

內毒素投與로 因한 急性 肝壞死의 超微形態學的研究

안동 성소병원 병리과

김 정 희

계명대학교 의과대학 병리학교실

정재홍

경북대학교 의과대학 병리학교실

서인수

=Abstract=

An Ultrstructural Study on the Acute Hepatic Necrosis Induced by Endotoxin

Jung Hee Kim, MD

Department of Pathology
Andong Presbyterian Hospital

Chai Hong Chung, MD

Department of Pathology Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea

In Soo Suh, MD

Department of Pathology Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea

The author has carried out an ultrastructural study on the morphological changes in the rat liver induced by endotoxin to clarify the disease process and mechanisms involved of endotoxin-induced hepatocellular injury and the reactions of Kupffer cells to the administered endotoxin. The experimental animals were divided into two groups: the first group, animals were given endotoxin through tail vein(a) and another group, through portal vein(b). Animals were sacrificed 30 minutes, 1, 2, 4, 8, and 24 hours after injections of endotoxin. Livers were extirpated and examined by light and electron microscopy.

The results obtained were summarized as follows:

The tail vein group(a) revealed sinusoidal microthrombi, endothelial detachment, widening and hemorrhages of Disse space together an infiltration of polymorphonuclear leukocytes, in early phase of hepatocellular injury. Destruction of Kupffer cells, imbibition of sinusoidal material into the hepatocytes, and hepatocytic necrosis were observed 2 hours after endotoxin administration.

The portal vein group(b) showed increased phagocytic activity of Kupffer cells, however, no hepatic necrosis nor microthrombi formation.

It can be concluded, therefore:

That judging from the results of experimental study, the Kupffer cells react to the endotoxin reached to the liver by the functions of phagocytosis, clearance, and inactivation of endotoxin through the release of intracytoplasmic lysosomal enzymes and opsonin-like material.

The disease processes and mechanisms involved of hepatocellular injury found in the endotoxemia state may be stated that firstly, difficulty in clearing and removing of the endotoxin from the liver due to impaired peripheral circulation; secondly, ischemia of hepatic cells brought about by the generalized disseminated intravascular coagulation; thirdly, loss of Kupffer cell function to detoxify the endotoxin rendered by the loss of energy to reduced circulation.

서 론

Gram 음성균의 감염으로 유발되는 내독소(endotoxin) 혈증에 대해서는 1951년 Waisbren¹⁾에 의해 처음으로 내독소 혈증으로 shock에 빠진 환자의 증상 및 경과가 보고되었으며, 그 이후 감염된 혈액을 수혈한 경우²⁾, 혹은 catheterization 등의 술식에 의한 의원성 중증감염³⁾ 등으로 초래되는 endotoxin shock에 대한 보고들이 있었으며, 최근들어 항생제의 남용으로 약제에 내성이 생긴 gram 음성균 감염 및 이로 인한 사망의 빈도가 증가하고 있어⁴⁻⁷⁾, gram 음성균의 감염에 대한 관심이 높아가고 있다.

Gram 음성균의 감염에서 독성을 나타내는 인자로 알려진 내독소는 균체의 세포벽에 존재하는 일종의 lipopolysaccharide(LPS)⁸⁾로서, 최근 내독소의 검출 및 정제방법이 발달함에 따라 보다 순수한 LPS의 추출이 가능하게 되어, 균체보다는 LPS를 투여하여 내독소의 효과를 알아보려는 실험적 시도가 많아지고 있다¹⁰⁻²³⁾. 그러나 다수의 연구에도 불구하고 내독소 독성에 관한 분자생물학적 기전은 규명되어 있지 않다.

현재까지 알려진 내독소의 생체에 대한 작용이나 유발시키는 반응으로는 발열작용¹⁰⁻¹²⁾, 보체계 활성¹³⁾, 혈소판 응집 및 혈소판에서의 factor III 분비 유도¹⁴⁾, 응고기전증 factor III의 활성 유도¹⁵⁾, 등으로 혈전형성을 유발하며, 진행하면 파종성 혈관내 응고증(DIC)이 초래되기도 한다¹⁶⁾. 또한 histamine, serotonin, kinin 등 vasoactive substance의 분비를 유발하여 말초혈관의 수축, 확장, 투과성등의 변화를 일으키고, 혈압강하 및 말초조직의 혈관성 상해를 유발하며¹⁷⁾ 심장기능을 저하시킨다¹⁸⁾. 상기한 내독소의 작용으로 유발되는 반응은 서로 연관성이

있어 한가지 반응으로 연쇄적인 반응이 초래되므로, 결국 전신적인 영향을 미치게 되어, 전신장기의 손상(multiorgan failure)¹⁹⁾을 유발하게 되는데 특히 신²⁰⁾, 폐²¹⁾, 간^{22,23)} 등의 장기에 대한 손상이 비가역적 shock의 유발과 관계된다.

Braude 등²⁶⁾과 Braude 등²⁷⁾은 방사능 동위원소 표지법을 이용하여 투여된 내독소의 대부분이 주로 간에서 판찰되고 있어 내독소혈증시 표지가 되는 장기를 간이라 하였으며, Cremer 등²⁸⁾과 Rubenstein 등²⁹⁾도 면역형광 형체법을 이용하여 투여된 내독소의 대부분이 간등의 세 망내피계(RES)에 존재한다고 하여 간이 내독소를 제거하거나, 아니면 내독소에 의해 간이 파괴된다는 것을 간접적으로 시사하였다. 투여된 내독소가 RES에서 제거된다는 가정은 Beeson³⁰⁾에 의해 처음으로 제시되었으며 Ben-acerraf 등³¹⁾과 Biozzi 등³²⁾도 같은 내용의 보고를 하였다. Rutenberg 등³³⁾은 내독소 제거에 주된 기능을 하는 것은 간파 비장으로 한정하였으며, Cuevas³⁴⁾는 간의 문맥경맥으로 직접 내독소를 투여할 때 간조직 및 전신손상이 적음을 판찰하여 간의 해독능력을 입증하였다. 그 외에도 Tripani 등³⁵⁾과 Waravdekar 등³⁶⁾은 간의 homogenate에 내독소를 넣으면 내독소가 비활성화되는 것을 보고 간조직내에 내독소를 무독화시키는 물질이 있을 것으로 보고하였다.

따라서 간은 혈류로부터 도달한 내독소의 제거에 중심이 되는 장기일 뿐만 아니라, 내독소에 의해 간조직 자체가 손상을 받음으로서 유해한 물질이 방출되어 전신적인 shock을 유발하기도 하는^{24,25)} 양면성을 가지고 있어 간의 내독소에 대한 손상 및 내독소 제거 기능을 규명한다는 것은 endotoxin shock에서의 간의 역할을 이해하는데 도움이 될 것이다.

그러나 이러한 간의 내독소 제거나 해독 능력이 있다하여도 전신으로 내독소가 투여될 때 상기한

multiorgan failure theory¹⁹⁾에 의해 간도 손상을 받게 되는데 이때 간, 특히 간세포의 손상기전에 대해서는 아직도 논란이 많으며 아직 확실히 규명되어 있지 않다. 간의 내독소에 의한 손상이 간세포 mitochondria의 호흡기능 및 인산화 반응의 장애^{37~39)}, 당대사에 관여하는 효소기능 저하로 초래되는 당대사장애^{40,41)} 등 간세포에 직접적인 영향을 끼치는 것도 있지만 주된 손상기전은 DIC로 인한 유동내 혈류장애로 오는 혈액성 손상^{42,43)}과 Kupffer 세포의 파괴로 유리되는 lysosome 내 분해효소에 의한 파괴⁴⁴⁾ 등을 들고 있다.

Mori 등⁴⁵⁾은 동량의 내독소를 전신혈류와 문맥정맥을 통해 주사한 뒤 간의 형태학적 변화를 관찰하였는데 그 결과 문맥정맥을 통해 직접 내독소를 조사한 경우 간의 손상이 미약하였으며 사망율도 매우 낮았다고 하였다. 또한 Cuevas 등³⁴⁾도 문맥정맥을 통해 내독소를 투여했을 때 간손상이 적었다고 보고하여 이러한 내독소의 투입경로에 따른 간손상의 기전을 이해하는 것이 내독소로 인한 전신성 shock을 이해하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 그러나 Cuevas 등³⁴⁾이나 Mori 등⁴⁵⁾의 연구는 생화학적 검사나 혈중 내독소 농도 측정을 주로 한 결과이며, 형태학적 변화에 대한 것은 Mori 등⁴⁵⁾이 행한 광학현미경 수준에 그치고 있으며 이에 대한 미세형태학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

그래서 저자는 상기한 문헌적 지견을 기반으로 하여 내독소의 투입경로에 따른 간손상을 형태학적으로 관찰하고자 전신혈류와 문맥정맥을 통하여 동량의 내독소를 투여한 뒤 초래되는 간의 변화를 간질세포와 Kupffer 세포를 중심으로 관찰하여, 내독소와 Kupffer 세포 및 간세포와의 상관관계 및 내독소에 의한 간세포 상해기전의 일 단을 알아보기자 이 실험을 계획하였다.

재료 및 방법

실험 동물: 체중 280~330gm 되는 Sprague-Dawley 종 흰쥐 수컷을 일정기간 사용하여 건강이 양호하다고 인정되는 것을 골라 실험에 사용하였다.

실험 방법: 실험군은 생리식염수를 투여한 대조군과 내독소 투여군으로 나누었다. 대조군은 0.5ml의 생리식염수를 미정맥을 통하여 주사한 것과 복부를 절개하고 문맥정맥에 직접 주사한 2가지 군으로 나누었다. 내독소 투여군에서는 내독소(E-coli, 0111 : B4, No. L-2630, lipopolysaccharide, Sigma, USA)를 생리식염수에 10mg/ml의 농도

로 용해하여 체중 1kg 당 5mg의 양을 미정맥과 문맥정맥을 통하여 주입하였으며, 각 동물은 내독소 투여 후 30분, 1, 2, 4, 8 및 24시간째 도살하여 간조직을 채취하였으며, 이때 각 실험군의 동물수는 24시간군은 실험동물을 10마리 사용하였으며, 나머지는 각 5마리씩을 사용하였다. 채취된 간조직의 광학 및 전자현미경적 검색 방법은 다음과 같다.

광학현미경적 검색 자료는 전자현미경적 검색 시료를 채취한 나머지를 모두 이용하였다. 시료는 10% 중성 포르말린에 고정하고 파란편에 포매한 후 3~4 μm의 박절편으로 하여 Hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다.

전자현미경적 검색은 실험동물을 관찰시간에 도달하여 간조직을 즉시 채취한 뒤, 1mm³의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 0~4°C)에 2시간 전고정하고, phosphate buffer(0.1M, pH 7.4)로 세척하였으며, 1% O₂O₄ 용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간동안 후고정한 다음 phosphate buffer(0.1M, pH 7.4)로 세척하고 계열 ethanol로 탈수하였으며, propylene oxide로 치환하여 Luft 방법⁴⁶⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하고 포매된 조직은 1μm 두께로 박절하여 alkaline toluidine blue 염색을 하여 관찰부위를 결정한 다음 diatome knife를 사용하여 Porter-Blum MT-2B ultramicrotome으로 두께 40~60nm로 초박절하여 Reynolds 방법⁴⁷⁾에 의해 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 한 후 Hitachi H600-A 전자현미경으로 가속전압 75kv에서 관찰하였다.

성 적

임상적 소견: 내독소의 미정맥 주사 군에서 동물들은 2시간후부터 움직임이 둔해졌고, 활동량이 줄어 들었으며, 한곳에 가만히 웅크리고 있었다. 4시간 군에서 5마리 중 2마리가 사망하였으며, 나머지 동물들도 움직임이 없는 상태를 지속하였다. 24시간 군에서는 10마리 중 6마리가 사망하였다.

문맥정맥을 통하여 내독소를 주입한 군에서는 복부 절개 및 봉합중 실시한 마취에서 깨어나면서 점차 상태가 회복되어 2시간후부터 활발히 움직였으며, 8시간째 1마리에서 문맥정맥을 통한 실혈로 인한 사망을 제외하고는 도살시간전 사망한 동물은 없었다.

병리학적 소견

A. 육안적 소견: 생리식염수 대조군에서는 정상의 간조직과 별다른 차이점이 관찰되지 않았다. 내

독소 투여군중 미정액 주사군에서는 내독소 투여후 2시간부터 심한 울혈이 판찰되었으며, 다수의 작은 익혈점들이 간 표면에 있었다. 이러한 소견은 시간이 경과함에 따라 더욱 현저하였다. 내독소의 문맥 정액 주사군은 육안적으로 생리식염수 대조군과 유사한 양상을 보였으며, 익혈점들은 판찰되지 않았다.

B. 광학현미경적 소견 : 생리식염수 대조군은 말초혈관 주사군 및 문맥정액 주사군 모두에서 병적 소견은 판찰되지 않았다.

내독소의 미정액 주사군은 30분후부터 유동의 확장과 충혈이 있었고 이는 중심정액 주변부에 더욱 현저하였으며, 중심정액과 문맥정액의 울혈이 동반되어 있었다. 간세포는 경미한 부종을 보였으며, 유동내에는 호중구의 침윤이 판찰되었다. 내독소 투여후 1시간군에서 상기한 울혈과 호중구의 침윤이 현저해졌으며, 간세포의 한국성괴사도 판찰되었다. 내독소 투여후 2시간군에서는 유동의 울혈이 매우 심하였고, 출혈과 괴사를 동반한 끝이 판찰되었다. 이러한 간의 출혈성 괴사는 중심정액 주변 및 중간 지역(midzonal area)에서 자주 판찰되었으며 간혹 문맥주변에서도 나타났다. 내독소투여 4시간 이후의 실험군은 심한 울혈과 출혈성 괴사가 더욱 심하여졌으며, 간은 전반적으로 심한 hydrophic degeneration과 출혈성 괴사로 인한 pyknosis, karyorrhexis, karyolysis 등의 핵의 변화를 동반하였다. 더불어 유동내에 미세 혈전의 형성이 판찰되었다 (Fig. 1, 2).

