

Cyclosporin A 반복투여후 랫드 간세포의 미세구조적 관찰

장병준 · 권구범 · 유현진 · 최혜영 · 윤화중

전국대학교 수의학부 및 동물자원연구센터
(1998년 3월 27일 접수)

Fine structural observations on the rat hepatocytes after repeated treatment of cyclosporin A

Byung-joon Chang, Ku-birm Kwon, Hyun-jin Yu, Hye-young Choi, Hwa-joong Yoon

Faculty of Veterinary Medicine and Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University

(Received Mar 27, 1998)

Abstract : This study was carried out to investigate the fine structural changes of rat hepatocytes by repeated treatment of cyclosporin A that has been widely used for immuno-suppressive drug in organ transplantation. Sprague-Dawley rats were kept in experimental circumstances for 2 weeks and 50mg/kg B.W of cyclosporin A was injected once a day subcutaneously for 7 days and sacrificed at 1 hour, 1 day, 3 days, 7 days, 14 days, 28 days after the last injection. Fine structural changes were observed by transmission electron microscope (JEM 1200EX II) and the results obtained were as follows.

1. Accumulation of lipid droplets in hepatocytes was prominently increased in 1 hour and 1 day lapse groups, and this finding was slightly reduced in 3 days lapse group and remarkably reduced from 7 days lapse group enough to be recovered completely in 14 days lapse group.
2. Dilatation of rough endoplasmic reticula cisternae, detachment of membrane bound ribosomes, proliferation of smooth endoplasmic reticula were observed in 1 hour and 1 day lapse groups, and these findings were mild in 3 days lapse group and abruptly reduced from 7 days lapse group enough to be recovered completely in 28 days lapse group.
3. Small myelin figures were observed in 3 days lapse group after CsA-treatment.
4. Swelling of mitochondria and destruction of their cristae were observed in 1 hour and 1 day lapse groups, and these findings were recovered from 3 days lapse group.
5. Dilatation of bile canaliculi and remarkable loss of microvilli in the pericanalicular wall were observed in 1 hour lapse group and the most severe change was shown in 1 day lapse group and lasted to 3 days lapse group, and these findings were reduced gradually from 7 days lapse group enough to recovered completely in 28 days lapse group.

Key words : cyclosporin A, hepatocytes, bile canaliculi, electron microscopy.

Address reprint requests to Dr. Byung-joon Chang, School of Veterinary Medicine, College of Animal Husbandry Kon-kuk University #93-1 Mojin-dong 143-701 Seoul, Republic of Korea.

서 론

Cyclosporin A(CsA)는 장기이식의 성공률 제고와 자가 면역질환의 감소에 큰 효과를 나타내고 있지만 과량의 사용에 의해 신장과 간장의 기능장애가 유발되는 것으로 보고되어 있다^{1,2}. 간장의 기능장애는 혈장내에서 bilirubin과 담즙산의 수준감소와 함께 담즙정체가 나타나는 것이 대표적이다³⁻⁸. 담즙정체가 일어나는 기전에 대해서는 아직까지 명확하게 밝혀져 있지 않지만 동모양 혈관에서 담즙산의 uptake가 저하되기 때문이라는 주장^{1,5-7,9,10}과 담즙산, bilirubin, cholephilic dyes 등이 담세관막을 통과하는 배출과정의 장애에 의해 담즙정체가 일어난다는 주장^{3,5,11}이 있으며 또한 membrane fluidity의 변화 가능성^{6,7,9}도 보고되어 있다. 지금까지 보고되어온 결과들을 볼 때 이 세가지 가설은 모두 설득력을 얻고 있어 담즙정체의 유발기전은 위의 요인들이 복합적으로 작용할 가능성이 매우 높다고 하겠다.

본 연구에서는 담즙정체와 함께 간세포의 변화를 유발시키는 CsA를 Francis *et al*¹²에 의해 면역치료용량으로 알려진 체중 kg당 50mg의 용량으로 7일간 반복하여 페하주사한 후 시간의 경과에 따른 담세관과 간세포 소기관의 변화를 관찰하여 담즙의 배출에 미치는 CsA의 영향을 살펴보려 한다.

재료 및 방법

실험재료 : 본 실험을 위한 실험동물로는 체중 250g 내외의 Sprague-Dawley 수컷 랫 70마리를 2주간 실험 환경에 적응시킨 후 외견상 건강하다고 인정된 동물을 실험에 사용하였으며, 예비사육 및 실험기간중 사육실의 환경조건은 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$ 에서 12시간을 주기로 명암을 바꾸어 주었다.

Cyclosporin A는 한국 산도스제약의 주사용 Sandimmun을 사용하였다.

