

## 성대폴립 및 결절에서의 원섬유성 교원질 (Fibrillar Collagen)의 발현양상\*

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 이비인후과학교실, 진단병리과학교실\*\*  
손영익 · 고영혜\*\* · 고석주

= Abstract =

### Fibrillar Collagens in Vocal Polyp and Nodule

Young-Ik Son, M.D., Young-Hyeh Ko, M.D.,\*\* Seok-Joo Koh, M.D.

*Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Diagnostic Pathology,\*\*  
College of Medicine, Sungkyunkwan University, Samsung Medical Center, Seoul, Korea*

Benign vocal fold lesions such as polyps, nodules and edema are known to be caused by vocal trauma such as voice misuse and/or abuse. Even though these lesions are known to be caused by the same etiology, phonotrauma, they show widely different clinical features and different responses to voice therapy. Previous studies suggested that benign vocal fold lesions represent disturbance in the balance of the extracellular matrix(ECM) constituents of the vocal folds. Collagen is one of the major constituents of ECM. Among collagens, fibrillar collagens are most important ones for maintaining the structural integrity.

On the basis of gross morphology, vocal polyps were divided into angiomatous one and edematous one, and nodules were divided into conical one and sessile one. In these four groups, the pattern of distribution of various fibrillar collagens(type 1, 2, 3, 5) was studied by immunohistochemical staining using paraffin embedded tissues.

Within each group, differences among collagen subtypes were insignificant. In edematous polyp, collagens were sparsely dispersed in lamina propria by diffuse edema. In angiomatous polyp, collagens were displaced into submucosal layer by hemorrhagic space. In nodules, collagens were stained compactly in lamina propria.

Quite different distributions of fibrillar collagens between polyps and nodules are thought to suggest that vocal polyps and nodules are totally different disorders in their pathophysiology.

**KEY WORDS :** Vocal polyp · Vocal nodule · Fibrillar collagen.

## 서 론

성대결절, 폴립, 부종 등은 성대의 남용이나 과용 등

\*본 연구는 1997년도 삼성서울병원 임상 연구비의 지원을 받아 진행되었음.

의 성대손상이 그 공통된 주된 원인으로 거론되고 있다

<sup>1)</sup> 하지만 성대결절은 보존적 치료, 즉 음성 치료로 대부분 호전되는 반면, 성대폴립은 수술적 치료가 필요한 경우가 대부분으로 서로 상이한 임상경과를 취한다. 이러한 성대질환은 대개 임상 의사에 의해 진료실에서 그

진단과 치료방침이 결정되고 있으나, 성대결절과 폴립의 경우 임상적으로나 육안적으로 진단적 차이를 두기가 곤란한 경우가 많다. 또한 H&E 염색을 통한 병리조직학적 관찰로도 일관성 있는 차이를 발견하기가 어려워, 병리 진단은 오히려 임상사의 견해를 참조하여 결정되거나 폴립과 결절의 구분 없이 한 가지로 통일된 진단을 내리는 경우가 많다<sup>2)</sup>.

기존의 전자현미경<sup>3)</sup> 및 면역조직염색 연구<sup>4-6)</sup>에 의하면 성대의 결절이나 폴립 등의 양성 성대질환은 기저막 부위와 세포의 간질에 주된 변화가 발생함이 알려져 있으나, 아직은 충분한 연구가 아쉬운 실정이다. 교원질은 점막하층의 골격유지를 주 기능으로 하는 대표적 세포의 간질로, 염기서열이나 단백질 구조에 따라 몇 개의 군으로 나눌 수 있고, 각 아형마다 다른 기능을 갖는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 한편 켈로이드나 비후성 반흔의 경우에 원섬유성 교원질의 특징적인 분포양상을 보임이 알려져 있어<sup>8)</sup>, 성대 결절이나 부종 등에서도 조직학적으로 이와 유사한 개념의 상차 치유 과정이 일어나는지 확인할 필요가 있다. 성대의 결절, 폴립, 부종 등에서의 콜라겐 분포 양상을 이해하고 발현의 차이를 연구하는 것은 상기 질환의 병인을 이해하고 질환 분류의 지표를 제시하며, 나아가 적절한 치료 방법을 제시하는 데에 의미가 있을 것으로 기대된다.

## 대상 및 방법

본원 이비인후과에서 후두미세현미경수술을 시행한 환자 중 성대결절 또는 폴립으로 진단된 조직을 이용하였다. 수술 당시의 사진을 참조하여 성대 접촉면의 완만한 비후 형태를 갖는 결절, 원추 형태의 돌출성 결절, 출혈이 없는 부종형태의 폴립, 육아조직과 흡사한 외형의 혈관성 폴립 등 4개 군으로 나누었다. 각 군은 각각 10례 이상씩이었다.

