

황달과 담즙외루술이 백서의 간재생에 미치는 영향

아주대학교 의과대학 외과학교실

유 석 진·왕 희 정·소 의 영
김 주 형·김 옥 환·김 명 욱

Effects of External Biliary Drainage in Regenerating Capacity of Rat Liver

Surk Jin Yoo, Hee Jung Wang, Eui Young Soh, Joo Hyoung Kim
Wook Hwan Kim and Myung Wook Kim

Department of Surgery, Ajou University School of Medicine

We undertook this study to evaluate the effects of obstructive jaundice and external biliary drainage on regenerating capacity after partial hepatectomy. Male Sprague-Dawley rats aged 10 to 12 weeks were used. Each animal was lightly anesthetized with ether. Using cut-down technique, a polyethylene tube of an outer diameter of 0.965mm was inserted into the proximal common bile duct and fixed in place. Then two groups of rats were made; Group-I with only simple external drainage group and Group II with jaundice. In group II, rats were jaundiced by ligating the external end of the tube from extrahepatic bile ducts for 5 days and then the jaundice was relieved. Seventy percent hepatectomy was carried out using the method of Higgins-Anderson at 1, 3, and 5 days after biliary decompression in Group I, and at 0, 1, 3 and 5 days after biliary decompression in Group II. Both resected livers from the partial hepatectomy and the remnant livers regenerated for 24 hours were stored at -70°C . From the collected liver specimens, the degree of regeneration was measured by the proliferative index using flow cytometry. The results was the following; 1. The regeneration capacity of the hepatectomized liver in Group I was decreased in proportion to the time elapsed. 2. An obstructive jaundice itself markedly increased the regenerating capacity of the liver. 3. The regenerating capacity of hepatectomized liver was not inhibited by the obstructive jaundice. 4. The external biliary drainage suppressed regenerating capacity of the liver at the early stage of obstructive jaundice. In conclusion, the regenerating capacity of partially hepatectomized liver was not inhibited by early obstructive jaundice, And was significantly suppressed by external biliary drainage. It is suggested that the loss of bile is a serious negative effect on liver cell proliferation.

Key Words: External biliary drainage, Liver regeneration

서 론

최근 외과적 간절제술식의 발달로 간문부암이나 담낭암 같은 폐쇄성 황달을 동반한 암의 수술적 절제율이 높아지게 되어 황달이 있는 간절제시 절제후 잔간의 간재생과 술후 합병증 등에 관해 활발한 연구가 진행되고

있다. 많은 연구자들의 보고에 의하면 술전 황달의 존재가 간절제술후 담도염으로 인한 패혈증, 간부전 및 신장기능부전 등의 술후 합병증으로 인해 높은 유병률과 사망률을 유발할 수 있어 술전에 경피경간담도배액술이나 내시경적 역행성 담도배액술(ERBD: Endoscopic retrograde biliary drainage)등을 통하여 혈중 빌리루빈치를 정상에 가깝게 떨어뜨리는 술전 감황의 중요성을 주장하고 있다. 그러나, 담관염의 여부와 관계없이 혈중 빌리루빈이 2 mg% 이하까지 떨어질 때까지 수술을 보류한 경험이 있는데 저자들은 이런 경우 소요시간이 2

저자연락처 : 왕희정, (442-749) 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5, 아주대학교 의과대학 외과, Tel (0331) 219-5204

개월 가까이 걸려 간문부암의 분엽지 침윤이 진행되어 수술을 포기한 경험이 있어 과연 어느 정도의 감황이 타당할 것인가 하는 의문을 갖던 중, Iyomasa 등은 담도 폐쇄로 인한 폐쇄성 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 백서 모델로 검토하였는데 황달자체가 간재생을 유발하는 효과가 있고, 담즙외루술을 시행하면 오히려 간절제 후에 간재생이 억제된다는 연구속보를 발표하였다. 이에 저자들은 백서를 이용하여 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 규명하고 황달 자체가 간재생에 해로운 쪽으로만 작용하는 것은 아니라는 것을 확인해 보고자 본 연구에 착수하였다.