실험방법

Cyclosporin A 투여 : 실험동물은 각각 정상대조군 10마리와 실험군 60마리로 구분하였으며, 실험군에는 cyclosporin A(50mg/kg B.W)를 1일 1회 페하주사로 7일간 반복투여하였다. 투여후 정상대조군과 실험군 모두 일 반적으로 시판되는 혼합사료와 종류수를 충분히 공급하

였으며, 최종투여후 각각의 실험동물을 다시 6개군으로 나누어 각각 10마리씩 배정한 후 1시간, 1일, 3일, 7일, 14일, 28일 경과후에 ether 마취하에 회생시켜 개복하고 간장의 왼쪽내측엽을 절취하였다.

전자현미경 관찰 : 간조직을 1mm^3 의 크기로 세절한 후 각각 0.1M phosphate buffer로 완충된 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde 혼합액(pH 7.3)으로 4°C에서 2시간 전고정한 후 동일 buffer로 세척하였으며, 같은 buffer로 완충된 1% osmium tetroxide(pH 7.3)에 같은 방법으로 후고정하였다. 고정된 조직편들은 ethanol 탈수 과정을 거친 후 Epon 812 혼합액에 포매하였다. 포매된 조직편은 LKB 2088 ultramicrotome으로 박절하고 uranylacetate와 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경(JEM 1200 EX II)으로 관찰하였다.

결 과

정상대조군 : 간세포의 세포질내에는 많은 수의 조면 형질내세망이 밀집되어 있었으며, 그 수조에는 다수의 리보소체가 부착되어 있었다. 또한 활면형질내세망은 세포질내에 고르게 분포되어 있었다. 사립체는 원형 또는 타원형으로 내부에 사립체능선이 뚜렷이 관찰되었다. 담세관은 인접한 두 간세포막 사이에서 잘 발달된 미세융모로 채워져 있었으며, 담세관의 주위에는 전자밀도가 다소 높은 용해소체를 관찰할 수 있었다. 또한 담세관의 주위에는 잘 발달된 Golgi 복합체가 위치해 있었으며, 담세관의 인접부 간세포막의 사이에는 복합세포사이 연접이 관찰되었다(Fig 1).

CsA 투여군

투여후 1시간 경과군 : 간세포 사이에 위치한 담세관의 내강은 정상대조군에 비하여 확장되었으며, 담세관의 내강을 채우고 있는 미세융모는 대부분이 담세관의 가장자리로 위축되거나 소실되었다. 사립체는 정상대조군에 비하여 종대된 형태가 다수 관찰되었고 또한 사립체능선의 파괴가 일부 관찰되었다(Fig 2). 대부분의 간세포에서 세포질내 조면형질내세망의 충판상의 배열이 불규칙하게 되고 수조의 수가 감소되었으며 수조의 확장과 막부착 리보소체의 탈락도 현저하게 관찰되었다. 세포질의 도처에 활면형질내세망의 증가가 뚜렷이 관찰되었으며 세포질내에 지방방울의 수가 전반적으로 증가되었다(Fig 3).

투여후 1일 경파군 : 조면형질내세망의 분포 및 형태는 투여후 1시간 경파군과 유사한 소견으로 관찰되었으며, 활면형질내세망의 증가도 투여후 1시간 경파군과 유사하게 관찰되었다. 종대된 사립체의 소견은 투여후 1시간 경파군보다 감소하였으며(Fig 4), 많은 세포에서 증가된 세포질내 지방방울이 지속적으로 관찰되었다. 인접한 간세포 사이에 위치한 담세관의 확장은 투여후 1시간 경파군에서보다 매우 뚜렷하였으며 담세관돌레의 세포막은 미세융모의 소실로 인해 윤곽이 거의 평탄하게 관찰되었다.

투여후 3일 경파군 : 간세포질내에서 여전히 많은 활면형질내세망을 관찰할 수 있었으며, 조면형질내세망은 투여후 1일경파군에 비하여 수조의 확장소견이 다소 감소하였으나 전반적인 수는 크게 증가하지 않았다(Fig 5). 또한 세포질의 도처에 전자밀도가 높은 소형의 수초상 구조를 관찰할 수 있었다. 사립체는 종대된 소견이 더 이상 관찰되지 않았으며 윤상의 다소포체와 자가포식소체가 종종 관찰되었다. 담세관의 확장소견은 계속 유지되었으나 그 정도는 투여후 1일 경파군에서보다 감소하였고 담세관내 미세융모는 투여후 1일경파군에서보다 약간 증가되었으며, 미세사를 함유하고 있는 담세관주위 세포질에서 pericanalicular region의 일부가 담세관 내강으로 돌출되어 있는 소견이 관찰되었다(Fig 5).

