

추간판 탈출의 기질 흡수에 관한 혈관 신생과 대식구의 역할

양진서 · 허방¹

고신대학교 의과대학 병리학교실¹, 한림대학교 성심병원 신경외과

Roles of Angiogenesis and Macrophages in Matrix Resorption of Herniated Intervertebral Disc

Jin-Seo Yang · Bang Hur¹

Department of Pathology, Kosin University Medical School¹
Department of Neurosurgery, Hallym University Sacred Heart Hospital

Abstract

Purposes: This study is performed to establish the histologic characteristics of matrix resorption in herniated intervertebral disc and to evaluate the role of neovascularization and macrophage infiltration, in especially concerning symptom duration and radiologic type of disc herniation.

Materials & methods: Total seventy-two cases of herniated disc including protrusion 26, extrusion 24, and sequestration 22 cases were selected. The scales of matrix resorption, and vascularization were divided into 4 groups according to the extent and grade of each histologic changes. Through immunohistochemical staining (LSAB method) with monoclonal antibody CD34 (Neomarker, USA) and CD68 (DAKO, Denmark) in serial sections of paraffin embedded tissues, the expression of CD34 and CD68 in herniated discs was evaluated.

Results: The incidence of matrix resorption and cell degeneration was 54.2%, which was markedly increased in prolonged (more than 1 month) symptom duration group and protruded or sequestered type. Neovascularization, highlighted with CD 34 expression tends to be random and marginal, CD68 expressed macrophages were noted in well-vascularized region. Microvessel density (MVD) calculated by CD34 expression and CD68 expression in cases of matrix resorption were also pronounced in prolonged symptom duration group and protruded or sequestered type.

Conclusion: The authors confirm an important role of angiogenesis and macrophages in matrix resorption of disc herniation, especially in clinically prolonged and more severely herniated cases.

Key words : Disc herniation, Spontaneous resorption, Angiogenesis, Macrophage

서론

척추간판 탈출증은 심한 통증과 방사통을 유발하는 신경외과 영역에서 흔히 접할 수 있는 질환이지만, 추간판 탈출증의 가장 효과적인 치료 방법에 대해서는 여전히 의견이 일치되지 않고 있으며, 보존적(conservative) 방법과 전통적인(conventional) 수술방법, 최소침습(minimally invasive)적 수술방법으로 치료되고 있다.¹⁻³⁾ 척추 추간판은 수핵(nucleus pulposus), 유리 연골(hyaline cartilage) 및 윤상 섬유(annulus fibrosus)의 3층으로 구성된 무혈관

성 조직으로, 연령이 높아짐에 따라 노화 현상으로 인한 변성이 서서히 진행된다.³⁻⁵⁾ 특히 윤상섬유 내의 연골조직은 척추에 가해지는 지속적인 기계적 충격에 민감하기 때문에 윤상 섬유 주변에 분포된 작은 혈관을 통한 영양분의 공급이 필수적이다.²⁻⁵⁾ 윤상 섬유 내로 혈관의 신생은 추간판의 노화성 변성과 관계있는 것으로 알려져 있으나,^{1,2,4-7)} 추간판 탈출의 경우 노화와는 다소 다르게 혈관 증식과 함께 대식세포의 침윤을 주로 하는 염증반응이 출현한다고 한다.⁴⁻¹¹⁾ 추간판 탈출에 따른 통증 등의 임상적 증상을 대부분 신경근 압박 증후군으로 설명해왔으나 최근에 이르러 염증반응에 따른 각종 사이토카인의 유리화 관계 지우려는 여러 연구가 시도되고 있으나 아직까지 정확하게 설명되지 못하고 있는 실정이다.^{7,9,10,12-14)}

교신저자 : 허 방
주소 : 602-702 부산광역시 서구 압남동 34
고신대학교 의과대학 병리학교실
E-mail : hurbang@ns.kosinmed.or.kr

최근에는 척수강내 유리형(sequestration type)의 재발성 추간판 탈출 환자에서 탈출된 추간판의 수술적 제거 없이 자연 흡수되는 증례가 보고되어 있으며,¹⁾ 염증 반응에 따른 추간판의 조직학적 변화에 따른 자연적 흡수에 관한 병리학적 관심이 증가되고 있으나 여기에 대한 정확한 설명이 아직까지 미흡한 실정이다. 추간판 연골 조직의 흡수(resorption)에 관한 기본적인 기전은 metalloproteinase 등의 proteolytic enzyme을 통한 연골 기질의 분해가 관련된 것으로 알려지고 있고,^{2,7-9,11)} 특히 이들 효소의 분비는 추간판 탈출에 따른 신생혈관을 통한 대식구의 침윤에서 비롯된다고 한다.²⁻²⁷⁾

이에 저자는 수술 중 채취한 추간판 조직을 H&E (hematoxylin & eosin) 염색을 통해 척추 추간판 탈출 조직의 조직학적 소견을 정립하고, CD 34와 CD 68 단클론 항체를 이용한 면역조직화학적 검색을 통한 각각의 발현으로 혈관 형성 및 대식구의 침윤과의 상관성을 조사하여, 대부분 임상적 고려의 수준에 머물러 있는 추간판 탈출의 병리를 이해하고자 본 연구를 시행하였으며, 특히 연골 조직의 손상과 흡수에 관한 병리학적 기전을 이해하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

