

단기배양한 중피세포의 면역세포화학적 연구

조선대학교 의과대학 병리학교실 및 흉부외과학교실*

전 호 증 · 이 미 자 · 이 미 숙 · 정 유 경 · 이 영 미 · 최 형 호*

= Abstract =

Immunocytochemical Characteristics of the Short-term Cultured Mesothelial Cells.

Ho Jong Jeon, M.D., Mi Ja Lee, M.D.,
Mi Sook Lee, M.D., Yu Kyung Jeong, M.D., Young Mi Lee, M.D.,
and Hyung Ho Choi*, M.D.

Departments of Pathology and Chest Surgery*, College of Medicine, Chosun University

Reactive human mesothelial cells were examined by immunocytochemical stain with intermediate filaments (cytokeratin [CK1, CK7, CK8, CK18, CD19], vimentin, desmin, actin), epithelial membrane antigen, carcinoembryonic antigen (CEA), MHC class II antigen (HLA-DR), LeuM-1 (CD15), α 1-antitrypsin (ACT), α 1-antichymotrypsin (Acht), CD68 (KP-1) and Fc γ RIII (CD16). The mesothelial cells were isolated from patients with liver cirrhosis and pleural effusion, and short-term cultured in RPMI 1640 media containing 10% heat inactivated fetal calf serum and 1% identical supernatant fluid of the patients' transudates. The results obtained are as follows.

1. The cultured-reactive mesothelial cells were positive for the protein of cytoskeleton such as cytokeratin and vimentin, but negative for desmin and actin. The resting mesothelial cells showed positive reactions for cytokeratin, but negative for vimentin, desmin and actin.
2. The primary antibodies to the cytokeratin were strongly reactive for CK1, CK8 and CK18 but negative for CK7 and CK19 in both reactive and resting mesothelial cells.
3. Resting mesothelial cells showed negative reactions for CEA, but strong positive reactions in cultured-reactive mesothelial cells.
4. The markers for the monocytes/histiocytes (CD11b, CD14, CD16, CD68, lysozyme and α 1-antitrypsin and α 1-antichymotrypsin) were nonreactive in resting mesothelial cells, but lysozyme and α 1-antitrypsin were weakly reactive in reactive and proliferative mesothelial cells.
5. MHC Class II molecule (HLA-DR antigen) was negative in both resting and reactive mesothelial cells.

These results suggest that the short-term cultured, reactive mesothelial cells show a newly aberrant expression of the vimentin and carcino-embryonic antigen. The reason of the aberrant expression of the intermediate filament and oncofetal antigen in reactive and proliferative mesothelial cells should be further evaluated.

Key words: Resting and reactive mesothelial cells, Immunocytochemical stain, Short-term culture

서 론

중피세포는 흉막강이나 심막강 그리고 복막강 등을 피복하고 있는 단층세포로서 형태학적으로는 편평상피세포의 형태를 취하고 있다^{1,2)}. 또한 중피세포는 이들 강에 속하여 있는 장기의 외표면과도 서로 연결되어 있다. 이들 중피세포는 태생기적의 중배엽에서 기원한다고 알려져 있으나³⁾, 골수에서 기원한 단핵 식세포계(mononuclear phagocyte system)에 포함되어야 한다는 논란이 있다⁴⁾. 중피세포에 관한 연구는 중피세포가 포함되어 있는 조직절편을 이용한 방법과²⁾ 탈락된 중피세포를 in vitro에서 단기 또는 장기배양을 통하여 중피세포의 특징을 규명하는 방법이 있으나^{5,6)}, 이는 각각의 장단점이 있다. 또한 중피세포에 관하여 전자현미경을 이용한 초미세형태학적 연구와^{7,8)}, 면역세포화학적 검색에 따른 중피세포의 기능적 특성에 관하여^{9,10)} 많은 연구가 이루어졌다.

중피세포는 휴지기 상태에서 단층의 편평세포 형태를 취하나¹¹⁾, 염증이나 종양발생과도 같은 병적 상황에서는 매우 빠른 속도로 증식할 수 있는 능력을 지니고 있으며, 기능적으로는 휴지기 상태에서 관찰할 수 없는 식작용을 나타낼 수 있다고도 알려져 있다¹⁴⁾. 또한 중피세포는 대식세포와 상피세포 그리고 중배엽에서 기원한 세포에서 관찰되는 세포화학적 특성을 부분적으로 공유하기 때문에 중피세포에서 원발성으로 기원한 악성중피종과 대장에서 발생한 선암종이 중피세포가 피복되어 있는 장관

막으로 전이될 경우 이들 두 질환의 감별이 형태학적 소견만으로는 매우 어렵다고 알려져 있다¹³⁾.