투여후 7일 경파군 : 간세포질내의 조면형질내세망은 투여후 3일 경파군에 비하여 크게 증가되었으며, 활면형질내세망의 수는 감소하였다. 또한 수조막에 부착된 리보소체도 크게 증가되었다(Fig 6). 담세관의 확장정도는 투여후 3일경파군에 비하여 감소되었으며, 담세관 내강의 미세융모는 투여후 3일 경파군에서 보다 다소 증가된 소견을 관찰할 수 있었다. 또한 담세관 주위에는 전자밀도가 다소 높은 물질을 포함하고 있는 뭇소포체가 관찰되었다.

투여후 14일 경파군 : 간세포내의 조면형질내세망은 투여후 7일 경파군에 비하여 현저히 증가되었으며, 조면형질내세망 수조의 층판상 배열도 세포질내에 다소 밀집되어 관찰되었다. 반면에 활면형질내세망은 전체적으로 7일 경파군보다 감소되어 정상대조군의 소견과 유사하게 관찰되었다. 담세관은 투여후 7일 경파군에 비하여 내강의 확장정도가 감소되었으며, 담세관의 내강은 다수의 미세융모로 채워져 있었다(Fig 7).

투여후 28일 경파군 : 간세포질내의 조면형질내세망,

활면형질내세망, 사립체, 용해소체, Golgi 장치 등 소기 관의 소견은 정상대조군과 유사하게 관찰되었다. 간세포 사이에 존재하는 담세관은 초기에 관찰되었던 확장 소견을 더 이상 관찰할 수 없었으며, 잘 발달된 미세융모들이 그 내강을 채우고 있었다(Fig 8).

고 칠

Cyclosporin A(CsA)는 *Trichoderma polysporum Rifai* 와 *Cylindrocarpon lucidum Booth*에서 얻어진 진균성 대사산물로 11개의 아미노산을 가진 cyclic peptide로 구성되어 있으며, 분자량은 1203 dalton으로 물에는 잘 녹지 않지만 지방에 친화성이 있다^{13,14}. CsA는 1970년 Swiss의 Sandoz사에 의해 최초로 개발되었는데 처음에는 항균제 및 항암제로서 개발을 시도하였으나 이에 대한 작용보다는 백혈구 중식억제효과가 탁월하여 현재는 장기이식 수술후에 거부반응억제제로 사용하거나 혹은 자가면역 질환인 포도막염, 류마티스성 관절염 등의 치료에 사용되고 있다. 이러한 CsA는 주로 helper T-cell에 작용하여 세포내 수용체단백인 cyclophilin과 결합하여 interleukin-2의 생성을 억제하고 세포독성 림프구 형성의 초기단계를 차단하여 면역억제효과를 나타내는 것으로 추측하고 있을 뿐 정확한 작용기전은 아직 밝혀지지 않았다. 그러나 CsA의 사용이 증가하면서 고유의 면역억제기능 이외에 신장, 간장, 림프계통 및 생식기계통 등에 대한 기능장애가 보고되었다^{2,4,15-22}. Cadranel *et al*²³과 Lorber *et al*²⁴은 장기이식수술 환자에 투여한 CsA에 의해 빌리루빈, GOT, GPT, AP의 증가와 담즙정체가 유발된다고 보고하였으며, Blair *et al*²⁵에 의하면 CsA를 3주간 투여하였을 때 간기능장애로 총혈청단백질, 알부민, 아미노전달계(AT)의 감소와 총빌리루빈의 증가 및 간세포내의 지방변성과 조면형질내세망수조의 확장과 막부착 리보소체의 소실이 유발된다고 보고하였다.

Rotolo *et al*²⁶ 및 Stone *et al*^{6,7}은 CsA의 투여에 의해 유발되는 담즙흐름의 억제로 인하여 담즙정체와 담즙분비의 장해가 일어난다고 보고하였으며, 담즙정체는 담즙흐름의 감소와 담즙산 분비의 저하로 인하여 유발되며, 그 결과 담세관의 확장을 초래하여 그 내강에 위치해 있는 미세융모의 소실을 유발시킨다고 보고하였다²⁷. 또한 Atsuhiko *et al*²⁸은 담세관 내강의 확장과 미세융모의 소실이 담세관 주위의 세포골격인 미세사의 축적과 함께