Collagen 1, 2, 3, 5형에 대해 avidin-biotin complex immunoperoxidase technique을 이용하였다. 4µm 두께로 박절한 파라핀 조직을 슬라이드에 붙이고 xylene으로 탈파라핀화한 후, 100%, 95%, 90%, 80% 알코올에 순서대로 담가 재함수시켰다. 이어 unmasking 과정으로 microwave oven으로 처치를 한 후 pepsin으로 다시 처리하였다. 완충액으로 세척한 후

3% 과산화수소 용액에 작용시켜 비특이적 peroxidase 반응을 억제시켰다. 일차항체(1:100 polyclonal rabbit anti-serum antibody, Monosan co., USA)를 넣고 반응시킨 후 collagen 1, 2, 3, 5형에 대한 이차항체(biotinylated secondary antibody, DAKO-ChemMate™, Denmark)와 horse raddish peroxidase로 반응시켰다. 발색원으로 diaminobenzidine (DAB)을 사용하였으며, hematoxylin으로 대조 염색하였다.

음성 대조군으로는 이차 항체를 작용시키지 않은 염색군으로 하였으며, 양성 대조군으로는 피부 조직과 후두연골 조직의 염색군을 이용하였고, 하인두암의 수술 시 적출된 정상 후두의 염색을 시행하여 비교하였다. 또한 H&E 염색된 슬라이드의 소견을 참조하며 비교하였다.

## 결 과

H&E 광학현미경 소견상, 성대결절은 상피층이 두텁고 정상적인 혈관구조를 가진 예가 대부분이었으며, 이에 반해 폴립에서는 상피층 변화가 적고, 출혈이나 부종 등의 혈관성 변화가 많았다.

육안적 소견에 따른 동일군 내에서의 제 1, 2, 3, 5형 교원질의 전반적인 조직 분포 양상에는 특이한 차이가 없었다.

혈관성 폴립 군에서는 성대 고유층의 출혈에 의하여



Fig. 1. Photomicrograph shows type 3 collagen staining in angiomatous polyp. Note the displacement of collagen fibers into the subepithelial layer(arrow) due to predominant hemorrhagic spaces(x 40).

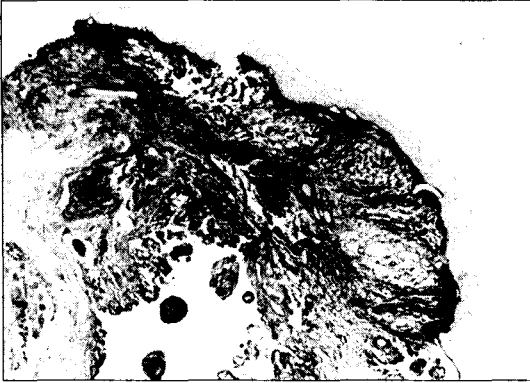


Fig. 2. Photomicrograph shows type 5 collagen staining in edematous polyp. Note the diffusely dispersed collagen fibers in the lamina propria due to loose edema of the submucosa ( $\times 40$ ).

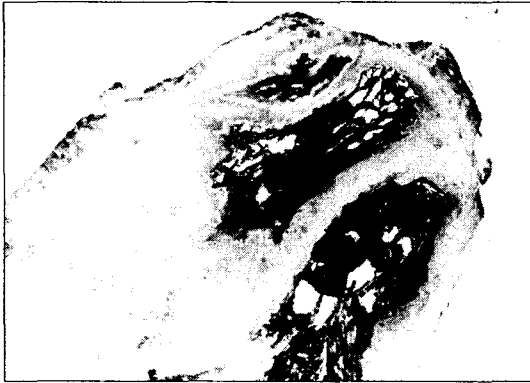


Fig. 3. Photomicrograph shows type 1 collagen staining in conical shaped nodule. In this group, collagen is densely distributed beneath the submucosal layer ( $\times 40$ ).

해당 교원질이 점막하층으로 밀려져 있는 양상이었으며(Fig. 1), 부종성 폴립 군에서는 성대 고유층의 부종으로 인하여 교원질이 고유층에 전반적으로 성글게 산재해 있는 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 결절 군에서는 돌출 형태나 완만한 형태 등의 육안 소견에 상관없이 교원질의 분포가 흡사하였으며, 점막하층에 풍부하고 매우 조밀하게 염색됨을 알 수 있었다(Fig. 3).

제2형 교원질은 주로 연골에서 발견되는 것으로 알려져 있는데, 정상 성대 및 모든 실험군에서 다른 유형의 교원질과 비슷한 성대 고유층에서의 분포 양상 및 발현을 관찰할 수 있었다.

