

혈관 석회화의 분류, 동맥경화증 및 혈관의 석회화의 유발 기전

성균관 대학교 삼성제일병원 내분비내과

한 기 옥

The Classification and Mechanism of Vascular Calcification

Ki Ok Han

Division of Endocrinology, Department of Internal Medicine
Sungkyunkwan University School of Medicine
Samsungcheil Women's Healthcare Center and Hospital

서 론

정규 장소 밖의 석회화(ectopic calcification)는 오랫동안 단순한 칼슘과 인의 과잉으로 인한 물리화학적 현상으로 인식되어 왔다. 혈관의 석회화 역시 조직 괴사로 유발된 단순한 칼슘과 인의 축적일 것으로 생각되어 왔다. 그러나 최근의 여러 연구에 의하면, 이들 혈관에 발생하는 석회화의 양상이 골과 연골의 무기질화(mineralization)와 매우 유사한 것을 관찰하였다. 혈관 석회화 과정에서도 연골내 석회화(endochondral calcification) 및 막성 석회화(membranous calcification)가 모두 관찰된다. 역학 연구들에서도 골다공증과 혈관 석회화의 연관성이 관찰되어, 이 두 기관의 조절 기전이 유사하지 않을까 추측되고 있다. 따라서 이곳에서는 혈관 석회화에 있어 특징적인 조건과 현재까지 연구된 유발 기전에 대하여 논하고자 한다.

혈관 석회화의 분류

1. 발생 장소에 따른 분류

혈관 석회화는 혈관의 두 부위에서 특징적으로 일어난다. 내막 석회화(intimal calcification)는 죽상경화증(atherosclerosis)과 연관되어 발생한다. 죽상경화증은 처음에는 혈관 내측에 지방이 풍부한 대식세포들과 T 림파구들이 축적되어 지방층(fatty streak)을 형성하고, 이어서 혈관 평활근세포(vascular smooth muscle cell)들이 혈관의 중막(media)으로부터 이동하여 들어온다. 이들의 이동을 자극하는 화학여동물질(chemokine)들은 인근 혈관 내피, 활성화된 탐식세포 등에서 생성되는 것으로 생각되고 있다. 이동된 혈관 평활근 세포들은 증식하고 지방이 축적되고, 세포외 간질(extracellular matrix, ECM)을 생성한다. 석회화는 죽상경화반(斑: plaque)의 중심부에서 일

어난다.

혈관 중막 석회화는 죽상경화증 및 내막 석회화와는 독립적으로 발생한다. 말단 동맥들에서 생긴 혈관 중막 석회화를 Mückeberg's sclerosis라고 부르기도 하며, 이는 주로 노령의 당뇨병 환자에서 많이 관찰된다. 발생에는 혈관 평활근세포와 엘라스틴(elastin)이 연관된다고 생각되고 있다.

2. 석회화의 조직병리학적 양상에 따른 분류

1) 죽상경화적 석회화 (Atherosclerotic or fibrotic calcification)

죽상경화적 석회화는 세포괴사, 염증, 지단백과 인산화단백의 복합물 등에서 시작되는 것이 특징이다. Virchow의 "endarteritis deformans"는 손상된 혈관의 석회화를 보여주는 매우 좋은 실례이다. 세포막에서 유래된 지방 복합체, 혈관 내 thrombo-fibrinoid 복합체, 혈청 지단백이 죽상경화의 반과 오래된 심근경색과 연관되어 석회화를 일으킨다. 혈관 내피세포의 이상 기능은 혈전 형성을 증가시키고, 산화 지방물은 활성화된 탐식세포 및 T 림파구를 끌어들이는 각종 신호를 생성한다. 석회화는 염증세포가 모여든 곳과 세포 괴사 부위에 인접한 섬유석회판(fibrocalcific plaque)의 지방 중심부에서 시작된다. 연골내 골형성의 경우와 같이 연골이형성, 연골 석회화 등이 관찰된다. 진행된 경우에는 조혈기능을 가진 골수의 형성까지도 관찰된다.

2) 심장판막 석회화 (Cardiac valve calcification)

심장판막 석회화는 물리적 힘과 염증에 의하여 생성된다. 발생 초기에는 탐식세포, T 림파구의 침범이 있고, 지방 침착, 판막 섬유화, 지방 축적이 진행되며, 점점이 간질 칼슘이 축적된다. 섬유세포는 혈관 외막(adventitia)과 유사한 간질세포로 보

인다. 흥미롭게도, 죽상경화증이 없는 대동맥 판막 석회화에도 간질세포의 염증과 활동성이 관찰되어, 최근에는 노령으로 인한 석회화와 죽상경화증으로 인한 석회화의 기전이 어떤 면에서 유사할 것으로 추정하기도 한다. 이 경우는 연골 이형성은 드물고, 막내 골형성과 유사한 석회화가 관찰된다.

