

## 백서의 총담관 결찰에 의한 간 섬유화의 초미세구조적 및 면역조직화학적 연구

조선대학교 의과대학 소아과학교실, <sup>1</sup>내과학교실, <sup>2</sup>해부병리학교실

문경래 · 노영일 · 서우철 · 박영봉  
김만우<sup>1</sup> · 서재홍<sup>2</sup> · 박상기

### Ultrastructural and Immunohistochemical Study of Hepatic Fibrosis after the Ligation of the Common Bile Duct in Rats

Kyung Rye Moon, M.D., Young Ill Rho, M.D., Woo Chul Seo, M.D.,  
Yeong Bong Park, M.D., Man Woo Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jae Hong Seo, M.D.<sup>2</sup>  
and Sang Kee Park, M.D.

Departments of Pediatrics, <sup>1</sup>Internal Medicine and <sup>2</sup>Patholgy, College of Medicine  
Chosun University, Kwangju, Korea

**Purpose:** Proliferation of bile duct-like structures and fibrosis is a hepatic cellular reaction observed in most forms of human liver disease and in a variety of experimental conditions associated with liver injury. The aim of this study was to investigate the activation of Ito cells and bile duct proliferation in the rat after common bile duct ligation (CBDL).

**Methods:** Hepatic morphological abnormalities were examined in rats whose bile ducts had been irreversibly ligated for 15, 21, 24 and 28 days. The liver was examined by immunohistochemical staining for  $\alpha$ -smooth muscle actin, the known marker of activated Ito cells, and light and electron microscopes.

**Results:** After CBDL, the bile canalicular proliferation and interstitial fibrosis were gradually increased in the periportal areas extended to hepatic sinusoids. Ito cells positive for  $\alpha$ -smooth muscle actin were frequently observed in the periductular space and in perisinusoidal space of Disse. Ito cells and myofibroblasts were gradually increased in the interstitial fibrosis until the 28th day after CBDL. Ito cells and myofibroblasts had microfilaments with dense body at the periphery of the cell.

**Conclusions:** Our results suggest that Ito cells may be fibroblastic or myogenic. It has also been postulated that during the development of hepatic fibrosis, Ito cells become myofibroblasts or fibroblast like cells. (**J Korean Pediatr Gastroenterol Nutr 1999; 2: 185~193**)

**Key Words:** Hepatic fibrosis, Ito cell, Ligation of common bile duct

접수 : 1999년 8월 9일, 승인 : 1999년 9월 7일

책임저자 : 문경래, 501-717, 광주시 동구 서석 2동 375, 조선대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 062) 220-3052, 3040 Fax: 062) 227-2904

\* 이 논문은 1995년도 조선대학교 학술연구비 지원 우수연구센터 기자재 활용에 의해 연구되었음.

\* 본 논문의 요지는 1996년 제46차 대한소아과 학회 추계학술대회에서 구연 발표하였음.

## 서 론

담즙정체를 주 증상으로 나타내는 대부분의 간 질환에서 담소관의 증식과 간섬유화를 관찰할 수 있다. 간 섬유화는 간 외 담도 폐쇄질환에서 가장 현저하며 독성, 감염인자에 의해 발생한 간 질환에서도 관찰된다<sup>1,2</sup>. 실험적으로 독성 인자를 투여하거나 총담관을 결찰하여 담소관의 증식과 섬유화를 일으킨 후 그 기전을 밝히려는 많은 연구 결과가 보고되고 있다<sup>3,4</sup>. 그러나 간 섬유화의 병인은 아주 복잡하며 대부분 풀리지 않고 많은 논란이 제기 되고 있다<sup>5,6</sup>. 독성물질에 의한 간 섬유화의 기전은 우선 화학물질 들에 의해 간세포가 손상을 받아 지속적으로 파괴되고 더불어 Kupffer 세포가 활성화 및 증식되며, 단핵세포의 간 내 유입이 증가하여 염증반응이 촉발된다. 활성화 된 탐식세포 들은 TGF- $\beta$ 1, platelet-derived growth factor 등 많은 성장인자를 분비한다. 이에 따라 디세강에 위치하고 있는 Ito 세포는 활성화되어 근섬유모 세포로 변화하면서 세포의 기질 즉 교원질을 분비하여 간 섬유화를 일으킨다<sup>7</sup>. 그러나 만성 담즙정체를 일으키는 질환에 의한 간 섬유화는 간 괴사와 염증반응이 경미하기 때문에 또 다른 기전이 작용할 가능성이 많다<sup>8-10</sup>.

이에 저자들은 실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 시간이 경과함에 따라 담소관의 증식과 간 섬유화의 진행 과정과 간 섬유화에 대한 Ito 세포의 역할을 알아보기 위해 면역조직 화학적 및 전자현미경적 연구를 하였다.