제5형 교원질의 경우, 혈관성 폴립에서 성대 고유층의 출혈 부위 내로 망상 또는 격자형태로 염색되는 소견을 보였으며(Fig. 4), 육안적으로 볼 때 단단해 보일

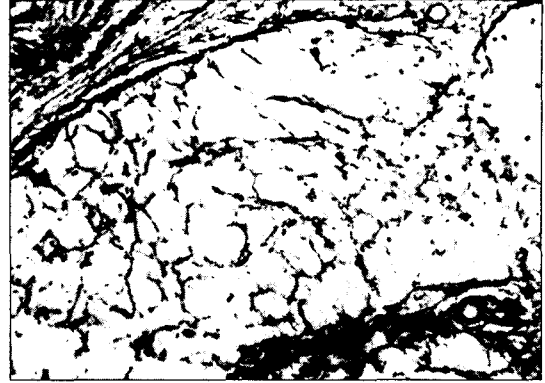


Fig. 4. Photomicrograph shows type 5 collagen staining in angiomatous polyp. Note the typical reticular patterned staining within the hemorrhagic spaces ( $\times 200$ ).

수록 염색 양상이 조밀하게 됨을 관찰할 수 있었다.

## 고 찰

교원질은 exon의 염기서열에 따라 약 14 종의 아형으로 나눌 수 있다. 제1형 교원질은 피부, 골, 인대 등의 주요 구성 성분으로 전체 교원질의 약 80%에 해당하며, 제2형은 초자연골에서 주로 관찰되고, 제3형은 태생기의 피부나 혈관, 장관계의 점막하층을 이루는 주요 성분이며 전체 교원질의 약 10%를 차지한다. 제5형은 표피세포의 이주와 관련된 기능이 있을 것으로 생각되며, 장기 특이성은 없는 것으로 알려져 있다. 제1, 2, 3, 5형 교원질은 원섬유(fibril) 형태의 응집을 형성하므로 원섬유성 교원질로 다시 분류될 수 있으며, 기타 아형에 비하여 조직의 구조를 유지하는데 상대적으로 중요한 역할을 담당하고 있다<sup>9)</sup>.

양성 성대질환의 주 병소인 기저막과 고유층은 비교적 세포가 적은 부위로 기존의 H&E 염색으로는 병리적인 변화를 분석하기가 어렵다. 이러한 병리조직학적 진단의 한계를 극복하기 위한 노력의 일환으로, Kotby 등<sup>10)</sup>은 전자현미경적 관찰을 통해 결절에서는 교원질이 풍부하고 규칙적인 배열을 하는 반면, 폴립에서는 드물게 분포하고 대부분 분산되었다고 하였다. Gray 등<sup>2)</sup>은 면역조직화학 염색으로 결절은 고유층의 표면에 fibronectin이 풍부하고, 기저층에 4형 교원질이 두텁게 염색되며, 폴립의 경우에는 그러한 변화가 없다고 보고한 바 있다.

상처가 치유되는 과정에서 생기는 켈로이드 또는 증

식성 반흔의 경우, 세포의 간질에서 제 1, 3형의 교원질<sup>11)</sup> 및 fibronectin<sup>12)</sup>의 과증식이 관찰된다. 한편, 음성 남용에 의한 성대의 손상 및 상처도 정상적인 치유과정을 밟지 못하고, 특정 교원질의 증가나 분포 양상의 변화가 일어나게 되면 육안적으로는 폴립이나 결절의 형태로 나타날 수 있다고 가정해 볼 수 있다. 결절의 경우 점막하층의 교원질이 정상 성대조직과 비교할 때 상대적으로 매우 풍부하고 조밀하게 염색되는 것은 그러한 가능성을 의미한다고 해석할 수도 있다. 하지만, 해당 교원질의 정량적인 분석이 뒷받침되어야 이러한 가설의 검정이 가능하리라 사료된다.

성대폴립의 경우 고유층의 혈관 손상이 우선적으로 중요한 소견으로 생각되었으며, 손상의 정도에 따라 부종이나 출혈이 나타나고, 대부분의 원섬유성 교원질은 이러한 혈관성 변화에 의해 이차적으로 분산되거나 점막하층으로 밀리어 분포하게 되는 것으로 사료되었다.

한편 제 5형 교원질이 혈관성 폴립의 적혈구 밑집 부위에 망상 또는 격자형의 특이한 염색 양상으로 관찰되며, 육안적으로 단단해 보일수록 5형 교원질의 격자형의 염색 양상이 조밀해지는 것으로 미루어 볼 때, 초기의 출혈 부위가 점차 조직화되는 과정에서 제 5형 교원질이 어떤 역할을 담당하고 있는 것을 의미한다고 사료되었다.