2000년 12월부터 2006년 12월까지 6년 동안 고신의료원 신경외과에 입원하여 수핵 제거술을 받은 추간판 탈출증 환자 총 98예를 대상으로 임상적 고찰과 병리학적 추가 검색이 가능한 예 72례를 선정하였으며, 72명(남자 41, 여자 31)에서 채취한 탈출된 추간판 조직을 연구 재료로 사용하였다. 모든 환자는 통증과 방사통을 호소하였으며, 증상 발현기간은 평균 26개월(1일~120개월)이었다. 환자들은 탈출된 추간판과 후종인대(posterior longitudinal ligament)와의 해부학적 연관성에 따라 돌출형(윤상 섬유는 손상되었으나 후종인대는 보존된 상태) 26명, 탈출형(윤상 섬유와 후종인대가 모두 손상됨) 24명, 유리형(탈출된 수핵의 일부가 척수강내로 유리된 상태) 22명으로 분류하였다.

2. 조직학적 검색

병리 파일에 보관된 추간판 탈출 조직 H-E (hematoxylin-eosin) 슬라이드의 검색을 통해서 연골세포

의 수포성 종창(hydrophic swelling), 연골기질의 희박화(rarefaction) 및 낭포성 변성(cystic degeneration), 연골의 변연부 또는 윤상섬유에서 신생혈관을 관찰하였고, 각 항목의 변화 정도를 그 범위와 강도에 따라서 (0), 경도(+1), 중등도(+2), 고도(+3)의 4등급으로 구분하였다.

3. 면역조직학적 검색

10% 중성 완충 포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 추간판 탈출 조직을 4-5 μ m 두께의 연속 절편을 얻어 poly-L-lysine이 도포된 슬라이드에 부착시켰다. 조직 절편을 56°C 오븐에 15분간 넣은 후 자이렌으로 60°C에서 2분간 4회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 100% 알코올로 10초간 3회 처리하여 자이렌을 완전히 제거한 후 95%, 80%, 70% 알코올 순서로 각각 2회씩 처리한 다음 1차 증류수로 흡수하였다. 항원을 회복하기 위해 10mM citrate 완충용액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 마이크로파 전자 렌지의 90°C에서 10분 동안 처리하여 실온에서 식혔다. 그 다음 phosphate-buffered saline (PBS)으로 5분씩 3회 세척하였다. 조직 내의 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소수를 이용하여 45°C에서 4분간 처리한 후 PBS로 2-3회 세척하였다. 비특이적 항체의 결합을 방지하기 위해 정상 차단 양 혈청(DAKO kit, 1:50, USA)으로 전 처리 한 후, 일차 항체로 1:200으로 희석된 CD 34(Neomarker, USA), 1:50으로 희석된 CD 68(DAKO, Denmark)을 각각 실온에서 60분간 반응시켰다. PBS로 다시 3회 세척한 후 LSAB kit(DAKO, USA)를 이용하여 biotin이 부착된 이차 항체와 표지 항체인 streptavidin을 순서대로 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다.

발색제 AEC(3-amino-9-ethylcarbazole)로 3-5분간 발색시켜 흐르는 물에 수세하고 Mayer 헤마톡실린으로 대조 염색하여 비수용성 봉입제로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 추간판 조직의 단위 면적당 혈관 증식은 단클론 항체 CD 34 발현을 통해서 혈관 증식이 가장 왕성한 부위 한곳을 선정하여 200배 시야에서 미세혈관 밀도(microvessel density, MVD)를 정량적으로 계수하였고, 단클론 항체 CD 68의 발현을 통해서 대식세포(macrophage)의 침윤정도를 3등급으로 나누고, 산발적 발현을 경도(mild), 다발성, 국소적 발현을 중등도(moderate), 미만성 발현을 고도(severe)로 분류하였다.

4. 통계학적 분석

ANOVA test, Chi-square test (SPSS version 12.0 for Windows)를 이용하였으며 p-value가 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 의의가 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 추간판의 조직학적 변화

추간판의 조직학적 변화는 연골세포와 기질의 변성으로 구분될 수 있었으며, 연골세포는 수포성 팽창을 특징으로 하였고(Fig. 1A), 기질은 균질성 소실로 인한 희박화(Fig. 1B)와 심한 경우 공포성 변화로 인한 낭성 병변을 특징(Fig. 1C)으로 하였으며, 두 가지 모두 추간판 조직의 임의의 부위에서 나타나나, 주로 연골의 변연부에서 보다 현저하였다.

연골 세포의 변화는 총 72예 중 58예(80.6%)에서 관찰되었으며, 경도 39예(54.2%), 중등도 14예(19.4%), 고도 5예(6.9%)로서, 중등도 이상의 연골세포 변화 빈도는 26.4%(19/72예)였다. 연골 기질의 변화는 39예(54.2%)에

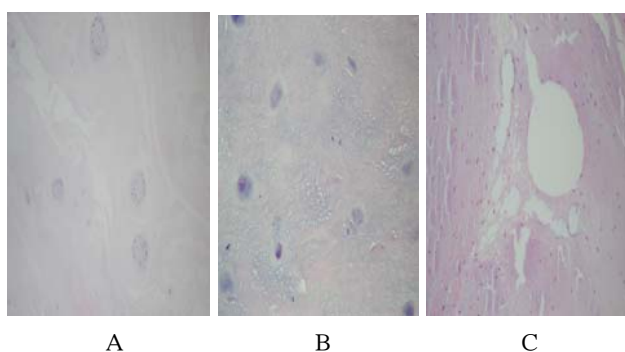


Fig 1; Light microscopic features of herniated intervertebral disc showing hydrophilic swelling of chondrocytes(A, H-E, x400), rarefaction of chondroid matrix (B, H-E, x400), and cystic degeneration of cartilage (C, H-E, x100)

서 관찰되었으며, 경도 26예(36.1%), 중등도 6예(8.3%), 고도 7예(9.7%)로서, 중등도 이상의 연골 기질 변화 빈도는 18.1% (13/72예)에 불과 하였고, 연골 세포에 비해 기질 변화의 빈도는 상대적으로 낮았다(Table 1).