연구 재료 및 방법

생후 10 내지 12주인 무게 약 200 gm 전후의 Sprague-Dawley계 웅성 백서를 이용하였다. 에테르를 이용한 전신 마취하에서 가능하면 무균적 수술을 시행하였고, 간절제는 Higgins-Anderson법¹에 따라 70%간절제를 시행하였다. 그리고 실험군은 단순외루군과 황달-감황군으로 나누었다. 또한, 백서의 담도연구결찰로 인한 황달과 간기능의 변화를 알아보고 각 실험의 시기를 정하기 위하여 담도연구결찰후 약 20일간 경과를 별도로 관찰하였는데 1일, 3일, 5일, 10일 및 20일째 개복하여 복부동맥을 통한 채혈로 혈청 Alkaline phosphatase, GOT/GPT 및 Bilirubin을 측정하였다.

1. 단순 외루군(제 I 군)

백서를 양측 늑골하 횡절개를 시행한 후에 총수담관을 확인하고 박리한 뒤 원위부를 분리 결찰하고 근위부로 내경 0.58 mm, 외경 0.965 mm의 폴리에틸렌 튜브(Becton Dickinson사 제품)를 근위부로 삽관한 뒤 빠지지 않게 5-0 실크로 결찰고정하고, 이 관을 체외로 뽑은 후 폐복하였다. 상기수술후 1일째 재개복하여 삽관이 안전한지 확인하고 70% 간절제로 간조직을 얻었고, 폐복후 24시간후에 다시 재개복하여 잔간을 채취 하였다. 단순외루술후 3일과 5일째도 각각 동일한 방법으로 70% 절제간 및 24시간 후의 잔간을 채취한 후에 모든 채취조직은 섭씨 영하 70도에 보관하였다.

2. 황달-감황군(제 II 군)

단순 외루군과 동일한 방법으로 총수담관내 폴리에틸렌 튜브를 삽관하고 이관을 체외로 빼 후에 그 끝을 막아 수술후 5일동안 황달을 유발시킨 후에 끝을 풀어 감황을 시행하면서 감황시작당일, 1일, 3일 및 5일째 각각 I군과 동일한 방법으로 70% 간절제를 시행하고 24시간

후 잔간절제를 시행하여 간조직을 채취하고 역시 채취 조직은 섭씨 영하 70도에 보관하였다.

대조군으로 단순개복후 5일째 상기와 같은 방법으로 간절제와 24시간후 잔간채취를 시행하였고, 상기 모든 수술은 시간의 차이에 따른 편차를 줄이기 위해 모두 오전 9시에서 12시 사이에 시행하였으며, 각군 각날짜마다 3마리씩의 백서를 대상으로 하였다.

간재생의 정도를 비교 관찰하기 위한 DNA ploidy의 측정은 다음과 같이 시행하였다. 영하 70도에 보관되었던 간조직들 각각 1~2 m² 채취하여 phosphate buffered solution이 든 dish에 담구어서 scalpel로 잘게 썰고 이것을 citrate buffer에 풀어서 53 μ m nylon mesh(Spectrum)를 통과시켜 세포부유액을 만든 후 실온에서 500 \times g로 5분간 원심분리하고 citrate buffer로 cell 농도를 5 \times 10⁶/ml로 맞추었다. DNA 염색은 Cycletest DNA reagent(Beckton Dickinson)을 이용하여 다음과 같이 시행하였다. 먼저 세포부유액 0.2 ml에 0.05% trypsin solution 1.8 ml를 첨가하고, 상온에서 10분간 배양시킨 후에 trypsin inhibitor/ribonuclease solution 1.5 ml를 첨가하고 다시 상온에서 10분간 배양하였다. 냉장된 propidium iodide(PI)를 1.5 ml 가한 후에 10분간 배양하고 flow cytometry(FACScan, Beckton Dickinson)로 DNA ploidy를 분석하였다^{2,3}. 그리고, 이 자료를 가지고 proliferative index 즉, (S+G₂M)/(G₀/G₁+S+G₂M)를 구함으로써 각각의 간재생 양상을 관찰하였다. 통계적 유의성은 Student t-test를 이용하여 검정하였다.