내독소의 문맥정액 주사군은 실험군 전반에 걸쳐 간세포의 배열에는 이상이 없었으며, 미정액 주사군에서와 같은 출혈성 괴사는 판찰되지 않았다. 내독소투여후 30분군에서 경미한 Kupffer 세포의 증가가 있었으며, 1시간후 경한 호중구 침윤이 판찰되었다. 8시간군 중 1마리에서 간에 한국성 괴사가 판찰되었으나 내독소투여 후 1일군에서는 경한 Kupffer 세포의 증식외에는 별다른 이상 소견이 판찰되지 않았다(Fig. 3, 4).

C. 전자현미경적 소견 :

생리식염수 대조군 : 유동은 주로 2가지의 세포로 구성되었는데, 핵이 타원형이며, 비교적 납작하고, 세포질의 돌기를 절개 내었으며, 세포질내 소기관의 발달은 미약하나, 다수의 pinocytotic vesicle을 가진 내피세포와 핵의 크기가 크고 indentation 되었으며, 세포질이 비교적 풍부하였고 소기관 특히 primary lysosome이 많은 Kupffer 세포가 판찰되었다. 이를 유동을 구성하는 세포는 세포사이에 fenestration이 있어 유동벽과 간세포사이의

Disse 강에는 유동과 서로 통하여 있었다. 유동에는 상기한 2가지세포 외에도 둥근 지방적을 주로 가지고 있으나 세포 소기관의 발달은 미약한 지질세포(lipocyte)가 판찰되었다. 유동내에는 혈장성분으로 생각되는 미세파립상의 물질이 전반적으로 분포하였다며, 간혹 적혈구와 드물게 백혈구들이 판찰되었다. Disse 강내에는 적혈구나 다른 염증세포는 없었고 유동내의 혈장성분과 유사한 미세파립상의 무정형 물질들이 판찰되었다. Disse 강을 면한 간세포의 표면은 무수한 잘 발달된 microvilli(MV)가 있었는데 이들의 길이나 분포는 다소 부위에 따라 차이가 있었다. 간세포는 다른 연구자들이 이미 판찰한 정상의 간세포와 같은 구조¹⁰⁾를 나타내었다. 즉 핵은 둑글고 세포의 중심에 위치하며, euchromatin이 풍부하고 간혹 핵소체가 있었다. 세포질에는 잘 발달된 풍부한 소기관들이 있었는데 특히 RER과 mitochondria가 풍부하였고, glycogen과 림들은 고루 분포되었으며, SER, Golgi 장치 및 peroxisome로 자주 판찰되었으며 간혹 primary lysosome들이 있었는데 이들은 주로 bile canaliculi 주변에 있었다. 간세포 사이의 혈질막은 적선상으로 평평하였으며 매우 밀접하게 붙어 있었고, 세포 사이에 있는 bile canaliculus를 면한 곳에는 다소의 MV가 판찰되었다.

내독소 투여군 :

미정액 투여군

1) 내독소 투여후 30분 : 유동벽을 구성하는 내피세포는 세포질의 부종과 세포질내 소포의 증가를 나타내었고 세포사이의 fenestration이 불규칙하게 확장되어 있었다(Fig. 5). Kupffer 세포는 secondary lysosome이 증가되었고 긴 세포질 돌기를 내고 있었으며 세포질내 RER이 다소 증가되어 있었다. 간혹 혈소판이 유동내에 있는 것이 판찰되었다(Fig. 6). Disse 강을 면한 끝의 간세포의 표면은 MV의 blunting과 shortening을 나타내었고 간세포는 경한 ER의 확장과 지방적의 증가 및 glycogen과 림의 감소를 나타내었다(Fig. 5, 6).

2) 내독소 투여후 1시간 : 내피세포의 부종이 더욱 심해졌으며. 내피세포의 파괴와 내피세포사이의 fenestration의 확장이 현저하였으며, 간혹 유동벽의 파괴로 적혈구가 확장된 Disse 강내에 존재하는 것이 판찰되었다(Fig. 7). 유동은 전반적으로 확장되어 있었고 유동내에는 혈소판과 fibrin 양상의 물질이 엉긴 미세혈전형성이 판찰되었으며, 이때 혈소판은 탈파립의 소견을 나타내었다. 유동내의 Kupffer 세포는 30분군에서 보다 더 복잡한 세포돌

기의 형성과 secondary lysosome의 증가를 나타내었으며, 세포질내 소포의 형성도 관찰되었다(Fig. 8). Disse 강을 면한 간세포의 표면은 MV의 수가 감소되었고, flattening되어 있었으며 모양이 불규칙해지고, 끌이 풍특해진 것도 자주 관찰되었다. 이러한 MV의 소실은 내피세포의 파괴로 적혈구등에 의해 침윤된 Disse 강을 면한 곳에서 더 자주 관찰되었다(Fig. 7, 11). 간혹 MV가 서로 융합되어 Disse 강내의 혈장성분이나 기타 물질을 간세포내로 endocytosis하는 것이 관찰되었다(Fig. 9). 간세포는 심한 부종과 RER의 확장과 ribosome의 탈락 및 free ribosome의 증가를 나타내었다. 또한 mitochondria의 경한 종창과 glycogen과립의 감소도 관찰되었으며, bile canaliculus 주변을 중심으로 secondary lysosome이 증가되었다(Fig. 10). 많은 간세포에서 단일막으로 싸인 소포가 세포질내에 생겼는데 이들은 간혹 내강에 미세립자상의 물질을 함유하고 있었으며 주변부의 세포질은 부분적인 세포기관의 파괴를 나타내었다(Fig. 11).

3) 내독소 투여후 2시간: 유동액의 내피세포의 파괴가 매우 현저해졌으며 유동보다는 오히려 Disse 강이 더 넓게 확장되어 그 속에 적혈구나 fibrin이 들어 있었다. 유동내에는 많은 중성백혈구들이 침윤하였으며 이들은 탈파립의 소견을 나타내고, 여러 가지 이물질을 탐식한 양상을 나타내었다(Fig. 12). 또한 혈소판과 세섬유상 물질로 구성된 미세혈관에 의해 유동이 거의 막힌 곳이 자주 관찰되었으며 이러한 부위의 간세포 표면은 MV의 소실과 막의 파괴 및 표면으로부터 간세포내로 유입된 물질들을 함유한 작은 소포가 자주 관찰되었다(Fig. 13, 14). 간세포는 Disse 강을 면한 곳의 형질막의 파괴와 함께 mitochondria의 종창 및 모양의 불규칙화를 보였고, 심한 ER의 확장과 세포 소기관의 파괴를 보였으며 세포질내 소포 형성을 나타내었다. 또한 변성이 심한 세포에서 세포질내에 세포소기관이 없이 유동내의 물질과 유사한 전자밀도 및 형태를 가진 세립자상의 무정형의 물질로 차인 부위가 관찰되었으며 간혹 무정형의 물질과 fibrin이 같이 존재하여 유동내의 혈장성분이 간세포로 침영한 것을 시사하는 소견이 있었다(Fig. 15). 또한 그런 부위의 간세포는 ER의 확장과 secondary lysosome의 증가가 있었으며 mitochondria는 기질의 농축현상을 보였다. 간혹 유동내에 파괴된 간세포를 탐식한 Kupffer 세포가 관찰되었으며, 이러한 파괴된 세포간에는 광학현미경 하에서 관찰된 acidophilic body로 생각되었다(Fig. 16). Kupffer 세포내에 탐식된

물질중에 3층으로된 구조의 막성 구조물들이 관찰되었는데 이는 정등⁴⁹⁾에 의해 보고된 내독소의 LPS 물질과 구조나 전자밀도등이 유사한 것으로 생각되었다(Fig. 17). Kupffer 세포의 세포질내에 공포가 많아졌으며, Kupffer 세포의 파괴가 자주 관찰되었으며, 이와 더불어 중성백혈구의 파괴로 관찰되었다. Kupffer 세포의 세포질돌기는 오히려 감소하였다.

4) 내독소 투여후 4시간: 내피세포의 파괴와 유동의 확장, 울혈, 미세혈관 형성, 중성백혈구 침윤이 현저하였으며, Kupffer 세포의 파괴 역시 자주 관찰되었다. Disse 강내에 적혈구가 많이 존재하였고, 유동의 확장으로 간세포는 위축되고 변성되었으며, 세포질내 세파립상의 유동내 물질이 침영된 것이 자주 관찰되었으며, 더불어 적혈구의 간세포내 침영도 관찰되었다(Fig. 18, 19). 이러한 간세포의 핵은 pyknosis를 보이며 세포소기관이 파괴된 비가역적인 상해의 소견을 나타내었다(Fig. 19, 20).

5) 내독소 투여후 8시간: 간세포의 세포질내로 유동내 물질 및 적혈구의 침영(imbibition)이 전반적으로 나타났으며, 간세포의 파괴가 현저하였다. 유동내에는 Kupffer 세포의 파괴, 미세혈관 형성, 중성백혈구의 침윤 및 파괴등 4시간군에서 관찰된 소견이 좀더 진행된 상태로 관찰되었다.

6) 내독소 투여후 24시간: 상기한 내피세포의 파괴, 유동의 확장과 울혈, 미세혈관 형성, Kupffer 세포의 파괴가 현저하였으며, 간세포내 적혈구 및 유동내 물질의 침영 역시 이전시간의 실험군보다 다소 진행되었다.

문맥정맥 투여군:

1) 내독소 투여후 30분: 유동액을 구성하는 내피세포의 세포질은 비교적 잘 유지되었으며, Kupffer 세포의 수가 증가하였다. Kupffer 세포는 많은 세포질의 돌기를 내고 풍부한 세포소기관을 가지고 있었으며, primary lysosome와 secondary lysosome의 증가를 보았다. 간세포는 경한 RER의 확장과 SER의 증가 지방적의 증가를 나타내었으나 다른 소기관의 이상은 관찰되지 않았다.

2) 내독소 투여후 1시간: 내피세포의 종창이 간혹 관찰되었으나 fenestration의 확장이나 내피세포의 파괴는 관찰되지 않았다. 유동에는 Kupffer 세포가 풍부한 세포질과 복잡한 세포질 돌기를 나타내었고, 간혹 중성백혈구가 관찰되었으나 탈파립의 양상은 보이지 않았다. 유동의 확장이나 미세혈관 형성은 관찰되지 않았다(Fig. 21, 22). 간세포는 RER의 확장과 secondary lysosome의 증가를 보였으며 지방

적의 증가가 관찰되었다(Fig. 23).

3) 내독소 투여후 2시간 : Kupffer 세포는 수가 다소 증가하였으며, 현저한 세포질의 증가와 secondary lysosome의 증가를 나타내었다. 이를 lysosome 내에는 미정맥 투여시 관찰한 것과 유사한 막성 구조물들이 관찰되었다(Fig. 24). 간세포는 ER의 종창과 free ribosome의 증가, 그리고 경한 mitochondria의 부종을 보였으며, secondary lysosome의 증가도 나타내었다. Bile canaliculus는 다소 확장되었으며, MV는 잘 유지되었으나 내강에 막성 구조물을 가진 것이 관찰되었다(Fig. 25, 26).

4) 내독소 투여후 4시간 및 8시간 : Kupffer 세포는 전술한 2시간과 유사한 양상으로 secondary lysosome의 증가를 보였으나 세포의 파괴나 혈전 형성은 없었다. 내피세포는 경한 종창외에 진행되는 병변을 보이지 않았으며, 간세포는 Disse 강을 뮤한 곳의 MV의 경한 shortening 및 상기한 ER의 종창이나 secondary lysosome의 증가외에 특이한 변화를 보이지 않았다.

5) 내독소 투여후 24시간 : Kupffer 세포 및 유동벽의 구조는 8시간과 유사한 양상을 나타내었으며, secondary lysosome의 수가 오히려 감소한 듯이 관찰되었다. 간혹 티프구나 다핵백혈구등이 유동내에 침윤한것이 관찰되었다. 유동내에 혈전형성은 보이지 않았고 내피세포는 잘 유지되어 있었다. 간세포의 형질막 파괴는 없었으며 경한 ER의 종창과 free ribosome의 증가가 관찰되었다.

고 찰

내독소는 gram 음성균의 세포벽을 구성하는 lipo-polysaccharide-protein 복합체로서 생물학적 독성을 구성성분중 lipid A에 의해 유발된다^{50,51)}. 내독소의 생물학적 작용은 부합하며, 동물실험을 통해 치사량의 내독소 투여후 야기되는 생리학적, 생화학적 및 형태학적 변화에 대한 많은 연구가 있었다. 이중 shock을 유발하는 주된 기전으로 순환혈류장애의 초래를 들 수 있다. 즉 내독소에 의해 혈관의 운동성에 변화가 오고 혈액이 저류되며, 혈전형성이 유발되고, 교감 및 부교감신경에 작용하여 혈관의 경련이 생기고, 말초조직과 모세혈관등에 펩혈성상해와 혈액저류가 심해지며, 그 결과 심장으로 가는 혈액이 감소하여 shock에 빠지고 사망하게 된다⁵²⁻⁵⁴⁾. 실험적으로 야기된 endotoxin shock으로 사망한 동물의 부검소견은 특히 폐, 위장관 그

리고 간등에 출혈과 부종이 관찰된다^{55,56)}. 그러나 미리 소량의 내독소에 노출되어 저항성을 가진 동물에서는 치사량의 내독소를 투여해도 사망하거나 shock에 빠지지 않으며 이들에서는 장기에 출혈성 소인이 관찰되지 않는다.