## 대상 및 방법

실험동물은 체중 약 180~200 g 정도의 Sprague-Dawley계 건강한 수컷 흰쥐를 사용하였다. Sodium phenobarbital (50 mg/kg)을 복강 내에 주사하여 전 신마취를 시키고 상복부를 70% 알코올로 소독하여 약 3 cm의 정중선 절개를 가하였다. 3.0 silk를 사용하여 가능한 간장에 가까운 부위의 담관 두

곳을 결찰하고 중간부위는 절단하고 결찰 후 15일, 21일, 24일 그리고 28일째에 도살하였다. 각 군은 각각 10마리였다.

### 1. 광학현미경적 검사

절취한 간 조직을 10% 중성 포르말린에 고정한 뒤 파라핀에 포매시켜 블록을 4  $\mu$ m 두께의 연속 절편을 만든 후 헤마톡실린-에오진염색을 하여 광학현미경으로 검사하였다.

### 2. 면역조직화학적 방법

면역조직화학적 검사를 위해 일차항체로  $\alpha$ -smooth muscle actin과 Desmin (Dako Co, CA, USA)을 이차항체 및 발색시약(ZYMED Lab. USA)을 사용하였다. 파라핀 포매조직 절편을 4  $\mu$ m으로 박 절하여 탈 파라핀과 함수 시킨 후 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-methanol 용액으로 5분 동안 처리하여 조직 내 내인성 과산화효소의 활동을 저지시키고 증류수로 행구었다. Phosphate-buffered saline (PBS)에 담근 후 단백질과의 비 특이성 결합을 억제시키기 위하여 정상 염소혈청에 5분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. 일차항체인  $\alpha$ -smooth muscle actin, Desmin과 이차항체를 가하고 10분간 반응시킨 후 PBS에서 수세하였다. 발색제인 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)를 이용하여 발색시켰다. 헤마톡실린으로 대조염색하고 crystal mount로 봉입하여 관찰하였다.

양성 대조군은  $\alpha$ -smooth muscle actin과 Desmin 염색 모두에서 양성소견을 정하는 평활근종 조직편을, 음성 대조군으로는 편평상피암 조직 편을 사용하였다.

### 3. 초미세구조적 검색

조직 편을 1 mm<sup>3</sup>의 크기로 잘라서 2% glutaraldehyde 용액(pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer, 4°C)에 2시간 동안 고정한 후, Millonig법<sup>11</sup>)으로 만든 osmium tetroxide 용액으로 다시 2시간 고정하였다. 다시 동일한 cacodylate buffer로 세척한 후 계열 에칠알콜로 탈수하고, 산화프로필린를 침투시킨 다음 epon에 포매하여 60°C에서 72시간 열 중합시켰다.

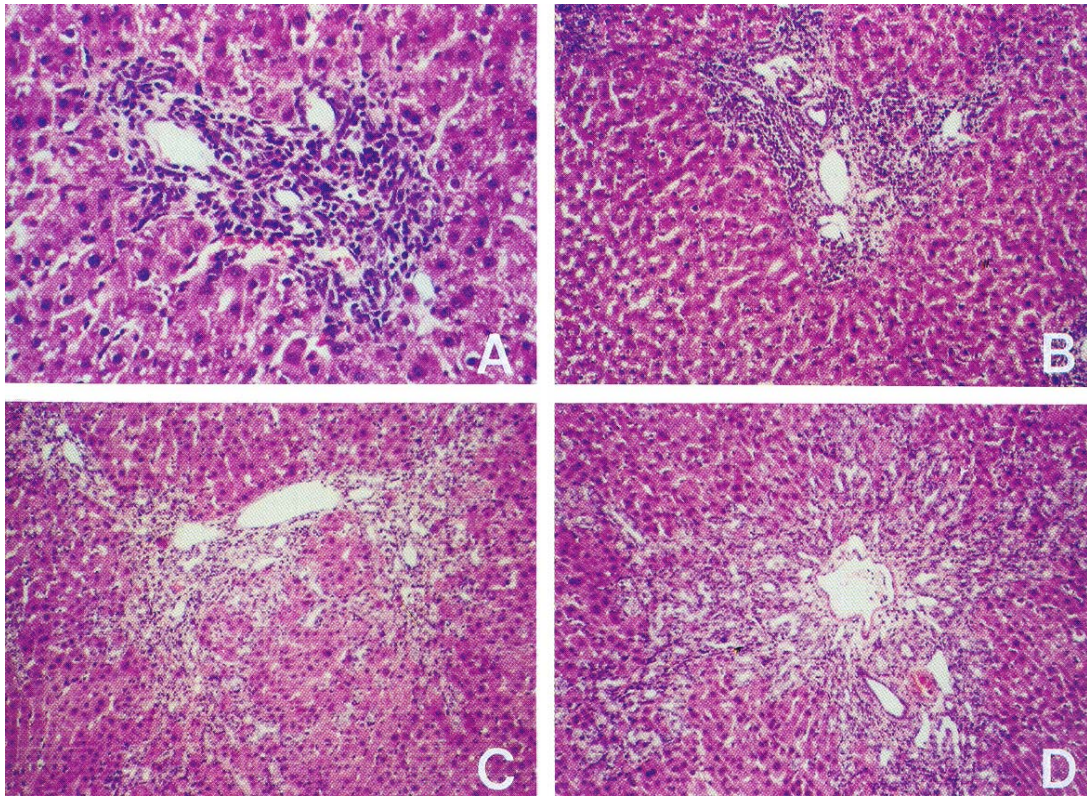
이 epon 블록을 1  $\mu\text{M}$ 으로 박절하여 1% toluidine에 염색한 후 광학현미경으로 특징적인 부위를 LKB 현미경 절편도로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 하였다. 그후 JEM 100CXII형 전자현미경으로 가속전압 80 KV 하에서 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 광학현미경 소견

