

간 섬유생성(Hepatic Fibrogenesis)

연세대학교 의과대학 내과학교실

이 관식

Hepatic Fibrogenesis

Kwan Sik Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, University College of Medicine, Seoul, Korea

만성 간질환은 국내에서 성인병 및 사망의 중요한 원인이므로 이 질환의 병인규명, 예방 및 치료등에 대한 연구는 매우 중요하다. 임상적으로는 만성간염에서 간경변증으로 진행하는 것을 막는 것이 중요한 목표중의 하나인데, 이는 질환의 예후에 중대한 영향을 미치는 여러 합병증과 간암 등이, 일단 간경변증으로 진행된 이후에 발생하는 경우가 대부분이므로 만성간염에서 간경변증으로의 진행을 막는 것은 B형 간염 바이러스에 의한 간질환을 포함한 모든 만성 간질환자에서의 궁극적인 목표중의 하나라고 할 수 있다.

이러한 목표하에 여러가지 방향으로 연구가 진행되고 있고 대표적인 것이 간염 바이러스 자체에 대한 연구와 이를 기초로 하여 바이러스의 증식을 억제하는 항바이러스제의 개발 등과 같은 연구(Virology)이며, 간염 바이러스에 대한 숙주의 면역 반응 관찰등과 같은 면역학적 연구(Immunology)

도 진행중이다.

이러한 연구방법이 국내에서 많이 시행되고 있는 기존의 연구들이고 이와는 접근방법이 다른 간섬유생성(hepatic fibrogenesis)에 대한 연구는 간경변증으로 진행되는 과정을 연구하는 학문으로서 국내에서는 다소 생소한 분야이다. 어떠한 원인에 의한 간경변증이든지 결국은 계속되는 간섬유증(hepatic fibrosis)의 과정을 거쳐 유발되므로 간섬유증의 과정을 이해하고 연구하는 것은 간경변증을 유발할 수 있는 모든 질환을 해결하는데 가장 기본적인 단계라고 할 수 있다.

간섬유증

여러가지 원인에 의해 간세포(hepatocytes)가 손상을 받으면 여러 세포들의 상호작용에 의해 각종 사이토카인(cytokines) 및 산소 유리잔기

(oxygen free radical) 등이 생성되고 정상 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)이 손상을 받게 되며, ECM의 이상 증식이 유발되어 간섬유증으로 진행된다.

일반적으로 간섬유증은 간경변증과는 달리 가역적(reversible)이고, thin fibril로 구성되며, nodule 형성이 없는 것으로 알려져 있고 간손상의 원인이 소실되면 정상회복이 가능할 수 있으나, 이러한 간섬유증 과정이 반복적으로 지속되면 ECM간의 교환결합(crosslinking)이 증가하여 thick fibril을 형성하고 nodule이 있는 비가역적인(irreversible) 간경변증으로 진행된다.

ECM은 교원질(collagen), 당단백질(glycoprotein) 및 프로테오글라이칸(proteoglycan) 등으로 구성된다. 이중 특히 교원질의 증가는 간섬유증의 중요한 원인이 되고 교원질은 여러가지 원인에 의해 활성화된 간성상세포(hepatic stellate cell)에서 주로 생성이 된다.

간섬유증은 matrix-cell-mediator(MCM) triad model을 기본으로 연구가 진행되고 있는데 세포는 각종 matrix와 mediator를 생성하고, matrix와 mediator는 상호작용을 하고 세포를 조정한다는 것이 기본 개념이다(Figure 1). 따라서 간섬유증에 대한 연구는 ECM에 대한 연구¹⁻⁷, 이에 관여하는 세포와 각종 세포간의 관계, 세포의 활성화 기전, 각종 사이토카인 및 항섬유화제(antifibrogenic agents)에 대한 연구등 여러가지 방면으로 활발히 진행되고 있고, 목표는 ECM의 생성을 저하시켜 간경변증으로의 진행을 억제하는 것이다. 외국에서는 이미 다방면으로 연구가 진행되어 상당한 발전을 하였으나 만성 간질환자가 성인병의 상당한

부분을 차지하는 국내에서는 그 중요성에 비해 이에 대한 본격적인 연구가 거의 없는 실정이다.

세포외기질

정상 간조직의 ECM은 기저막(basement membrane) ECM과 간질성(interstitial) ECM으로 구분되는데 간세포와 동모양혈관 내피세포(sinusoïdal endothelial cell) 사이의 뒷제강(space of Disse)을 구성하고 있는 기저막 ECM은 주로 4형 교원질, laminin, heparan sulfate proteoglycan 등으로 이루어져 있고, 간질성 ECM은 주로 1, 3형 교원질과 fibronectin, undulin 등으로 구성되고 문맥부위와 간소엽에 분포하며 간조직을 구조적으로 유지하는 역할을 한다⁸.

ECM은 이러한 구조적 지지역할 이외에도 각종 mediator의 활성화에 관여하고, 여러 세포와 다양한 integrin을 통한 결합으로 세포 활성화를 조절하는 기능을 갖고 있다.