이러한 동물의 내독소에 대한 저항성의 기전에 대해 여러가지 학설들이 있으며 이중 대표적인 것으로는 혈중의 내독소에 대한 항체 형성 및 이로 인한 내독소의 불활성화를 주장하는 학설과, 내독소를 불활성화 시키는 채액성분이 있다는 설, 그리고 세망내피계의 내독소 제거작용에 의한다는 설 등을 들 수 있으나 아직도 상기한 학설들중 확실히 규명된 것은 없으며 아직도 논란이 되고 있다. 내독소에 대한 항체의 형성에 대해서는 내독소의 구성성분중 O-polysaccharide가 강력한 항원성을 나타내며 소량으로도 항체생성을 유발한다⁵⁷⁻⁵⁹⁾. 항체의 생성은 내독소 투여후 3~4일만에 일어나며, 7~8일에 최고조에 달한다는 보고가 있다⁶⁰⁾. 또한 내독소는 adjuvant로 작용하여 혈중항체의 농도를 증가시키고 항체를 생성하는 세포의 수를 증가시켜 항원제거를 신속하게 하며 면역반응에서 초기의 lag phase를 짧게 하여, 혈중항체를 오래 지속시키는 효과를 나타내어 내독소에 대한 면역반응을 증가시키는 효과를 나타내기로 한다. 그러나 이러한 내독소의 면역증강효과가 있다하여도 실제 항체 생성시기와 내독소에 대한 저항력의 관계를 연구한 결과 내독소에 대한 저항력은 항체가 생성되기 이전에 이미 생겨나고, 항체가 많이 생성되는 시기에는 저항력이 저하된다는 보고가 있으며⁶¹⁾ 또한 내독소의 생체에 대한 작용은 매우 빠르게 진행되므로 내독소에 대한 저항력을 보는데 있어 내독소 투여후 3~4일부터 생성되는 항체가 내독소 제거의 초기에 직접적인 영향을 미칠 것이라는 논리는 현재 호응을 받지 못하고 있다. 다음으로 혈중에 내독소를 제거 혹은 불활성화 시킬 수 있는 채액성분이 있다는 학설은 Schultz와 Becker^{62,63)}에 의해서 heparin 처리한 혈액내에 lipase와 유사한 물질이 있어 이들이 내독소 분해 혹은 불활성화 시킬 것이라는 보고가 있으나, 아직 이러한 물질의 분리나 생화학적 구조는 밝혀져 있지 않다.

마지막으로 RES의 내독소 제거에 대해서는 많은 학자들에 의해 인정받고 있으며 실험적으로 관찰된 RES의 내독소 제거 혹은 해독작용에 대한 증거를 제시해 보면 임상적으로 간부전이 있는 환자가 endotoxin shock에 빠지는 빈도가 높고⁶⁴⁾, 만성간질환이 있는 환자의 혈액에서 대장균에 대한 항

체의 검출율이 정상보다 높으며^{65, 66)}, endotoxin shock 시 celiac ganglion 을 차단시킴으로 간으로의 혈류를 좋게 할 때 환자의 생존률이 높아진다는 보고^{67, 68)} 등에서 간과 내독소 제거와의 상관관계가 제시되고 있다. 실험적으로 Rutenberg 등⁶⁹⁾, Cuevas 등⁷⁰⁾ 및 Mori 등⁷¹⁾은 치사량의 내독소를 문맥정맥을 통해 간에 직접 주사할 경우 간의 손상이 거의 없으며, 따라서 실험동물의 사망율이 현저히 저하된다는 보고를 하였고, Reinhold 와 Fine⁷⁰⁾는 내독소에 저항성이 있는 동물에 LD₅₀에 해당하는 양의 내독소를 투여하였을 때 1시간 이내에 내독소가 제거된다는 것을 관찰하였다. 또한 Smith 등⁷¹⁾과 Filkins 등⁷²⁾은 비장과 간의 추출물 특히 lysosome 이 내독소에 대한 해독능력을 강하게 나타낸다는 보고를 하였으며, 상기한 문헌적 지견을 통해 내독소의 제거와 해독작용에는 간과 비장을 중심으로 한 세방내피계의 역할이 를 것으로 생각되나 확실한 작용기전은 아직 밝혀지지 않고 있다.

본 실험에서 관찰된 바로는 미정맥을 통해 내독소를 투여하여 전신적인 내독소 혈증을 유발한 실험군에서 내독소 투여 30분후부터 미세혈관 형성, 내피세포의 종창과 Kupffer 세포내 secondary lysosome 의 증가가 있었고, 중성다해백혈구의 침윤 및 탈파립소견이 나타났으며, 2시간후부터 심한 유동벽의 파괴와 내피세포의 탈락, 미세혈관형성, Disse 강의 확장 및 출혈 그리고 간 세포는 초기 MV 의 소실과 융합을 보이다가 차차 세포소기관의 부종, secondary lysosome 의 증가 및 microcyst 형성과 형질막의 파괴, 유동내 물질과 적혈구의 침염 및 간 세포 파괴의 소견을 나타내었으며, Kupffer 세포는 시간이 지남에 따라 세포의 둘기가 감소하고 부종을 나타내며 파괴되는 소견을 나타내었다. 이상의 성격을 미루어 볼 때 간세포의 상해는 초기 미세혈관형성과 말초혈관 순환장애로 인한 꿰혈성 상해를 받게 되며 여기에 Kupffer 세포의 손상으로 lysosomal enzyme 이 분비되어 간세포의 파괴가 초래될 것으로 생각되어 이는 Janoff 등²⁴⁾이 전신적 shock 시 lysosomal enzyme 이 혈중에 증가된다 는 보고와 일맥상통하는 점이 있다고 생각된다. Shock 시 lysosomal enzyme 의 변화에 대해 Weissman 과 Thomas⁴⁶⁾은 내독소 투여 후 5분내에 혈중에 lysosomal enzyme 이 출현하고 이는 30분경 최고에 도달한다고 하였으며, 이러한 것은 형태학적인 Kupffer 세포의 파괴 없이도 lysosome 막의 투과성 항진으로 lysosome 효소가 혈중으로 나올 것으로 추측하였으며, 이는 Rangel 등⁷³⁾의 연구에서

도 관찰되었다. 그러나 Weisman 등²⁵⁾과 Rangel 등⁷³⁾의 연구에서 내독소 투여 후 5분에 lysosome 효소가 혈중에 있었다는 것은 본 실험에서 내독소 투여 후 2시간 이후부터가 세포파괴가 관찰되었다는 점과 시간적으로 차이가 있으며, 따라서 초기 lysosome 의 증가가 간세포파괴에 직접적인 영향을 미칠지는 확실하지 않다. 또한 Rangel 등⁷³⁾은 문맥정맥으로 내독소를 주사한 경우에도 초기 lysosome 효소의 혈중 증가를 관찰하여 초기의 효소증가는 세포파괴 보다는 내독소의 해독에 더 판여 할 것으로 추측하였다.

본 실험에서도 내독소 투여 후 초기에는 미정맥 투여나 문맥정맥 투여군 모두에서 Kupffer 세포내 secondary lysosome 증가를 보였으나 시간이 갈수록 미정맥 투여군은 Kupffer 세포의 파괴를 보였으며, 반대로 문맥정맥 투여군은 왕성한 탐식능을 보였다는 점을 보아 내독소 혈증시 간세포파괴는 Kupffer 세포 파괴시 유리되는 lysosomal enzyme 과 관계될 것으로 생각되며, 초기 효소의 증가는 내독소 해독 혹은 제거에 판여 할 것이라는 Rangel 등⁷³⁾의 의견에 접근되는 점이 있다고 생각된다. 또한 미정맥을 통한 내독소 투여시 시간이 지남에 따라 Kupffer 세포의 활성이 감소하고 파괴되는 것은 내독소의 직접적인 작용외에도 심혈관계의 부전등이 판여 할 것으로 생각된다. Sweinburg 등⁷⁴⁾은 shock 시 환자의 혈액 내에 세방내피계 기능을 저하시키는 물질이 있으며 이를 leukotoxin 이라 명하였다. 이 물질은 아직 추출되지는 않았으나 shock 환자의 혈액을 건강한 동물에 주사할 경우 세방내피계 기능저하가 초래된다는 보고를 하였다. 실제 Sweinburg 등⁷⁴⁾의 주장은 완전히 지지 할 수는 없으나 본 실험에서 내독소를 미정맥을 통해 주사한 경우 Kupffer 세포파괴가 있었으며 이것이 간세포파괴와 관계되는 것을 관찰하였고 동량의 내독소를 문맥정맥을 통해 주사할 경우 Kupffer 세포의 활성은 증가하였으나 파괴되지 않은 점을 보아 전신의 내독소 혈증시 세방내피계 억제물질이 만들어질 것으로 추측되며 이에 대한 연구가 요구된다고 보아진다.

내독소의 전신적 투여후 가장 초기 변화로 내피세포의 종창이 관찰되었으며, 이어 내피세포의 탈락과 파괴 및 Disse 강내로의 출혈 및 간세포 MV 의 소실이 관찰되었다. 이러한 일련의 내피세포상해에 대해서는 McGrath 등⁷⁵⁾은 내독소의 직접적인 작용으로 인한 것으로 보았으나 그 외에도 내독소의 심혈관계 기능저하⁸⁾ 및 endotoxin shock 시 초래되는 말초혈관의 수축으로 인한 꿰혈성상해⁷⁶⁾와 미세

혈전형성을 하는 DIC¹⁶⁾등이 같이 작용할 것으로 생각된다. 또한 이러한 내피세포의 상해로 Disse 강이 확장되고 유동내 물질파 적혈구등이 Disse 강으로 유입되며 이어 간세포의 MV 변화가 초래된다고 생각된다. 또한 endotoxin shock 가 지속되면 간세포의 당대사장애^{40,41)}, ATP 생성장애³⁷⁻³⁹⁾로 인한 energy의 고갈로 간세포 형질막의 투과성변화가 야기되어 세포소기관의 부종이 생기며, 더욱 진행하여 형질막의 파괴가 오면 결국 비가역적 손상에 도달한다고 생각되어 이러한 변화는 팝혈성 상해나 출혈성 shock 시에도 관찰될 수 있는 변화이다³⁹⁾. 그러나 본 실험에서 관찰된 적혈구나 유동내 물질의 간세포내 침입은 상기한 팝혈성 상해시 잘 볼 수 없는 변화로 내독소에 의한 특징적인 변화로 생각된다. 내독소 투여후 MV의 소실과 fusion이 초기에 관찰되었는데 이러한 MV의 변화 특히 fusion으로 유동내 물질이 간세포내로 침입되어 이로 인해 간세포에 변화가 초래되고, 또한 간세포형질막에 변화가 초래되어 적혈구등의 큰 고형물질 또한 세포내로 침투될 것으로 생각되며 이러한 것이 간세포괴사에 한 부분으로 나타난 현상이라고 보아진다.

문맥정맥으로 내독소를 투여한 실험에서 Kupffer 세포는 탐식능의 항진과 secondary lysosome의 증가를 보였으나 세포의 파괴는 없었고, 내피세포의 탈락이나 간세포괴사가 일어나지 않았으며, 유동내에 Kupffer 세포와 유사한 단핵구의 침윤이 자주 관찰되어 혈중의 세망내피계 세포들이 침윤됨을 알 수 있었다. 이러한 결과에서 Kupffer 세포의 내독소에 대한 작용은 내독소의 직접적인 탐식외에도 lysosomal enzyme의 분비로 인한 내독소 불활성화와 혈중 염증세포에 대한 어떠한 message를 전달하는 일종의 processing에 관여할 것으로 생각되어, Sabai 등⁷⁶⁾, Yamada 등⁷⁷⁾이 보고한 바와 같이 opsonin의 생성으로 관여할 것으로 생각된다.

상기한 문헌적 지견을 바탕으로 본 실험에서 관찰된 결과를 종합하면 전신혈류를 통한 내독소 투여시 endotoxin shock 초기에 말초순환장애로 간으로의 혈행이 장애되고 이어 순환기 장애와 DIC등이 초래되어 간에 팝혈성 상해가 오며, 말초혈류 장애로 간으로의 내독소 유입이 적고 대신 신체 다른 장기 즉 폐, 신장, 심장등 주요 장기에 상해가 초래되며, leukotoxin등에 의해 Kupffer 세포의 기능이 저하되고, 팝혈성 상해로 energy 생성이 장애되어 결국 Kupffer 세포가 파괴되어 이들이 부합적으로 작용하여 간세포가 파괴될 것으로 생각된다. 반면 문맥정맥을 통한 내독소 투여시에는 투여된 대부

분의 내독소가 전신혈류에 노출되기 앞서 Kupffer 세포에 노출되어 대부분이 탐식되거나 혹은 Kupffer 세포에서 나온 lysosomal enzyme에 의해 해독, 불활성화의 과정을 거쳐 면역계 및 기타 세망내피계에 노출되므로 전신적 shock의 반응이 초래되지 않을 것으로 생각된다.

要 要

내독소 투여후 야기되는 간세포상해의 기전과, 내독소에 대한 Kupffer 세포의 작용을 형태학적 측면에서 알아보자 미정맥과 문맥정맥을 통해 동량의 내독소를 주사하고 30분, 1, 2, 4, 8 및 24시간후에 간조직을 채취하여 광학 및 전자현미경적으로 관찰하였다.

결과를 요약하면, 미정맥으로 내독소를 주사한 실험군에서 초기부터, 유동내 미세혈전형성, 내피세포의 탈락, Disse 강의 확장과 출혈, 다해백혈구의 침윤이 있었고 2시간후부터, Kupffer 세포의 파괴와 유동내 물질의 간세포내 침입 및 간세포괴사가 관찰되었다. 문맥정맥을 통한 내독소 주사군에서는 Kupffer 세포의 탐식 능 항진이 관찰되었으나 간세포괴사나 혈전형성은 없었다.

이상의 성적으로 보아 내독소에 대한 Kupffer 세포의 작용은 내독소의 탐식 및 제거, lysosomal enzyme에 의한 내독소의 불활성화 외에도 opsonin 분비등이 있으며, 전신 내독소 혈증시 간세포 상해의 기전은 말초혈관 수축으로 간에서의 내독소 제거가 장애되며, DIC등도 초래되어 말초순환장애가 가중되어 팝혈성 상해가 오고, 이어 energy 고갈로 인한 Kupffer 세포 파괴가 같이 작용하여 간세포괴사를 유발할 것으로 생각된다.