총담관 결찰 후 15일째에는 간문맥역에 담소관

의 경미한 증식이 관찰되었으며, 담소관 사이에 섬유화가 보였다(Fig. 1A). 21일째에는 간문맥역에 담소관의 증식과 담소관이 간소엽사이와 간소엽내에서도 관찰되었고 문맥역에는 드물게 염증세포의 침윤이 있었다. 동모양혈관에는 방추형의 세포들이 뚜렷하였다(Fig. 1B). 24일째에는 간세포 삭이 매우 불규칙하였으며 담소관의 증식이 집단으로 나타났다. 문맥 역이 확장되고 섬유화도 많이 관찰되었으며 주로 문맥역 쪽에서 중심정맥부위로 진행되는 양상이었다(Fig. 1C). 28일째에는 담소관의 증식이 아주 심하고 간질조직이 현저히 증가하였



**Fig. 1.** (A) Light micrograph (LM) from the rat liver 15 days after common bile duct ligation (CBDL): The hepatic parenchyma are distorted by bile ductular proliferation and interstitial fibrosis is confined in the periportal area. (B) 21 days after CBDL: Bile ductular proliferation and interstitial fibrosis in the periportal area are noted. (C) 21 days after CBDL: The hepatic cords are irregular and distorted by bile ductular proliferation and increased interstitial fibrosis. (D) 28 days after CBDL: Marked bile ductular proliferation and increased interstitial fibrosis are noted. Infiltration of inflammatory cells, especially lymphocytes and spindle shaped cells around periductular space and along the sinusoid is noted (H&E,  $\times 200$ ).

다. 증식된 담소 관주위에 염증세포의 침윤이 증가하고 방추형의 세포들이 현저히 증가하였다(Fig. 1D).