임상 증상 기간에 따라서, 연골 세포의 변화는 1개월 미만의 급성기 군 19예 중 14예(73.7%)가 경도인 점에 반하여, 1개월 이상의 만성기 군 53예 중 44예(83.0%)에서 연골세포의 변화가 나타나고, 그 중 중등도 세포 변화가 19예(35.8%)를 차지하여 기간에 따른 연골세포의 변화의 차이가 현저하였다. 기질의 변화는 1개월 미만의 급성기 군에서는 7예(36.8%)에서, 1개월 이상의 만성기 군에서는 32예(60.4%)에서 나타나며, 이 중등도 이상의 기질 변화는 급성기 군에서 5.3%(1/19예), 만성기 군에서 22.7%(12/53예)를 보여 연골세포의 변화와 같이 기간의 경과에 따라 현저하게 증가하였다(Table 2).

추간판 탈출의 유형에 따라서, 연골 세포 변화는 돌출형에서 69.2%(18/26예), 탈출형에서 83.3%(20/24예), 유리형에서 90.9%(20/22예)의 빈도를 보였으며, 이 중 중등도 이상의 세포 변화는 각각 7.7%(2예), 25.0%(6예), 50.0%(11예)였다. 기질 변화는 돌출형에서 19.2%(5/26예), 탈출형에서 61.5%(15/24예), 유리형에서 81.8%(18/22예)의 빈도를 보였으며, 이 중 중등도 이상의 기질 변화는 각각 0%, 8.3%(2예), 50.0%(11예)를 보여 탈출의 정도가 심할수록 연골세포와 기질의 변화가 현저하였다(Table 2).

Table 1. Degree and incidence of chondrocyte degeneration and matrix resorption

degree	none	mild	moderate	severe	incidence
chondrocyte	34	39	14	5	58
degeneration(%)		(54.2)	(19.4)	(6.9)	(80.6)
matrix	33	26	6	7	39
resorption(%)		(36.1)	(8.3)	(9.7)	(54.2)

Table 2. Relationship between chondrocyte degeneration & matrix resorption (moderate to severe degree) and symptom duration & herniation type

degree	cell degeneration moderate to severe(%)	p-value	matrix resorption moderate to severe(%)	p-value
symptom duration				
<1 Mn(19)	0(0.0%)		1(5.3%)	
1 ≥ Mn(53)	19(35.8%)	p<0.05	12(22.7%)	
herniation type				
protrusion(26)	2(7.7%)		0(0.0%)	
extrusion (24)	6(25.0%)		2(8.3%)	
sequestration(22)	11(50.0%)	p<0.01	11(50.0%)	p<0.01

2. 혈관 신생과 CD34의 발현

혈관의 신생은 대부분의 예에서 국소적, 산발적으로 존재하며, 특히 윤상 섬유 또는 연골의 변연부에서 보다 빈번하게 관찰되었다(Fig. 2A-B).

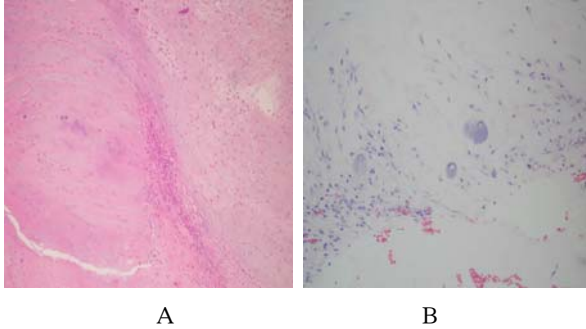


Fig 2. Light microscopic features of vascularized area in annulus fibrosus (A, H-E, x200) and hyaline cartilage (B, H-E, x200)

연골 변연부 또는 윤상 섬유내로 혈관이 관찰되는 경우는 총 72예 중 41예(56.9%)였으며, 그 중 경도 23예(31.9%), 중등도 10예(13.9%), 고도 8예(11.1%)로서, 25%(18예)에서 중등도 이상의 중등도 혈관 형성을 보였다. CD 34항체를 이용한 면역조직화학적 염색(Fig 3)을 통한 평균 MVD 값은 43.9 ± 77.3 였으며, 혈관 증식의 정도에 따라 경도에서는 25.6 ± 26.8 , 중등도에서는 84.6 ± 60.6 , 고도에서는 200.2 ± 121.6 로 점차 증가하였다

Table 3. Degree and incidence of angiogenesis and MVD with CD 34 expression

degree	none	mild	moderate	severe	incidence
case No	31	23	10	8	41
(%)		(31.9)	(13.9)*	(11.1)**	(56.9)
MVD(M $\pm$ SD)	4.0 ± 9.5	25.6 ± 26.8	84.6 ± 60.6	200.2 ± 121.6	43.9 ± 77.3