본 연구에서는 탈락한 증식성 중피세포를 인체에서 분리시켜 in vitro 상태에서 단기간 배양한 후 면역세포화학적 검색을 통하여 중피세포의 특징을 규명하고자 하였으며, 이 결과를 조직절편을 이용하여 보존된 휴지기 상태의 중피세포에 대한 면역조직화학적 검색의 결과와 서로 비교 검토하였다. 본 연구의 목적은 휴지기 상태의 중피세포와 반응성 또는 증식성 중피세포에 대한 면역세포화학적 검색을 통하여 활성화된 중피세포에서 발현될 수 있는 활성화표식자(activation marker)에 관하여 검색하여 이를 임상적 이용에 적용하고자 하는 것이다.

재료 및 방법

1. 연구재료

간경화증이나 신부전증이 있는 4명의 환자에서 복수와 흉강내 삼출액을 각각 2명에서 채취하여 얻은 중피세포를 본 실험에 사용하였다. 채취한 검체는 멸균된 50ml의 원심분리관(Corning, USA)에 넣어 800rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액은 0.45 μ m 여과기(Sigma, USA)를 통하여 여과하였으며, 침전된 pellet는 RPMI 1640배지에서 2회 세척하여 배양하였다. 배지는 RPMI 1640(Gibco, USA)을 혼합한 후 제작하였으며, 여기에 56 $^{\circ}$ C에서 30분동안

Table 1. Antibodies used and their reported specificity and source

CD	MoABs	Major reactivity	Working dilution	Source
CD15	Leu M1	Monocytes, granulocytes, histiocytes	1:20	BD
CD16	Leu 11b	FcγRIII, NK cells, neutrophils, macrophages	1:20	BD
CD68	KP1	Macrophage	1:50	Dako
	Lysozyme	Lysozyme (polyclonal), PMNL, mono-, histiocytes	1:500	Dako
	α1-AT	α1-antitrypsin (polyclonal), as above	1:400	Dako
	α1-ACT	α1-antichymotrypsin (polyclonal), as above	1:400	Dako
	HLA-DR	Monocytes, macrophages, activated T, B-cells	1:20	Dako
	Vimentin	Intermediate filaments	1:20	Dako
	Desmin	Anti-human desmin	1:100	Dako
	Actin	Anti-human actin	1:200	Dako
	CEA	Anti-human CEA	1:200	Dako
	EMA	Anti-human EMA	1:200	Dako
	Pancytokeratin	Human cytokeratin	1:50	Dako
	CK1	Human CK1	1:100	Enzo
	CK7	Human CK7	1:2	BioGenex
	CK8	Human CK8	1:20	BioGenex
	CK18	Human CK18	1:10	BioGenex
	CK19	Human CK19	1:50	Dako

CD: cluster of differentiation, MoABs: monoclonal antibodies, AT: antitrypsin, ACT: antichymotrypsin, CEA: carcinoembryonic antigen, CK: cytokeratin EMA: epithelial membrane antigen, NK cells: natural killer cells, PMNL: polymorphonuclear leukocytes

불활성화 시킨 fetal calf serum (FCS, Gibco, USA)을 10%, 그리고 여과한 환자의 삼출액을 1%되게 첨가하였다. 여기에 항균-항진균 용액 (Gibco, USA)을 배지 1ml 당 penicilline G; 1000 unit, streptomycin; 1000µg, amphotericin B; 2.5µg의 농도로 첨가한 다음 T25 세포배양 용기(25cm² tissue culture flask, Becton-Dickinson, USA)에 넣어 36.5°C에서 7.5%의 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 한편 휴지기 상태의 중피세포가 부착된 조직의 확보는 폐조직의 침생검시 확보된 조직에서 중피세포가 완벽하게 보존된 조직을 대조군의 실험대상으로 사용하였다. 본 실험에서 사용된 단클론 또는 다클론 항체는 pancytokeratin(Dako, Denmark), CK1 (Enzo Lab., USA), CK7, CK8, CK18(BioGenex, USA), CK19(Dako, USA), CEA, vi-

mentin, desmin, actin, EMA, CD68, α1-antitrypsin, α1-antichymotrypsin(Dako, Denmark), CD15, CD16, HLA-DR (Becton-Dickinson, USA)이었으며, 항체의 특이성에 대한 설명은 Table 1에 표기하였다.