3) 혈관 중막 석회화 (Medial artery calcification)

혈관 중막 석회화는 당뇨병, 말기 신부전 등에서 특징적인 석회화로, 막내 두개골 형성 및 치아형성과 유사한 형태로 발생한다. 연골이 석회화 과정을 증가하지 않고, BMP2, Msx2 전사전달 과정이 연관되는 것으로 연구되고 있다. 전자현미경 소견상, 석회화는 세포외 기질섭유와 연관되어 초기에 기질 소포(matrix vesicle)에서 시작되는 것이 관찰된다. 당뇨병에서 Msx2과 Msx1이 대동맥에서 증가되어 발현되는데, 이들은 BMP2와 연관된 조골세포의 전사인자로 두개골 형성에 막내 골형성과 치아형성에 필요한 인자로 알려져 있다. 당뇨병에서는 혈관 내막 석회화와 중막 석회화가 모두 관찰되는데, 역학 연구로는 혈관 중막 석회화가 더 중요하여, 하지 절단과 심혈관 사망에 대한 더 의미 있는 예측인자로 추정된다.

4) 혈관 칼시피라시스 (Vascular calciphylaxis)

칼슘과 인이 생리적인 용해능을 초과할 때 연조직에서 복합물의 침착이 일어나는데, 이를 칼시피라시스라고 부른다. 임상적으로는 혈청 칼슘과 인의 농도의 곱이 $60 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ 일 때 광범위한 연조직 석회화가 일어난다. 이 경우는 무형의 칼슘-인의 침착이고 연골이나 골의 형성은 없다. 임상적으로는 말기 신부전, 횡문근 용해 또는 종양 용해를 동반한 급성 신부전, 의인성 고인산혈증에서 발생된다.

내막 석회화와 중막 석회화의 특성

1. 혈관 내막 석회화

척추동물에서 뼈의 발생과정은 연골내 골형성과 막성 골형성 등 두 가지로 분류된다. 연골내 골형성은 시초에 혈관이 없는 연골판이 생기고 이 곳으로 혈관이 침투하면서 연골의 석회화, 파골 세포에 의한 골재형성 등의 과정으로 뼈가 만들어진다. 이러한 연골내 재형성과 신생혈관의 생성에는 Sox9과 Runx2 (Cbfa1 또는 Osf2으로도 불린다)와 같은 전사조절인자들이 결정적인 역할을 한다고 알려져 있다.

분자생물학적 지문검사법 (fingerprinting)에 의하여 뼈의 형성과 죽상경화증으로 인한 혈관 석회화의 과정이 매우 유사하다는 것이 관찰되고 있다. 기질 Gla 단백질 결핍 생쥐 (MGP^{-/-})와 apoE^{-/-} 생쥐 모델에서도 이와 흡사한 연골 이형성을 통한 혈관 석회화를 보이는데 아직 정확한 기전은 밝혀지지 않았다. MGP는 BMP2 신호전달 과정에 있어 noggin과 유사한 억제제로 작용하는 것으로 연구되고 있다. 또한 BMP2와 BMP 수용체

II를 경유한 신호전달이 심혈관계 발생에 필요 불가결하다고 알려져 있다. 따라서 MGP의 억제효과가 소실된 상태에서 BMP2 신호전달이 혈관 석회화를 발생시키는 기전으로 추정된다. BMP 수용체 II의 세포내 억제제인 Smad6가 소실된 상태에서도 연골 이형성을 통한 혈관 석회화가 관찰된다. BMP2는 간질 줄기세포에서 연골형성 또는 골형성을 유도할 수 있고, Msx2 발현을 지속적으로 유지시킨 경우 골형성이 촉진된다.

2. 중막 혈관 석회화

중막 혈관 석회화와 연골 이형성을 수반한 죽상경화적 석회화가 차이를 보이는 까닭은 아직까지 밝혀지지 않았고, 여전히 논란의 대상이다. LDLR^{-/-} 생쥐 모델과 apoE^{-/-} 생쥐모델은 모두 죽종(atheroma: 粥腫)을 형성하지만, LDLR^{-/-} 생쥐 모델은 연골의 관여 없이 석회화를 형성하고, 반면 apoE^{-/-} 생쥐모델에서 혈관은 연골 이형성을 거쳐 석회화가 된다. LDLR^{-/-} 생쥐 모델과 달리 apoE^{-/-} 생쥐모델은 고지방 식이에도 당뇨병이 발생하지 않는다.