일어난다고 보고하였으며, 이러한 미세사의 축적은 담세관 주위의 미세사들이 G-actin의 F-actin으로의 중합축진과 F-actin의 안정화에 의한 결과라고 하였다. 본 실험에서도 이러한 소견과 일치하는 결과로 CsA 반복투여후 1일경과군에서 담세관 내강의 확장과 그 속에 있는 미세융모의 감소를 관찰할 수 있었으며 또한 미세사를 함유하고 있는 담세관 주위 부분이 경미하게 두터워진 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 소견은 CsA 반복투여후 7일 경과군까지 계속 유지되었으며, 투여후 3일 경과군에서는 미세사를 함유하고 있는 담세관 주위 세포질의 일부분이 담세관의 내강으로 돌출되어 있는 소견도 관찰되었다. 그러나 투여후 14일 경과군에서는 미세융모의 증가와 담세관의 확장이 다소 회복된 소견을 보였으며, 투여후 28일 경과군에서는 담세관의 내강이 정상대조군과 유사하게 회복되었고, 담세관의 내강은 미세융모에 의해 가득채워져 있었다.

박 등²⁹의 보고에 의하면 50mg/kg B.W.의 cyclosporin A를 1회 투여한 랫드에서 담세관의 확장은 투여후 1시간부터 나타나기 시작하여 9시간 정도까지 지속되다가 담세관의 확장감소와 미세융모의 복원이 12시간 이후에 시작되고 24시간 경과후에는 거의 정상으로 회복됨이 보고되었는데 본 실험에서 같은 양의 CsA를 7일간 반복투여했을 때 담세관의 확장과 미세융모의 소실이 투여직후부터 2주일 정도 지속되고 그 후 점차 회복되기 시작되었음을 비교하여볼 때 이러한 차이는 CsA 반복투여의 결과 담세관 및 미세융모에 대한 CsA의 작용이 매회의 투여시마다 증폭되기 때문에 투여후 회복되는 과정이 진행되더라도 그 과정이 단독투여시보다 상당기간 오래 걸리는 것으로 생각되고 이는 Irene *et al*³⁰과 Veerapol & Neill³¹은 CsA에 의한 담즙정체는 투여용량에 비례하고 또한 가역적이어서 투여중지후 회복된다는 보고와 어느정도 관련이 있음을 알 수 있다.

Farthing *et al*³²은 체중 kg당 50mg의 CsA를 3주~7주동안 반복투여한 랫드에서 그리고 Thomson *et al*²¹은 체중 kg당 50mg의 CsA를 4주 동안 투여한 랫드에서 각각 중심정맥 주변부위의 지방변성을 관찰하였는데 이는 투여중지후 회복이 가능한 형태적 변화인 것으로 보고하였다. 이러한 지방축적의 소견은 간세포내에서 단백질 합성이 억제될 경우 지방대사에 관여하는 효소들의 활성이 억제되므로 지단백질의 합성이 저해되어 지방대사에 영향을 주게 되므로 간세포내에 지방축적이 일어나는

것으로 알려져 있는데^{33,34} 본 실험에서도 CsA 반복투여후 3일경과군까지 간세포에서 지방방울의 증가소견이 관찰되었으며, 투여후 7일 이후 경과군에서는 지방축적의 소견이 감소되기 시작하여 투여후 14일 경과군에서는 정상대조군과 유사한 소견으로 관찰되어서 위의 두 실험결과와 일치되는 결과를 얻었다. CsA가 간장에 미치는 영향에 대한 작용기전은 아직 정확하게 알려져 있지 않지만 CsA의 투여로 인하여 간세포내의 단백질 합성장해가 유발되고 이로 인해 지방축적이 일어나는 것으로 사료된다.

본 실험에서 CsA 반복투여후 1시간, 1일 및 3일경과군에서 조면형질내세망 수조의 확장 및 막부착 리보소체의 탈락을 관찰할 수 있었고, 이러한 소견이 7일 경과군부터는 신속하게 회복되기 시작하여 투여후 28일 경과군에서는 정상대조군과 유사한 소견으로 관찰되었다. 일반적으로 세포독성을 유발하는 물질을 투여할 경우 간세포내 조면형질내세망의 수조확장, 낭상화, 막의 파괴 등이 유발되며, 수조막에 부착되어 있는 리보소체가 탈락되는데 본 실험에서도 이와같은 결과가 나타났다. 또한 본 실험에서 투여후 3일경과군에서 세포질내에 전자밀도가 높은 수초형구조를 포함하고 있었는데 이러한 현상은 Ghadially³⁵가 주장한 바와 같이 조면형질내세망 수조의 손상에 의한 것임을 반영하는 것으로 사료된다.