2. 연구방법

1) 세포배양: 36.5°C, 7.5%의 CO₂ 배양기에서 72시간 동안 배양한 중피세포는 배양용기의 바닥에 부착하여 증식하였다. 상층액은 버림으로서 배양액내에 포함되어 있는 림프구, 중성백혈구 등의 염증세포는 제거하였다. 형태학적 검색이나 면역세포화학적 검색을 위한 세포배양은 일차적으로 배양용기의 바닥에 부착되어 있는 중피세포를 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.3)에 0.25% trypsin-EDTA(Gibco,

USA)용액 1.5ml를 첨가하여 37°C, 7.5%의 CO₂배양기에서 2분간 보온한 후 배양용기에 부착된 중피세포를 수거하여 15ml의 멸균된 원심분리관에 옮겨 1000rpm에서 5분동안 원심 분리하였다. 상층액은 제거하고 pellet는 동일한 PBS로 2회 세척한 다음 10% FBS와 환자가검물에서 채취한 삼출액 1%가 함유된 RPMI 1640배지 8ml를 넣어 잘 혼합한 후 8 well chamber slide(Nunc, Denmark)에 1ml씩 분주하여 역시 36.5°C, 7.5% CO₂의 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양후 상층액은 버리고 슬라이드에 부착된 세포를 PBS용액으로 2회 세척하여 Wright 염색이나 면역세포화학적 염색을 하여 세포의 형태와 세포막이나 세포질내의 기능적 특성을 검색하였다.

2) 중피세포가 부착된 조직의 검색: 실험에 사용된 조직은 10% 중성 완충 포르말린에 고정하여 통상적 방법으로 파라핀에 포매된 조직을 4μm로 박절하여 헤마톡실린-에오신 염색을 실시하여 중피세포가 활성화 되어있지 않고 일층으로 잘 보존되어 있는 조직만을 선택하여 대조군으로 사용하였다.

3) 면역세포화학적 검색: chamber slide에서 배양한 세포는 PBS에서 세척한 다음 아세톤에서 10분간 고정한 후 실온에서 30분간 건조시킨 다음 0.3% H₂O₂-methanol용액에서 세포내 내인성 과산화효소의 활동을 저지시켰다. 0.05% Tween 20이 함유된 PBS에서 3회 세척한 후 일차항체를 항체희석액(PBS: 99ml, bovine serum albumin: 3g, 1% NaN₃, 1ml)에 일정비율로 희석한 후 4°C 환경하에서 12시간 동안 부치시켰다. PBS에서 3회 세척한 후 2차 항체인 biotinylated antibody(Vector Lab. USA)를 가하여 실온에서 30분동안 반응시킨 후 PBS에서 3회 세척한 다음 3차 항체인 avidin, biotinylated horseradish peroxidase를 가하여 30분 동안 실온에서 반응시켰다. PBS에서 3회 세척한 후 발색제(di-aminobenzidine 40mg, PBS

200ml, 30% H₂O₂ 20ml, Sigma)에 반응시켜 발색반응을 현미경으로 관찰하면서 발색이 확인 되는데로 증류수에 넣어 발색을 중지시켰다. 대조 염색으로는 헤마톡실린과 메칠그린을 사용하였다.

파라핀에 포매된 조직에 대한 면역조직화학적 염색은 탈파라핀 한 후 에틸알코올에서 함수하고 0.3% H₂O₂-methanol 용액에서 세포내 내인성 과산화 효소의 활동을 저지시키고 0.05% Tween 20이 함유된 PBS에서 3회 세척한 다음 일차항체를 항체 희석액에 일정비율로 희석한 후 4°C 환경하에서 12시간 동안 부치시켜 alkaline phosphatase를 이용한 alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase(APAAP, BioGenex, USA)방법을 이용하여 면역조직화학적 검색을 실시하였다.

결 과

1. 형태학적 소견

1) 배양한 중피세포의 위상차 현미경적 관찰: 중피세포는 배양용기의 바닥에 부착되어 증식하였으며, 세포는 서로 밀착하면서 증식하였다. 세포 개개의 특징은 타원형 또는 난원형이거나 다각형의 특징을 보였다. 세포질은 풍부하였으며, 균질성을 보였고 핵은 중앙에 위치하였다. 핵소체는 뚜렷하게 관찰되는 세포와 핵소체가 관찰되지 않는 세포로 구분되었다(Fig. 1, 2).

2) 배양한 중피세포의 광학현미경적 관찰: Wright염색한 중피세포는 난원형의 큰 세포로서 세포질이 풍부하고 핵은 중앙에 위치하고 있었으며, 핵소체는 뚜렷하였다. 세포질의 표면은 거칠었으며, 세포질내 이물질은 관찰되지 않았으며 매우 균질하였다. 간혹 2개 또는 3개의 핵이 집합되어 있는 거대세포도 관찰되었다(Fig. 3, 4).