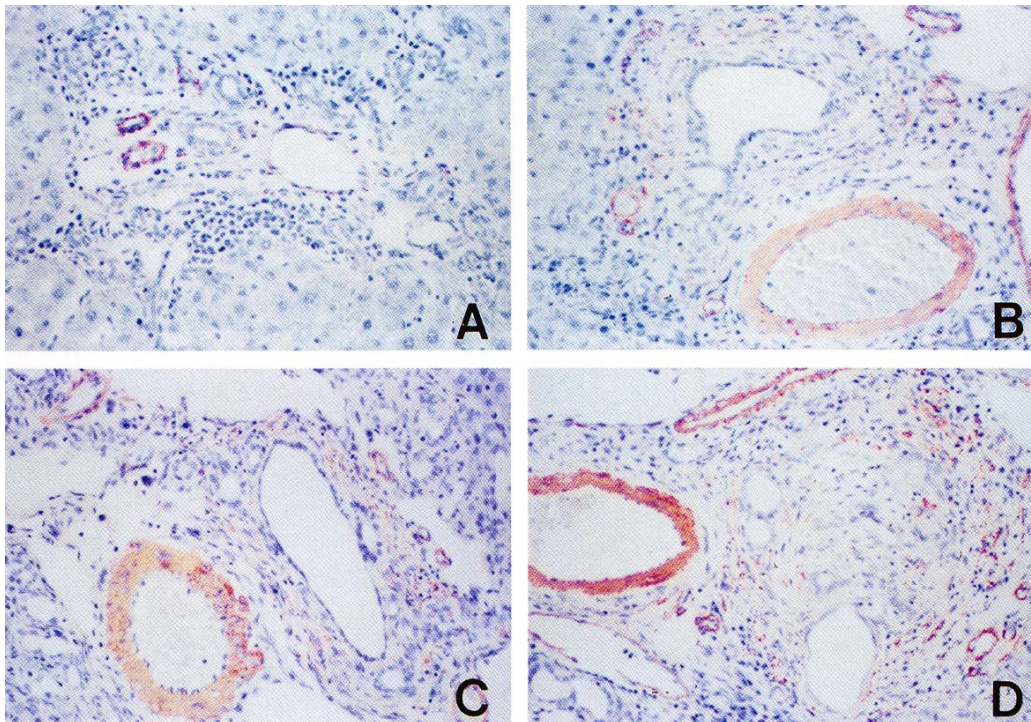
## 2. 면역 조직학적 소견

$\alpha$ -smooth muscle actin에 대한 면역조직화학적 염색에서 총담관 결찰한 후 15일째에는 염색된 세포가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 2A). 21일째에는 증식된 담소관 주위의 방추형 세포 및 간질조직에서 강하게 염색되었으며 동모양혈관을 따라 양성반응을 보이는 세포들이 많이 관찰되었다. 증식된 담소관을 따라 간세포사이에도 불규칙하게 염색되었다(Fig. 2B). 24일과 28일째에는 염색되는 정도가 진

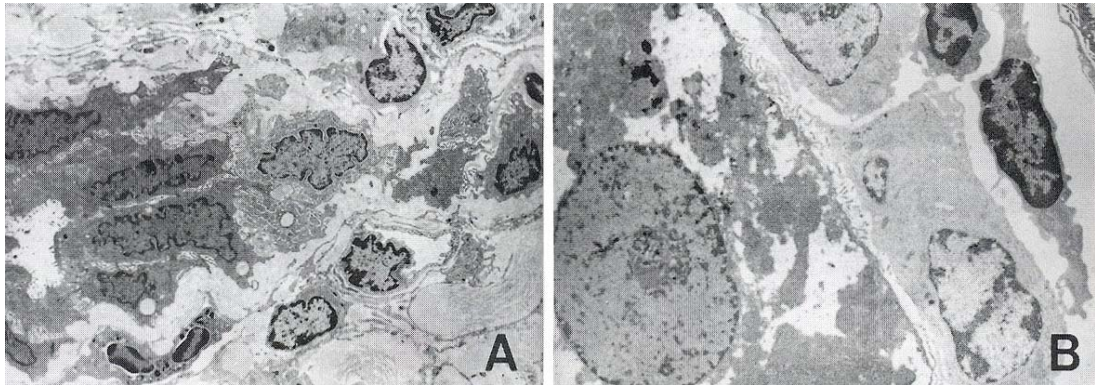
하였다(Fig. 2C, D). Desmin에 대한 면역조직화학적 염색에서는 총담관 결찰 후 28일째까지 양성반응을 보이는 세포들이 증식된 담소관 주위에서는 관찰되지 않았다.

## 3. 전자현미경 소견

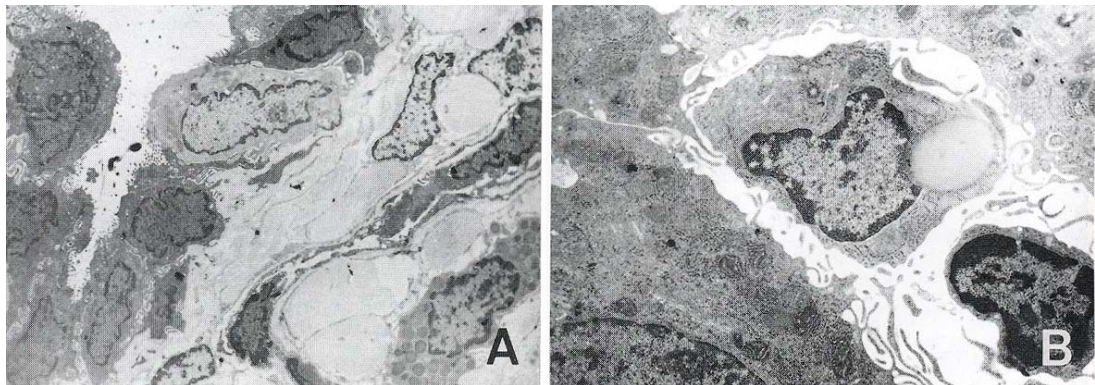
총담관 결찰 후 15일째에는 담세관은 미세용모가 약간 소실되었으나 특이한 변화는 없었고 증식된 Ito 세포와 Kupffer 세포가 관찰되었다(Fig. 3A, B). 21일째에는 담세관은 확장되었고 미세용모는 약간 소실되었고 상피세포의 기저막이 두꺼워져 있었다. 기저막 주위에 교원섬유의 증식과 섬유세



**Fig. 2.** (A) Immunolocalization of  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) in the rat 15 days after CBDL. A slight positive SMA stain is shown in proliferated periductular space and along the sinusoid. (B) 21days after CBDL: Strong positive SMA stain is noted in the proliferated periductular space and along the sinusoid. (C) 24 days after CBDL. Positive SMA stain is also seen in the periductular space and along the sinusoid. Note increase in the number of positive cells compared to 21 days after CBDL. (D) 28 days after CBDL: SMA is positive in the periductular space and along the sinusoid. Note increase in the number of positive cells compared to 24 days after CBDL ( $\times 200$ ).