이상의 결과로 성대 폴립의 경우는 성대의 손상에 따른 출혈이나 부종 등이 육안적 형태를 결정하는 중요한 요인이며, 결절의 경우에는 점막의 비후 소견과 더불어 점막하층의 교원질의 밀집된 침착이 중요한 요인으로서, 두 병변은 원섬유성 교원질의 염색 양상으로 미루어 볼 때 병리조직학적인 병인이 서로 상이한 질환으로 사료되었다.

## 결 론

육안적 형태가 상이한 성대폴립과 결절에 대한 원섬유성 교원질의 면역염색을 통하여, 병리조직학적 차이에 근거한 병인을 이해하고, 질환 분류와 치료의 결정에 도움이 되고자 하였다.

육안적 형태에 따라 결절과 폴립을 4군으로 나누고, 파라핀에 고정된 조직을 이용하여 1, 2, 3, 5형 교원질에 대한 면역염색을 시행하였다.

동일한 육안 소견을 갖는 군 내에서 1, 2, 3, 5형 교

원질의 아형간에 특이한 분포 양상의 차이는 없었다. 폴립의 경우에는 출혈이나 부종 등에 의하여 교원질이 이차적으로 분산되거나 점막하층으로 밀려져 있는 양상이었으며, 결절의 경우에는 성대 고유층을 가득 채우는 풍부하고 매우 조밀한 염색 양상을 관찰할 수 있었고, 이는 비후성 반흔이나 콜로이드 등의 비정상적인 상처 치유 과정과 어떠한 공통점이 있을지도 모른다는 가능성을 시사한다고 사료되었다.

이상의 결과로 성대 폴립의 경우는 성대의 손상에 따른 출혈이나 부종 등이 육안적 형태를 결정하는 중요한 요인이며, 결절의 경우에는 점막의 비후 소견과 더불어 점막하층의 교원질의 밀집된 침착이 중요한 요인으로서, 두 병변은 원섬유성 교원질의 염색 양상으로 미루어 볼 때 병리조직학적인 병인이 서로 상이한 질환으로 사료되었으며, 따라서 질환 분류나 치료 결정에 있어서 이러한 차이를 염두에 두어야 할 것으로 생각되었다.

## References

- 1) Dikkers FG, Nikkels PG : *Benign lesions of the vocal folds : histopathology and phonotrauma. Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1995 ; 104 : 698-703
- 2) Gray SD, Hammond E, Hanson DF : *Benign pathologic responses of the larynx. Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1995 ; 104 : 13-18
- 3) Dikkers FG, Hulstaert CE, Oosterbaan JA, Cervera-Paz FJ : *Ultrastructural changes of the basement membrane zone in benign lesions of the vocal folds. Acta Otolaryngol(Stockh).* 1993 ; 113 : 98-101
- 4) Pawlak AS, Hammond T, Hammond E, Gray SD : *Immunochemical study of proteoglycans in vocal folds. Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996 ; 105 : 6-11
- 5) Ho IJ, Hyung BS, Kim ST, Cha HE, Ha SY, Park HR : *Type IV collagen and fibronectin deposition of basement membrane and lamina propria in benign laryngeal lesions. Korean J Otolaryngol.* 1997 ; 40(1) : 11-16
- 6) Kim HT, Cho SH, Park HJ, You WJ, Kim MS : *Histopathological characteristics in benign lesions of the vocal folds by expression of collagen type IV in the basement membrane zone. Korean J Otolaryngol.* 1996 ; 39(6) : 1477-1484
- 7) Olsen BR, Ninomiya Y : *Collagens. In : Kreis T, Vale R. Extracellular matrix and adhesion proteins.*

- New York : Oxford University Press, 1994 : 32-47
- 8) Ehrlich HP, Desmouliere A, Diegelmann RF, et al : *Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar. Am J Pathol.* 1994 ; 145(1) : 105-113
  - 9) Uitto J : *Biology of dermal cells and extracellular matrix. In : Dermatology in general medicine. 4th ed. USA : McGraw-Hill, 1993 : 299-315*
  - 10) Kotby MN, Nassa AM, Sief EI, Helal EH, Saleh MM : *Ultrastructural features of vocal fold nodules and polyps. Acta Otolaryngol.* 1988 ; 105 : 477-482
  - 11) Zhang K, Garner W, Cohen L, Rodriguez, Phan S : *Increased types I and III collagen and transforming growth factor- $\beta$ 1 mRNA and protein in hypertrophic burn scar. J Invest Dermatol.* 1995 ; 104 : 750-754
  - 12) Nagata H, Ueki H, Moriguchi T : *Fibronectin. Arch Dermatol.* 1995 ; 121 : 995-999