3) 휴지기 상태의 중피세포 특성: 광학현미

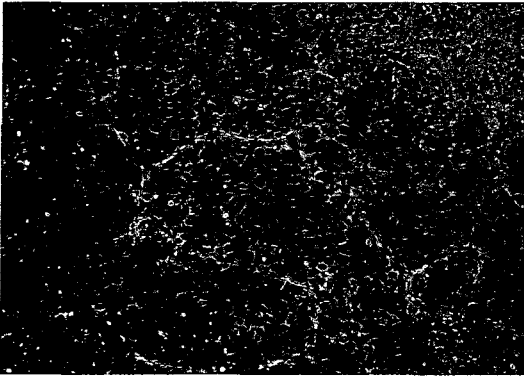


Fig. 1. Phase contrast photograph of short-term cultured mesothelial cells shows adhesive proliferation in culture vessels. The individual cells are polygonal or ovoid in shape (×200).



Fig. 3. Wright stained mesothelial cells disclose polygonal or ovoid appearance in shape (×400).

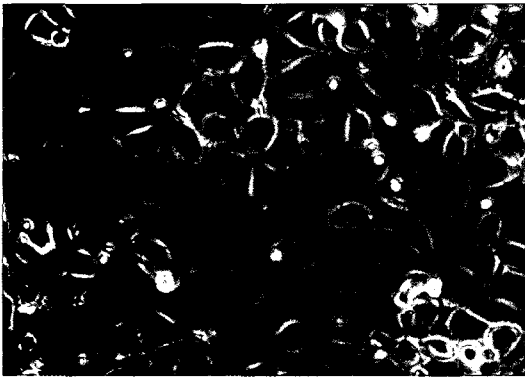


Fig. 2. Higher magnification of short-term cultured mesothelial cells shows prominent two or three nucleoli (×400).



Fig. 4. High magnification of short-term cultured mesothelial cells shows multinucleated giant cells (×1,000).

경으로 관찰된 휴지기 상태의 중피세포는 일층으로 배열되어 있으며 편평한 형태였다. 세포질은 풍부하였고, 세포와 세포는 서로 인접되어 연속성을 보였다. 외방을 향한 세포막은 매끈하지 않았으며 약간 울퉁불퉁하였다. 핵은 중앙에 위치하여 있으며 핵소체는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

2. 면역세포(조직)화학적 소견

1) in vitro에서 단기배양한 중피세포의 면역세포화학적 특성: 배양한 중피세포는 pan-cytokeratin 및 분자량이 서로 다른 cytokeratin 특히 CK1, CK8, CK18에 강한 양성반응을 보였으며(Fig. 6), CK7과 CK19에 대하여는 음성

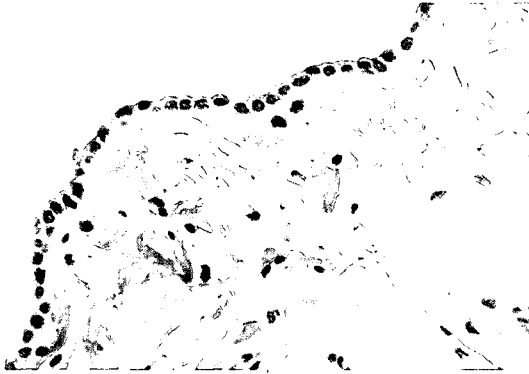


Fig. 5. Resting stage of mesothelial cells shows one-layer and flattened appearance (H & E, $\times 400$).

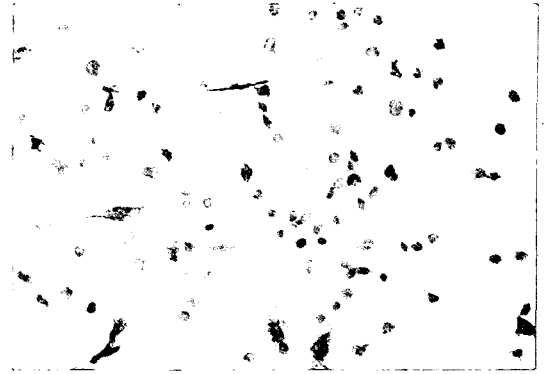


Fig. 7. Short-term cultured mesothelial cells show strong positive reaction to carcinoembryonic antigen (ABC, $\times 200$).

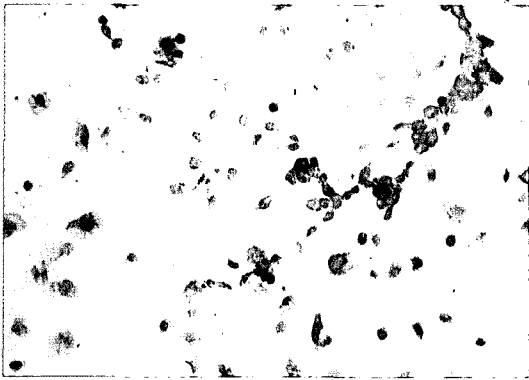


Fig. 6. Short-term cultured mesothelial cells show strong positive reaction to CK8 (ABC, $\times 200$).