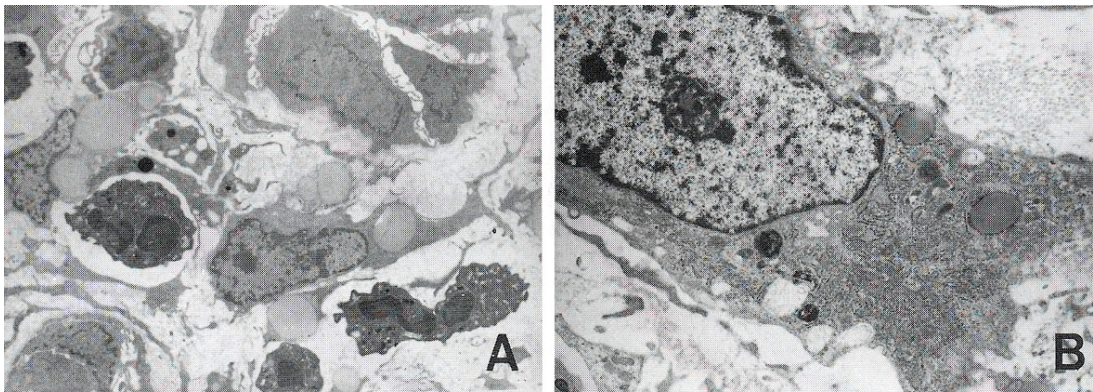
**Fig. 3.** (A, B) Transmission of electron micrograph (TEM) of the rat liver 15 days after CBDL. The proliferated bile ductular epithelial cells show a slight loss of microvilli. It is present in the periductular space mixed with some inflammatory cells, fibroblasts and Ito cells ( $\times 2500$ ,  $\times 3000$ ).



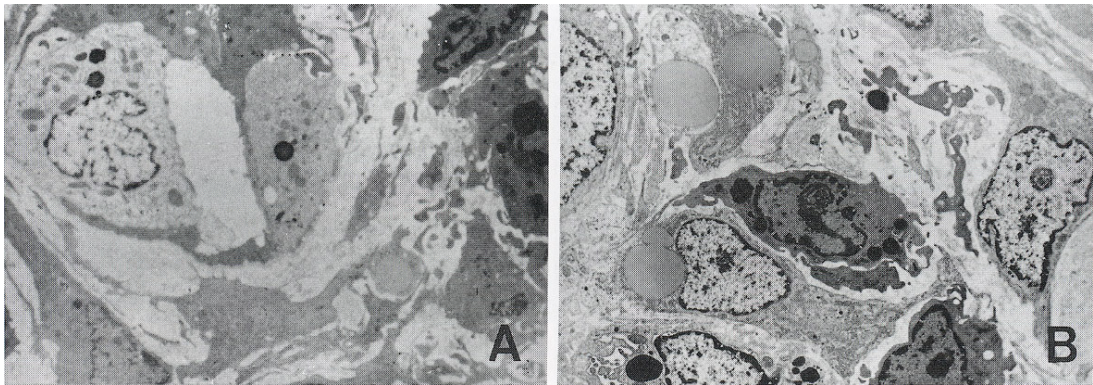
**Fig. 4.** TEM of the rat liver 21 days after CBDL. (A) The proliferated bile ductular epithelial cells show a loss of microvilli in the their luminal surface. Basement membrane is intact ( $\times 2500$ ). (B) It is present in the periductular space mixed with some inflammatory cells, Ito cells and Kupffer cells ( $\times 4000$ ).

포가 관찰되었다(Fig. 4A). 간세포는 전반적으로 부풀어 있었고 세포질 내 미토콘드리아 기질의 밀도가 낮고 위축되어 있었다. 주변에 염증세포 즉 림프구, 탐식세포 그리고 Ito 세포가 관찰되었다(Fig. 4B). 24일째에는 담세관은 더 확장되어 있었고 미세용모는 소실되었다(Fig. 5A). 지방적을 가진 활성화된 Ito 세포가 동모양혈관과 문맥역 주위에서 관찰되었다. Ito 세포내에는 매우 발달된 조면 세포질 내세망(rough surfaced endoplasmic reticulum, 이하 RER로 함)과 리보솜이 있었다. Ito 세포에 인접해서 탐식세포와 교원섬유의 증식이 관