*p<0.05, **p<0.05

(Table 3). 연골세포의 변화 정도에 따라서 MVD 값은 각각, 연골 변화가 없는 예에서는 14.6 ± 29.7 였으나, 경도에서 24.5 ± 38.8 , 중등도에서 99.4 ± 105.4 , 고도에서 121.6 ± 166.7 였고, 기질의 변화 정도에 따라 각각 28.6 ± 77.2 , 40.8 ± 46.2 , 31.0 ± 20.9 , 138.2 ± 133.1 로 연골 세포와 기질의 변화가 심할수록 MVD 값은 점차 증가하였다. 증상 발현 기간에 따라서 1개월 미만의 급성기 군에서의 평균 MVD 값은 10.8 ± 16.3 , 1개월 이상의 만성기 군에서는 55.8 ± 86.7 로 기간에 따른 분명한 차이를 보여주었다. 추간판 탈출의 유형에 따른 평균 MVD 값은 돌출형 4.3 ± 11.6 , 탈출형 33.5 ± 45.6 , 유리형 102.0 ± 110.2 로서 추간판 탈출의 정도가 심할수록 미세혈관 밀도는 높게 나타났다(Table 4).

3. 대식세포의 침윤과 CD 68의 발현

CD 68의 발현은 대부분 혈관이 증식한 부위에 국한하여 나타났으며 (Fig 4), 총 72예 중 30예 (41%)에서 관찰되었으며, 그 중 경도 18예(60%), 중등도 7예(23%), 고도 5예(16%)였다. CD 68의 중등도 이상의 발현 빈도는, 연골변성 정도 이하에서 9.4%(5/53예), 중등도 이상에서 36.8%(7/19예)이며, 기질 흡수 정도 이하에서 15.3%(9/59예), 중등도 이상에서는 23.1%(3/13예)로, CD

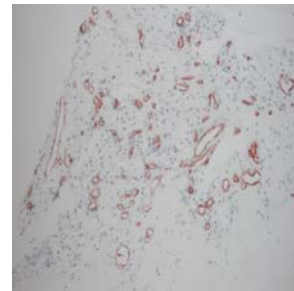


Fig. 3. CD 34 expression in well-formed vascular channels

Table 4. MVD according to chondrocyte degeneration, matrix resorption, herniation type & symptom duration

	MVD with CD 34 expression				p-value
cell degeneration(No)	none(14)	mild(39)	moderate(14)	severe(5)	
	14.6 ± 29.7	24.5 ± 38.8	99.4 ± 105.4	121.6 ± 166.7	p<0.05
matrix resorption(No)	none(33)	mild(26)	moderate(6)	severe(7)	
	28.6 ± 77.2	40.8 ± 46.2	31.0 ± 20.9	138.2 ± 133.1	
herniation type(No)	protrusion(26)	extrusion(24)		sequestration(22)	
	4.3 ± 11.6	33.5 ± 45.6		102.0 ± 110.2	p<0.01
symptom duration(No)	<1Mn (19)	$\geq 1Mn$ (53)			p<0.05
	10.8 ± 16.3	55.8 ± 86.7			

68은 기질 흡수에 비해 연골세포의 변성이 진행된 경우에 더 높은 발현 양상을 보였다 (Table 5).

임상 기간에 따른 CD 68의 발현 빈도는 1개월 미만의 급성기 군에서 26.3%(5/19예), 1개월 이상의 만성기 군에서 47.2%(25/53예)이며, 이 중 CD 68의 중등도 이상의 발현 빈도는 급성기 군 10.5%(2/19예), 만성기 군 18.9%(10/53예)이고, CD 68의 고도 발현을 보인 5예는 전부 만성기 군이었다. 추간판 탈출의 유형에 따라서, 돌출형 26예 중 3예(11.5%)만이 경도의 CD68의 발현을 보인 반면, 탈출형 24예와 유리형 22예 중 중등도 이상의 발현을 보인 예는 각각 4예(16.7%), 8예(36.4%)로서, 추간판 탈출의 정도가 심한 경우 CD68의 발현은 현저하게 증가하였다. CD 68의 발현 정도에 따른 MVD 값은 경도 이하에서 25.6 ± 52.8 , 중등도 이상에서 135.3 ± 112.7 로 계수되어 CD68의 발현이 높을수록 신생혈관의 수가 증가하였다(Table 5).

Table 5. CD 68 expression according to chondrocyte degeneration, matrix resorption, symptom duration & herniation type

degree (No)	CD 68 expression		p-value
	mild(60)	moderate-severe(12)	
cell degeneration			
0~+1(53)	48(90.6%)	5(9.4%)	p<0.05
+2~+3(19)	12(63.2%)	7(36.8%)	
matrix resorption			
0~+1(59)	50(84.7%)	9(15.3%)	p>0.05
+2~+3(13)	10(76.9%)	3(23.1%)	
symptom duration			
<1Mn(19)	17(89.5%)	2(10.5%)	p>0.05
>1Mn(53)	33(21.1%)	10(18.9%)	
herniation type			
protrusion(26)	26(100.0%)	0(0.0%)	p<0.01
extrusion(24)	20(83.3%)	4(16.7%)	
sequestration(22)	14(63.6%)	8(36.4%)	
CD34 expression	MVD	25.6 ± 52.8	135.3 ± 112.7