본 실험에서 활면형질내세망의 증가가 CsA 투여후 3일 경과군까지 지속되고 7일 경과군에서부터 급격하게 감소되었다. 활면형질내세망은 체내에 여러가지 약제나 독성물질이 투여되었을 때 간세포에서 이를 물질의 대사를 촉진하여 이를 해독하기 위한 부위로 알려져 있는데^{36,37}, Arcasoy *et al*³⁸과 Huttereret *et al*³⁹은 독성물질이 투여되었을 때 먼저 간세포의 활면형질내세망이 증식되기 시작하고 약물대사효소의 생성이 어느정도 지속되어 물질의 대사가 어느정도 이루어지면 활면형질내세망의 감소와 더불어 조면형질내세망의 증가가 다시 나타난다고 하였다. 활면형질내세망의 막은 조면형질내세망에서 생성되며 세포의 기능적 현상에 따라 서로 바뀔 수 있기 때문에⁴⁰ 본 실험에서 나타난 현상은 CsA 투여후 3일 정도까지는 CsA의 해독에 필요한 효소의 작용이 활발하게 일어나지만 해독작용이 어느정도 이루어진 투여후 7일 이후에는 다시 간세포의 정상적인 활동에 필요한 여러 가지 단백질들을 합성하는 조면형질내세망의 증가가 수반되는 것으로 보인다.

사립체는 세포내 energy를 생성하는 소기관으로 화학적 독성물질, 산소결핍, 전자전달계 억제제 또는 인산화 억제제 등의 투여에 의하여 형태적인 변화가 일어나며⁴¹, 손상된 사립체는 결국 자가포식소체로 형성된 후 탐식된다. 본 실험에서도 CsA 투여후 1일 경과군에서 종대되거나 사립체능선이 불분명한 사립체들이 다수 관찰되었다. 또한 손상된 사립체를 탐식한 자가포식소체들도 투여후 1일 경과군과 3일 경과군에서 증가된 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 이러한 소견은 CsA의 투여를 중지하고 시간이 경과함에 따라 감소되었으며, 투여후 28일 경과군에서는 정상대조군과 유사한 소견으로 회복되었다. 이러한 변화는 CsA에 의하여 전자전달계 효소활성의 감소로 인하여 사립체의 형태적인 변화가 일어난다는 Yarom *et al*⁴¹의 보고와 연관된 소견으로 사립체 기질내에 당, 지방산 및 아미노산을 분해하는 ferritin과 tricarboxylic acid cycle에 관여하는 여러 효소들이 CsA에 의하여 효소활성이 감소된 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면 체중 kg당 50mg의 CsA를 7일간 반복투여했을 때 투여후에 조면형질내세망 수조의 감소 및 확장, 활면형질내세망의 증가, 리보소체의 탈락, 사립체의 종대, 세포질내 지방축적, 담세관의 확장, 미세융모의 위축 및 소실 등이 나타나는데 이러한 소견은 시간의 경과에 따라 회복되어 투여후 28일에는 대부분 정상대조군과 유사하게 회복되는 것으로 보인다.

결 론

면역거부반응억제제로 널리 사용되고 있는 CsA를 반복투여한 랫드 간세포의 미세구조적 변화를 관찰하기 위하여 Sprague-Dawley 랫드를 2주간 실험환경에 적응시켜 체중 kg당 50mg의 CsA를 1일 1회 반복하여 7일간 투여하였다. 최종투여후 1시간, 1일, 3일, 7일, 14일, 28일째에 실험동물을 회생시키고 간세포에 대한 투과전자현미경관찰을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간세포내 지방방울의 축적이 CsA 투여후 1시간 및 1일 경과군에서 뚜렷이 증가되었고, 3일 경과군에서 다소 감소된 후 7일 경과군에서부터 급격히 감소되어 14일 경과군에서 정상대조군과 유사한 결과로 관찰되었다.
2. 조면형질내세망수조의 확장, 막부착 리보소체의 탈락, 조면형질내세망의 증식 등이 CsA 투여후 1시간 및 1일 경과군에서 뚜렷이 관찰되었고, 3일 경과군에서 다소 감소된 경향을 보였으며 투여후 7일 이후 경과군에서부터 급격히 감소되어 28일 경과군에서 대조군과 유사하게 관찰되었다.
3. CsA 투여후 3일 경과군에서 전자밀도가 높은 소형의 수초상구조가 관찰되었다.
4. 사립체의 종대 및 사립체 능선의 파괴가 투여후 1시간 및 1일 경과군에서 나타났고, 3일 이후 경과군에서 대부분 회복되었다.
5. 담세관의 확장 및 미세융모의 소실이 투여후 1시간 군에서 나타나기 시작하여 1일 경과군에서 가장 현저하게 관찰되었으며, 7일 경과군에서 다소 회복되기 시작하여 28일 경과군에서 정상대조군과 유사하게 회복되었다.

Legends for figures

Fig 1. Hepatocytes of normal group. Bile canaliculus(BC) is shown between two hepatocytes with microvilli. Rough endoplasmic reticula(arrow heads) are well developed and their cisternae are closely arranged in the cytoplasm.
M: Mitochondria; asterisks: smooth endoplasmic reticula. $\times 12,500$.