결 과

1. 담도연구결찰후의 경시적 간기능의 변화

담도의 연구결찰을 한 후에 경시적 간기능의 변화를 관찰한 결과, 혈청 Alkaline phosphatase(이하 ALP)의 평균치는 담도결찰후 1일, 3일 및 5일째 각각 600, 835 및 470IU/L로 둘째날을 최고치로 증가하였다가 감소하는 양상을 보였으며, 계속된 변화를 관찰하기 위해서 10일 및 20일 경과후의 평균치는 310과 200IU/L로 오히려 정상치(평균 440IU/L)보다 낮은치를 보였다. 혈청 GOT/GPT치(정상: 평균 90/60IU/L)는 연구결찰후 1일, 3일 및 5일째 평균치가 각각 475/1100, 310/700 및 235/ 615IU/L로 첫날 최고에 달했다가 감소하는 추세를 보였으며, 연구결찰 10일 및 20일후에는 각각 75/235, 70/ 260IU/L로 정상에 가까운 수치를 보였다. 혈청 빌리루빈치(정상: 평균 0.3 mg/dl)는 담도연구결찰후 1일, 3일 및 5일째 각각 평균치가 4.7, 7.0 및 6.8 mg/dl로 계속 증가하는

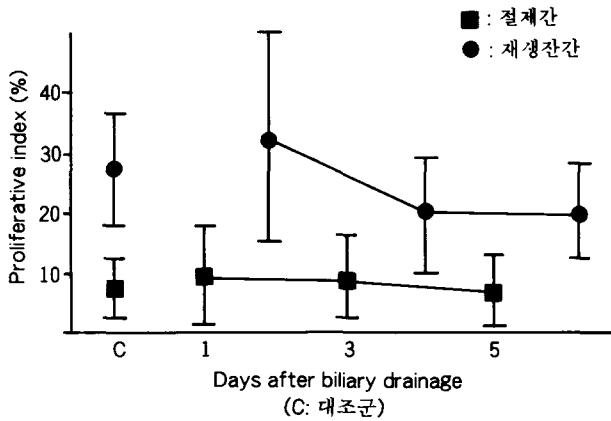


그림 1. 단순담즙외루군(Group I)의 경시적 proliferative index 변화.

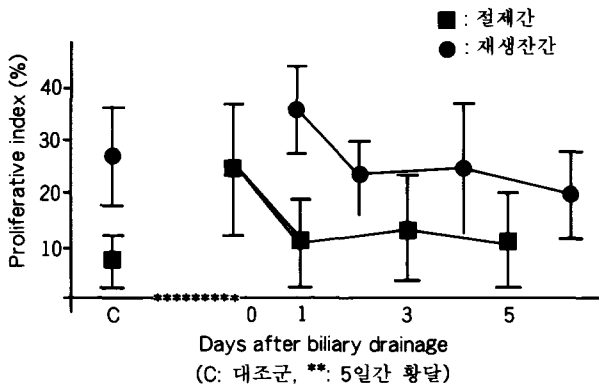


그림 2. 황달-감황군의 경시적 proliferative index 변화.

양상을 보였으며, 결찰후 10일째는 5.5 mg/dl로 떨어졌다가 20일후에는 거의 정상에 가깝게 떨어졌다. 즉, 5일째를 최고로 이후에는 더 이상 빌리루빈치의 증가를 보이지 않고 서서히 떨어지는 양상을 관찰할 수 있었다.

2. 대조군의 간재생능

대조군으로 단순개복후 5일째 되는 날에 재개복을 하여 70%의 간절제로 떼낸 간조직 및 그후 24시간에 다시 개복하여 잔간을 채취하여 proliferative index(이하 PI)를 구하였다. 그 결과 정상간 즉, 단순절제간의 PI는 평균 8.1이었고 간절제후 24시간에 재생간의 PI는 평균 28.2였다.