参考文献

1. Waisbren BA: Bacteremia due to Gram-negative bacilli other than *Salmonella*. A clinical and therapeutic study. *Arch Intern Med*, 1951; 88: 467-488.
2. Borden CW, Hall WH: Fatal transfusion reactions from massive bacterial contamination of blood. *N Engl J Med* 1963; 269: 709-713.
3. Shubin H, Weil MH: Bacterial shock, A serious complication in urological practice. *JAMA* 1963; 25: 850-853.

4. Wolff SM, Bennett JV: Gram-negative-rod bacteremia. *N Engl J Med* 1974; 291: 773-734.
5. Finland M: Changing ecology of bacterial infections as related to antibacterial therapy. *J Infect Dis* 1970; 122: 419-431.
6. Simmons HE, Stolley PD: This is medical Progress?: trends and consequences of antibiotic use in the United States. *JAMA* 1974; 227: 1023-1028.
7. Myerowitz RL, Medeiros AA, O'Brien FF: Recent experience with bactillemia due to gram-negative organisms. *J Infect Dis* 1971; 124: 239-246.
8. Elin RJ, Wolff SM: Bacterial endotoxins. In *Handbook of Microbiology*, (ed) AI Laskin, II, A Lechevalier, CRC, Cleveland, 1973, pp 215-239.
9. Yin ET, Galanos C, Kinsky S, et al: Picogram-sensitive assay for endotoxin: Gelation of Limulus polyphemus blood cell lysate induced by purified lipopolysaccharides and lipid A from Gram-negative bacteria. *Biochem Biophys Acta* 1972; 261: 284-289.
10. Benett IL Jr, Petersdorf RG, Keene WR: The pathogenesis of fever: Evidence for direct cerebral action of bacterial endotoxin. *Trans Assoc Am Physicians* 1957; 60: 64-72.
11. Wood WM Jr: Studies on the cause of fever. *N Engl J Med* 1958; 258: 1023-1031.
12. Dinarello CA, Goldin NP, Wolff SM: Demonstration and characterization of two distinct human leuckocytic pyrogens. *J Exp Med* 1974; 139: 1369-1381.
13. Fine DP: Activation of the classic and alternate complement pathways by endotoxin. *J Immunol* 1974; 112: 763-769.
14. Horowitz HL, Des Prez RM, Hook EW: Effects of bacterial endotoxin on rabbit platelets. II. Enhancement of platelet factor 3 activity in vitro and in vivo. *J Exp Med* 1962; 116: 619-633.
15. Morrison DC, Cochrane CG: Direct evidence for Hageman factor(factor III) activation by bacterial lipopolysaccharides(endotoxins). *J Exp Med* 1974; 140: 797-811.
16. Yoshikawa T, Tanaka KR, Guze LB: Infection and disseminated intravascular coagulation. *Medicine* 1971; 50: 237-258.
17. Hinshaw LB, Brake CM, Emerson TW Jr: Biochemical and pathologic alterations in endotoxin shock. In *Shock and Hypotension. Pathogenesis and Treatment*. New York, Grune & Stratton, 1965, pp 431-441.
18. Cho YW: Direct cardiac action of E. Coli endotoxin. *Proc Exp Biol Med* 1972; 141: 705-707.
19. Toba M, Ando T, Miyashita M, et al: Ultrastructural changes of spleen in endotoxin administration. *J Clin Electron Microsc* 1982; 15: 5-6.
20. Meyrick B, Brigham KL: Acute effect of E. coli endotoxin on the pulmonary microcirculation of anesthetized sheep. Structure, functional relationship. *Lab Invest* 1983; 48: 458-470.
21. Wardle EN: Endotoxin and acute renal failure. *Nephron* 1975; 14: 321-332.
22. Levy E, Slusser RJ, Ruebner BH: Hepatic changes produced by a single dose of endotoxin in the mouse. *Am J Pathol* 1967; 52: 477-502.
23. Sato T, Tanaka J, Kono Y, et al: Hepatic cellular injury following lethal Escherichia coli bacteremia in rats. *Lab Invest* 1982; 47: 304-310.
24. Janoff A, Weissmann J, Zweifach BW, et al: Pathogenesis of experimental shock. IV. Studies on lysosomes in normal and tolerat animals subjected to lethal trauma and endotoxemia. *J Exp Med* 1962; 116: 451-466.
25. Weissmann G, Thomas L: Studies on lysosomes. I. The effects on endotoxin, endotoxin tolerance and cortisone on the release of acid hydrolase from a granular fraction of rabbit liver. *J Exp Med* 1962; 116: 433-450.
26. Braude AT, Carey J, Sutherland D, et al:

- Studies with radioactive Endotoxin. II The Use of Cr⁵¹ to Label Endotoxin of Escherichia Coli. *J Lab Invest* 1955; 34: 850-857.
27. Braude AT, Crey FJ, Sutherland D, et al: Studies with Radioactive Endotoxin. II. Correlation of physiologic effect with distribution of radioactivity in rabbits injected with lethal doses to E coli endotoxin labelled with radioactive sodium chromate. *J Clin Invest* 1955; 34: 858-862.
28. Cremer N, Watson DW: Influence of stress on distribution of endotoxin in RES determined by Fluorescein Antibody technic. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 95: 510-513.
29. Rubenstein HS, Fine J, Coons AH: Localization of Endotoxin in the walls of peripheral vascular system during lethal endotoxemia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 111: 458-467.
30. Beeson PB: Tolerance to bacterial pyrogens, II. Role of the reticuloendothelial system. *J Exp Med* 1947; 86: 39-44.
31. Benacerraf B, Sebenstyen MM: Effect of Bacterial Endotoxins on the Reticuloendothelial System. *Fed Proc* 1957; 16: 860.
32. Biozzi G, Benecerraf B, Halpern B: The Effect of Salm. Typhi and Its Endotoxin on the Phagocytic Activity of the Reticulo-Endothelial System in Mice. *Br J Exp Pathol* 1955; 36: 226-231.
33. Rutenberg S, Skarnes R, Palmerio C, et al: Detoxification of Endotoxin by Perfusion of liver and spleen. *Exp Biol Med* 1967; 125: 455-459.
34. Cuevas P, Fine J, Monaco AP: Successful induction of increased resistance to gram negative bacteria and to endotoxin in immunosuppressed mice. *Am J Surg* 1974; 127: 460-464.
35. Trapani RJ, Waravdekar YS, Landy M, et al: In vitro Inactivation of Endotoxin by an Intracellular agent from rabbit liver. *J Infect Dis* 1962; 110: 135-141.
36. Waravdekar VS, Trapani R, Landy M, et al: Inactivation of Endotoxin Polysaccharide by tissue homogenates. *Fed Proc* 1960; 19: 245-253.
37. Schumer W, Das Gupta TK, Moss GS, et al: Effect of endotoxin on liver cell mitochondria in man. *Ann Surg* 1970; 171: 875-882.
38. Yela L, Baclzo LV, Miller ID: Defective oxidation metabolism of rat liver mitochondria in hemorrhagic and endotoxin shock. *Am J Physiol* 1971; 220: 571-577.
39. White RR, Mela L Bacalzo LV, et al: Hepatic ultrastructure in endotoxemia, hemorrhage and hypoxia: Emphasis on mitochondrial changes. *Surgery* 1973; 73: 525-534.
40. Berry LJ, Smythe DS, Colwell LS: Inhibition of hepatic enzyme induction as a sensitive assay for endotoxin. *J Bacteriol* 1968; 96: 1191-1199.
41. Berry LJ, Rippe DF: Effect of endotoxin on induced liver enzymes. *J Infect Dis* 1973; 128: 118-121.
42. Balis JU, Rappaport ES, Gerber L, et al: A primate model for prolonged endotoxin shock, Blood-vascular reactions and effects of glucocorticoid treatment. *Lab Invest* 1978; 38: 511-523.
43. Balis JU, Paterson JF, Shelley SA, et al: Glucocorticoid and antibiotic effects on hepatic microcirculation and associated host responses in lethal gram-negative bacteraemia. *Lab Invest* 1979; 40: 55-65.
44. Martini E: Increase of the cathepsin activity of the liver and of the skeletal muscle of rats treated either with 2,4-dinitrophenol or with bacterial lipopolysaccharide. *Experimentia*(Basel) 15: 182-190, 199.
45. Mori K, Matsumoto K, Gans H: On the in vivo clearance and detoxification of endotoxin by lung and liver. *Ann Surg* 1973; 177: 159-163.
46. Luft JH: Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophys Biochem Cytol* 1961; 9: 409-414.
47. Reynolds ES: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 1963;

- 17 : 208—212.
48. Ma MH, Biempica L: The normal human liver cell, cytochemical and ultrastructural studies. *Am J Pathol* 1971 ; 62 : 353—390.
 49. 정종구, 박정식, 손태중: Endotoxin 의 간상해 발생기전에 관한 초미형태학적 연구. 경북의대지, 인쇄중
 50. Tripodi O, Nowotny A: Relation of structure of active sites in endotoxin polysaccharides of *Serratia marcescens*. *Ann NY Acad Sci* 1966 ; 133 : 604—621.
 51. Kasai N, Nowotny A: Endotoxin glycolipid from a heptolest mutant of *salmonella minnesota*. *J Bacteriol* 1967 ; 94 : 1824—1836.
 52. Weil MH, MacLean LD, Visscher MB, et al: Studies on the circulatory changes in the dog produced by endotoxin from gram-negative micro-organisms. *J Clin Invest* 1956 ; 35 : 1191—1198.
 53. Gilbert R: Mechanisms of the hemodynamic effects of endotoxin. *Physiol Rev* 1960 ; 40 : 245—279.
 54. Siegel J II, Cerra FB, McMenamy RH, et al: Physiological and metabolic correlations in human sepsis. *Surgery* 1979 ; 86 : 163—193.
 55. Fine J: Some observation on the mechanism of action of bacterial endotoxin, in *Bacterial Endotoxins*, State Univ Rutgers, New Brunswick, 1964, pp 588—598.
 56. Cuevas P, de la Maza LM, Gilbert JM, et al: The lung lesion in four different types of shock in rabbits. *Arch Surg* 1972 ; 104 : 319—324.
 57. Boivin A, Mesrobeanu I, Mesrobeanu L: Technique pour la préparation des polysaccharides microbiens spécifiques. *C R Soc Biol* 1933 ; 113 : 490—492.
 58. Laderitz O, Staub AM, Westphal O: Immunohistochemistry of O and R antigens of *Salmonella* and related enterobacteriaceae. *Bacteriol Rev* 1966 ; 30 : 192—255.
 59. Rudbach JA: Molecular immunogenecity of bacterial lipopolysaccharide antigens: Establishing a quantitative system. *J Immunol* 1971 ; 106 : 993—1001.
 60. Rossen RD, Wolff SM, Butler WT: The antibody response in nasal washings and serum to *S. typhosa* endotoxin administered intravenously. *J Immunol* 1967 ; 99 : 246—254.
 61. Petersdorf RG, Shulman JA: The role of tolerance in the action of bacterial endotoxins, in *Bacterial endotoxins*, The State Univ Rutgers, New Brunswick, 1964, pp 482—498.
 62. Schultz DR, Becker EL: The alteration of endotoxin by postheparin plasma and its purified fractions. I. Comparison of the ability of Guinea pig postheparin and normal plasma to detoxify endotoxin. *J Immunol* 1967 ; 98 : 473—481.
 63. Schultz DR, Becker EL: The alteration of endotoxin by postheparin plasma and its purified fractions. II. Relationship of the endotoxin detoxifying activity of Euglobulin from postheparin plasma to lipoprotein lipase. *J Immunol* 1967 ; 98 : 482—489.
 64. Hune D, Mendez G, Goyle W, et al: Current methods for support of patients in hepatic failure. *Transplant Proc* 1971 ; 3 : 1525—1535.
 65. Bjorneboe M, Prytz H, Orskov F: Antibodies to intestinal microbes in serum of patients with cirrhosis of the liver. *Lancet* 1972 ; 1 : 58—64.
 66. Triger DR, Apl MH, Wright R: Bacterial and dietary antibodies in liver diseases. *Lancet* 1972 ; 1 : 60—66.
 67. Palmerio C, Setterstrom B, Shammash J, et al: Denervation of the abdominal visera for the treatment of traumatic shock. *N Engl J Med* 1963 ; 269 : 709—716.
 68. Fine J, Palmerio C, Rutenberg S: New developments in therapy of refractory traumatic shock. *Arch Surg* 1968 ; 96 : 163—175.
 69. Rutenberg SH, Skarner R, Palmerio C, et al: Detoxification of endotoxin by liver and spleen. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967 ; 125 : 455—465.
 70. Reinhold RB, Fine J: Direct measurement

- of endotoxin clearance as a measure of RES function. *J Reticuloendothel Soc* 1971; 9: 644-658.
71. Smith EE, Rutenberg SH, Rutenberg AM, et al: Detoxification of endotoxin by splenic extracts. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963; 113: 781-789.
72. Filkins JP: Hepatic lysosomes and the inactivation of endotoxin. *J Reticuloendothel Soc* 1971; 9: 480-488.
73. Rangel DM, Byfield JE, Adomian GE, et al: Hepatic ultrastructural response to endotoxin shock. *Surgery* 1970; 68: 503-511.
74. Schweinburg FB, Yashar Y, Appahamian HA, et al: Resistance to bacteria in hemorrhagic shock. I. Decline in phagocytosis promoting capacity of serum in shock. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955; 88: 587-589.
75. McGrath JM, Stewart GJ: The effects of endotoxin on vascular endothelium. *J Exp Med* 1969; 129: 833-850.
76. Sabai JM, Jaffe E: Plasma fibronectin (Opsonic Glycoprotein): Its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to reticuloendothelial function. *Am J Med* 1980; 68: 577-584.
77. Yamada KM, Olden K: Fibronectins: Adhesive glycoproteins of cell surface and blood. *Nature* 1978; 127: 179-183.

