

요도판의 광학 및 전자현미경적 연구

A Histologic Study of Urethral Plate with Light and Transmission Electron Microscopy

Young Churl Chung, Yu Na Kang¹, Kwang Sea Kim

From the Departments of Urology, ¹Pathology, College of Medicine, Keimyung University, Daegu, Korea

Purpose: To make a histological study of a urethral plate using light and transmission electron microscopies to find evidence responsible for ventral curvature in hypospadias.

Materials and Methods: Full thickness biopsies of the urethral plate were obtained from 5 patients with proximal hypospadias; including 4 children and 1 adult. All specimens were examined with light and transmission electron microscopies.

Results: With the light microscope, all specimens demonstrated well vascularized connective tissue, comprised of smooth muscle and collagen. With the transmission electron microscope, all specimens demonstrated intact endothelial cells and fibroblasts, with dispersed chromatin distribution, intercellular loose collagen and a regular arrangement of collagen fibrils in intercellular spaces. No histological evidence of fibrous cord could be found in any of the specimens.

Conclusions: No histological evidence of fibrous cord could be historically found that could be considered responsible for ventral penile curvature in hypospadias. (Korean J Urol 2005;46:1083-1087)

Key Words: Hypospadias, Urethra, Histology, Electron microscopy

대한비뇨기과학회지
제 46 권 제 10 호 2005

계명대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹병리학교실

정영철 · 강유나¹ · 김광세

접수일자 : 2005년 4월 7일
채택일자 : 2005년 8월 29일

교신저자: 김광세
계명대학교 동산의료원
비뇨기과
대구시 중구 동산동 194번지
☎ 700-712
TEL: 053-250-7647
FAX: 053-250-7643
E-mail: kskim@dsmc.or.kr

서 론

요도하열은 요도의 불완전 발육으로 인한 음경의 선천성 기형이며 생존출생남아 250명 중 1명의 빈도로 발생하며,^{1,2} 전부요도하열의 15%, 후부요도하열의 80%에서 음경굴곡이 동반된다.³ 요도판은 요도하열의 외요도구에서 원위부로 뻗어있는 조직편(strip of tissue)을 의미하며^{4,5} 과거에는 요도판 자체를 굴곡의 원인으로 생각하여 음경만곡 교정 시 요도판 절제가 필요한 것으로 여겼다.^{5,6} 특히 Creevy는 요도판은 외요도구에서 원위부로 뻗어있는 조직편이 '형성 장애가 생긴 요도해면체의 섬유화 잔존물 - fibrotic remnants of dysplastic corpus spongiosum' 위를 덮고 있는 것이며 이것이 굴곡의 원인이므로 음경굴곡 교정 시 절제가 필요하다고 강조하였다.⁴

그러나 1974년 Gittes⁶가 고안한 인공발기기술로 인해 굴곡 정도의 객관적 평가가 이루어짐으로써 좀 더 정확한 평가

가 가능하고 어느 부위가 굴곡의 원인인지 임상적으로 보다 정확하게 알게 되었다. 이로 인해 근래에는 요도판을 절제하지 않고 보존하는 교정술(onlay island flap, tubularized incised plate, King 등)이 많이 이용되며 높은 성공률을 보이고 있다.⁸⁻¹² 그러나 굴곡이 동반된 요도하열 교정 시 요도판을 보존해야 할지는 논란이 되고 있으며 현재까지 요도판의 조직학적 연구는 불충분한 상태이다.

저자들은 광학 및 전자현미경을 이용하여 요도판에 음경굴곡을 유발할 만한 조직학적 소견이 있는지 알아보았다.

대상 및 방법

2004년 4월부터 2004년 9월까지 본원에서 요도하열로 교정술을 받은 환자 중 굴곡교정을 위해 요도판의 절제가 필요했던 후부요도하열 5례를 대상으로 요도판 전층을 채취, 광학 및 전자현미경을 이용하여 요도판의 조직학적 소견을 살펴보았다.