3. 단순 외루군의 경시적 간재생능의 변화 (그림 1)

단순외루군에서는 총수담관으로 폴리에칠렌 튜브를 삽관한 외루술후 70% 간절제시 채취한 절제간의 PI 평

균치는 1일째는 9.4였으며, 3일째는 7.9, 5일째는 5.7로 담즙외루기간이 길수록 PI가 약간 떨어지는 경향을 관찰하였으나, 통계적인 유의성은 없었다(p>0.05). 그리고, 각각의 외루후 1일, 3일 및 5일째 간절제후 24시간 이후에 재생간간을 채취하여 측정된 PI 평균치는 32.6, 20.1 및 21.2로 배액이 진행되면서 떨어졌고, 1일치와 3일치간 및 1일치와 5일치간의 통계적인 유의한 차를 관찰할 수 있었다(p<0.05). 그러나, 3일치와 5일치간에는 유의한 차를 관찰할 수 없었다(p=0.143).

4. 황달-감황군의 경시적 간재생능의 변화 (그림 2)

총수담관으로 폴리에칠렌 튜브를 삽관하고 체표밖으로 튜브를 빼어낸 끝단을 결찰하여 5일간의 황달상태를 지속한 후에 70% 간절제를 시행하면서 떼낸 절제간의 PI는 5일간의 황달상태에서 평균 26.8을 나타내어 황달 자체만으로 정상간의 약 3배 이상 증가된 것을 관찰하였고, 담즙배액을 통한 감황을 시작하면서 감황후 1일째 PI의 평균치는 11.7로 정상에 가깝게 현저히 떨어졌으며 (p=0.0019), 감황후 3일째 평균 15.2로 약간의 상승이 되었다가 5일째 다시 평균 10.5로 감소하였는데 1일, 3일 및 5일간의 통계적 유의성은 없었다(p>0.05). 70% 간절제후 24시간만에 시행한 재생간간의 PI는 5일간의 황달상태에서 간절제후 24시간의 재생간간의 PI는 평균 36.5로 대조군의 재생간간의 PI에 비해 통계적 유의성은 없었으나(p>0.05), 약간 높은 편이었다. 담즙외루를 통해 각각 1일, 3일 및 5일동안 감황을 계속 하면서 24시간후에 재생간간을 채취하여 PI를 측정된 결과 각각 평균 20.8, 23.0 및 17.8로 통계적으로 유의하게 담즙배액기간에 비례하여 잔간의 PI는 감소하는 것을 관찰하였다(p<0.05).

고 안

최근 외과적 간절제술식의 발달로 간문부암이나 담낭암 같은 폐쇄성 황달을 동반한 암의 수술적 절제율이 높아져서⁴⁻⁷ 황달이 있는 간절제시 절제후 잔간의 간재생과 술후 합병증 등에 관해 활발한 연구가 진행되고 있다. 많은 연구자들의 보고에 의하면 술전 황달의 존재가 간절제술후 담도염으로 인한 패혈증, 간부전 및 신장기능부전 등의 술후 합병증으로 인해 높은 유병률과 사망률을 유발할 수 있어 술전에 경피경간담도배액술이나 내시경적 역행성 담도배액술(ERBD: Endoscopic retrograde biliary drainage)등을 통하여 혈중 빌리루빈치를 정상에 가깝게 떨어뜨리는 술전 감황의 중요성을 주

장하고 있다^{8,9}. 그러나, 담관염의 여부와 관계없이 혈중 빌리루빈이 2 mg% 이하까지 떨어질때까지 수술을 보류한 경험이 있는데 저자들은 이런 경우 소요시간이 2개월 가까이 걸려 간문부암의 분엽지 침윤이 진행되어 수술을 포기한 경험이 있어 과연 어느 정도의 감황이 타당할 것인가 하는 의문을 갖던 중, Iyomasa 등은 담도폐쇄로 인한 폐쇄성 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 백서 모델로 검토하였는데 황달자체가 간재생을 유발하는 효과가 있고, 담즙외루술을 시행하면 오히려 간절제 후에 간재생이 억제된다는 연구속보를 발표하였다^{10,11}. 이에 저자들은 백서를 이용하여 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 규명하고 황달 자체가 간재생에 해로운 쪽으로만 작용하는 것은 아니라는 것을 확인해 보고자 본 연구에 착수하였다.