Key for Abbreviation

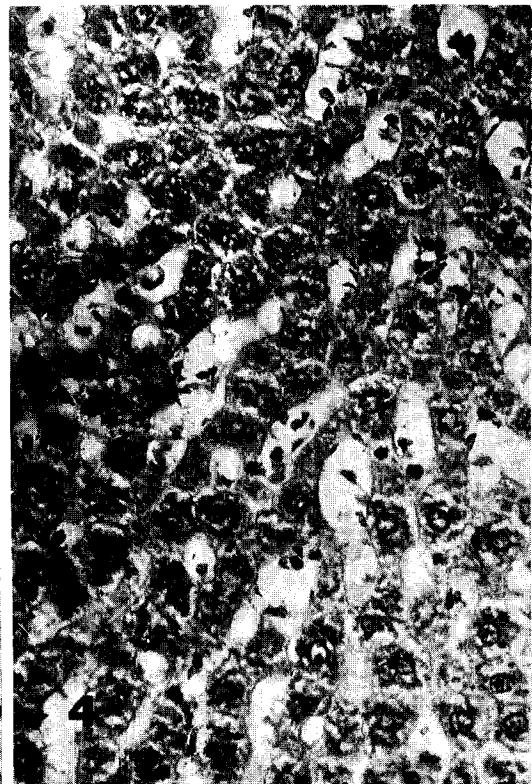
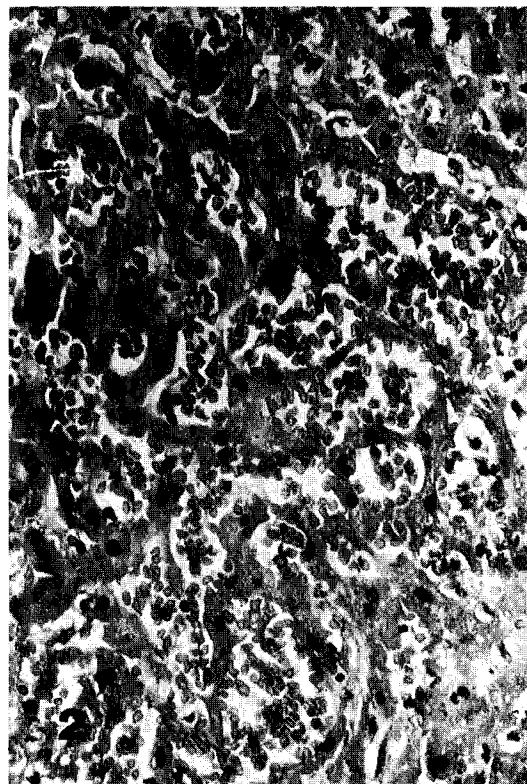
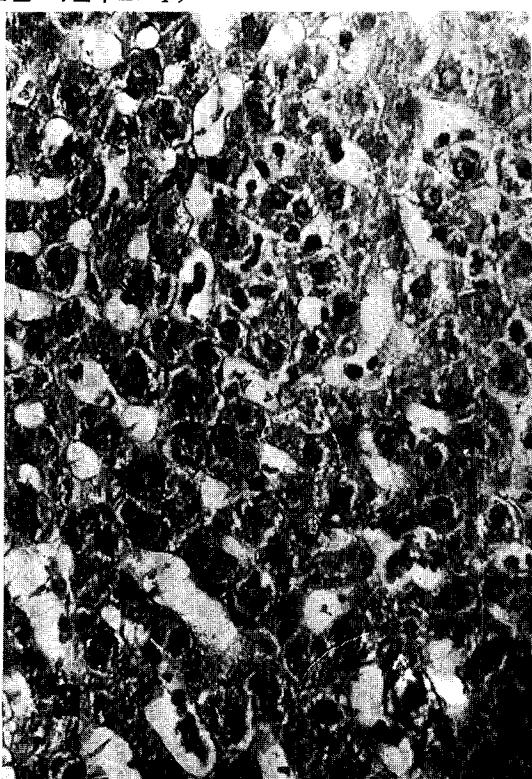
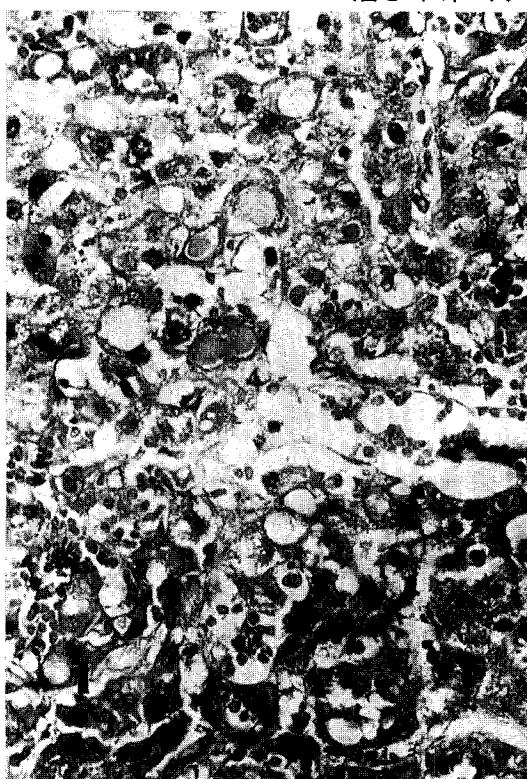
H : Hepatocyte	N : Nucleus
En: Endothelial cell	Ly: Lysosome
K : Kupffer cell	ER: Endoplasmic reticulum
Ne: Neutrophil	m : Mitochondria
R : Red blood cell	Go: Golgi apparatus
Pt : Platelet	cf : Collagen fiber
Ds : Disse spaces	F : Fibrin
Bc : Bile canaliculus	

Legend for Figures

- Fig. 1. Liver, 1 hour after endotoxin(ET) administration through tail vein(TV), rat. Focal hepatocytic necrosis and sinusoidal widening is noted. Acidophilic bodies are present. H&E, X200.
- Fig. 2. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. Diffuse hepatocytic necrosis is noted. Sinusoidal widening and congestion is noted. H&E, X200.
- Fig. 3. Liver, 1 hour after ET administration through portal vein(PV), rat. Kupffer cell hyperplasia and sinusoidal widening is noted. Hepatocytes are unremarkable. H&E, X200.
- Fig. 4. Liver, 2 hours after ET administration through PV, rat. The liver tissue show only mild sinusoidal widening and Kupffer cell hyperplasia without hepatocytic necrosis. H&E, X200.
- Fig. 5. Liver, 30 minuter after ET administration through TV, rat. Sinusoidal lumen is impacted with RBCs. Endothelial cellular swelling is seen. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 6. Liver, 30 minutes after ET administration through TV, rat. Kupffer cells shows proliferation of secondary lysosomes and elongated cytoplasmic process. Platelets are present near the Kupffer cell. Endothelial swelling with widening of intercellular spaces is noted. Lipid vacuoles are present in the hepatocytes. Uranyl acetate and lead citrate. Bar=1μm.
- Fig. 7. Liver, 1 hour after ET administration through TV, rat. Endothelial detachment(arrow) with widening of Disse space(*) is seen. Several RBCs are present in the space of Disse. Flattening of microvilli(arrow head) with dilatation of ER is noted. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 8. Liver, 1 hour after ET administration through TV, rat. Platelets are aggregated in sinusoid and form microthrombus. Kupffer cell and RBCs are present near the thrombi. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 9. Liver, 1 hour after ET administration through TV, rat. Fusion of microvilli(arrow) and endocytosis of intrasinusoidal material(*) is seen. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 10. Liver, 1 hour after ET administration through TV, rat. Intracytoplasmic swelling with ER dilatation is noted. Free ribosomes and secondary lysosomes are present. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 11. Liver, 1 hour after ET administration through TV, rat. Microcysts(*) are present in the hepatocyte. Swelling of ER and mitochondria is seen. Red blood cells are directly contact with liver cell. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 12. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rad. Intracytoplasmic imbibition of sinusoidal amorphous material(*) is noted. Widening of disse space and hemorrhage is seen. Neutrophils are present in the sinusoidal lumen - Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1μm.
- Fig. 13. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. Sinusoidal lumen is filled with fibrillar material resembling fibrin. The hepatocyte show small intracytoplasmic vesicles. Inset: high power view of fibrillar material. Uranyl acetate and lead citrate Bar=1μm.

- Fig. 14. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. The hepatocytes show focal destruction of plasma membrane(*) and swelling of organelles such as mitochondria and ER, Microcyst formation is seen. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 15. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. Part of hepatocytic cytoplasm is replaced by amorphous granular material(*). Fibrin like fibrillar substance is present in the amorphous material. Red blood cells are aggregated. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 16. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. The necrotic liver cell is phagocytized by the Kupffer cell(*) which may be the acidophilic body of light microscopic finding. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 17. Liver, 2 hours after ET administration through TV, rat. Curved membranous structures (arrow) that may be a part of ET are present in the cytoplasm of Kupffer cell. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=0.5 μ m.
- Fig. 18. Liver, 4 hours after ET administration through TV, rat. The hepatocyte shows intracytoplasmic imbibition of red blood cell with cytoplasmic edema. Uranyl acetate and lead citrate. Bar=1 μ m.
- Fig. 19. Liver, 4 hours after ET administration through TA, rat. The hepatocyte show nuclear pyknosis and intracytoplasmic imbibition of RBCs. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 20. Liver, 4 hours after ET administration through TV, rat. Irreversible destruction of liver cell is noted. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 21. Liver, 1 hour after ET administration though PV, rat. Kupffer cells are present in the sinusoid. Hepatocyte shows mild dilatation of endoplasmic reticulum. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 22. Liver, 1 hour after ET administration through PV, rat. Mild endothelial swelling is seen. Microvilli are well preserved. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 23. Liver, 1 hour after ET administration through PV, rat. The hepatocyte shows mild dilatation of ER. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 24. Liver, 2 hour after ET administration through PV, rat. The kupffer cell has abundant secondary lysosomes and other intracytoplasmic organelles. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 25. Liver, 2 hours after ET administration through PV, rat. The hepatocytes show mild dilatation of ER and increase of secondary lysosomes. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.
- Fig. 26. Liver, 2 hours after ET administration though PV, rat. Mild swelling of mitochondria and ER is noted. Secondary lysosomes are seen. Thin membranous material is present in the bile canaliculus without loss of microvilli. Uranyl acetate and lead citrate, Bar=1 μ m.

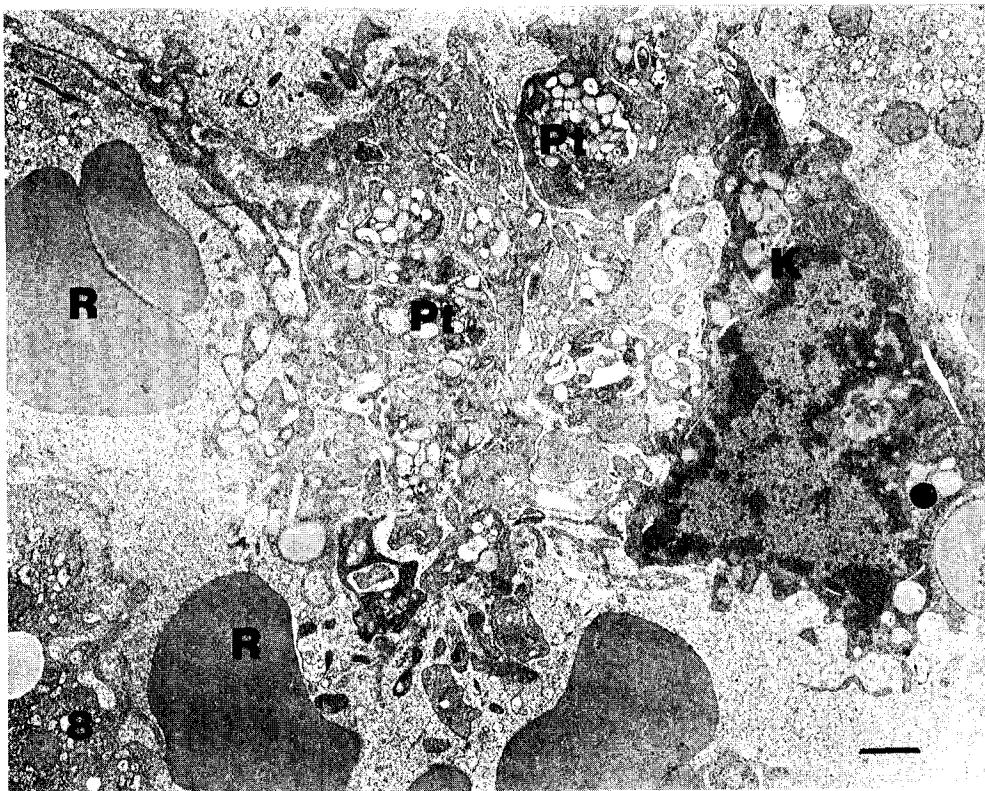
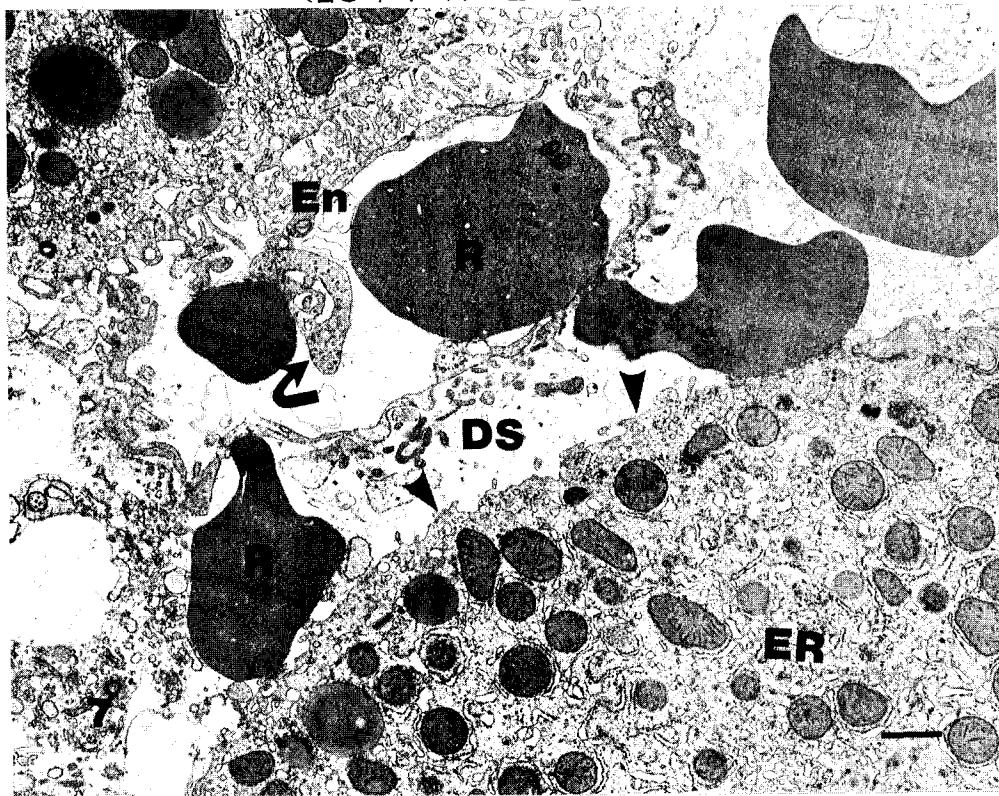
<김정희 외 2人 논문 사진부도 I>