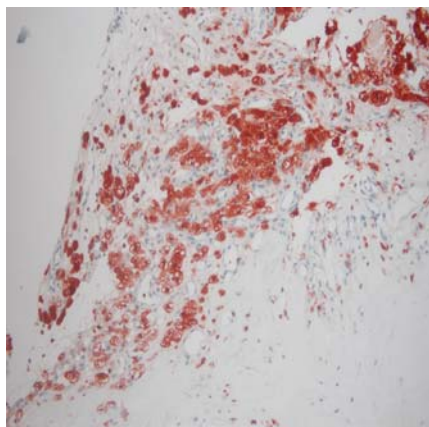


Fig. 4. Severe degree of CD 68 expression in vascularized area

고찰

추간판 자체는 조직학적으로 무혈관성 연골이 대부분을 구성하고 있으며, 이를 둘러싸고 있는 윤상 섬유에서는 주변조직으로부터 자라 들어오는(ingrowth) 극소수의 모세혈관을 통하여 척추에 가해지는 지속적인 기계적 충격에 민감한 수핵과 연골 조직에 필요한 수분과 영양분을 공급하고 있다.

윤상 섬유 내로 혈관의 신생은 추간판의 노화성 변성과 관계있는 것으로 알려져 있으나, 탈출된 추간판 조직에서 대식세포의 현저한 침윤과 여러 가지 성장 인자의 작용 하에 유도된 혈관 신생은 육아조직의 생성뿐만 아니라 세포의 기질의 용해에도 관여하는 것으로 알려져 있다. Baba H등¹²⁾은 28예의 경추 추간판 탈출 예 중 uncontained hernia에서 25%의 혈관 형성에 비해 contained hernia에서는 38%로 그 빈도가 높다고 한 바 있으며, 최근 Haro H등¹⁵⁾은 자기공명 영상 소견 상 추간판 탈출의 흡수는 epidural space로 완전히 유리된 예에서 보다 흔하게 관찰되고 혈관화의 정도와 상관성이 있다고 하였다. 또한 Sakai T등¹⁶⁾도 유리형 재발성 요추 추간판 탈출 조직이 아무런 수술적 처치 없이 자연적 흡수를 보이는 증례를 보고하면서 기질흡수와 혈관생성의 관련성을 주장하면서 추간판 탈출의 보존적 치료를 권장하기도 하였다. 본 연구에서 총 72예 중 41예(56.9%)에서 경도 이상의 혈관 형성을 볼 수 있었고, 일부의 예에서는 연골 내에서도 확인되었으나 주로 윤상섬유 층에 해당되는 곳 이어서 주변 조직에 이미 존재하였던 혈관에서 기시한 것을 암시하고 있었다.

추간판 탈출 조직의 자연적 흡수와 혈관신생의 상관성을 보기 위한 연구로서, 최근 Koike Y등³⁾은 11예의 탈출형과 9예의 유리형 17예를 대상으로 CD 34의 면역조직화학적 발현을 조사한 결과에 연골 기질내로 자란 육아조직의 방추형 세포에서 CD 34가 잘 발현되며, CD 68 양성 대식세포 침윤 부위와 일치하고 혈관내피세포 성장인자 VEGF (vascular endothelial growth factor, VEGF)의 발현과 통계학적 상관성이 있다고 하였다. 또한 그들은 CD 34의 발현을 통한 미세혈관 밀도 MVD를 추간판 탈출의 해부학적 위치와 연관하여 조사한 결과 탈출 조직의 주변부로 갈수록 그 밀도가 증가한다는 점 등에 기초하여 VEGF에 의해 혈관이 증식하고 새로 형성된 혈관은 대식세포 침윤의 통로가 되어 연골 기질의 분해에 관계한다고 주장하였다.

본 연구에서 미세혈관 밀도 MVD는 광학 현미경상 혈관의 증식 정도와 일치하여 증가하고 있어 MVD가 추간판 탈출의 혈관 신생을 연구하는데 객관적 평가 요소로 인정된다고 생각되었으며, 그 평균치는 43.9 ± 77.3 임을 알 수 있었다. 더구나 MVD 값은 연골세포의 변성이 현저할수록 증가하는 경향을 보였으며, 기질의 흡수가 고도일 경우 그렇지 못한 경우에 비해 현저히 높은 값(138.2 ± 133.1)을 나타내었으며, 임상 병력이 1개월 이상의 만성적인 경우에도 평균치를 크게 상회(55.8 ± 86.7)하였다. 또한 미세혈관 밀도 MVD 값이 주변부로 갈수록 혈관 형성이 저명하다는 Koike Y 등³⁾의 지적과 유사하게 본 연구에서도 추간판이 척수강 내의 주변부로 크게 밀려난 유리형의 경우 현저한 증가(102.0 ± 110.2)를 보였다. 그러나 본 연구에서 기질 흡수가 관찰되지 예에서 낮은 수치(28.6 ± 77.2)이기는 하나 미세혈관이 관찰된다는 점이 주목할 만하며, 이는 Virri J 등¹⁷⁾이 대식세포의 침윤 빈도(55%)에 비해 월등히 높은 혈관의 발생(80%)한 점에 근거하여 추간판 기질 흡수가 일어나기 이전부터 윤상 섬유대로 자라 들어온 혈관이 존재한다는 지적과 유사한 내용으로 생각된다.