Fig. 8. Short-term cultured mesothelial cells show strong positive reaction to vimentin (ABC, $\times 400$).

반응을 보였다. 그의 검색한 상피세포성 표식자인 CEA에 양성반응을 보였으나(Fig. 7), EMA에 대하여는 음성소견을 보여 주었다. 또한 중간세포의 일종인 vimentin에 대하여는 강한 양성반응을 보였으나(Fig. 8), actin, desmin 등에는 음성반응을 보였다. 단핵구/대식세포의 표식자인 CD68에 중피세포는 양성반응을 나타냈고, lysozyme과 $\alpha 1$ -antitrypsin에는 부분적으로 양성반응을 보였으나 CD15 및 CD16에는 음성반응을 나타냈으며, HLA-DR에는 음

성반응을 보였다.

2) 휴지기 상태 중피세포의 면역조직화학적 특성: 중피세포는 상피세포성 표식자인 pancytokeratin, CK1, CK8, CK18 등에 양성반응을 보였으며(Fig. 9) CK7 및 CK19 그리고 CEA와 EMA에 음성반응을 보였다. In vitro에서 배양한 세포와는 다르게 vimentin에 대하여 음성반응을 보였고 actin, desmin 등에도 음성반응을 보였다. 단핵구/대식세포의 표식자에 대하여는 검색한 모든 표식자(CD15, CD68, α



Fig. 9. Resting-stage of mesothelial cells taken from pleura show strong positive reaction to pan-cytokeratin (APAAP, X200).

1-antitrypsin, lysozyme)에 음성반응을 보였으며 HLA-DR항원 역시 음성반응을 보였다.

고 찰

인체의 중피세포는 강(cavity)의 외면과 강내에 포함되어 있는 각종 장기의 외표면을 피복하고 있는 세포로서 양면이 서로 마찰없는 운동을 유지시켜 주는데 중요한 기능을 지니고 있다고 알려져 있다^{1,2,14)}. 중피세포의 조직을 이용하거나 단순한 세포배양을 통하여 관찰된 비반응성 휴지기 상태의 중피세포는 편평세포의 특성을 지니고 있으며, 일층으로 배열되어 있고 식세포 기능은 없다고 알려져 있다^{15,16)}. 또한 초미세형태학적 소견상 중피세포의 세포막은 매우 발달된 미세융모가 관찰되며 인접하여 있는 세포와는 세포접합체를 통하여 연결되어 있음이 보고 되기도 하였다^{7,8,17)}. 그러나 이러한 중피세포는 어떠한 원인적 요인, 예를 들면 염증이나 종양발생 또는 암전이와 같은 병적 현상에 접하면 증식을 일으켜 반응성 중피세포의 형태를 취하고 기능적으로도 식세포기능을 획득하기도 한다고 알려져 있다¹²⁾. 이와같이 중피

세포의 다양한 형태학적 또는 기능적 변이의 결과에 따라서 중피세포의 기원에 대한 논란이 제기되기도 하였는데, 중피세포는 중배엽에서 기원한다는 종래의 이론보다는^{3,18)} 골수에서 기원하는 단핵구가 어떠한 상황에서는 중피세포로 변형될 수 있는 단핵식세포계에서 기원한다고 하는 이론이 제기되기도 하였다^{4,12)}. 또한 중피세포에 대한 세포화학적 특성상 상피세포와 세포골격(cytoskeleton)단백이 유사하며 상피세포에서는 관찰되지 않은 vimentin과 같은 중간세포가 관찰됨으로서 중피세포는 상피세포와 중배엽에서 기원한 간엽세포와의 중간적 성격을 지니고 있는 세포로도 알려지고 있다. 반응성 중피세포는 외인적 병적 요인에 노출시 식세포기능을 취하며 매우 빠르게 증식하는 특성을 보이기 때문에 골수에서 기원한 단핵구와 기능적인 면에서 유사성을 보여 중피세포와 단핵구 또는 대식세포에 대한 면역세포화학적 검사를 이용한 기능적인 비교 검토가 이루어 지기도 하였다. 즉 lysozyme, α 1-antitrypsin, α 1-antichymotrypsin, CD68, MxMoA, CD16(Fc RIII)등 대식세포를 동정하는데 많이 사용되고 있는 표식자를 이용하여 검색한 결과 중피세포에서는 CD68과 MxMoA를 제외한 모든 표식자에서 음성을 보인다는 것과 전자현미경을 이용한 초미세형태학적 비교를 통하여 대식세포에서 관찰되는 lysosome과 미세융모의 기본적인 골격 등이 중피세포에서 현저하게 차이를 보임으로서 대부분의 연구자들은 중피세포의 기원을 중배엽에서 기원한 세포로 여기고 있다.