Fig 2. Hepatocytes of 1 hour lapse group after CsA-treatment. A dilated bile canaliculus(BC) with shortened microvilli is shown. Some microvilli are disappeared and rough endoplasmic reticula(arrow heads) are dilated. Some mitochondria(M) are swelled and lost their cristae. $\times 10,000$.

Fig 3. Hepatocytes of 1 hour lapse group after Cs A-treatment. A number of lipid droplets(L) are shown. Asterisks: smooth endoplasmic reticula; arrow heads: rough endoplasmic reticula. M: swelled mitochondria. $\times 10,000$.

Fig 4. Hepatocytes of 1 day lapse group after CsA-treatment. The cisternae of rough endoplasmic reticula(arrow heads) were dilated and some ribosomes are detached from the membrane. The portion of contiguous hepatocytes between which the severely dilated bile canaliculus(BC) is shown with a few microvilli those are shortened. Lipid droplets(L) are dispersed in the cytoplasm. Asterisks: smooth endoplasmic reticula. $\times 10,000$

Fig 5. Hepatocyte of 3 days lapse group after CsA-treatment. Slightly thickened pericanalicular processes projecting toward the lumen of bile canalculus(BC) are shown between the contiguous hepatocytes(arrow head). A number of lipid droplets(L) are shown. Arrows: myelin figures; Asterisks: smooth endoplasmic reticula. $\times 10,000$.

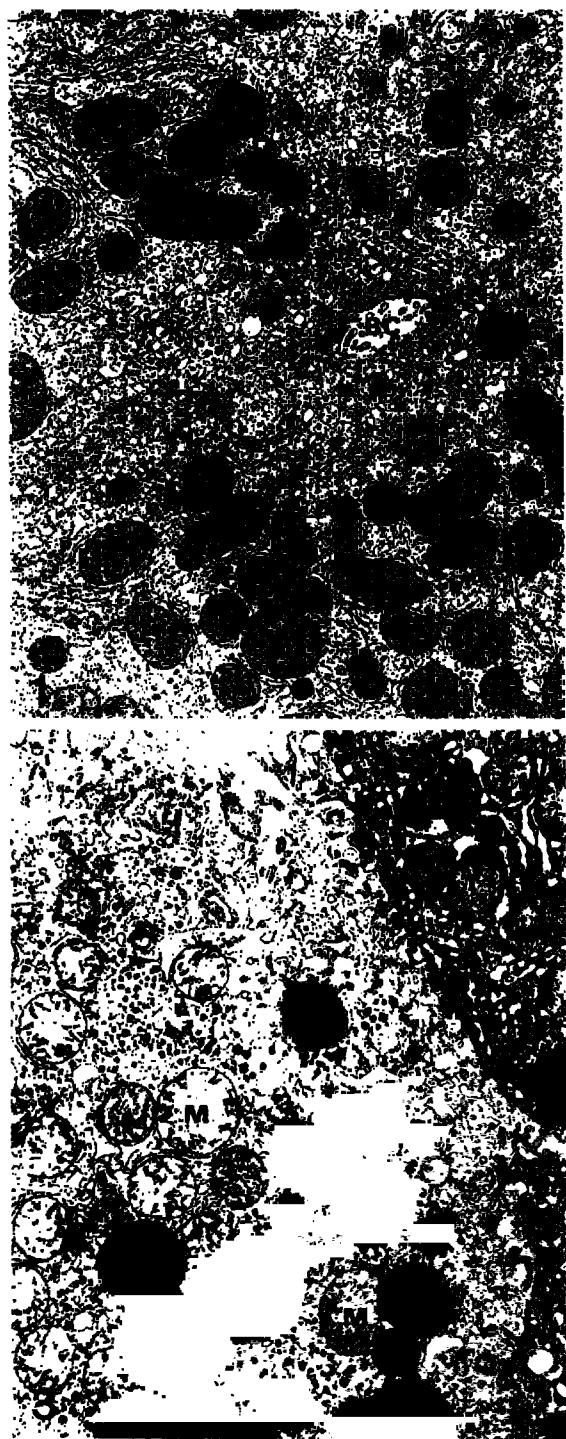
Fig 6. Hepatocytes of 7 days lapse group after CsA-treatment. The cisternae of rough endoplasmic reticula(arrow heads) are increased and arranged with some distinct rows and membrane bound ribosomes are shown. Bile canalculus(BC) is still dilated and some part of lumen is filled with microvilli. $\times 10,000$.