1. 교원질¹⁻⁴

교원질은 현재 1형부터 19형까지 알려져 있고 1, 2, 3, 5, 11형등과 같은 banded or fibril forming type과 4, 6, 7, 8, 9, 10형등과 같은 non-banded or non-fibril forming type으로 구분되고 이를 세분하면 다음과 같다(Table 1). 간과 연관이 있는 것은 1, 3, 4, 5 및 6형으로 알려져 있다. 정상간에서는 1형과 3형이 각각 전체 교원질의 40~45%

Table 1. Collagen

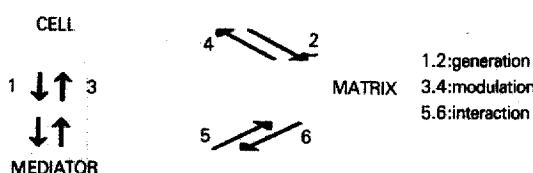


Fig. 1. MCM triad model

Fibril-forming collagens	: type I, II, III, V, XI
Fibril-associated collagens	: type IX, XII, XIV, XVI, XIX
Sheet-forming collagens	: type IV, VIII, X
Beaded filament-forming collagens	: type VI
Anchoring fibril-forming collagens	: type VII

%로 대부분을 차지하고 주로 문맥주위부(periportal area)에 다발(bundle) 형태로 분포되어 있으며, 4형은 약 7%로 기저막 부위에 저밀도 기질(low density matrix) 형태로 분포되어 있고 5형은 5~10%로 간소엽(hepatic lobule) 부위에 분포되어 있다. 정상간의 교원질은 전체무게의 약 0.5%이고 1형과 3형의 비율이 거의 같으나, 간경변증에서는 10배 이상으로 증가하고 1형과 3형의 비율이 약 4:1로 주로 1형이 많이 증가하는 것으로 알려져 있다. 이는 피부의 상처치유시 초기에는 주로 3형이 증가하나 후기 반흔(scar) 형성시에는 1형이 대부분을 차지하는 것으로 보아 간경변증도 같은 맥락으로 이해할 수 있을 것이다.

간섬유증은 결국 간내 교원질의 증가로 유발되는데 이는 여러가지 인자로 인한 교원질 유전자(collagen gene)의 자극으로 교원질 생성이 증가하거나, 교원질을 분해시키는 collagenase의 감소 등으로 유발될 수 있고, 교원질을 생성하는 세포수의 증가도 중요한 원인이 된다.

교원질 유전자를 자극시키는 물질은 알코홀의 대사물질인 아세트알데하이드, 실험동물에 사염화탄소(CCl₄) 등을 투여시 검출되는 섬유화 인자(fibrogenic factor), 아스코르빈산(ascorbic acid), 지질과산화(lipid peroxidation)의 산물인 malondialdehyde와 4-hydroxyneononal, 전환 성장인자 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF β_1) 등이 대표적이고 이외에도 여러가지 물질이 보고되고 있다(Table 2). 교원질 유전자를 억제시키는 물질은 환식 아데노신모노포스페이트(cyclic AMP, cAMP), 당질코르티코이드(glucocorticoids), 인터페론, 프로스타글란딘(prostaglandin, PG) 및 레티노이드등이 있다(Table 3).

교원질 유전자가 자극되면 전사율(transcriptional rate)이 증가하여 전구교원질 전령 리보핵산(procollagen mRNA)이 형성되고 translation되어 전구교원질의 형성이 증가한다. 이는 α chain이라 명명되고 각각의 chain은 lysyl과 prolyl hyd-

Table 2. Positive Effectors of Collagen Gene Expression

Effectors	Collagen types affected	Cell or tissue type
Ascorbate	I, III	Fibroblasts
Acetaldehyde	I, III	Fibroblasts
Bleomycin	I, III	Lung
Carbon tetrachloride	I, III	Liver
Dimethylnitrosamine	I, III	Liver
Estradiol	I, III	Uterus
Ethanol	I	Liver
Hepatic fibrogenic factor	I, III	Fibroblasts
Hepatitis virus	I	Liver
Indomethacin	I, III	Synovial cells
Insulin	I, III	Fibroblasts
Insulin-like growth factors	I, III	Fibroblasts
Interleukin-1	I, III	Fibroblasts
	I, III	Synovial cells
Leukotriene C ₄	I, III	Fibroblasts
Malondialdehyde	I, III	Fibroblasts
Schistosoma mansoni	I	Liver
Thioacetamide	I, III	Fibroblasts
Transforming growth factor β	I, III	Fibroblasts
	I, III	Hepatic lipocytes
Tumor necrosis factor α	I, III	Fibroblasts
	I, III	Adipocytes

roxylase에 의한 lysyl과 prolyl residues의 hydroxylation과 hydroxyl lysyl residues의 glycosylation 등의 posttranslational 변형을 거친 후 비공유결합 상태인 triple helix를 형성한다. 이는 미세조판을 통해 세포외로 분비되거나 세포내에서 collagenase에 의해 분해된다. 세포외로 분비된 전구교원질은 펩티드의 분할후 교원질이 되고 lysyl oxidase에 의해 lysine과 hydroxylysine side chain이