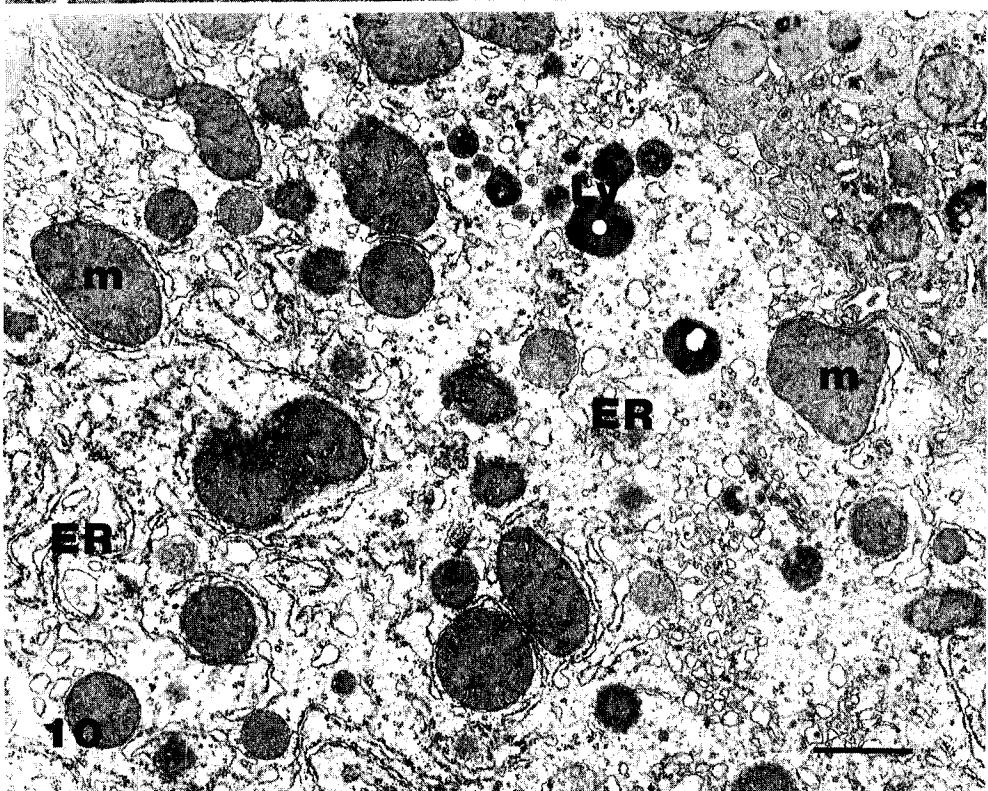
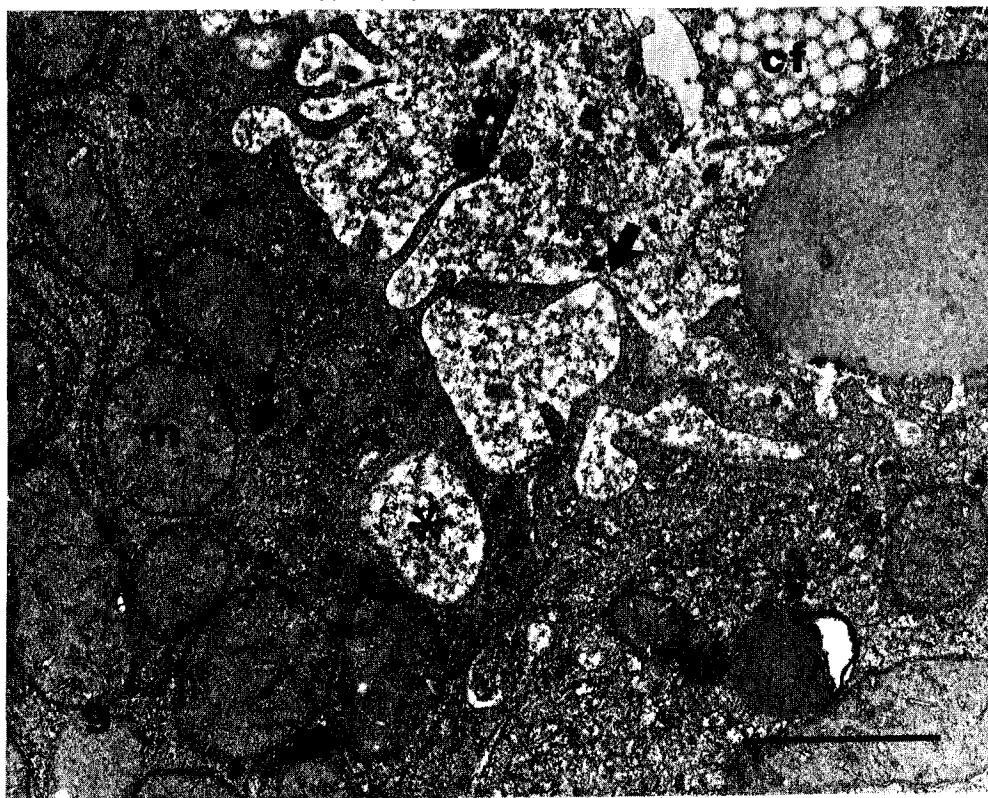
<김정희 외 2人 논문 사진부도 II>



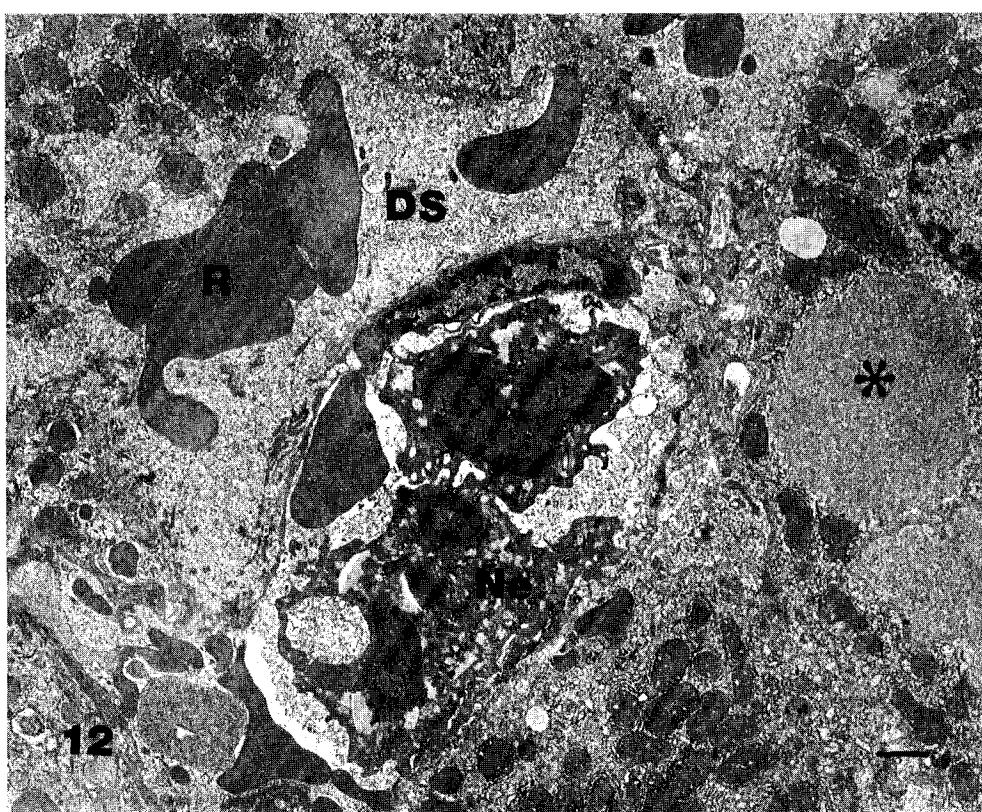
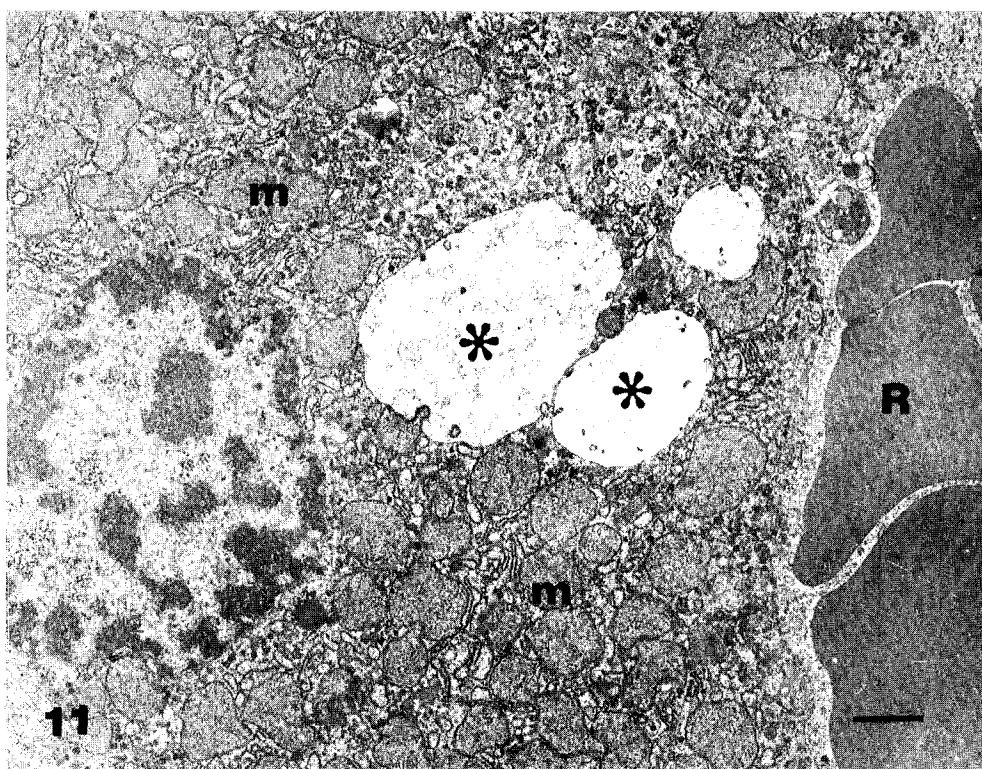
<김정희 외 2人 논문 사진부도 III>