Keratin은 세포 골격을 이루고 있는 중간세포의 일종이며^{19,20)}, 이는 주로 편평상피, 선(gland)을 피복하고 있는 원주상피세포에서 관찰되거나 섬유아세포나 신경섬유 또는 섬유아세포와 같은 중배엽기원의 비상피성 세포에서도 극히 적은 양이 관찰되기도 한다^{21,22)}. 인체에서 관찰되는 keratin은 약 19종의 아형이 있다고 밝혀져 있으며, 이 중 산성 형인 제 1형과

(CK1, 2, 4, 5, 6, 8) 증성형인 제 2형(CK10, 11, 13, 14, 15)^{16, 17, 19}으로 구분되어 있다²⁰⁻²². 중피세포에서 강하게 양성반응을 보인 형은 CK1, CK8 및 CK18 등이었으며, 이중 CK1은^{23, 24}, 분자량 67Kd의 고분자 keratin이며, CK8은^{22, 25} 분자량이 54Kd 그리고 CD18은^{26, 27} 분자량이 45Kd인 keratin이다. 이들 keratin이 관찰되는 장기는 각각 다르나 이는 주로 중층 편평상피세포나 정상 자궁경부, 기관지나 유방, 췌장, 방광 그리고 담관을 피복하고 있는 상피세포에서 관찰된다고 알려져 있다²¹⁻²⁷. 중피세포에서 중간세포로서 세포골격을 이루고 있는 단백질 가운데 분자량이 서로 다른 cytokeratin이 양성반응을 보인 결과는 인체의 각 장기에서 관찰되는 상피세포와 그 기능적 유사성을 공존하고 있다고 판단된다. 그러나 정상 기관지, 자궁경부 및 담관 등을 피복하고 있는 원주상피세포와 피부나 식도를 피복하고 있는 중층 편평상피세포에서 주로 관찰되는 CK7²⁸과 자궁의 내경부조직의 원주상피나 보조세포에서 관찰되는 CK19가²⁹ 음성반응을 보인 결과는 중피세포의 세포질내 분자량 52Kd(CK7)과 분자량 45Kd(CK18)의 cytokeratin의 합성이 없다고 판단된다. 한편 단핵식세포계를 구성하고 있는 세포에서는 cytokeratin의 발현이 전혀 관찰되지 않기 때문에 중피세포와 단핵식세포계의 세포와는 세포화학적 염색결과 완전히 구분되어 진다고 판단된다. 그러나 중배엽성 기원의 세포에서 주로 관찰되는 vimentin이 증식을 일으킨 활성화 중피세포에서 관찰됨으로서 cytokeratin과 vimentin이 공존하여 관찰되는 특이한 형태의 세포로 확인되었다. Cytokeratin이 주로 관찰되는 상피세포에서 vimentin의 발현은 전혀 없기 때문에 cytokeratin이 관찰되는 상피세포와 중피세포는 구별될 수 있다고 판단된다. 한편 휴지기의 중피세포와 실험관에서 배양한 중피세포에서는 단핵구/대식세포의 표식자로 널리 사용되고 있는 CD68(KP-1)과

MxMoA가 관찰되었다. 그러나 이는 CD68과 MxMoA의 특이성이 대식세포와 단핵구에 국한되어 있지 않고 간혹 T 림프구, B 림프구, 증성 백혈구 등에서도 관찰되기 때문에³⁰ 특이한 소견은 아니라고 판단되지만 골수에서 기원한 혈구세포 또는 대식세포에서 관찰되는 표식자인 lysozyme과 α -1 antitrypsin이 중피세포에서 관찰되는 것은 중피세포의 특이한 소견이라 하겠다. 휴지기의 중피세포와 시험관에서 배양한 중피세포에서의 특이점은 역시 상피세포암종에서 흔히 관찰되는 CEA^{31, 32}이 휴지기 상태의 중피세포에서는 발현을 하지 않는데 비하여 반응성을 나타낸 증식성 중피세포에서는 현저하게 양성반응을 보인다고 하는 점이다. 이는 중피세포에서 발생한 악성 중피세포 암종에서는 CEA의 발현이 없다고 하는 것과 위장관에서 발생한 악성 암종이 흉벽에 전이했을 때 이들 암종세포에서는 CEA의 발현이 강한 양성 반응을 보이기 때문에 이들 두 질환의 형태학적 감별이 어려울 경우 CEA의 양성반응도의 유무에 근거하여 악성 중피세포와 전이성 선암종의 감별이 이루어 진다는 점을 고려하여 보면¹³, 중피세포는 휴지기 상태의 비반응성일 경우 CEA는 음성반응을, 증식성의 반응성일 경우 CEA는 양성반응을 그리고 중피세포가 악성변형을 초래할 때는 CEA에 음성반응을 보인다고 정리할 수 있겠다. 그리고 vimentin역시 휴지기 상태에서는 음성반응을 보이나 반응성의 증식성 중피세포에서는 강한 양성반응을 보여 중피세포가 자극되는 상황에서 세포골격을 이루고 있는 vimentin과 같은 중간세포의 형성이 관찰된 점이 특이하다고 하겠다.