aldehydes를 형성하게 되며 이 aldehydes간의 결합 즉 triple helix간의 공유결합을 이루는 교환결합과정을 거쳐 원섬유(fibril)를 형성한다(Figure 2). 일반적으로 triple helix를 이루는 교원질 molecule 5개가 모여 한 단위의 microfibril을 이루고 이후 lateral과 end to end 응집(aggregation)을 통해 교원질 섬유(collagen fiber)를 형성하고(Figure 3)^{9, 10} 이는 ECM의 주 성분으로 작용하거나 collagenase등에 의해 분해된다¹¹.

또한 기질을 분해시키는 물질을 총칭하여 matrix

Table 3. Negative Effectors of Collagen Gene Expression

Effectors	Collagen type(s)	Cell or tissue types
Diutyryl cAMP	I, III	Fibroblasts
Epidermal growth factor	I, III	Kidney epithelioid cells
Estradiol	I, III	Aorta smooth-muscle cells
Glucocorticoids	I	Fibroblasts
	I	Liver, hepatocytes
Interferons	I, III	Fibroblasts
	I, III	Liver
Prostaglandins	I, III	Synovial cells
	I, III	Fibroblasts
	I, III	Fibroblasts
Relaxin	I, III	Fibroblasts
Retinoids	I, III	Preadipocytes
Tumor necrosis factor α	I, III	Fibroblasts
	I	Preadipocytes
Tumor promoters	I	Fibroblasts
	I	Epidermal cells
Tumor viruses	I, III	Fibroblasts
Vasopressin	I	Hepatocytes

metalloprotease(MMP) family라고 하는 대상기질에 따라 3가지로 분류한다. 1, 3형 교원질을 분해하는 간질성(interstitial) collagenase(MMP 1, 5), 당단백질과 프로테오글라이칸을 주로 분해

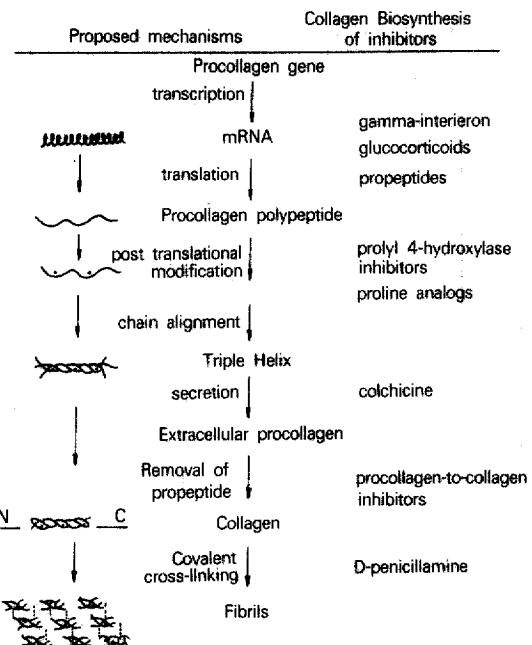


Fig. 2. A simplified pathway for the biosynthesis of collagen

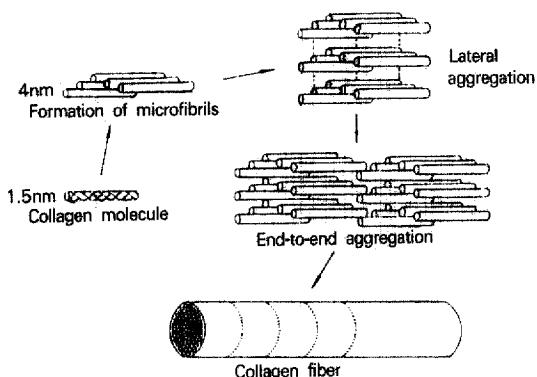


Fig. 3. Formation of the five membered microfibril and its potential for lateral and end-to-end aggregation to form fibers

하는 stromelysin(MMP 3, 10), 4형 교원질을 분해하는 4형 collagenase(MMP 2, 9)등이 있고 주로 간성상세포 및 쿠퍼세포(Kupffer cell)에서 생성된다. 간섬유화시에는 이들의 생성이 감소하거나, 억제물질인 α_2 macroglobulin 및 tissue inhibitors of metalloprotease(TIMP)등이 활성화된 간성상세포에서 생성되고 교원질의 분해가 감소하여 결국 교원질이 증가하게 된다.

2. 당단백질⁵⁻⁷

주로 교원질과 세포를 부착시키는 역할을 하고, 각종 세포의 기능도 조절한다.