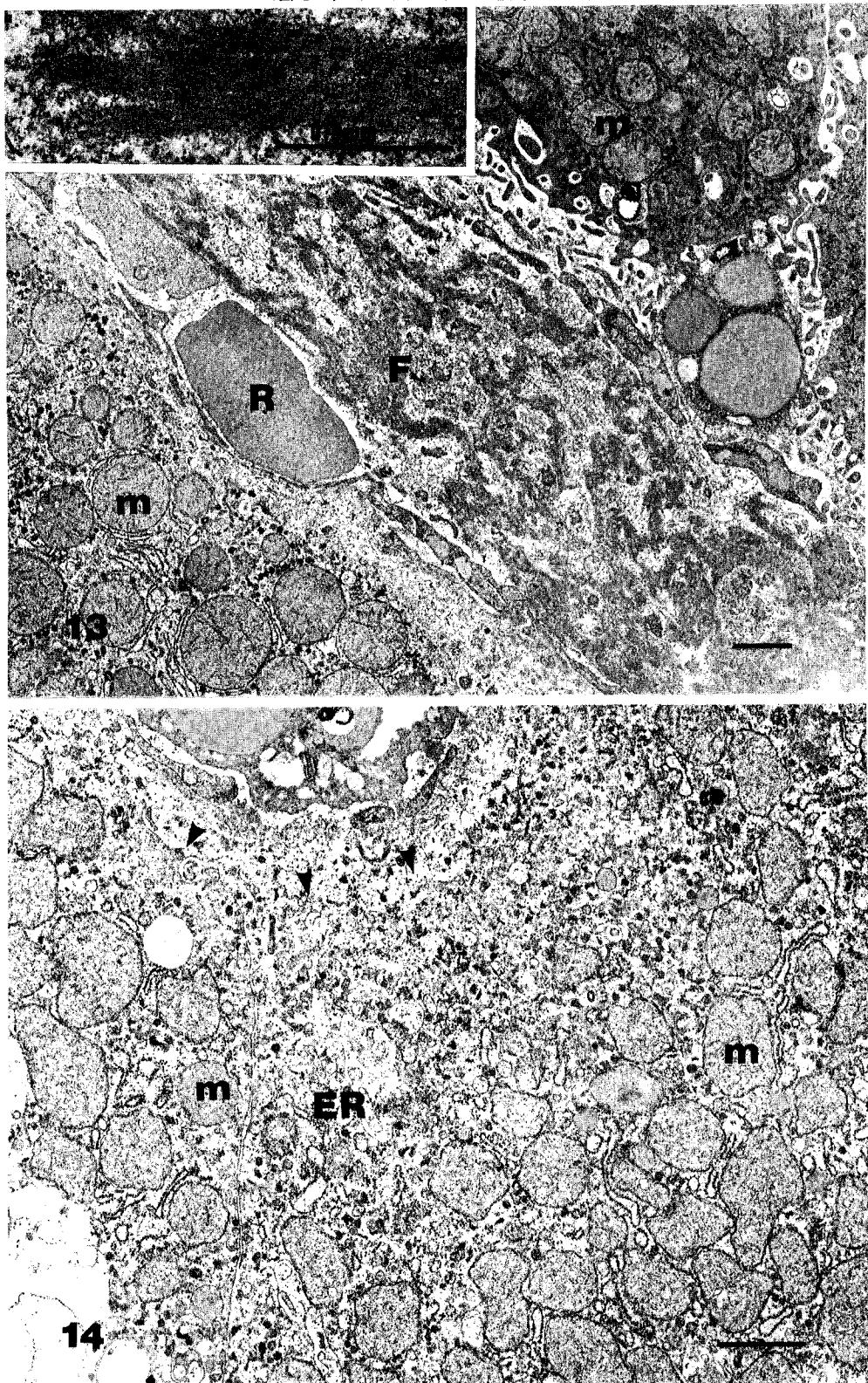
<김정희 외 2人 논문 사진부도 Ⅳ>



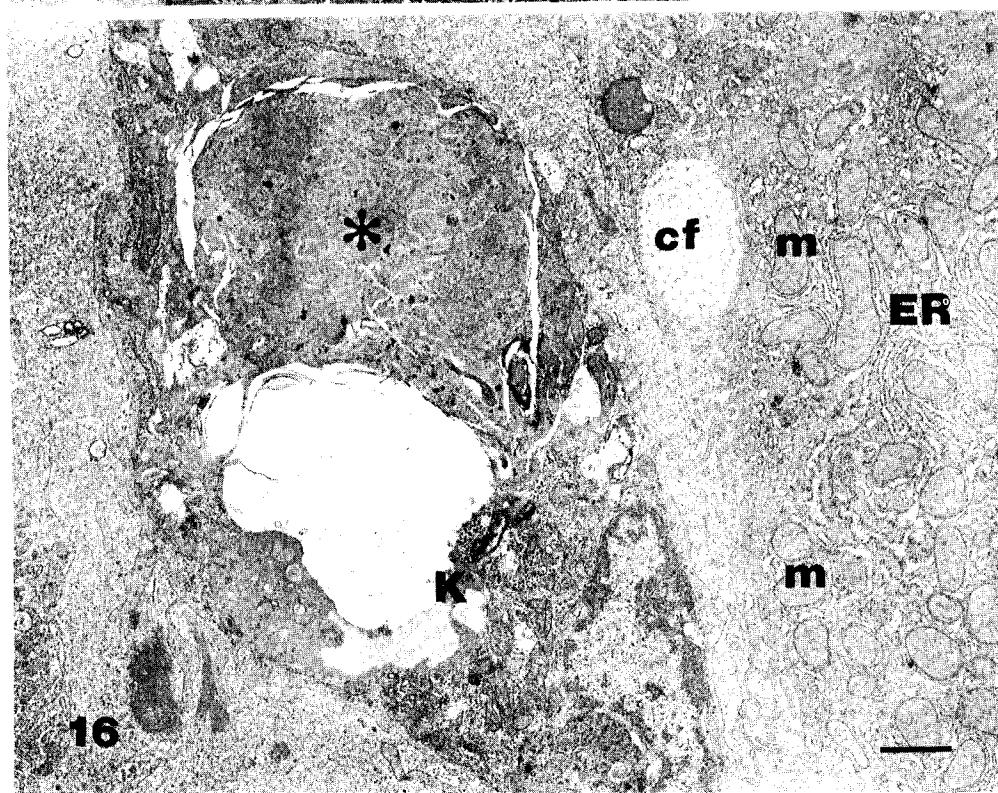
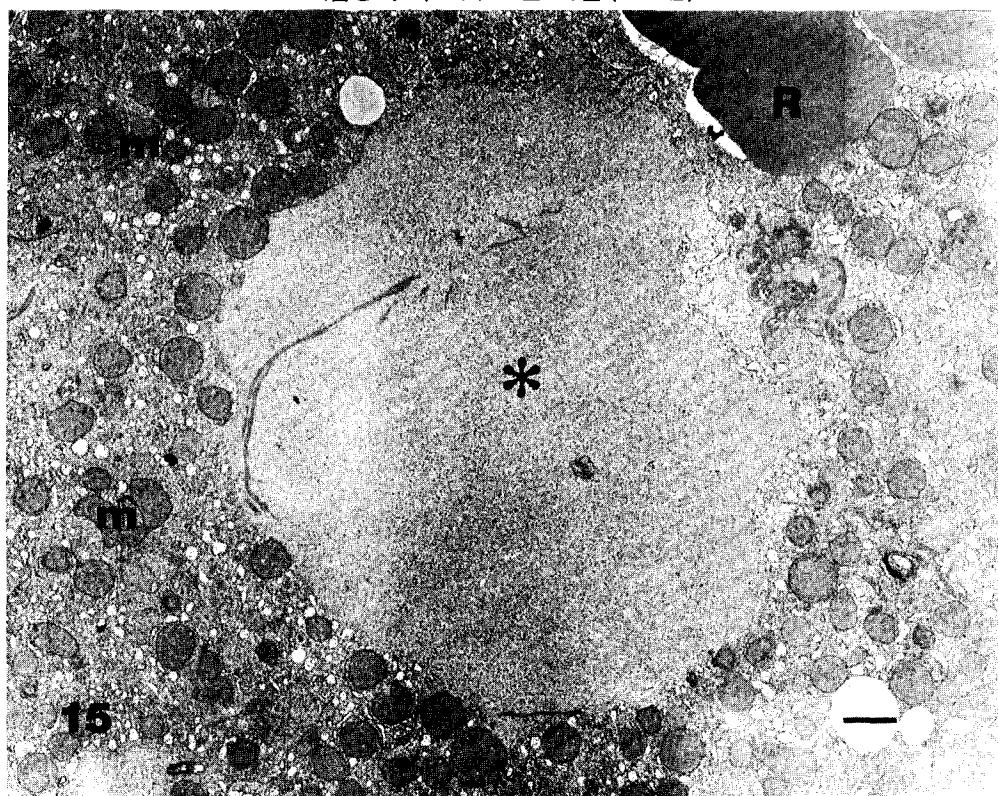
<김정희 외 2人 논문 사진부도 V>



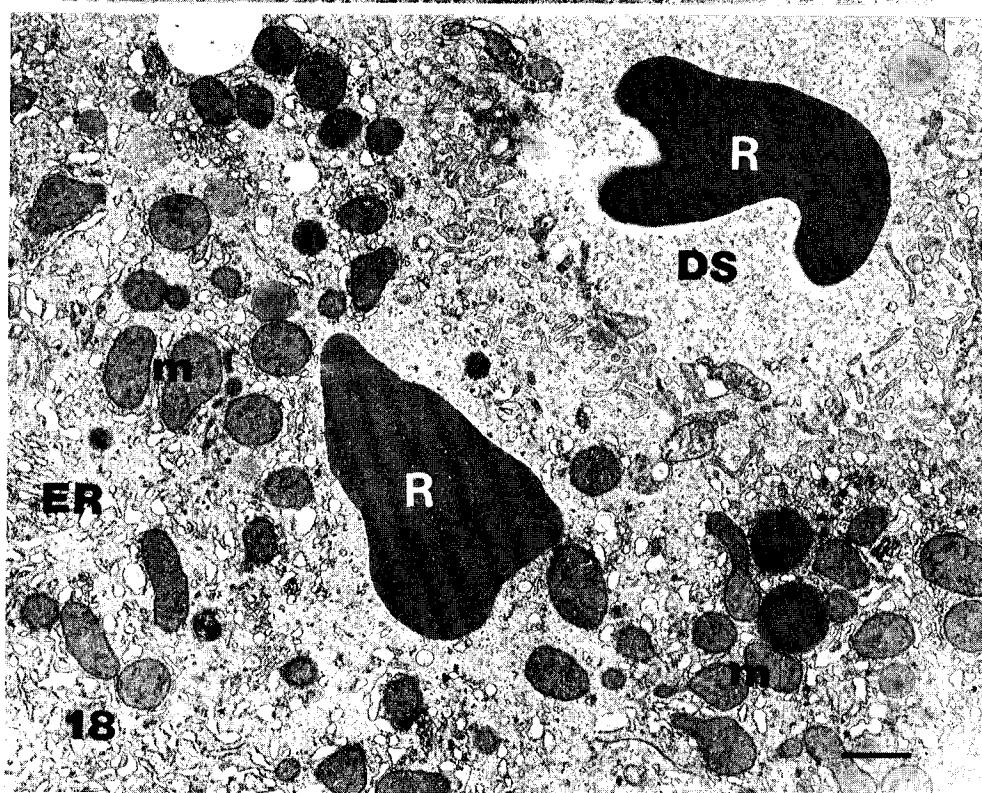
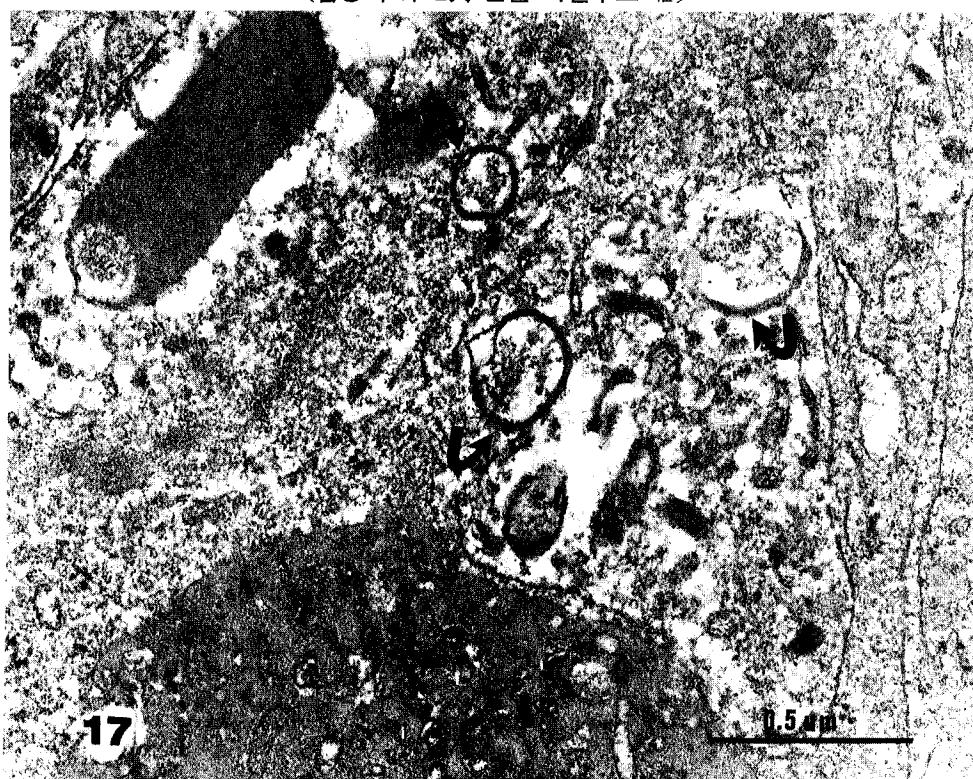
<김정희 외 2人 논문 사진부도 VII>