추간판 탈출 조직에서 염증세포의 출현에 관하여 많은 보고가 있으나 염증세포의 종류, 출현 양상 및 그 의의에 관해서는 이견이 존재한다. 즉, Kawaguchi S 등⁶⁾은 림프구의 침윤이 없다고 하고 Minamide A¹¹⁾, Habtemariam A¹⁸⁾, Kanerva A¹⁹⁾은 T 림프구의 침윤이 있다고 하였다. 본 연구의 예비 검색에서 CD 20과 CD 45Ro를 통한 면역조직화학 염색으로 T 림프구의 침윤여부를 추적하였으나 의미 있는 소견을 발견 할 수 없어 본 연구에서는 제외하였다. 추간판 탈출 예 24예를 대상으로 대식세포의 출현을 조사한 Gronblad M 등²⁰⁾에 따르면, 염증 반응에 의한 통증 유발의 가능성을 제기하면서 약 50%에서 현저한 침윤을 보였다고 한다. 또한 Virri J 등¹⁷⁾은 탈출형 12예와 유리형 8예를 대상으로 혈관 분포와 관련지어 대식세포의 발현을 조사한 바 있으며, 이들에 의하면 혈관 주변에서만 관찰되는 대식세포의 출현 빈도가 55%(11/20예)임을 보고하였다. 본 연구에도 CD68 양성인 대식세포는 대부분 혈관 형성이 뚜렷한 부위에서만 관찰되었고 침윤 빈도는 41.7%(30/72예)로서 Gronblad M 등의 연구에 비해 다소 낮게 나타났다. Matsui Y 등⁹⁾은 추간판 탈출의 유형에 따라 대식세포와 림프구 등의 침윤을 단백분해 효소 MMP-1, MMP-3 발현과의 상관성을 조사한 바, 탈출형과 유리형에서 육아 조직의 형성과 더불어 대

식세포의 현저한 침윤이 있으며, MMP 발현 증가와 연관성이 있다고 보고하면서 염증세포의 침윤 정도가 기질 분해에 의미 있게 작용한다고 하였다. 본 연구에서 대식세포의 침윤 빈도가 기질의 흡수가 경도인 경우 15.2%(9/59예)에 비하여 중등도 이상의 경우 23.1%(3/13예)로 보다 높게 나타났으며, 추간판 탈출의 정도가 현저한 탈출형에서 16.7%(4/24예), 유리형에서 36.4%(8/22예)로 경도의 침윤만을 보이는 돌출형에 비해 대식세포의 침윤이 현저하였다. 그러나 Rotheri RD 등⁴⁾은 44예의 요추 추간판 탈출 환자를 대상으로 다양한 염증 세포의 침윤은 관찰되나 통증의 강도나 임상적 제 요인과는 무관하다고 하여 본 연구 결과와는 다소 상이한 결과를 제시한 바 있다.

추간판 탈출의 통증에 관련한 병태생리에 관하여 염증세포, 특히 대식세포의 침윤과 그 역할에 대하여 많은 언급이 있었으나 염증반응의 시간적 요인과의 관련성을 검토한 바는 많지 않다. 단지 Habtemariam A 등¹⁸⁾의 연구에 의하면, 통증 3일-21 사이의 급성군과 6개월 이상의 만성군 각 22예를 대상으로 조사한 바, 대식세포는 급성군 8예(36%)에서 심한 침윤을, 만성군 9예(41%)에서 현저한 침윤을 보여 시간적 차이는 없었다고 하였다. 본 연구에서 급, 만성기의 시기적 구별의 차이는 있으나 1개월 미만의 급성기 군 26.3%(5/19예)에 비해, 1개월 이상의 만성기 군에서 47.2%(25/53예) 현저히 높은 대식세포의 침윤을 보였다.

염증 반응이 탈출된 추간판 조직에 가해지는 직접적인 물리-화학적 자극에 의한 것인지, 또는 면역학적 기전에 의한 반응인지 분명하지는 않다. Aydin MV 등¹³⁾은 추간판 탈출의 유형에 따라 cox-2 억제제를 술 전 투여한 후 시행된 수술조직에서 잔존하는 염증 반응의 빈도와 임상적 예후를 조사한 바, 의미 있는 염증 반응은 18%(9/50예)에서만 관찰되고, 대식세포의 침윤이 현저한 유리형에서 가장 좋은 예후를 보였음에도 불구하고 술후 보존적 치료에 반응하지 않는 임상적 증상이 남아있다는 점에 근거하여, 추간판 탈출의 병태생리에서 염증반응 보다 신경근 압박이 주된 기전임을 주장하고 있다. 또한 Kawaguchi S 등⁶⁾은 염증세포 침윤에 대해 림프구 표식자 CD20, CD45RO, CD4, CD8, 단핵구 표식자 CD33, 수지상세포 표식자 CD1a, CD80, CD86 등의 면역학적 표지자 연구를 시행한 결과, 이들 표식자가 모두 음성이며 CD 68 양성인 대식세포는 CD33 음성으로 면역학적 기전의 가능성을 낮게 보았으나 향후 이 부분에 대한 추가 조사

가 필요하다고 생각된다.