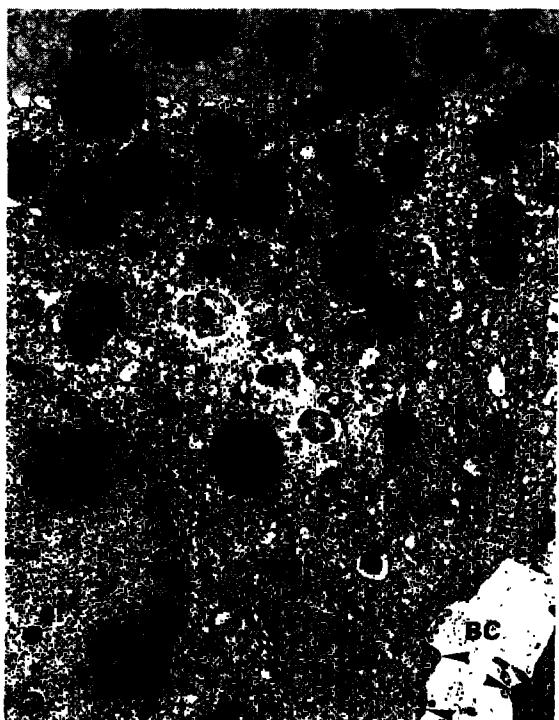
Fig 7. Hepatocytes of 14 days lapse group after CsA-treatment. Most cisternae of rough endoplasmic reticula(arrow heads) are recovered with the increase of membrane bound ribosome. The lumen of bile canalculus(BC) shows some short microvilli. $\times 12,500$.

Fig 8. Hepatocytes of 28 days lapse group after CsA-treatment. Cytoplasmic organelles are similar to those of normal group and bile canalculus(BC) is filled with numerous microvilli. Rough endoplasmic reticulum: arrow heads; M: mitochondria. $\times 12,500$.

참 고 문 헌

1. Kukongviriyapan U, Stacey NH. Inhibition of taurocholate transport by cyclosporin A in cultured rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 247:685-689, 1988.
2. Wiesner RH, Ludwig J, Lindor KD, et al. A controlled trial of cyclosporin in the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*, 322:1419-1424, 1990.
3. Galan AI, Zapata AJ, Roman ID, et al. Impairment of maximal bilirubin secretion by cyclosporin A in the rat. *Arch Int Physiol Biochem*, 99:373-376, 1991.
4. Kahan B.D. Cyclosporin. *N Engl J Med*, 321:1725-1738, 1989.
5. Roman ID, Monte MJ, Gonzalez-Buitrago JM, et al. Inhibition of hepatocytic vesicular transport by cyclosporin A in the rat: Relationship with cholestasis and hyperbilirubinemia. *Hepatology*, 12:83-91, 1990.
6. Stone BG, Udani M, Sanghyi A, et al. Cyclosporin A induced cholestasis: The mechanism in a rat model. *Gastroenterology*, 93:344-351, 1987.
7. Stone B, Warty V, Dindzans V, et al. The mechanism of cyclosporin-induced cholestasis in the rat. *Transplant Proc*, 20:841-844, 1987.
8. Thai B-Le, Dumont M, Michel A, et al., Cholestatic effect of cyclosporine in the rat. *Transplantation*, 46: 510-512, 1988.
9. Le-Thai B, Dumont M, Michel A, et al. Cyclosporin A induced cholestasis: Inhibition of bile acid secretion is caused by the parental molecule. *Transplant Proc*, 29:4149-4151, 1987.
10. Stacey N, Kotecka B. Inhibition of taurocholate and ouabain transport in isolated rat hepatocytes by cyclosporin A. *Gastroenterology* 95:780-786, 1988.
11. Cadranel JF, Dumont M, Mesa VA, et al. Effect of chronic administration of cyclosporin A on hepatic uptake and biliary secretion of bromosulfophthalein in rat. *Dig Dis Sci*, 36:221-224, 1991.
12. Francis SR, Gene DB, Bert AB, et al. Effect of cyclosporin on bile secretion in rats. *J Surgery*, 151:35-40, 1986.
13. Borel JF. Comparative study of *in vitro* and *in vivo* drug effects on cell-mediated cytotoxicity. *Immunology*, 31:631-641, 1976.
14. Borel JF, Feurer C, Magnee C, et al. Effects of the new antilymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunology*, 32:1017-1025, 1977.
15. 김창수, 강래성. 흰쥐에서 과량의 cyclosporin A 투여 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 38:127-140, 1985.
16. 서병규, 이병철. Cyclosporin 투여가 성숙한 수컷 흰쥐의 생식기능에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 42:1063-1073, 1989.
17. Bennett WM, Norman DJ. Action and toxicity of cyclosporin. *Ann Rev Med*, 37:215-224, 1986.