Fibronectin, laminin, vitronectin, tenascin, undulin, thrombospondin, SPARC(osteonectin), elastin 및 nidogen(entactin)등이 알려져 있다.

a) Fibronectin

soluble plasma protein 상태나 cellular fibronectin 상태로 존재하는 450 kD의 당단백질이고 cellular fibronectin은 교원질을 세포에 부착시키는 역할 이외에 ECM 형성에 관여하고 collagenase와 결합하여 기능을 억제하며, 세포의 이동 및 염증 세포에 대한 화학주성인자(chemoattractant)의 기능을 갖고 있다. 또한 plasma fibronectin도 coagulation, opsonization, tissue repair 등에 관여한다.

Fibronectin receptor는 integrin family 중 하나이고 vitronectin, fibrinogen, laminin, thrombospondin 등과도 결합하며 2개의 subunit 즉 α , β transmembrane heterodimer로 구성된다($\alpha_5 \beta_1$)¹². integrin chain의 세포질내 구성물질로 vinculin, talin, fibulin 등이 알려져 있고(Figure 4) tenascin은 fibronectin과 경쟁하여 세포와의 부착을 방해한다.

간성상세포, 간세포 및 동모양혈관 내피세포 등에서 생성되고 간경변증시에는 주로 문맥주위부

에서 증가소견이 관찰되고 soluble form보다는 cellular form이 증가한다.

b) Laminin

lace와 같은 격자구조를 하고 있고 다른 ECM을 고정시키는 역할을 하는데 특히 4형 교원질, nidogen, perlecan 등과 함께 기저막을 형성한다. nidogen은 laminin 격자와 섞어 짠듯한 4형 교원질 sheet를 연결시켜 주고 perlecan은 laminin에 부착되어 있는 형태를 하고 있다. 또한 Englebreth-Holm-Swarm(EHS) mouse tumor에서 쉽게 분리하여 여러 실험에 이용되고 있다.

세포의 부착, 이동, immune complex의 침착 및 식작용(phagocytosis)을 증가시키며 내피세포의 분화에도 관여한다. 간성상세포 등에서 생성되고, 손상받은 간이나 재생중인 간에서 주로 증가하고 간섬유화시에도 증가한다¹³.

3. 프로테오글리칸(PG)

중심단백질에 부착되어 있는 여러가지 형태의 glycosaminoglycan(GAG) 사슬로 이루어져 있는 물질로서 GAG 성분에 따라 heparan sulfate, der-

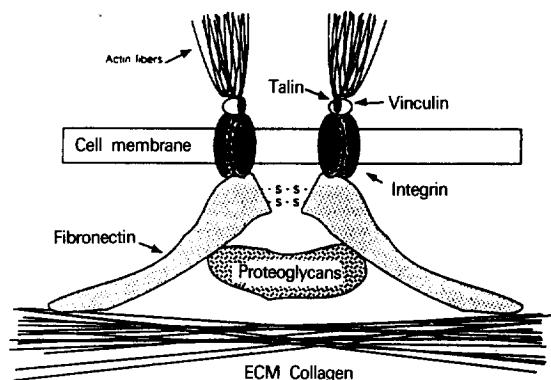


Fig. 4. Schematic representation of the interaction of the various factors involved in the attachment of the cell membrane to the ECM

matan sulfate, chondroitin sulfate 및 keratan sulfate 등으로 분류한다. 정상간에서는 heparan sulfate가 60% 이상 차지하고 있으나 병변시에는 dermatan sulfate 와 chondroitin sulfate가 증가하고 hepan sulfate는 상대적으로 50% 이하로 감소하게 된다. 간경변증시에는 GAG가 약 5배 이상으로 증가한다. 간성상세포등에서 생성되고 decorin, intracellular PG serglycan(dermatan/chondroitin sulfate), basement membrane PG perlecan(heparan sulfate), interstitial PG versican (dermatan/chondroitin sulfate), transmembrane PG syndecan(heparan/chondroitin sulfate), biglycan등이 알려져 있다.

세 포

정상간에서는 간세포, 동모양혈관 내피세포 및 간성상세포등이 ECM을 생성하지만, 간손상을 받은 후에는 주로 활성화된 간성상세포가 ECM을 생성하는 것으로 알려져 있고 각종 세포의 활성화 기전, 세포간 또는 세포-ECM간의 상호작용에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.

1. 간성상세포

간성상세포는 1876년 Kupffer에 의해 발견되었고, Ito에 의해 기술되었으며 1971년 Wake¹⁴에 의해 정립되었다. 동모양혈관 내피세포와 간세포 사이의 닷제강에 위치한 세포로서 별모양을 하고 있어서 간성상세포, Ito cell, 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적(lipid droplet)을 갖고 있어서 vitamin A storing cell, fat storing cell 또는 perisinusoidal hepatic lipocyte등으로 명명되고 있다.