외막 근섬유아세포(adventitial myofibroblast), 즉 혈관주위 세포(pericyte)는 식이로 유도된 당뇨병에서 활성화되고, Msx2와 연관된 전사 프로그램에 의하여 조골세포 계열로 전환된다. 혈관 평활근 세포는 osteopontin (OPN)을 생성하는데, 일부 가설에 의하면 당뇨병에서 평활근이 생성한 OPN이 혈관주위세포를 이동시킨다고 주장되기도 한다. 당뇨병과 말기신부전에서의 고혈당과 고인산혈증이 OPN의 중막 발현을 유도한다고 보고되기도 한다. 한 연구에 의하면 동물실험에서 혈관 외막을 부분 제거하였을 때 분절에 중막 동맥석회화(segmental medial artery calcification)가 관찰되었다고 보고하였다.

OPG가 결핍된 생쥐 모델에서 연골 이형성이 없는 중막 석회화가 관찰되고, 이때 혈관 T 림파구의 활성화 및 골 소실이 동반 관찰된다. 혈청 OPG가 당뇨병에서 증가되어 관찰되고 또한 LDLR^{-/-} 생쥐 모델에서도 관찰된다. 이는 아마도 OPG작용에 대한 저항이 존재한다는 의미일 것이며, OPG의 작용은 RANKL의 신호 전달을 억제하는 기능을 가진다고 알려져 있다. 그러나 구체적인 기전은 밝혀지지 않고 있다.

혈관 석회화의 유발 기전을 설명하는 네 가지 가설들 (Fig. 1)

1. 첫번째 가설: 억제기전의 소실 (Loss of inhibition)

앞에서도 부분적으로 언급하였듯이, 유전자 변이 동물 실험 모델을 통하여 혈관 석회화를 조절하는 여러 가능한 물질들을 추정하게 되었다 (Table 1).

위에서도 언급하였듯이, 혈관과 연골의 석회화의 주된 억제인자 중 하나인 기질 Gla 단백질 (MGP)이 가장 많이 연구되고 있다. MGP^{-/-} 생쥐는 생후 첫 2개월 내에 죽는데, 대혈관의 심한

