경변증에 대한 형태계측학적 연구. 대한병리학회지 1991;25:338-345.
3. 한은경, 박찬일, 이상인. 간경변증의 원인적 분류와 형태학적 특성: 간생검조직을 대상으로. 대한병리학회지 1990;24:412-422.
4. Lopez-de leon A, Marcos R. A simple micromethod for collagen and total protein determination in formalin-fixed paraffin-embedded section. J Histochem Cytochem 1985;33: 737-743.
5. Marielle GB, Huet PM, Belgiorno J, et al. Estimation of collagen content of liver specimens. Variation among animals and hepatic lobes in cirrhotic rats. J Histochem Cytochem 1989;37:377-381.
6. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, et al. Classification of chronic hepatitis : Diagnosis, grading and staging. Hepatology 1994;19:1513-1520.
7. Mondelli M, Eddleston ALW. Mechanism of liver cell injury in acute and chronic hepatitis B. Sem Liver Dis 1984;4:47-58.
8. MacSween RVM, Scott AR. Hepatic cirrhosis : A clinicopathological review of 520 cases. J Clin Path 1973;26:936-942.
9. 금주섭, 공 구, 홍은경 등. 간경변증의 형태학적 및 원인적 분류. 대한병리학회지 1985;19:420-426.
10. 김정룡, 김진욱, 이효석 등. 만성간염 및 간경변증 환자의 자연경과와 생존율에 관한 연구. 대한내과학회지 1994;46:168-180.
11. Chevallier M, Guerret S, Chossegros P, et al. A histologic semiquantitative scoring system for evaluation of hepatic cirrhosis in needle liver biopsy specimen. Hepatology 1994;20:349-355.
12. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, et al. Immunohistochemical identification of Ito cells and their myofibroblastic transformation in adult human liver. Virchows Arch 1994;424:249-259.
13. Schmitt-Graff A, Kruger S, Bochard F, et al. Modulation of perisinusoidal cell cytoskeletal features during experimental hepatic fibrosis. Virchows Arch [A] 1993;422:99-107.
14. Nouchi T, Tanaka Y, Tsukada T, et al. Appearance of α-smooth-muscle-actin-positive cells in hepatic fibrosis. Liver 1991;11:100-105.
15. Romandori G, Veit T, Schwolger S, et al. Expression of the gene of the α-smooth muscle-actin isoform in rat liver rat fat-storing cells. Virchows Arch [B] 1990;59:349-357.
16. Mathew J, Hines JE, Johnson SJ, et al. Quantitative analysis of macrophages and perisinusoidal cells in primary biliary cirrhosis. Histopathology 1994;25:65-70.
17. Reeves HL, Burt AD, Wood S, et al. Hepatic stellate cell activation occurs in the abscence of hepatitis in alcoholic liver

disease and correlates with the severity of steatosis. J Hepathol 1996;25:677-683.
18. Johnson SJ, Hines JE, Burt AD, et al. Macrophages and perisinusoidal cell kinetics in acute liver injury. J Pathol 1992; 166:351-358.
19. Hines JE, Johnson SJ, Burt AD, et al. In vivo response of macrophages and perisinusoidal cells to cholestatic liver injury. Am J Pathol 1993;142:511-518.
20. Ballardi G, Groff P, Zoli M, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma development in patient with cirrhosis and with high hepatocellular proliferation. J Hepatol 1994;20:218-222.
21. Delhaye M, Louis H, Degraef C, et al. Relationship between hepatocyte proliferation activity and liver functional reserve in human cirrhosis. Hepatology 1996;23: 1003-1011.
22. Sawada N, Kojima T, Obata M, et al. Expression of p21 (waf-1/cip-1) is significantly induced in the livers of LEC rats with chronic liver injury. Jpn J Cancer Res 1996;87:1102-1105.
23. Wu H, Wade H, Krall L, et al. Targeted in vivo expression of the cyclin-dependant kinase inhibitor p21 halts hepatocyte cell progression, postnatal liver development and regeration. Genes Dev 1996;10:245-260.
24. Liang J, Alexander F, Schmitt S, et al. Expression of scatter factor and c-met receptor in benign and malignant breast tissue. Cancer 1997;79:749-760.
25. D'Errico A, fiorentino M, Ponzetto A, et al. Liver hepatocyte growth factor does not always correlate with hepatocyte proliferation in human liver lesion : Its specific receptor c-met does. Hepatology 1996;24:60-64.
26. Julia Y, Ljubimova, Petrovic LM, et al. Expression of HGF, its receptor c-met, c-myc and albumin in cirrhotic and neoplastic human liver tissue. J Histochem Cytochem 1997;45:79-87.