정상에서는 3, 4형 교원질과 laminin등을 생성하고 1형 교원질은 거의 생성하지 않는데, 손상받은 간세포나 쿠퍼세포등에서 분비된 여러가지 사이토카인이나 oxidative stress등에 의해 자극을 받

으면 PDGF와 TGF β_1 의 receptor가 발현하고, 이와 더불어 4형 collagenase를 분비하여 세포주변을 둘러싸고 있는 기저막을 손상시킨다. 일반적으로 기저막 ECM은 간성상세포의 증식 및 활성화를 억제하는 것으로 알려져 있고 이러한 기저막의 손상은 간성상세포를 활성화시킨다. 활성화된 간성상세포는 각종 성장인자(growth factor)에 대한 반응이 증가하고 1형 교원질등의 ECM 생성을 증가시키며 생성된 1형 교원질은 간성상세포를 더욱 활성화시킨다.

또한 collagenase의 억제물질인 α_2 macroglobulin 및 TIMP등의 생성도 증가시켜 결국 간섬유화의 중심적인 역할을 한다. 또한 초기에 손상된 기저막은 1형 교원질과 fibronectin등으로 대치되고, 이로 인하여 동모양혈관과 간세포와의 물질교환이 원활치 않게 되어 간세포 기능이 저하된다¹⁵.

활성화한 간성상세포는 근섬유모세포(myofibroblast) 형태의 세포로 변화하여 알파 평활근 액틴(α -smooth muscle actin)과 같은 세포골격 세사(cytoskeletal filament)등이 표현되고 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적이 감소 또는 소실되며 비후된 거친면 세포질 내세망(rough endoplasmic reticulum)의 소견을 보인다.

간성상세포의 증식에 관여하는 인자는 다음과 같다(Table 4).

Table 4. Cytokines related to proliferation of hepatic stellate cells

- Platelet derived growth factor(PDGF)
- Transforming growth factor α (TGF α)
- Epidermal growth factor(EGF)
- Insulin like growth factor
- Heparin binding growth factor
- Hepatic fibrogenic factor induced by CCl₄
- Hepatocytes conditioned media
- Kupffer cells conditioned media

이외에도 앞서 언급했듯이 ECM의 변화, 즉 정상 ECM의 파괴 및 1형 교원질과 fibronectin의 증가, TGF β_1 발현 및 iron과 알코홀에 의한 oxidative stress 등은 간성상세포 활성화의 중요한 인자들이다.

2. 간세포

손상을 받은 간세포는 쿠퍼세포에 의해 식작용되고 이로써 활성화된 쿠퍼세포는 각종 사이토카인을 분비하여 간성상세포를 활성화시킨다는 것이 일반적인 간섬유화 기전중의 하나인데 손상받은 간세포가 직접적으로 간성상세포를 활성화시킨다는 보고도 있다. 즉 간세포와 간성상세포를 동시에 배양하여 사염화탄소로 처치한 경우에 간세포와 인접한 부위의 간성상세포에만 교원질 유전자가 발현된 것을 보아 추정할 수 있고¹⁶ 또한 동시배양시 0.2% FCS만으로 공급을 제한하더라도 간성상세포가 정상적으로 증식하는 것을 관찰하고 이는 간세포에서 분비되는 IGF-1에 의한 결과라는 보고도 있다¹⁷.

간세포가 ECM을 생성하는 주세포라는 설도 있으나¹⁸, 이보다는 간성상세포가 ECM 생성의 핵심세포이고^{19, 20} 이를 활성화하는데 간세포가 영향을 미친다는 설이²¹ 정설처럼 되어 있다.

사이토카인

1. TGF β ^{22, 23}

25KD의 물질로서 latent TGF β_1 binding protein과 결합하여 inactive latent 형태로 분비되고 1, 4형 교원질, laminin, decorin 등의 ECM과 결합한 상태로 존재하며 여러가지 자극에 의해 활성화된다.

쿠퍼세포, 활성화된 간성상세포, 동모양혈관 내피세포, 간세포 및 혈소판등에서 생성되고 간섬유

화과정에 중요한 역할을 한다. 즉 교원질, 당단백질 및 프로테오글라이칸등 ECM의 mRNA를 증가시키고 간성상세포에서 TGF β_1 생성을 자동자극(autostimulation)하여 증가시킨다.

또한 collagenase 생성을 감소하거나, collagenase 억제물질 생성을 증가하여 교원질을 증가시키고 단핵구나 대식세포(macrophage)에서 종양괴사인자(tumor necrosis factor α , TNF α), 인터루킨-1(interleukin-1, IL-1) 및 혈소판 유도성장인자(platelet derived growth factor, PDGF) 등의 생성을 증가시키며 간성상세포에 대한 PDGF의 효과를 강화시킨다.

바이러스나 Schistosomiasis 등에 의한 염증성 병변 및 사염화탄소등의 독작용에 의한 병변시에 모두 증가하고, 특히 바이러스성 만성간염에서 인터페론 투여후에 TGF β_1 치가 감소하였다는 보고가 있다²⁴.

TGF β_2 는 주로 담도와 관련이 있고 TGF α 는 간재생시 간세포의 증식 및 간섬유화시 간성상세포의 증식에 관여한다.