찰되었다(Fig. 5B). 28일째에는 담세관은 더욱 확장되고, 간세포에서 보는 것처럼 구성세포들은 세포질 내 미토콘드리아가 현저하게 관찰되었다. 미세용모는 소실이 심하였고, 지방적을 가진 Ito 세포가 많이 증가하였다. Ito 세포의 변연부에는 종축으로 배열된 세사들의 평행다발과 조밀체를 많이 보였다(Fig. 6A). 형질막하부위에는 지방적이 적은 Ito 세포가 관찰되었는데 많은 조밀체를 가진 종축으로 배열된 미세 필라멘트를 가지고 있었다. 형질막하 부위에는 지방조직이 없는 근섬유모 세포가 관찰되었는데 다수의 조밀체를 가진 종축으로 배



**Fig. 5.** TEM of the rat liver 24 days after CBDL. (A) Ito cells and Kupffer cells in the periductular space are noted ( $\times 2500$ ). (B) Ito cells have a few fat droplets and microvilli of the hepatocytes are relatively preserved in a state of little collagen ( $\times 4000$ ).



**Fig. 6.** TEM of the rat liver 28 days after CBDL. (A) The proliferated bile ductular epithelial cells show a marked loss of microvilli in their luminal surface. Ito cells, Kupffer cells and adjacent myofibroblast-like cells in the periductular space are noted. (B) Ito cells and myofibroblasts demonstrate microfilaments with dense body at the periphery of the cell ( $\times 4000$ ).

열된 미세 필라멘트를 가지고 있었으며 주위조직에는 교원섬유의 증식이 보였다(Fig. 6B).

### 고 찰

대부분의 만성 간 질환에서 담소관의 증식과 섬유화가 관찰된다. 특히 간의 담관 폐쇄에서 가장 현저하다<sup>1,2)</sup>. 담소관 증식과 섬유화의 기원에 대해서는 아직까지 많은 논란이 되고 있다<sup>3,4)</sup>.

간 질환에서 담소관 증식은 전형적 그리고 비

전형적으로 구분한다. 전형적 담소관의 증식은 주로 급성 간 손상에서 관찰되는데 강이 잘 형성되고 문맥 역에 국한하여 담관의 수가 증가된다. 이는 이미 존재하는 담소관 상피세포들의 복제와 관련이 있다고 한다. 비전형적 담소관 증식은 만성 간 질환에서 관찰되는데 비정상적인 관상구조의 수가 증가된다. 이 증식된 구조들은 간세포 같은 세포들에 의해서 형성되며 담소관 상피세포들은 간세포의 화생에서 유래한다는 보고도 있다<sup>6)</sup>. 저자들의 실험에서는 담관 결찰후 24일째까지는 담

소관 상피세포의 변화는 뚜렷하지 않았으나 28일째에 간세포와 유사하게 미토콘드리아 수가 현저히 증가하였다. 이 소견은 담소관 상피세포가 간세포의 화생에 의해 형성되었음을 뒷받침하는 소견으로 추정할 수 있다.

담소관의 증식은 담즙의 저류에 의한 직접적인 영향보다는 담도 내의 물리적인 압력의 증가에 의해 일어난다고 한다<sup>12,13</sup>. 저자들의 실험 결과도 총담관 결찰 후 21일째에 담소관의 현저한 증식과 담소관 사이사이에 섬유화가 진행되는 것이 관찰되었으며 시간이 경과할수록 심하였다. 간세포 삭이 거의 파괴될 정도로 담소관의 광범위한 증식을 보였으나, 담즙 정체는 경미하게 관찰되었다. 이 소견은 담소관의 증식은 담즙의 직접적인 독성보다는 담도 내 압력의 증가에 의해 일어난다는 것을 뒷받침한다.

실험적으로 사염화탄소나 nitrosamine과 같은 화학 물질을 투여하면 독성에 의해서 간세포가 파괴되고, 염증성 변화가 동반되어 단핵세포의 간내 유입이 증가하고 Kupffer 세포의 활성화 및 증식이 증가한다. 활성화된 Kupffer 세포가 TGF- $\beta$ 1와 PDGF를 분비하여 Ito 세포는 증식 활성화된다. 활성화된 Ito 세포는 RER이 풍부하며 근섬유 모세포로의 변형되어 교원질을 분비하여 섬유화를 일으킨다. Ito 세포의 축적은 국소적 증식과 직접 이주로부터 생긴다. Ito 세포가 활성화되면 세포질내 지방적의 수와 크기가 감소하며 세포질 돌기는 증가한다. 면역 조직화학적 검색에서는 smooth muscle actin에 양성반응을 보이는 근섬유 모세포가 증가한다<sup>14~16</sup>.