결 론

탈락한 증식성 중피세포를 인체에서 분리시켜 실험관상태에서 단기간 배양한 후 면역세포화학적 검색을 통하여 중피세포의 특징을 규명

하였다. 휴지기 상태의 중피세포에 대한 검색은 파리핀에 포매되어 잘 보존되어 있는 중피세포의 조직절편을 이용하여 면역세포화학적 염색을 실시하였으며 증식성과 휴지기 중피세포의 면역세포화학적 특성을 비교한 결과는 다음과 같다.

1. 반응성의 중피세포는 세포골격을 구성하고 있는 중간세사의 일종인 cytokeratin과 vimentin에 대하여 강한 양성반응을 보였으나, 휴지기 상태의 중피세포는 cytokeratin은 양성반응을 보였고 vimentin은 음성이었다. 또한 중간세사의 일종인 desmin과 actin에 대해서는 반응성과 휴지기 상태의 중피세포 모두에서 음성반응을 보였다.
2. Cytokeratin은 그 분자량 차이에 따라 염색 결과는 다양하였는데, CK1, CK8, CK18은 양성반응을, 그리고 CK7과 CK19에는 음성반응을 보였는데 이는 반응성과 휴지기 중피세포 모두에서 동일하였다.
3. CEA는 휴지기 상태의 중피세포에서는 음성반응을 보였으나, 증식성의 반응성 중피세포에서는 양성반응을 보였다.
4. 단핵구 또는 대식세포의 표식자인 CD11b, CD14, CD16, CD68, lysozyme과 $\alpha 1$ -antitrypsin에 휴지기의 중피세포는 음성반응을 보였으나 증식성의 중피세포는 lysozyme과 $\alpha 1$ -antitrypsin에 약양성 소견을 보였다.
5. MHC class II분자(HLA-DR)에 대하여 반응성과 휴지기 중피세포 모두에서 음성이었다.

상기의 면역세포화학적 염색결과는 활성화되어 증식성 반응을 보이고 있는 중피세포에서 휴지기 상태에서는 관찰이 되지 않는 중간세사의 일종인 vimentin의 발현이 현저하였으며, 세포질내에서는 carcinoembryonic antigen의 발현이 관찰됨을 알 수 있었다. 휴지기 상태의 중피세포에서는 관찰되지 않은 이러한 단백질

등이 어떠한 기전으로 인하여 발현되는 것인지에 대한 설명은 추후 보다 더 연구되어야 할 부분으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Cunningham RS: On the origin of the free cells of serous exudates. *Am J Physiol* 59: 1-36, 1922
2. Cunningham RS: The physiology of the serous membranes. *Physiol Rev* 6: 242-280, 1926
3. Larocca PJ, Rheinwald JG: Coexpression of simple epithelial keratins and vimentin by human mesothelial and mesothelioma in vivo and culture. *Cancer Res* 44: 2991-2995, 1984
4. Athanasou NA, Hall PA, d'Adrenne AJ, Quinn J, McGee JO'D: A monoclonal antibody(anti L-35) which reacts with human osteoclasts and cell of the mononuclear phagocyte system. *Br J Pathol* 69: 309-319, 1988
5. Castor CW, Naylor B: Characteristics of normal and malignant mesothelial cells studied in vitro. *Lab Invest* 20: 437-443, 1969
6. Thiollet J, Jaurand MC, Kaplan H, Bignon J, Holande E: Culture procedure of mesothelial cells from rat parietal pleura. *Biomedicine* 29: 69-73, 1978
7. Carr I, Clark JA, Salsbury AJ: The surface structure mouse peritoneal cells, study with the scanning electron microscope. *J Microscopy* 89: 105-111, 1968
8. Watters WB, Buck RC: Scanning electron microscopy of mesothelial regeneration in the rat. *Lab Invest* 26: 604-609, 1972
9. Savinovskaya AA: Alkaline phosphatase in peritoneum and muscle fibers of abdominal wall of rabbit *Dako Acad Naur USSR* 151: 697, 1963
10. Shanthaveerappa TR, Bourne GH: Histochemical studies on the localization of exudate and dephosphorylating enzymes and esterases in the peritoneal mesothelial cells. *Histochemistry* 5: 331, 1965
11. Raftery AT: Regeneration of parietal and visceral peritoneum: a light microscopical study. *Brit J Surg* 60: 293-299, 1973
12. Fukuta M: Electron microscopic study on normal rat peritoneal mesothelium and its changes in ab-