추간판 탈출 조직의 기질 분해에 관하여, 단백분해 효소 interstitial collagenase MMP-1, stromelysin MMP-3 등의 발현 증가, basic-FGF에 의한 추간판 기질의 분해, TNF-alpha에 의한 plasmin, MMP-3, -7의 상향조절이 관련된다고 한다.^{9,11,12,14} 최근에 Hatano E 등⁸은 추간판 기질의 주된 구성요소인 aggrecan 단백질의 분해와 관련하여 metalloproteinase ADAMST-4 단백질과 m-RNA의 발현을 조사한 바, 이 단백질이 CD68 양성 대식세포에서 발현되고, 추간판의 탈출 정도가 심한 탈출형이나 유리형에서 보다 더 발현된다고 하여 metalloproteinase ADAMST-4 단백질분해효소가 추간판 기질의 흡수에 직접적으로 관여한다고 하였다. 본 연구에서 단백질분해효소의 발현을 조사하지는 못하였으나, CD68 양성 대식세포의 발현과 간접적인 비교를 했을 때 대식세포의 침윤이 중등도 이상인 경우 현저한 경우 기질의 분해 또한 현저함을 알 수 있었다.

관절 연골 손상의 병리 현상에 basic-FGF, PDGF, TGF-beta 등의 성장인자가 관련되어 있으며, 그 중 혈관 내피세포 성장인자 VEGF와의 관련성에 대한 연구는 혈관신생과 기질 흡수와 관련하여 다수 시행된 바가 있다.^{7,11,14,15,21-27} Tolonen J 등²¹은 추간판 탈출 조직 50 예를 대상으로 VEGF의 발현과 임상적 관련성을 연구한 바, VEGF가 혈관에서 발현되며 그 빈도는 88%(44/50)이고, 수술 통증의 기간이나 연령 등과는 무관하였으나 탈출형과 유리형에서 보다 높은 발현을 보인다고 하였다. 최근 Yee G 등²³은 VEGF가 하악 TM 관절의 증식성 관절 병변의 연골세포에서 현저하게 발현된다고 하여, 무혈관성 연골 조직의 연골내 골화를 조장하는 혈관 신생 (angiogenesis)뿐만 아니라 apoptosis에 관여하여 세포의 기질의 재구축(remodelling)에 기여한다고 하였다. 또한 Pufe T 등²⁴은 수종의 연골 종양 세포주 (C28/12, C20/A4, T/C28a/a4)를 대상으로 여러 사이토카인으로 처리한 연구에서 VEGF는 autocrine 양상으로 연골세포에서 유리되어 정상 또는 골관절염 관절의 연골세포 손상에 기여한다고 하였다. Tanaka E 등²⁵에 따르면 정상 연골에서는 그 발현이 감소한 반면 병적 관절면의 세포 증식성 영역에서 VEGF 양성 연골세포 수는 관절염을 유발시키는 자극 시간과 비례한다고 하였다. 본 연구와 관련하여 추가적으로 시행한 VEGF 발현에 대한 검색에서는 뚜렷한 결과를 얻기 어려웠으며 향후 심도 있는 연구가 추가되어야 추간판 병리에 있어서 VEGF의 역할이 규명되리라

생각된다.

결론

추간판 탈출 조직에서 세포 변성과 기질 흡수는 정도의 차이는 있으나 각각 80.6%(58/72예) 및 54.2%(39/72예)의 빈도로 발생하였고, 임상적으로 1개월 이상의 만성적 경과를 보이는 경우와 방사선학적으로 추간판 탈출의 정도가 심한 경우에 그 강도가 현저하였다.

추간판 탈출 조직에서 신생혈관은 주변적 및 국소적으로 발생하면서 그 발생 빈도는 56.9%(41/72예)이며, 연골 세포 변성과 기질 흡수가 심한 경우 미세혈관 밀도 MVD가 현저히 증가하였고, MVD 값은 임상 발현 기간과 추간판 탈출의 정도와도 밀접히 연관되어 있었다.

추간판 탈출조직에서 대식세포는 혈관 증식 부위에 국한하여 침윤하는 양상을 보였고, 침윤 빈도는 혈관 신생에 비해 낮은 41.7%(30/72예)이나, 세포변성과 기질 흡수가 심한 경우, 또한 임상 발현 기간이 길거나 추간판 탈출의 정도가 심한 경우에 대식세포의 침윤 정도가 현저하였다.

결론적으로 추간판 탈출 조직의 흡수는 1개월 이상의 만성적 경과와 유리형과 같은 탈출 정도가 심한 경우에 현저하고 혈관의 증식과 대식세포의 침윤과 밀접히 연관되어 있음을 확인할 수 있었으며, VEGF 등의 성장 인자와 MMP 등의 단백질 분해 효소와의 관련성에 대해서 추가 조사가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) 김영훈, 문동인, 박종민, 윤재원 : 요추 추간판 탈출증의 자연적 흡수. 대한통증의학회지 18:56-59, 2005
- 2) 장재원, 정인호, 김수한, 이정길, 김재휴, 이제혁 : 요추간판 탈출증에서 Matrix -Metalloproteinases-1,2,3의 역할. J Korean NeuroSoc 36:475-480, 2004
- 3) Koike Y, Uzuki M, Kokubun S, Sawai T : Angiogenesis and inflammatory cell infiltration in lumbar disc herniation. Spine 28(17):1928-33, 2003
- 4) Rothoerl RD, Woertgen C, Holzschuh M, Rueschoff J, Brawanski A : Is there a clinical correlate to the histologic evidence of inflammation in herniated lumbar disc tissue? Spine 1;23(11):1197-200, 1998
- 5) Woertgen C, Rothoerl RD, Brawanski A : Influence of macrophage infiltration of herniated lumbar disc tissue on