Minato 등<sup>17</sup>은 알코올성 간 질환에서 볼 수 있는 디세강내의 진행성 간섬유화 변화는 지방적과 잘 발달된 RER을 가진 지방세포들과 관련이 있으며 이 세포들은 지방세포들과 섬유모세포들 사이의 이행 세포라고 보고했다. Okanoue 등<sup>18</sup>은 알코올성 간염에서 간에서 섬유화가 일어난 국소 부위에서도 비슷한 형태의 지방세포가 발견되었다고 보고하였다. 이 섬유모양세포들은 활성화된 지방세포이며 RER이 잘 발달되었다. 이행 세포의 세포질에는 필라멘트의 양이 증가되어 있으며 기저막 물질

에 의해서 둘러 쌓여 있지 않다. 이행 세포는 지방세포보다 많은 양의 교원질에 의해 둘러 쌓여 있으며 포음세포와 미세 필라멘트가 보이고 가끔 세포 주변 부의 세포질에 밀집된 입자들이 관찰되었다. 간 실질조직에서 섬유화가 진행 될 때에 지방세포 감소와 이행 세포의 증가가 관찰된다<sup>16,17,19</sup>. 전형적인 섬유모세포에서는 세포질 내에는 RER이 없다.

섬유화의 진행은 간경변증의 특징적인 소견이다. 정상 간에서는 간질 교원질(I형과 II형)이 문맥역에 농축되고 중심정맥 주위와 디세강에 다발로 나타난다. 간세포 사이의 교원질 골격은 IV형의 섬세한 가닥으로 구성된다. 간경변증에서는 I형과 III형 교원질이 소엽 부위에 침전되어 혈류의 심한 교란을 일으키고 간세포와 혈장사이 전해질의 확산을 감소시킨다. 디세강의 교원질화는 동모양혈관 내피세포들에서 간세포들과 혈장사이의 단백질의 이동을 감소시킨다. 간세포도 교원질을 합성할 수 있지만 섬유화를 주도하는 주 기원 세포는 Ito 세포이다<sup>20</sup>. 배양된 Ito 세포는 형태학적으로 변화하여 교원질 유전자 표현이 증가하여 I형 교원질을 분비 합성한다<sup>21</sup>. 간경변으로 진행시 Ito 세포는 활성화되고 retinyl ester 저장소 소실해서 섬유모세포 같은 세포로 변형되며 수축 능력을 가진 근섬유모 세포로 변형된다. 수축현상은 2가지의 기본적인 현상을 특징으로 하는데 수축과 교원질 침착이다. 교원질 침착을 위한 자극은 아직 명백하지 않다. 최근 가장 많이 주장되고 있는 설은 세포의 기질의 왜곡 즉, 내피세포, Kupffer 세포, 간세포 그리고 염증세포로부터 사이토카인의 분비로 Ito 세포가 교원질을 분비하는 근섬유모 세포로 변형하기 때문에 교원질의 침착이 생겨 섬유화가 일어난다는 것이다<sup>14~16</sup>. 저자들의 연구에서도 총담관 결찰 후 시간이 경과함에 따라서 활성화된 Ito 세포와 Ito 세포가 근섬유모 세포로 변형되는 소견이 관찰되었다. 면역조직화학적으로  $\alpha$ -smooth muscle actin 그리고 Desmin 항체를 이용하여 근섬유모 세포들을 감별한다.  $\alpha$ -smooth muscle actin은 평활근 세포의 특징을 나타내는 액틴의 이소체로서 평활근

세포로 분화해 가는 모든 세포의 좋은 표지자이다. Desmin은 간질세포 특히 평활근이나 횡문근세포에서 나타나는 중간형 사상체이다. 이들 단백성분을 면역조직화학적 방법에 의해 인지함으로써 그 세포의 기원을 알 수 있다<sup>21)</sup>. Ito 세포는 간의 구성세포중 유일하게 Desmin에 양성반응을 보인다. Ito 세포가 근섬유모 세포로 형태학적 전환이 일어나면 smooth muscle actin에만 양성반응을 나타낸다. 저자들의 연구에서도 총담관 결찰후 21일과 28일째에 면역조직학적 염색상 Desmin에 음성 소견과 smooth muscle actin에 양성 소견이 시간이 경과함에 따라 현저하였다.

이상의 연구결과는 총담관 결찰 후 간에서 일어나는 섬유화는 활성화된 Ito 세포의 증가와 Ito 세포가 교원질을 분비하는 근섬유 모세포로 변형되어 일어나는 것으로 추정되며 이에 대한 생화학적 및 면역전자현미경적 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 요 약

**목 적:** 담즙 정체를 주 소견으로 하는 만성 간질환의 대부분에서 담소관의 증식과 간섬유화가 관찰된다. 특히 간의 담도 폐쇄증에서 가장 현저하다. 그러나 섬유화의 병인에 대해서는 아직까지 많은 논란이 제기되고 있다. 총담관 결찰 후 시간이 경과함에 따른 담소관의 증식과 간섬유화의 진행과정 및 간섬유화에 대한 Ito 세포의 역할을 형태학적으로 조사하고자 본 연구를 하였다.