2. PDGF²⁵

30kD의 물질로 AA, AB, BB form이 있고 170–180kD의 receptor($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$)와 결합한다. PDGF는 간성상세포의 가장 강력한 증식인자로 알려져 있고 쿠퍼세포, 혈소판, 동모양혈관 내피세포 및 평활근세포등에서 생성되며 fibronectin과 프로테오글라이칸 생성을 증가시킨다. 또한 대식세포의 활성화를 통해 염증반응을 진행시킨다.

3. TNF α ²⁶

단핵구나 대식세포에서 생성되고 IL-1과 세포집락 자극인자(colony stimulating factor, CSF) 생성을 증가하여 면역 염증반응을 증가시킨다. 간성상세포의 증식을 자극하나 교원질 유전자의 전

사율에 대해서는 아직 논란이 많고 collagenase 생성 및 프로테오글라이칸 생성을 증가시킨다.

4. IL-1

단핵구나 대식세포에서 생성되고 CSF 생성을 증가시켜 대식세포 스스로의 활성화를 돋는다. TGF β_1 의 생성을 자극하고 교원질 유전자의 전사를 증가시키며 TIMP의 생성을 증가시켜 결국 교원질이 증가하게 된다.

5. CSF

생성세포에 따라 granulocyte macrophage CSF (GM-CSF), G-CSF, M-CSF 등으로 분류한다. TNF α 나 IL-1 등에 의해 생성이 증가된 CSF는 대식세포를 활성화시켜 각종 사이토카인의 분비를 촉진시킨다.

이러한 여러가지 사이토카인의 상호관계를 정리하면 다음과 같다(Figure 5).

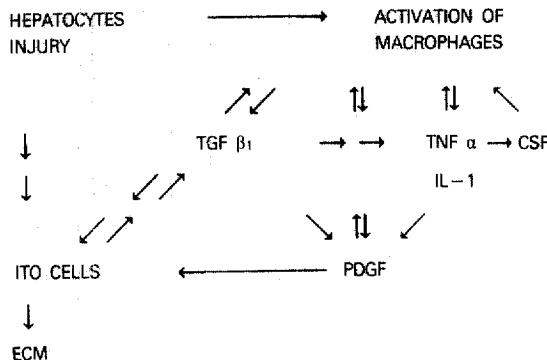


Fig. 5. Interrelation between cells and cytokines in ECM production

산화성 스트레스(oxidative stress)^{16, 27, 28}

유리잔기(free radical)는 외부궤도에 쌍을 이루지 못한 전자를 갖고 있기 때문에 다른 물질로

부터 전자를 빼앗아 스스로 안정되고자 하는 성질을 가진 물질이다. 이에 반해 항산화제(antioxidant)는 유리잔기의 생성을 감소시키거나 유리잔기와 결합하여 제거시키는 역할을 한다. 이러한 유리잔기의 생성과 제거에 불균형이 와서 유리잔기가 많아질 때 세포나 조직은 산화성 스트레스를 받게 된다. 산화성 스트레스에 대한 공격인자와 방어인자는 다음과 같다(Table 5).

Table 5. Oxidative Stress

THE OFFENDER	THE DEFENDER
1. Oxygen free radical : superoxide, singlet O ₂ , H ₂ O ₂ , OH-, organic hydroperoxide(ROOH), peroxynitrite	1. Enzymatic antioxidants : SOD, catalase, GSH peroxidase, GSSG reductase
2. Phagocytes : NADPH oxidase, myeloperoxidase, hydrochlorous acid, N-chloramines	2. Soluble antioxidants : GSH, uric acid, albumin, haptoglobin/hemopexin
3. Oxidants : iron, copper, pollutants	3. Nutritional antioxidants : vitamin E, β -carotene, selenium
	4. Transition metal sequesters : transferrin, lactoferrin, ferritin, ceruloplasmin

여러가지 원인에 의해 생성된 과산화수소(H₂O₂)는 환원된 철이나 구리이온과 산소잔기(oxygen radical)의 도움을 받아 히드록실잔기(hydroxyl radical)를 형성한다. 이는 세포막에 있는 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acid)과 결합하여 지질파산화를 이루고 이의 대사물질인 malondialdehyde나 4-hydroxyneonenal등은 세포내 단백질이나 DNA와 결합하여 손상을 주고 일부 유전자의 전사율을 증가시킨다.

간성상세포가 여러가지 원인에 의해 산화성 스

스트레스를 받게 되면 교원질 유전자의 전사율이 증가하므로 산화성 스트레스는 간섬유화의 중요한 원인중의 하나로 알려져 있다.

또한 c-myb 또는 NF_kB등의 전사인자(transcriptional factor)가 간성상세포 활성화에 관여한다는 보고가 있다²⁹.

치료

아직 뚜렷한 효과가 있는 치료제가 개발되지 않았으나 간조직의 염증반응의 억제, 간성상세포 활성화 억제 및 교원질 생성과정의 방해등 세가지 방향으로 연구가 진행되고 있다.

1. 원인 제거

알코홀이나 바이러스등과 같이 간섬유증을 유발하는 근본적인 원인 제거가 가장 중요하다.