총수담관의 영구결찰후 간기능을 지속적으로 관찰한 결과 처음 5일간은 혈중 빌리루빈치가 평균 7.0 mg/dl 까지 지속적으로 증가하였으나, 결찰후 10일째는 5.5 mg/dl로 오히려 떨어졌고 20일후에는 거의 정상에 가깝게 떨어졌다. 이것은 측부혈관들이 생겼기 때문으로 생각되는데 저자들은 이 결과를 보아 담도 영구결찰후 5일째를 최고로 이후에는 더 이상 빌리루빈치의 증가를 보이지 않고 서서히 떨어지는 양상을 관찰함으로써 백서에서 5일간의 황달을 유지하는 것이 황달의 효과를 확인할 수 있는 최적의 시기로 생각하였다. 단순외루군에서 70% 간절제후 잔간의 재생능이 외루술후 초기부터 대조군보다 낮았고 담즙외루가 계속되면서 더욱 떨어지는 것으로 보아 담즙의 어떤 성분이 간절제후 잔간의 재생에 관여할 가능성을 시사하였다. 최근 Suzuki 등은 백서 모델을 통하여 담즙의 내부배액술은 간절제후 잔간의 재생능을 억제하지 않는다는 발표를 하였는데¹² 이 역시 담즙의 간재생에서의 어떤 역할을 암시해주는 실험이라고 생각된다. 더욱이 황달-감황군에서 황달유발후 5일째 개복후 그냥 채취한 간조직의 PI가 정상대조군에 비하여 약 3배 증가하였고, 담즙배액을 시행한 후 하루가 지나자 다시 정상으로 떨어지는 것을 관찰하였으며, 70% 간절제후 재생잔간의 경시적 PI는 정상 대조군보다 황달유발후 5일째되는 날 당일은 약간 높게 올라갔다가 담즙배액이 진행되면서 대조군보다 낮게 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 Terasaki 등이 백서의 간은 폐쇄성 황달에 의해 DNA 복제 및 세포성장이 일어날 수 있다고 보고한 것¹³과도 같은 결과라고 생각된다.

저자들은 본 연구에서 담즙내 어떤 성분들이 간절제술후 간재생능에 영향을 미칠지도 모른다는 결론과 함

께 근위부 담도암의 진단후 술전에 경피경간담도배액술은 술전에 발생한 담관염의 치료에는 불가결하지만 담관염이 해결된 후에 혈중 빌리루빈치가 정상까지 돌아오는 것을 반드시 기다려야 한다는 기준에는 아직 동의할만한 이론적 근거가 없다고 생각하였다. 향후 담도십이지장 문합술을 통한 황달후 내부담즙루 모델을 이용하여 절제간과 잔간에서의 재생능의 변화를 검토하는 연구와 실제 담즙배액술후 간의 미토콘드리아의 기능이 회복되는 시점 즉, 그때의 혈중 빌리루빈치 및 각종 간기능 평가방법의 기준에 관한 연구가 뒤따라야 한다고 사료된다.

결 론

최근 간문부 담관암의 술전에 경피경간담도배액술이나 내시경적 역행성 담도배액술 등을 통하여 혈중 빌리루빈치를 정상에 가깝게 떨어뜨리는 술전 감황의 중요성이 강조하고 있다. 그러나, 담관염의 여부와 관계없이 혈중 빌리루빈이 2 mg% 이하까지 떨어질 때까지 수술을 보류한 경험이 있는데 저자들은 이런 경우 소요시간이 2개월 가까이 걸려 간문부암의 분엽지 침윤이 진행되어 수술을 포기한 경험이 있어 과연 어느 정도의 감황이 타당할 것인가 하는 의문을 갖던 중, Iyomasa 등은 담도폐쇄로 인한 폐쇄성 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 백서 모델로 검토하였는데 황달자체가 간재생을 유발하는 효과가 있고, 담즙외루술을 시행하면 오히려 간절제 후에 간재생이 억제된다는 연구속보를 들 계기로 저자들은 백서를 이용하여 황달 및 담즙배액이 간재생능에 미치는 영향을 규명하고 황달 자체가 간재생에 해로운 쪽으로만 작용하는 것은 아니라는 것을 확인해 보고자 본 연구를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 정상간에서 담즙외루를 통한 담즙배액시 시간경과에 비례하여 간절제후 잔간의 재생능이 감소되었다.
- 2) 폐쇄성 황달자체가 절제하지 않은 상태의 간의 재생능을 증가시켰다.
- 3) 급성 폐쇄성 황달은 간절제후 잔간의 재생능을 대조군보다 증가시켰고, 담즙외루를 통한 감황은 잔간의 재생능을 감소시켰다.