18. Beveridge T, Krupp P, Mckibbin C. Lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin therapy. *Lancet April*, 7:788, 1984.
19. Keown PA, Stiller CR, Laupacis AL, et al. The effects and side effects of cyclosporin: Relationship to drug pharmacokinetics. *Transpl Proc*, 14:659-661, 1982.
20. Klintmalm GBG, Watsuki S, Starzl TE, Cyclosporin A hepatotoxicity in 66 renal allograft recipients. *Transplantation*, 32:488-489, 1981.
21. Thomson AW, Whiting PH, Cameron ID, et al. A toxicological study in rats receiving immunotherapeutic doses of cyclosporin A. *Transplantation*, 31:121-124, 1981.
22. Wood AJ, Mauer G, Niederberger W, et al. Cyclosporin: Pharmacokinetics, metabolism and drug interactions. *Transplant Proc*, 15:2409-2412, 1983.
23. Cadranel JF, Erlinger S, Desruenne M, et al. Chronic administration of cyclosporin A induces a decrease in hepatic excretory function in man. *Dig Dis Sci*, 37: 1473-1476, 1992.
24. Lorber MI, Van-Buren CT, Flechner SM, et al. Hepatobiliary and pancreatic complications of cyclosporine therapy in 466 renal transplant recipients. *Transplantation*, 43:35-40, 1987.
25. Blair JT, Thomson AW, Whiting PH, et al. Toxicity of the immune suppressant cyclosporin A in rat. *J Pathol*, 138:163-178, 1982.
26. Rotolo FS, Branum GD, Bowers BA, et al. Effect of cyclosporine on bile secretion in rats. *Am J Surg*, 151: 35-40, 1986.
27. Phillips MJ, Poucell S, Oda M. Biology of disease; Mechanism of cholestasis. *Lab Investigation*, 54:593-608, 1986.
28. Atsuhiko N, Shinichi O, Kiyoshi F, et al. Ultrastructural studies of hepatocyte cytoskeletons of phalloidin-treated rats by quick freezing and deep etching method. *Hepatology*, 14:222-229, 1991.
29. 박창현, 김윤정, 장병준 등. Cyclosporin A를 투여한 렉트 간장의 미세구조적 연구 : 담세관을 중심으로. *대한수의학회지*, 35:659-670, 1995.
30. Irene DR, Maria JM, Jose MG, et al. Inhibition of hepatocytic vesicular transport by cyclosporin A in the rat: Relationship with cholestasis and hyperbilirubinemia. *Hepatology*, 12:83-91, 1990.
31. Veerapol K, Neill HS. Inhibition of taurocholate transport by cyclosporin A in cultured rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Therapeut*, 247:685-689, 1989.
32. Farthing MJG, Clark ML, Pendry A, et al. Nature of the toxicity of cyclosporin A in the rat. *Biochem Pharmacol*, 30:3311-3316, 1981.
33. Backman L, Appelkvist E-L, Dallner G. Influence of cyclosporin A on protein synthesis in rat liver. *Exp Mol Pathol*, 49:38-49, 1988.
34. Galan AI, Roman ID, Munoz ME, et al. Inhibition of biliary lipid and protein secretion by cyclosporine A in the rat. *Biochem Pharmacol*, 44:1105-1113, 1992.
35. Ghadially FN. Endoplasmic reticulum. In ultrastructural pathology of the cell and matrix. 3rd ed, vol 1, Butterworths, London:191-328, 1988
36. Connolly AH. Drug metabolism and therapeutics. *New Eng J Med*, 280:653-660, 1969.
37. Fouts JR, Rogers LA. Morphological changes in the liver accompanying stimulation of microsomal drug metabolizing enzyme activity by phenobarbital chlor-dane, benzpyrene or methylcholanthrene in rats. *J Pharmacol Exp Therap*, 147:112-119, 1965.
38. Arcasoy M, Smuckler EA, Benditt EP. Acute effects of 3-methyl-4-dimethyl aminoazobenzene intoxication on rat liver. Structure and functional changes in endoplasmic reticular and NADPH-related electron transport. *Am J Pathol*, 84: 52-68, 1968.
39. Hutterer F, Klion F, Wengra FA, et al. Hepatocellular adaptation and injury-structural and biochemical changes following diethylditin and methyl butter yellow. *Lab Invest*, 20:455-470, 1969.
40. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Text/Atlas of Histology. 6th ed, WB Saunders, Philadelphia: 41, 1988.
41. Yarom R, Stein H, Peters PD, et al. Nephrotoxic effect of parenteral and intraarticular gold: Ultrastructure and electron microprobe examinations of clinical and experimental material. *Arch Pathol*, 99:36-43, 1975.