소아 4례, 성인 1례였으며 음경피부를 degloving 한 후 인공발기술을 시행, 전 예에서 복측 굴곡이 있어 굴곡교정을 위해 요도판을 절제하였다.

적출한 요도판 조직은 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후 계열 에탄올로 탈수하고 파라핀 침투와 포매과정을 거쳐서 파라핀 조직블록을 만들었으며, 4 μ m 두께로 세절하여 hematoxylin and eosin 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

투과전자현미경 관찰을 위해 적출한 요도판 조직을 2.5% 글루타르알데히드 용액을 사용하여 0-4°C에서 전고정시킨 후 0.1 M 인산염 완충용액으로 세척하였다. 그 후 1% osmium tetroxide (O₈O₄) 용액으로 2시간 후 고정을 실시하였고, 다시 인산염 완충용액으로 세척하고 계열 에탄올로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 다음, Luft 방법¹³에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 방치하여 열중합을 시켰다. 다음으로 조직을 1 μ m 두께로 박절편을 만들어 toluidine blue로 염색하여 광학현미경상에서 관찰부위를 결정하였다. Sorvall MT5000 형 초박박기에서 40-60nm의 회백색의 간접색을 나타내는 초박절편을 얻어 grid에 부착하여 Watson¹⁴과 Reynolds¹⁵방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 투과전자현미경 (H-7100, Hitachi Ltd., Japan)으로 관찰하였다.

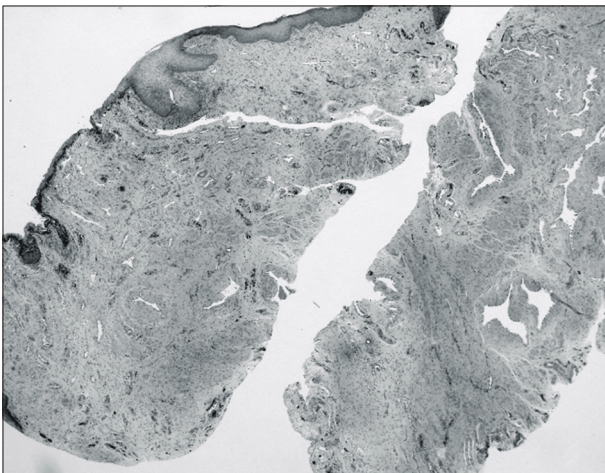


Fig. 1. Light microscopic findings of the urethral plate from hematoxylin and eosin staining. Full thickness biopsy of the urethral plate demonstrates surface epithelial cells in the upper left corner, with normal loose connective tissue, consisting of collagen, smooth muscle and variable-sized blood vessels. Dysplastic epithelial cell or dense stromal fibrous changes are not seen (hematoxylin and eosin x40).

결 과

1. 광학현미경 관찰

전례에서 정상적인 상피세포층과 교원질섬유와 탄력섬유가 엉성하게 연결된 성긴 결합조직을 배경으로 다양한 크기의 혈관, 평활근 등이 분포되어 있는 것이 관찰되었다. 상피와 상피하 결합조직에서 음경굴곡의 원인으로 여겨질 만한 치밀결합조직이나 심한 경화의 소견, 이형성은 관찰되지 않았다 (Fig. 1).

2. 투과전자현미경 소견

전례에서 상피세포, 혈관벽, 섬유모세포, 교원질섬유들을 투과전자현미경으로 관찰하였다.

상피세포에서는 둥근 핵, 비교적 산재된 핵내 염색질, 상피세포간 결합체 연결, 상피세포막 세포질의 융모모양 돌출, 그리고 세포소기관으로 미토콘드리아, 조면소포체, 리보솜 등이 관찰되었다 (Fig. 2).

상피하조직에 분포한 혈관의 크기와 혈관벽 두께는 다양하였고 혈관벽을 구성하는 혈관내피세포들은 공포형성, 박리, 변성, 괴사소견 없이 정상적인 형태를 보였다. 혈관내피세포 기저막은 특별히 두꺼워져 있지 않았고 그 외측으로 섬유모세포들의 핵과 세포질로 둘러싸여 있었으며, 그 사이로 성긴 교원질 성분들을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3).