2. 유전자 치료

아직까지는 실험실 단계를 벗어나지 못하고 있으나 세포외기질 또는 사이토카인등에 대한 antisense mRNA를 투여하여, 섬유화과정시 이미 생성된 sense mRNA와 결합하게 하여 파괴시키는 방법이 있고 교원질, fibronectin, TGF β_1 등에 대한 antisense mRNA등이 고려되고 있다.

또한 교원질 유전자의 전사를 억제하는 인자에 대한 DNA를 asialoglycoprotein등과 결합시켜 수용체 세포내이입(receptor mediated endocytosis)을 이용하거나 세포배양시 retrovirus를 통해 세포내로 이입시켜 교원질 유전자를 억제할 수 있다. 세포외에서 교원질 형성시 분할된 전구펩티드(propeptides)에 대한 DNA등이 고려되고 있다.

3. 당질코르티코이드

교원질 유전자의 전사율을 감소시키거나 교원질 mRNA의 안정성을 감소시킴으로써 교원질의 양을 줄일 수 있다.

4. 프로스타글란딘

PGE₂는 IL-1이나 TGF β_1 으로 자극된 교원질 유전자를 억제하고 PDGF에 의한 간성상세포의 증식효과를 감소시키며, 세포내 cAMP를 증가시켜 교원질 유전자를 억제하고 세포보호작용이 있다.

5. 인터페론

간성상세포의 증식을 억제하고 교원질 mRNA의 안정성을 감소시키며 감마 인터페론이 알파 인터페론보다 강한 효과를 보인다. PGE₂나 TNF α 등과 병합투여하여 교원질 생성감소에 상승작용을 나타낼 수 있다.

6. 세포내 cAMP

PGE 이외에도 pentoxifylline등과 같은 인디에스테라제(phosphodiesterase) 억제제나 β -아드레날린 작동제(β -adrenergic agonist)등이 세포내 cAMP를 증가시켜 교원질 유전자를 억제한다.

7. 레티노이드

활성화된 간성상세포는 세포내 레티노이드를 함유하고 있는 지방소적이 감소 또는 소실된다. 쿠퍼세포 배양액을 간성상세포에 처치하면 간성상세포는 활성화되고 간성상세포 배양액에 레티놀이 검출된다³⁰. 반대로 간성상세포 배양시 레티노이드를 첨가하면 PDGF에 대한 반응이 감소하는 것으로 보아³¹ 레티노이드는 간성상세포의 활성화를 억제할 수 있을 것으로 생각되고 전구물질인 카로티노이드도 같은 효과를 나타낼 것으로

생각된다. 그러나 레티노이드 자체에 의한 간독성이 있으므로 사용에는 더 많은 연구가 필요할 것이다.

8. 항산화제

산화성 스트레스로 인한 지질과산화가 간성상 세포에서 교원질 유전자를 자극하므로 대표적인 항산화제인 비타민 E등은 이를 억제할 수 있다²⁷.

9. 콜치신(colchicine)

교원질은 세포내에서 미세소관을 통해 세포외로 분비되는데 콜치신은 미세소관에 영향을 주어 교원질의 분비를 억제하고 교환결합과정도 억제하여 collagenase에 의한 파괴를 유발할 수 있다. 이외에 collagenase의 생성을 증가시키고 단핵구나 다핵구의 기능을 억제하는 작용도 한다.

10. Prolyl hydroxylase inhibitor³²

전구교원질이 형성된 후 lysyl 또는 prolyl residues hydroxylation등의 posttranslational 변형을 거치게 되는데 이 과정을 방해함으로써 triple helix가 unstable하게 되어 쉽게 파괴되고, secretion에도 제한을 받게된다. 이에 속하는 제제로서 desferiprone, pyridine 2, 4-dicarboxylic acid(2, 4-PDCA)와 이의 derivative인 HOE077등이 알려져 있다.

결론적으로 바이러스학이나 면역학등과 같은 기존의 연구방법과 더불어 간섬유생성에 대한 연구를 시행함으로써 국내에서 중요한 성인병중의 하나인 간경변증으로의 진행을 어느 정도 억제할 수 있을 것이라고 기대된다.

참 고 문 헌

- Rojkind M, Giambrone M-A, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterology* 1979;76:710-719.
- Gressner AM, Bachem MG. Cellular sources of noncollagenous matrix proteins:role of fat storing cells in fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1990;10:30-46.
- Bissel DM. Cell matrix interaction and hepatic fibrosis. *Prog Liver Dis* 1990;9:143-155.
- Martinez-Hernandez A. The hepatic extracellular matrix. II. Electron immunohistochemical studies in rats with CCl₄ induced cirrhosis. *Lab Invest* 1985;53:166-186.
- Maher JJ, Friedman SL, Roll FJ, Bissel DM. Immunolocalization of laminin in normal rat liver and biosynthesis of laminin by hepatic lipocytes in primary culture. *Gastroenterology* 1988;94:1053-1062.
- Ramadori G, Knittel T, Odenthal M, Schwogler S, Neubauer K, Meyer zum Buschenfelde KH. Synthesis of cellular fibronectin by rat liver fat storing cells:regulation by cytokines. *Gastroenterology* 1992;103:1313-1321.
- Schwogler S, Odenthal M, Meyer zum Buschenfelde KH, Ramadori G. Alternative splicing products of the tenascin gene distinguish rat liver fat storing cells from arterial smooth muscle cells and skin fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;16:768-775.
- Schuppan D. Structure of the ECM in normal and fibrotic liver:collagens and glycoproteins. *Semin Liver Dis* 1990;10:1.
- Pinnell SR, Martin GR. The crosslinking of the collagen and elastin:enzymatic conversion of lysine in peptide linkage to allysine by an extract from