**방 법:** 건강한 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대상으로 총담관을 결찰한 후 15일, 21일, 24일, 28일째에 도살하여 담소관의 증식과 간 섬유화의 진행과정을 smooth muscle actin에 대한 면역조직화학적 염색과 전자현미경적 검사를 하였다.

**결 과:**

- 1) 총담관 결찰후 시간이 경과할수록 간문맥 중심으로 담소관의 증식과 결체조직의 증식이 증가하였다.
- 2) 면역조직화학적 검색에서 활성화된 Ito 세포

는 smooth muscle actin에 양성반응을 보였고, 총담관 결찰후 시간이 경과할수록 담소관주위와 동모양혈관 주위에서 많이 관찰되었다.

3) 전자현미경적 관찰에서 총담관결찰 후 시간이 경과함에 따라 Ito 세포가 증가하였으며, 지방적의 수가 감소한 근섬유모 세포를 닮은 Ito 세포와 근섬유모 세포의 수가 증가하였다.

**결 론:** 총담관 결찰후에 볼 수있는 간 섬유화는 활성화된 Ito 세포의 증가와 Ito 세포가 교원질을 분비하는 근섬유 모세포로 변형되기 때문에 생긴 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Popper H. General pathology of the liver: Light microscopic aspects serving diagnosis and interpretation. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 175-84.
- 2) Perez-Tamayo R. Cirrhosis of the liver: A reversible disease? *Pathol Annu* 1979; 14: 183-213.
- 3) Bissel DM, Maher JJ. Hepatic fibrosis and cirrhosis. In: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology: A textbook of liver disease*. 2nd ed Philadelphia: WB Saunders Co, 1996: 506-25.
- 4) Hanauske-Abel HM. Fibrosis: Representative molecular elements, a basic concept and emerging targets for suppressive treatment. In: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology: A textbook of liver disease*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1996: 506-25.
- 5) Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, Guillouzo A. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. *Am J Pathol* 1990; 137: 1333-42.
- 6) Sloti PA, Liu MH, Tavolnoi N. Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990; 99: 466-77.
- 7) Weiner FR, Czaja MJ, Zern MA. Ito cell gene expression and collagen regulation. *Hepatology* 1990; 11: 111-7.
- 8) Uchiad T, Peters RL. The nature and origin of proliferated bile ductules in alcoholic liver disease. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 326-33.

- 9) Nakanuma Y, Otha G. Immunohistochemical study on bile ductular proliferation in various hepatobiliary diseases. *Liver* 1986; 6: 205-11.
  - 10) Butron VMM, Haot J, Desmet VJ. Cholestatic features in focal nodular hyperplasia of the liver. *Liver* 1986; 6: 205-11.
  - 11) Millonig GA. Further observation on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation in electron microscopy. In: 5th Int Congr. Electron Microscopy. New York: Academic Press, 1962; 8-25.
  - 12) Popper H, Schaffner F, Barka T. Has proliferation of bile ductules clinical significance? *Acta Hepato-Splenol* 1962; 9: 129-39.
  - 13) Buysens N. Ductular proliferation. *Gastroenterology* 1965; 49: 702-6.
  - 14) Davis BH, Pratt BM, Madri JA. Retinol and extracellular collagen matrices modulate hepatic Ito cell collagen phenotype and cellular retinol binding protein levels. *J Biol Chem* 1987; 262: 10280-6.
  - 15) Davis BH, Kramer RT, Davidson NO. Retinoic acid modulates rat Ito cell proliferation, collagen, and transforming growth factor  $\beta$  production. *J Clin Invest* 1990; 86: 2062-70.
  - 16) Davis BH, Rapp UR, Davidson NO. Retinoic acid and transforming growth factor beta differentially inhibit platelet-derived-growth-factor-induced Ito cell activation. *Biochem J* 1991; 28: 43-7.
  - 17) Minato Y, Hasumura Y, Takeuchi J. The role of fat-storing cells in Disse space fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Hepatology* 1983; 3: 559-66.
  - 18) Okanoue T, Burbige FJ, French SW. The role of the Ito cell in perivenular and intralobular fibrosis in alcoholic hepatitis. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107: 459-63.
  - 19) Minato Y, Hasumura Y, Takeuchi J. The role of fat-storing cells in Disse space fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Hepatology* 1983; 3: 559-66.
  - 20) Matsuoka M, Pham NT, Tsukamoto H. Release of transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1)-like activity by Kupffer cells in alcoholic liver fibrogenesis and its stimulation of lipocyte collagen formation [Abstract]. *Hepatology* 1988; 8: 1231.
  - 21) Ballardini G, Fallani M, Biagini G, Bianchi FB, Pisi E. Desmin and actin in the identification of Ito cells and in monitoring their evolution to myofibroblasts in experimental liver fibrosis. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1988; 56: 45-9.
-