이와같이 담즙의 체외 배출은 간재생능에 부정적인 영향을 미친다는 결론을 얻었는데 이것으로 담즙이 간재생인자로서 어떤 역할을 할 가능성도 유추할 수 있다고 생각되고, 또한 단순히 폐쇄성 황달이 간손상을 일으켜 어떤 간세포재생인자의 증가를 유도한 효과라고

생각할 수도 있을 것이라고 사료되는 바, 향후 담즙내 루술 및 간세포재생인자들의 역할을 포함하는 연구가 뒤따라야 한다고 생각된다. 또한, 실제 담즙배액술후 간의 미토콘드리아의 기능이 회복되는 시점 즉, 그때의 혈중 빌리루빈치 및 각종 간기능 평가방법의 기준에 관한 연구가 뒤따라야 한다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Higgins GM and Anderson RM: Experimental pathology of the liver; Restoration of the rat liver of the white rats following partial surgical removal. Arch Pathol 12: 186, 1932
2. Fogt F, Wan J, O'Hara C and et al.: Flow cytometric measurement of cell cycle kinetics in rat Walker-256 carcinoma following in vivo and in vitro pulse labelling with bromodeoxyuridine. Cytometry 12: 33, 1991
3. Vindeloev LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometry DNA analysis. Cytometry 3: 323, 1983
4. Longmire WP, MS McArthur, EA Bastounis and et al: Carcinoma of the extrahepatic biliary tract. Ann Surg 178: 333-343, 1973
5. Fortner JG, BO Kallum and DK KIm: Surgical management of carcinoma of the junction of the main hepatic ducts. Ann Surg 184: 68-73, 1976
6. Nimura Y, Hayakawa J, Kamiya J and et al.: Hepatopancreatoduodenectomy for advanced carcinoma of the biliary tract. Hepato-Gastroenterol 38: 170-175, 1991
7. Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J and et al.: Hepatic segmentectomy with caudate lobe resection for bile duct cancer of the hepatic hilus. World J Surg 14: 535-544, 1991
8. Kato S, Nagano I, Nimura Y and Wakabayashi T: Hepatic recovery after biliary drainage in experimental obstructive jaundice complicated by biliary infection. Hepato-gastroenterology 41: 217-221, 1994
9. Denning DA, Ellison EC and Carey LC: Preoperative percutaneous transhepatic biliary decompression lowers operative morbidity in patients with obstructive jaundice. Am J Surg 141: 61-65, 1981
10. Iyomasa S, Terasaki M, Kuriki H, Nimura Y and Yoshida S: Decreased in regeneration capacity of rat liver after external biliary drainage. Surgical therapy (Jpn), 67: 582-583, 1992
11. Iyomasa S, Terasaki M, Kuriki H, Nimura Y, Shionoya S, Kojima K and Yoshida S: Decrease in regeneration capacity of rat liver after external biliary drainage. Eur Surg Res 24: 265-272, 1992
12. Suzuki H, Iyomasa S, Nimura Y and Yoshida S: Internal biliary drainage, does not suppress the regeneration of cholestatic rat liver after partial hepatectomy. Hepatology 20(5): 1318-22, 1994
13. Terasaki M, Kuriki H, Nimura Y, Shionoya S, Kojima K and Yoshida S: Induction of DNA replication and cell growth in rat liver by obstructive jaundice. Jpn J Cancer Res 82: 170-175, 1991