- bone. Proc Natl Acad Sci USA 1968;61:708-714
10. Petruska JA, Hodge AJ. A subunit model for the tropocollagen macromolecule. Proc Natl Acad Sci USA 1964;51:871
 11. Chojkier M. Therapeutic strategies of hepatic fibrosis. Hepatology 1988;8:176-182.
 12. Ruoslahti E, Pierschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrin. Science 1987; 238:491-497
 13. Martinez-Hernandez A, Amenta PS. The hepatic ECM II. Ontogenesis, regeneration and cirrhosis. Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol. 1993; 423:77
 14. Wake K. "Sternzellen" in the liver:perisinusoidal cells with special reference to storage of vitamin A. Am J Anat 1971;132:429-462.
 15. Friedman SL. The cellular basis of hepatic fibrosis. N Engl J Med 1993;328:1828-1835.
 16. Bedossa P, Houglum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen $\alpha_1(I)$ gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury:A link to tissue fibrosis. Hepatology 1994;19:1262-1271.
 17. Gressner AM, Lahme B, Brenzel A. Molecular dissection of the mitogenic effect of hepatocytes on cultured hepatic stellate cells. Hepatology 1995;22: 1507-1518
 18. Chojkier M. Hepatocyte collagen production in vivo in normal rats. J Clin Invest 1986;78:333-339.
 19. Takahara T, Kojima T, Miyabayashi C. Collagen production in fat storing cells after CCl₄ intoxication in the rat:immunolectron microscopic observation of type I, type III collagens, and prolyl hydroxylase. Lab Invest 1988;59:509-521.
 20. Friedman SL, Roll JF, Boyles J. Hepatic lipocytes. the principal collagen producing cells of normal rat liver. Proc Natl Acad Sci USA. 1985;82:8681- 8685.
 21. Gressner AM, Lotfi S, Gressner G, Lahme B. Identification and partial characterization of a hepatocyte derived factor promoting proliferation of cultured fat storing cells. Hepatology 1992;16:1250-1266.
 22. Matsuoka M, Pham N-T, Tsukamoto H. Differential effect of interleukin 1 alpha, tumor necrosis alpha, and transforming growth factor beta 1 on cell proliferation and collagen formation by cultured fat storing cells. Liver 1989;9:71-78.
 23. Bachem MG, Meyer D, Melchior R, Sell K-M, Gressner AM. Activation of rat liver perisinusoidal lipocytes by transforming growth factors derived from myofibroblast like cells:a potential mechanism of self perpetuation in liver fibrogenesis. J Clin Invest 1992;89:19-27.
 24. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factor 1 and in chronic liver disease:Effect of interferon alfa therapy. N Engl J Med 1991;324:933-940.
 25. Pinzani M, Gesualdo L, Sabbah GM, Abboud HE: Effect of PDGF and other polypeptide mitogens on DNA synthesis and growth of cultured rat liver fat storing cells. J Clin Invest 1989;84:1786-1793.
 26. Solis-Herruzo JA, Brenner DA, Chojkier M. Tumor necrosis factor inhibits collagen gene transcription and collagen synthesis in cultured human fibroblast. J Biol Chem 1988;263:5841-5845.
 27. Houglum K, Brenner DA, Chojkier M. d -Tocopherol inhibits collagen 1(I) gene expression in cultured human fibroblast. J Clin Invest 1991;87: 2230-2235.
 28. Houglum K, Bedossa P, Chojkier M. TGF and collagen 1(I) gene expression are increased in hepatic acinar zone 1 of rat with iron overload. Am J Physiol 1994;267:G908-G913.
 29. Lee KS, Buck M, Houglum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF and collagen

- type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression. *J Clin Invest* 1995;96:2461-2468.
30. Friedman SL, Wei S, Blaner WS. Retinol release by activated rat hepatic lipocytes: regulation by Kupffer cell conditioned medium and PDGF. *Am J Physiol* 1993;264:G947-G952.
31. Davis BH, Coll D, Beno DWA. Retinoic acid suppresses the response to PDGF in human hepatic Ito cell like myofibroblasts. *Biochem J* 1993;294: 785-791.
32. Hanauske-Abel HM. Prolyl 4 hydroxylase, a target enzyme for drug development: design of suppressive agents and the in vitro effects of inhibitors and proinhibitors. *J Hepatol* 1991;13(Suppl 3):S8-S16.