- outcome after lumbar disc surgery. *Spine* 25(7):871-5, 2000
- 6) Kawaguchi S, Yamashita T, Yokogushi K, Murakami T, Ohwada O, Sato N : Immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrates in herniated intervertebral discs. *Spine* 26(11):1209-14, 2001
- 7) Tolonen J, Gronblad M, Virri J, Seitsalo S, Rytomaa T, Karaharju E : Basic fibroblast growth factor immunoreactivity in blood vessels and cells of disc herniations. *Spine* 20(3):271-6, 1995
- 8) Hatano E, Fujita T, Ueda Y, Okuda T, Katsuda S, Okada Y, Matsumoto T : Expression of ADAMTS-4 (aggrecanase-1) and possible involvement in regression of lumbar disc herniation. *Spine* 31(13):1426-32, 2006
- 9) Matsui Y, Maeda M, Nakagami W, Iwata H : The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation. *Spine* 23(8):863-8, 1998
- 10) Habtemariam A, Virri J, Gronblad M, Holm S, Kaigle A, Karaharju E : Inflammatory cells in full-thickness annulus injury in pigs. An experimental disc herniation animal model. *Spine* 23(5):524-9, 1998
- 11) Minamide A, Hashizume H, Yoshida M, Kawakami M, Hayashi N, Tamaki T : Effects of basic fibroblast growth factor on spontaneous resorption of herniated intervertebral discs. An experimental study in the rabbit. *Spine* 24(10):940-5, 1999
- 12) Baba H, Maezawa Y, Furusawa N, Fukuda M, Uchida K, Kokubo Y, Imura S : Herniated cervical intervertebral discs: histological and immunohistochemical characteristics. *Eur J Histochem* 41(4):261-70, 1997
- 13) Aydin MV, Sen O, Kayaselcuk F, Bolat F, Tufan K, Caner H, Altinor N : Analysis and prevalence of inflammatory cells in subtypes of lumbar disc herniations under cyclooxygenase-2 inhibitor therapy. *Neurol Res* 27(6):609-12, 2005
- 14) Kato T, Haro H, Komori H, Shinomiya K : Sequential dynamics of inflammatory cytokine, angiogenesis inducing factor and matrix degrading enzymes during spontaneous resorption of the herniated disc. *J Orthop Res* 22(4):895-900, 2004
- 15) Haro H, Kato T, Komori H, Osada M, Shinomiya K : Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced angiogenesis in herniated disc resorption. *J Orthop Res* 20(3):409-15, 2002
- 16) Sakai T, Tsuji T, Asazuma T, Yato Y, Matsubara O, Nemoto K : Spontaneous resorption in recurrent intradural lumbar disc herniation. Case report. *J Neurosurg Spine* 6(6):574-8, 2007
- 17) Virri J, Sikk S, Gronblad M, Tolonen J, Seitsalo S, Kankare J, Karaharju E : Concomitant immunocytochemical study of macrophage cells and blood vessels in disc herniation tissue. *Eur Spine J* 3(6):336-41, 1994
- 18) Habtemariam A, Gronblad M, Virri J, Seitsalo S, Karaharju E : A comparative immunohistochemical study of inflammatory cells in acute-stage and chronic-stage disc herniations. *Spine* 23(20):2159-65, 1998
- 19) Kanerva A, Kommonen B, Gronblad M, Tolonen J, Habtemariam A, Virri J, Karaharju E : Inflammatory cells in experimental intervertebral disc injury. *Spine* 22(23):2711-5, 1997
- 20) Gronblad M, Virri J, Tolonen J, Seitsalo S, Kaapa E, Kankare J, Myllynen P, Karaharju E : A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue. *Spine* 19(24):2744-51, 1994
- 21) Tolonen J, Gronblad M, Virri J, Seitsalo S, Rytomaa T, Karaharju E : Platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor expression in disc herniation tissue: and immunohistochemical study. *Eur Spine J* 6(1):63-9, 1997
- 22) Tolonen J, Gronblad M, Virri J, Seitsalo S, Rytomaa T, Karaharju E : Transforming growth factor beta receptor induction in herniated intervertebral disc tissue: an immunohistochemical study. *Eur Spine J* 10(2):172-6, 2001
- 23) Yee G, Yu Y, Walsh WR, Lindeman R, Poole MD : The immunolocalisation of VEGF in the articular cartilage of sheep mandibular condyles. *J Craniomaxillofac Surg* 31(4):244-51, 2003
- 24) Pufe T, Harde V, Petersen W, Goldring MB, Tillmann B, Mentlein R : Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces matrix metalloproteinase expression in immortalized chondrocytes. *J Pathol* 202(3):367-74, 2004
- 25) Tanaka E, Aoyama J, Miyauchi M, Takata T, Hanaoka K, Iwabe T, Tanne K : Vascular endothelial growth factor plays an important autocrine/paracrine role in the progression of osteoarthritis. *Histochem Cell Biol* 123(3):275-81, 2005
- 26) Bluteau G, Julien M, Magne D, Mallein-Gerin F, Weiss P, Daculsi G, Guicheux J : VEGF and VEGF receptors are differentially expressed in chondrocytes. *Bone* 40(3):568-76, 2007
- 27) Murata M, Yudoh K, Masuko K : The potential role of vascular endothelial growth factor in cartilage How the angiogenic factor could be involved in the pathogenesis of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 22(23):2711-5, 1997