- sorption of particular iron dextran complex. *Acta Pathol Jpn* 13:309, 1963
13. Christopher NO, Darryl C, Solon C, Hector B: Immunohistochemical evaluation of pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. A biinstitutional study of 47 cases. *Am J Surg Pathol* 11:445-456, 1987
 14. Whitaker D, Papaditriou JM, Walters MN: The mesothelium: Techniques from investigation, origin, nature and behavior. *J Pathol* 132:263-271, 1980
 15. Whitaker D, Papdaimitriou JM: Mesothelial healing: morphological and kinetic investigations. *J Pathol* 145:159-175, 1985
 16. Ryan GB, Grovety J, Majno G: Mesothelial injury and recovery. *Am J Pathol* 71:93-112, 1973
 17. Jap PH, Mungyer GM, Ramaekers FCS, Plels LG, Van de Molengrft FJJ, Vooijs GP: Identification of human mesothelial cells in culture by electron microscopy and antibodies. *Cell Biol Int Rep* 8:274, 1984
 18. Satoh K, Precott SM: Culture of mesothelial cells from bovine pericardium and characterization of their arachidonate metabolism. *Biochem Biophys Acta* 930:283-296, 1987
 19. Gabbiani G, Kapanci Y, Barazzone P, Franke WW: Immunohistochemical identification of intermediate-sized filaments in human neoplastic cells. A diagnostic aid for the surgical pathologist. *Am J Pathol* 104:206-216, 1981
 20. Moll R, Franke WW, Schiller DL: The catalog of human cytokeratins. Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31:11-24, 1982
 21. Sun TT, Green H: Immunofluorescent staining of keratin fibers in cultured cells. *Cell* 14:469-476, 1978
 22. Sun TT, Shith C, Green H: Keratin cytoskeletons in epithelial cells of internal organs. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 76:2813-2817, 1979
 23. Ivanyi D, Ansink A, Groeneveld E, Hageman PC, Mooi WJ, Heitnz APM: New monoclonal antibodies recognizing epidermal differentiation-associated keratins in formalin-fixed, paraffin embedded tissue. Keratin 10 expression in carcinoma of the vulva. *J Pathol* 158:7-12, 1989
 24. Moll R, Dhouailly D, Sun TT: Expression of keratin 5 as a distinctive feature of epithelial and biphasic mesotheliomas. An immunohistochemical study using monoclonal antibody AE14. *Virchows Archiv B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 58:129-145, 1989
 25. Ivanyi D, Groeneveld E, Van Doornwaard G, Mooi WJ, Hageman PC: Keratin subtypes in carcinomas of the uterine cervix. Implication for histogenesis and differential diagnosis. *Cancer Res* 50:5143-5152, 1990
 26. Weikel W, Wagner R, Moll R: Characterization of subcolumnar reserve cells and other epithelia of the human uterine cervix. *Virchows Archiv B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 54:98-110, 1987
 27. Gigi Lentier O, Geiger B, Levy R, Czernobilsky B: Cytokeratin expression in metaplasia of human uterine cervix. *Differentiation* 31:191-205, 1986
 28. Ramaekers FCS, Huysmans A, Schaart G, Moesker O, Vooijs GP: Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody. *Exp Cell Res* 170:235-249, 1987
 29. Lindberg K, Rheinwald JG: Suprabasal 40 kd keratin (K19) expression as an immunologic marker of premalignancy in oral mucosa. *Am J Pathol* 134:89-98, 1989
 30. Pulford KA, Rigney EM, Micklen KJ. KP-1: A new monoclonal antibody that detect a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol* 42:414-421, 1989
 31. Hockey MS, Stokes HJ, Thompson H: Carcinoembryonic antigen (CEA) expression and heterogeneity in primary and autologous metastatic gastric tumors in primary and autologous metastatic gastric tumours demonstrated by a monoclonal antibody. *Br J Cancer* 49:129-133, 1984
 32. Berner A, Bormer O, Marton PF: Distribution of the carcinoembryonic antigen (CEA) in gastric lesions. Immunohistochemical testing of three novel monoclonal antibodies. *Histol Histopathol* 5:199-204, 1990