결합조직의 기질부위 (ground substance)에도 많은 섬유모세포들의 증식이 관찰되었고 그 사이로 역시 성긴 교원질 성분들만 관찰되었다. 증식된 섬유모세포에서는 특징적인

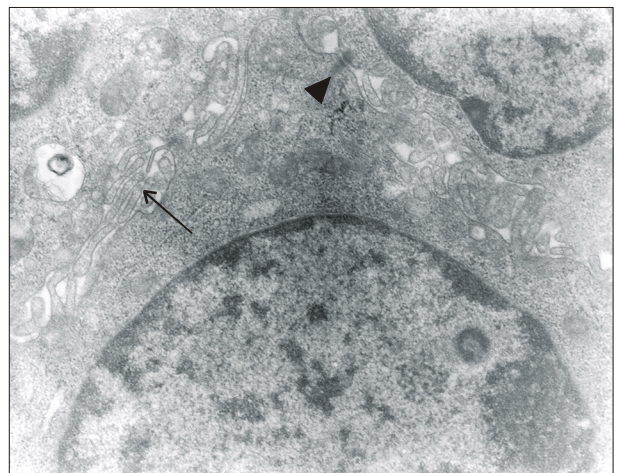


Fig. 2. Transmission electron microscopic findings in the epithelial cells of the urethral plate. Round, smooth nucleus, with a dispersed chromatin distribution, desmosome (arrow head) and villous-like projection of cytoplasm (arrow) are noted (x15,000).

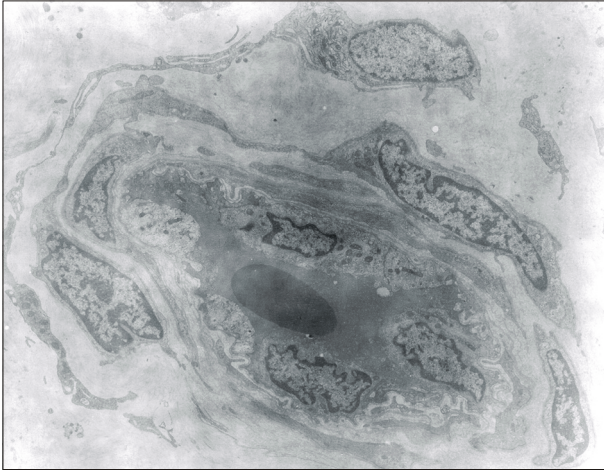


Fig. 3. Transmission electron microscopic findings of the vessel wall. The endothelial cells are intact, with no cytoplasmic vacuolization, detachment, degeneration or necrosis. The vessel is surrounded by fibroblasts and loose collagen (x3,000).

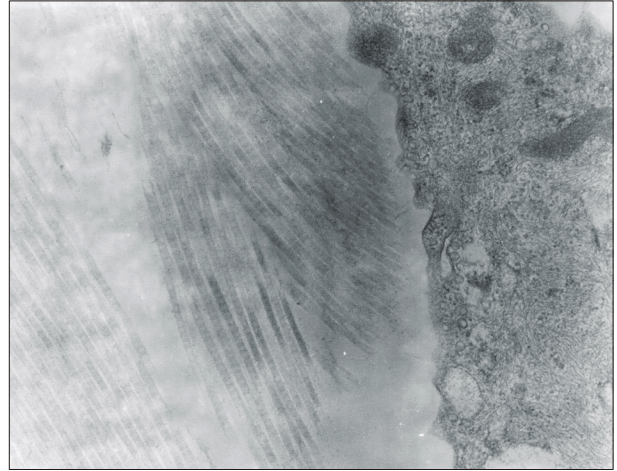


Fig. 5. Transmission electron microscopic findings of the collagen fibers. The high-power view of the collagen fibers shows a regular arrangement of fibrils in the intercellular spaces (x20,000).