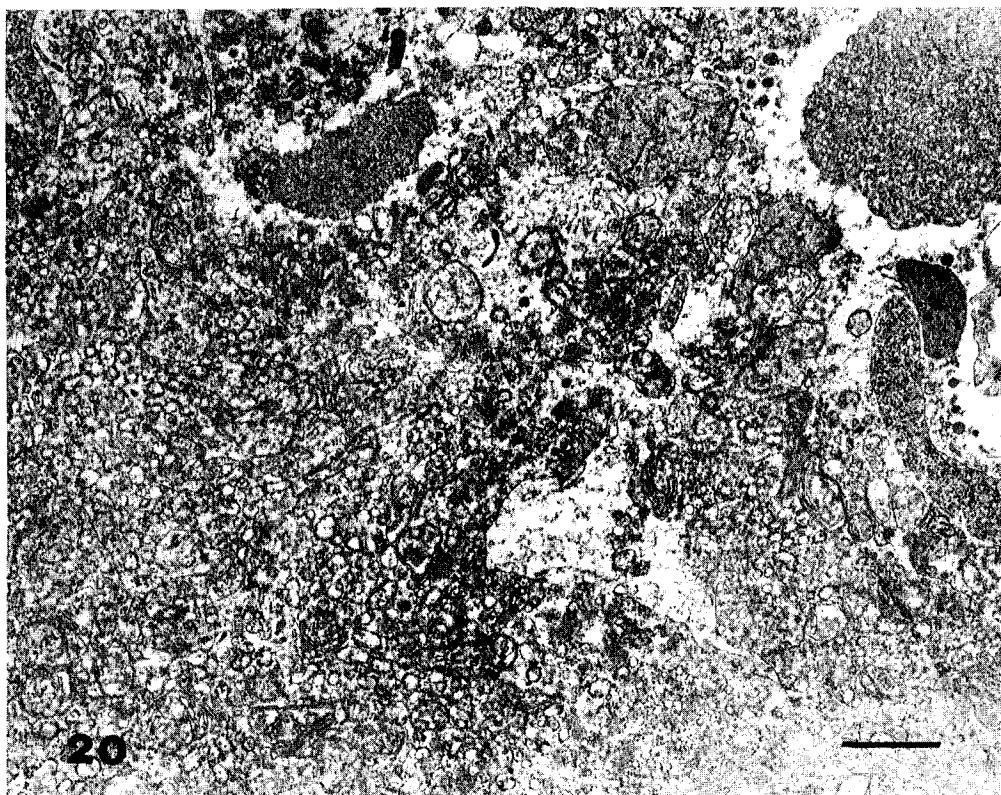
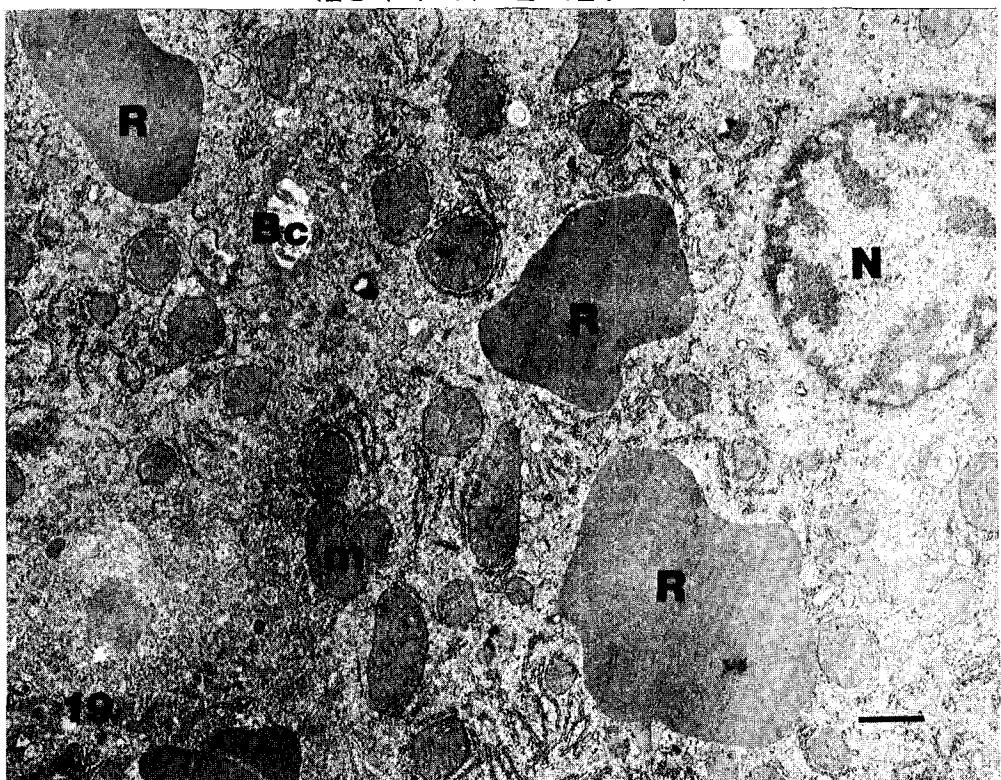
<김정희 외 2人 논문 사진부도 VII>



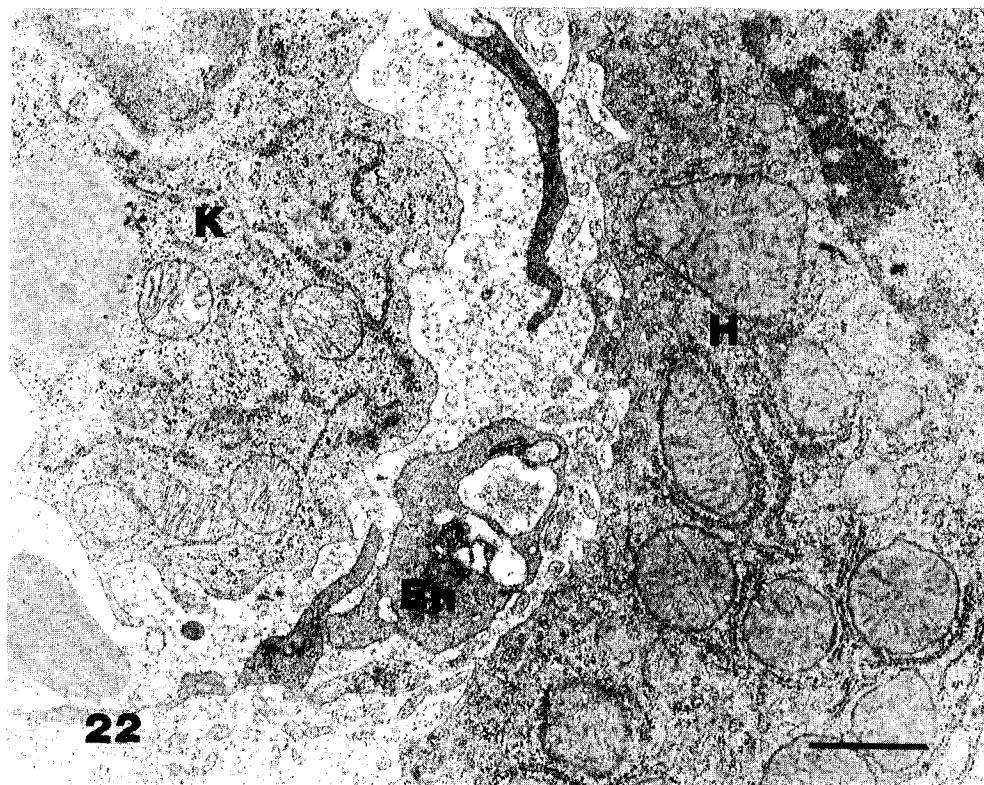
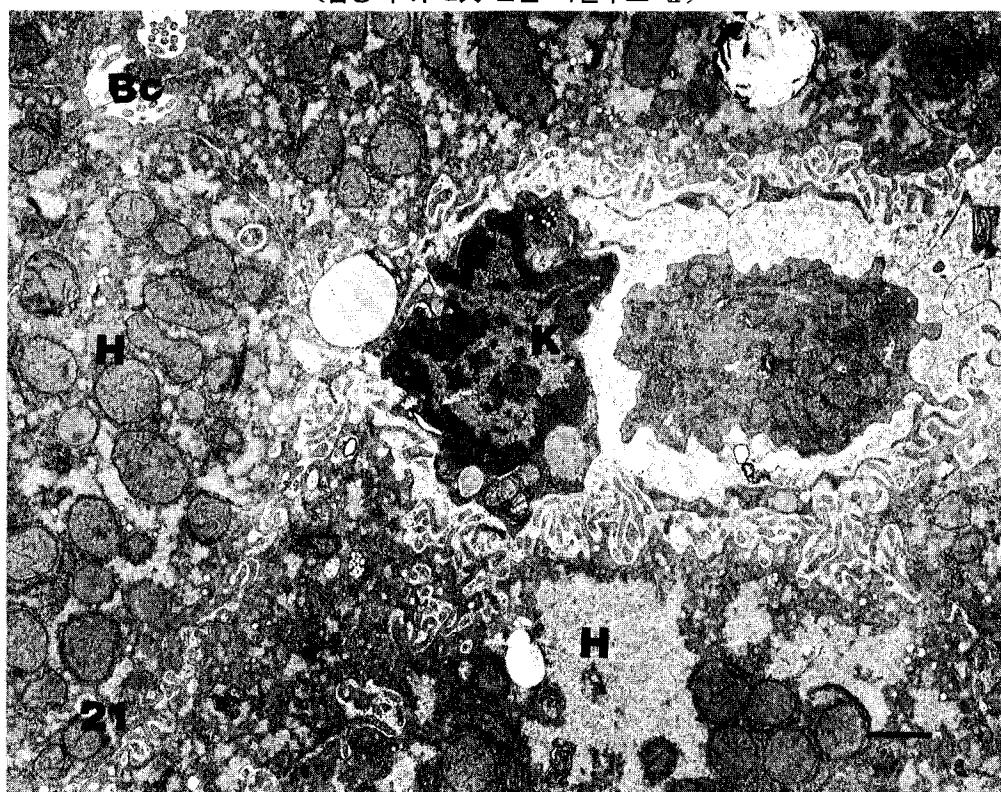
<김정희 외 2人 논문 사진부도 VII>



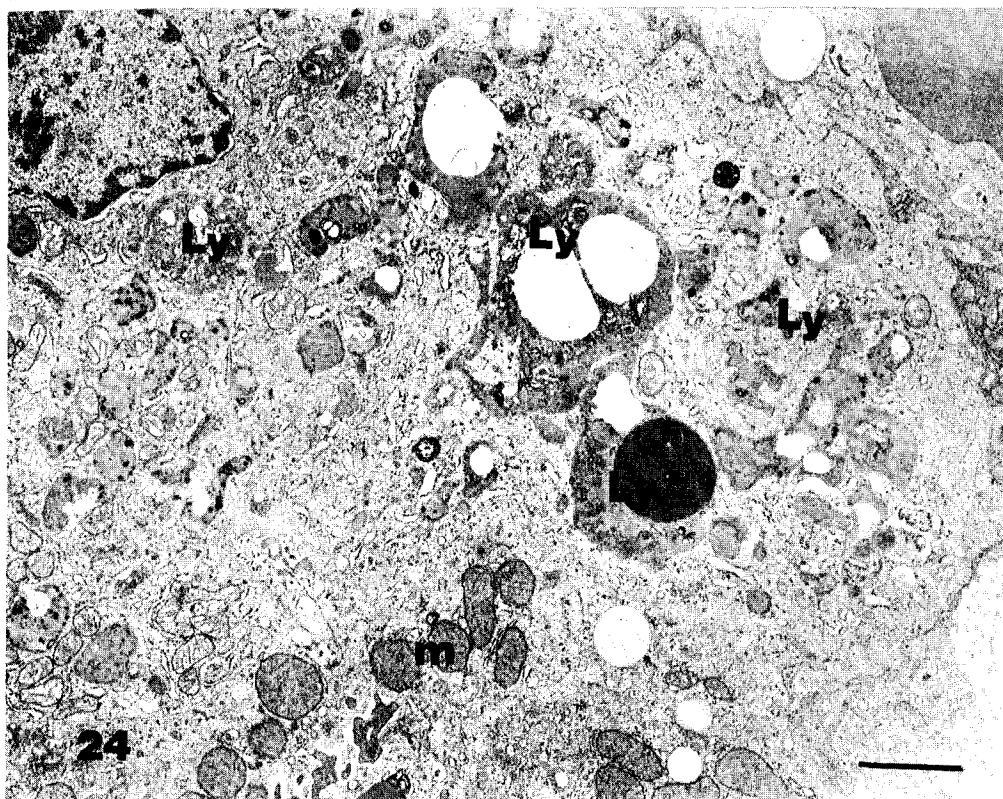
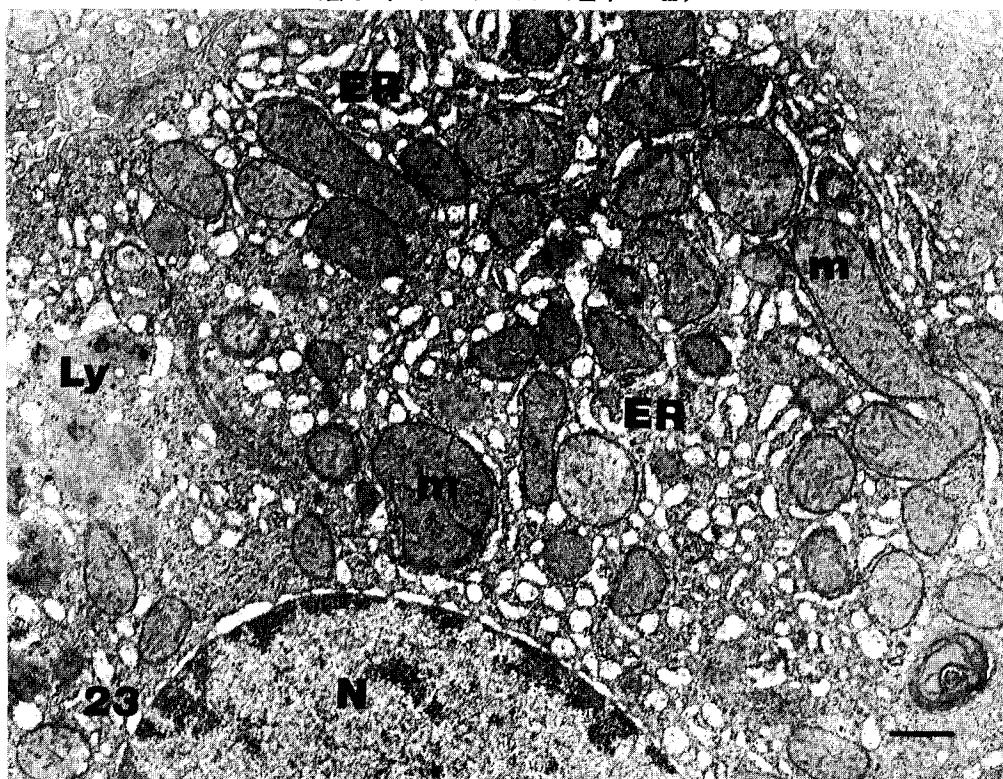
<김정희 외 2人 논문 사진부도 Ⅹ>



<김정희 외 2人 논문 사진부도 X>



<김정희 외 2人 논문 사진부도 XI>



<김정희 외 2人 논문 사진부도 XIII>