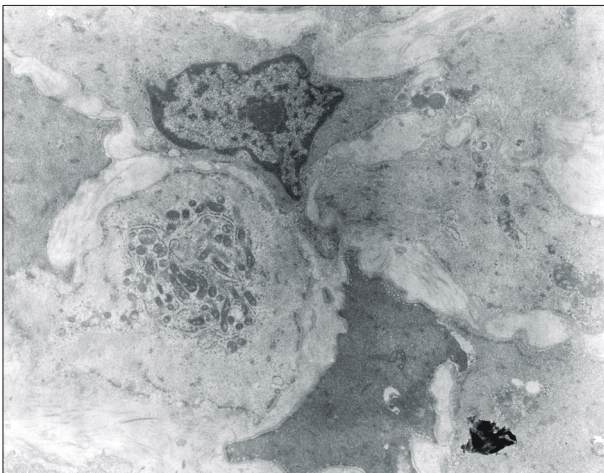


Fig. 4. Transmission electron microscopic findings of fibroblasts. Irregular indentation and dispersed chromatin distribution of the nucleus, and dilated cisternae of the rough endoplasmic reticulum are noted, with intercellular loose collagen (x7,000).

불규칙한 모양의 함입된 핵막이 보였으며 세포질 내에는 확장된 조면소포체가 관찰되어 섬유모세포의 활성화를 짐작할 수 있었고 (Fig. 4), 활성화된 섬유모세포 사이에 분포한 교원질섬유는 비교적 성기거나 질서정연하게 배열되어 있었다 (Fig. 5).

전 예에서 상피세포의 농축염색질, 불규칙한 모양의 핵막이나 핵소체의 변화, 혈관내피세포의 변성, 치밀하거나 불규칙한 배열로 두껍게 융합된 거대 교원질섬유 등 이형성이나 심한 경화조직에서 나타나는 소견은 관찰할 수 없었다.

고 찰

요도하열 교정술은 1837년 Dieffenbach¹⁶이 처음 시도한 이후 최근까지 여러 가지 방법들이 사용되어 왔다. 과거에는 요도하열의 요도판을 음경굴곡의 원인으로 생각하고 굴곡교정을 위해 요도판을 절제하였다.^{5,6} 그러나 인공발기술⁷이 도입되고 복측 피부 결박 (tethering) 및 음경해면체 불균형 (corporal disproportion)이 음경만곡의 주된 원인으로 여겨지게 되면서^{12,17,18} 최근에는 요도판을 보존하는 술식이 많이 이용되고 있다. 그러나 요도하열 교정에서 요도판 보존여부는 아직까지 논란의 대상이 되고 있으며 요도판이 굴곡의 원인인가에 대한 조직학적 규명은 드문 실정이다.

지금까지 보고된 요도판의 조직학적 연구를 살펴보면, Marshall 등¹⁹은 음경-음낭부 요도하열 1례의 요도판 전층조직을 정상 요도조직과 비교한 결과 음경해면체와 요도판 사이에 분포하는 교원질섬유 양의 차이는 미미하고 굴곡을 유발할 만한 소견은 없다고 하였으며 Avellan 등²⁰도 복측굴곡을 보인 요도하열 20례에서 요도와 요도판을 절단하여 광학현미경을 이용한 조직검사를 실시한 결과 2례에서 섬유화 혹은 경화된 (fibrous or sclerotic) 조직소견이 관찰되었으나 이런 소견이 요도판이 정중앙의 띠로 표현되는 삭대의 원인이라는 개념을 지지하지 못한다고 주장하였다.

그러나 Paul 등⁵은 요도판이 섬유화된 조직 (fibrous tissue)으로 이루어져 있고 탄력적이지 못하며 요도판이 접하고 있는 음경해면체 (corpora cavernosa)보다 짧아 복측굴곡을 형성하게 되고 음경팽창 시 더 심화된다고 하였고, Creevy⁴는 요도판이 치밀섬유조직 (dense fibrous tissue)으로 굴곡교

정을 위해 절제가 반드시 필요하다고 주장하였다.

최근 Erol 등²¹은 후부 요도하열 신생아 1례와 전부 요도하열 태아 2례의 요도판과 20례의 정상 태아 요도해면체의 조직학적 소견을 비교한 결과 요도하열 요도판은 혈관이 풍부하며 교원질섬유의 치밀도도 정상태아의 요도해면체 (corpus spongiosum)와 비교하여 차이가 없다고 하였다. 그리고 Snodgrass 등²²은 요도하열 16례를 대상으로 복측 굴곡을 보인 요도하열 5례 중 요도판이 명확한 굴곡의 원인으로 생각되었던 1례에서 요도판 전층조직생검을 시행하였고 그 외 15례는 요도판 상피하 생검을 시행, 광학현미경으로 관찰한 결과 모든 요도판들은 섬유성 조직이나 이상 발육 소견 없이 혈관이 잘 발달된 결합조직과 상피조직으로 이뤄져 있었다고 보고하였다. 그러나 Erol 등²¹의 경우 후부요도하열이 1례뿐이었고, Snodgrass 등²²은 복측 굴곡이 동반되었던 5례 중 1례만 요도판 전층을 조사하였고 나머지 4례는 dorsal plication으로 굴곡 교정이 가능해 요도판 절제가 불필요했던 경한 형태의 음경굴곡을 가진 경우였다.

조직 섬유화의 확인에는 여러 가지 방법들이 있다. 그 중 hematoxylin and eosin 염색은 섬유화 띠 (fibrous band)나 이형성 구조물 관찰은 가능하나 초미세 구조의 이상은 알 수 없다.²³ 삼색염색 (trichrome stain)은 레티쿨린 섬유화 (reticulin fibrosis)를 제한적으로 감별할 수 있으나 교원질을 포함한 세포외간질 (extracellular matrix) 전체를 관찰하기엔 한계점이 있다.^{24,25} 면역조직학적 염색법은 섬유화를 이루는 구성성분의 내용을 확인하고 각 구성성분이 발현된 부위를 밝혀 교원질섬유의 유무와 아형구분, 분포부위 등을 광학현미경을 이용하여 정확히 육안으로 관찰할 수 있다는 장점을 가진다. 그러나 섬유화가 없는 정상조직의 세포외간질에도 교원질섬유가 존재하므로 면역조직학적 염색법 단독으로 섬유화 여부를 판단하기 어려우며 더욱더 고배율을 요하는 섬유미세구조 및 배열 관찰 등은 불가능하다.²³ 전자현미경은 섬유화가 진행된 부위의 치밀하거나 불규칙한 배열로 두껍게 융합된 거대 교원질섬유와 섬유화 시 발생하는 미세구조 변화의 관찰은 가능하나 관찰부위가 극히 국소부위에 한정된다.²⁶

본 연구는 비록 증례수는 적으나 5례 모두 굴곡이 심한 후부 요도하열로서 요도판 절제가 필요했던 경우이며, 요도판 전층을 광학 및 투과전자현미경을 이용하여 연구한 것을 특징으로 볼 수 있다. Snodgrass 등²²의 연구 결과와 같이 본 연구에서도 광학현미경 조사에서 전례 모두 섬유화 띠나 이형성 등 음경굴곡을 유발할 만한 소견을 보이지 않았다. 그러나 실제 임상적으로 요도판을 절제하면 음경굴곡 교정에 많은 도움을 주는 경우가 종종 있다. 이에 대해 Snodgrass 등²²은 요도판 자체의 길이가 짧거나 또는 초미세

구조의 이상 등으로 인한 음경굴곡유발 가능성을 추측하였으나 현재까지 전자현미경을 이용한 요도판 구조 연구에 대한 보고는 없었다. 저자들의 경우 전자현미경 검사상 전예에서 상피세포의 농축염색질, 불규칙한 모양의 핵막이나 핵소체의 변화, 혈관내피세포의 변성, 치밀하거나 불규칙한 배열로 두껍게 융합된 거대 교원질섬유 등의 이상소견을 볼 수 없어 음경굴곡의 원인이 될 만한 요도판 초미세 구조의 이상을 찾을 수 없었다.

앞으로 좀 더 많은 증례를 대상으로 한 조직학적 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론

요도하열에서 요도판 전층을 광학 및 전자현미경을 이용하여 조사를 한 결과 음경굴곡을 유발할 만한 조직학적 소견은 찾아볼 수 없었다. 앞으로 더 많은 증례를 대상으로 한 연구가 필요하다.

REFERENCES

1. Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics* 1997;100:831-4
2. Retik AB, Borer JG. Hypospadias. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ, editors. *Campbell's urology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2002;2284-333
3. Snodgrass W. Changing concepts in hypospadias repair. *Curr Opin Urol* 1999;9:513-6
4. Creevy CD. The correction of hypospadias: a review. *Urol Surv* 1958;8:2-47
5. Paul M, Kanagasuntheram R. The congenital anomalies of the lower urinary tract. II. *Br J Urol* 1956;28:118-25
6. Gittes RF, McLaughlin AP 3rd. Injection technique to induce penile erection. *Urology* 1974;4:473-4
7. Elder JS, Duckett JW, Snyder HM. Onlay island flap in the repair of mid and distal penile hypospadias without chordee. *J Urol* 1987;138:376-9
8. Snodgrass W, Koyle M, Manzoni G, Hurwitz R, Caldamone A, Ehrlich R. Tubularized incised plate hypospadias repair: results of a multicenter experience. *J Urol* 1996;156:839-41
9. King LR. Hypospadias - a one-stage repair without skin graft based on a new principle: chordee is sometimes produced by the skin alone. *J Urol* 1970;103:660-2
10. Ha HS, Kim KS. Onlay island flap hypospadias repair; experience of 45 cases. *Korean J Urol* 1999;40:1544-8
11. Hollowell JG, Keating MA, Snyder HM 3rd, Duckett JW. Preservation of the urethral plate in hypospadias repair: extended applications and further experience with the onlay island flap urethroplasty. *J Urol* 1990;143:98-101
12. Baskin LS, Duckett JW, Ueoka K, Seibold J, Snyder HM 3rd.

- Changing concepts of hypospadias curvature lead to more onlay island flap procedures. *J Urol* 1994;151:191-6
13. Luft JH. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol* 1961;9:409-14
 14. Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol* 1958;4:475-8
 15. Reynolds ES. The use of lead citrate at high PH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 1963;17:208-12
 16. Dieffenbach JF. Guerison des fentes congenitales de la verge, do l'hypospadias. *Gaz Hebd Med* 1837;5:156-8
 17. Mouriquand PD, Persad R, Sharma S. Hypospadias repair: current principles and procedures. *Br J Urol* 1995;76(Suppl 3):9-22
 18. Baskin LS. Controversies in hypospadias surgery: penile curvature. *Dial Pediatr Urol* 1996;19:1-8
 19. Marshall M Jr, Beh WP, Johanson SH 3rd, Price SE Jr, Barnhouse DH. Etiologic considerations in penoscrotal hypospadias repair. *J Urol* 1978;120:229-31
 20. Avellan L, Knutsson F. Microscopic studies of curvature-causing structures in hypospadias. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1980;14:249-58
 21. Erol A, Baskin LS, Li YW, Liu WH. Anatomical studies of the urethral plate: why preservation of the urethral plate is important in hypospadias repair. *BJU Int* 2000;85:728-34
 22. Snodgrass W, Patterson K, Plaire JC, Grady R, Mitchell ME. Histology of the urethral plate: implications for hypospadias repair. *J Urol* 2000;164:988-90
 23. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. *Histology: a text and atlas*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995;1-17
 24. Masson PJ. Trichrome stainings and their preliminary techniques. *Jtech Met* 1929;12:75-9
 25. Garvey W. Modified elastic tissue-Masson trichrome stain. *Stain Tech* 1984;59:213-6
 26. Ghadially FN. Extracellular matrix (extracellular components). In: Ghadially FN, editor. *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. 4th ed. Newton: Butterworth-Heinemann; 1997; 1307-51
-