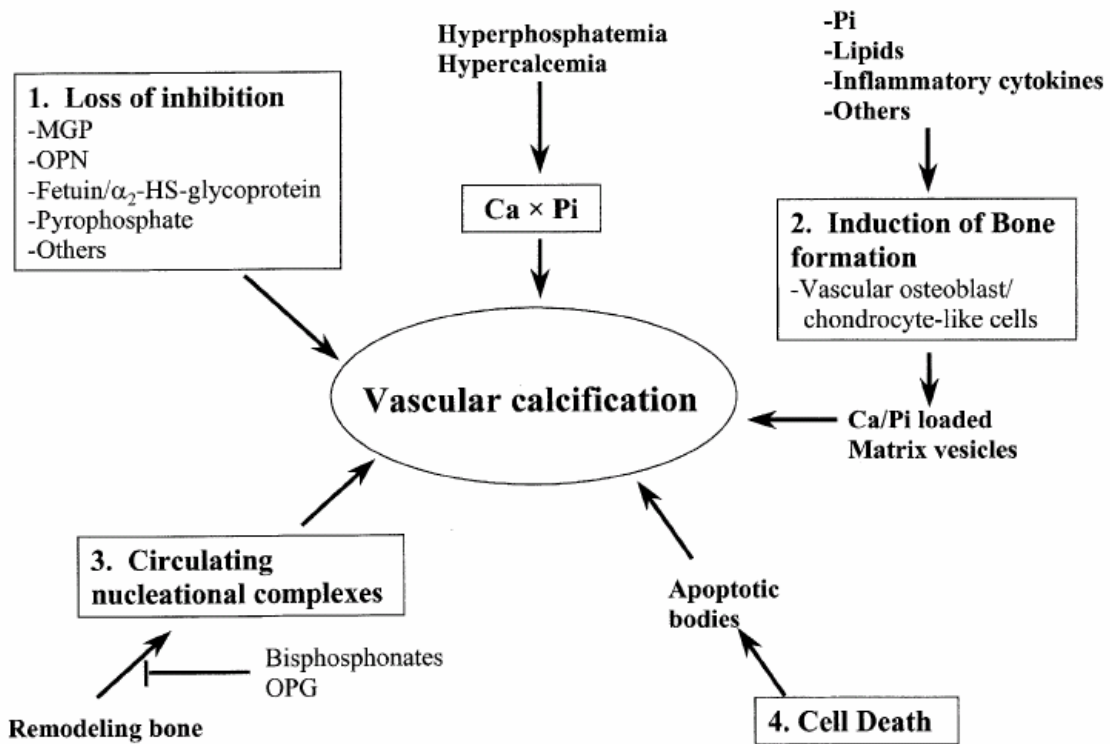


Fig. 1. 네 가지 가설에 따른 혈관 석회화의 기전

Table 1. 혈관 석회화의 표현형을 나타내는 유전자 변형 생쥐 모델

Gene	Mouse mutant	Phenotype
Carbonic anhydrase II (Car2)	Car2 ^{-/-}	Osteopetrosis, calcification of small arteries and arterioles, especially in the kidney
Fetuin/α ₂ -HS-glycoprotein	Fetuin ^{-/-}	Vascular and soft tissue calcification
Fibrillin-1	MgΔ/mgΔ, mgR/mgR	Aortic aneurysm, medial arterial calcification
β-Glucosidase	Klotho ^{-/-}	Vascular calcification, aging
MGP	MGP ^{-/-}	Vascular, valve and cartilage calcification
OPN	OPN ^{-/-}	Enhanced calcification of subcutaneously implanted valve; increased medial calcification in MGP ^{-/-} background.
OPG	OPG ^{-/-}	Osteoporosis, vascular calcification
PC-1, NPP1, Npps	ttw/ttw	Articular cartilage calcification, arterial calcification
Smad6/Madh6	Madh6-mutant	Endocardial cushion defects, aortic ossification

석회화로 인한 혈관 파열과 심부전이 사인이다. 아울러 이 모델에서는 연골의 석회화의 지장을 초래한 것이 관찰되고 골감소증을 보인다. MGP는 10-kDa 단백질로 5 γ-carboxyglutamic acid (GLA) 기를 보유하고 있는데, 이에 의하여 칼슘과 결합한다. 칼슘을 킬레이트화함으로써 칼슘-인 축적을 억제한다고 추정된다. 또한 혈중 칼슘 제거에도 관여하고, BMP2를 억제한다고

연구된다.

OPN은 정상 동맥에는 관찰되지 않지만 석회화된 동맥에는 풍부하다. OPN은 산성 인단백으로 골과 치아 등 정상 무기질화 조직에 존재하며, 파골세포를 자극하고 인회석 결정 (apatite crystal)이 커지지 못하게 억제하는 역할을 한다고 알려져 있다. OPN^{-/-} 생쥐모델은 뼈와 혈관에 대한 특별한 표현형이 관찰되

지 않았지만, 난소 절제나 부갑상선 호르몬 치료로 인한 골흡수를 예방한다고 연구된다. 특수 처리한 돼지의 대동맥 판막을 OPN^{-/-} 생쥐모델의 피하에 이식하였을 때 정상 쥐에 비하여 석회화가 5-10배 증가되었고, 정상 쥐인 경우 석회화 부위에 OPN이 밀착되어 발현되어 OPN이 동맥 석회화를 억제한다고 보고된다. 이외에도 OPN^{-/-} MGP^{-/-} 이중 결핍 생쥐모델에서 OPN^{+/+}MGP^{-/-} 생쥐보다 더 극심한 혈관 석회화를 보여 OPN의 석회화 억제에 대한 역할이 일관적으로 여러 실험을 통하여 주장되고 있다.

이외에도 fetuin, CAII 단백질 등이 석회화 억제 인자로 연구되고 있다.

2. 두번째 가설: 골형성의 조장 (Induction of bone formation)

이미 언급하였듯이, 혈관 석회화와 골형성의 유사성은 여러 면에서 관찰된다. 이를 혈관의 어떠한 세포가 조골세포 계통으로 분화됨으로 골형성 과정이 진행된다고 설명하려는 시도들이 있다. 중막 혈관 세포를 분리하여 배양하였을 때 석회화를 유발할 수 있다는 보고들이 있고, 혈관 평활근세포가 골연골 전구세포와 유사하게 분화된다는 보고가 있었다. 그러나 성체 줄기세포에 의한 것인지 혹은 평활근 세포의 trans-differentiation에 기인한 것인지 밝혀지지 않았다.

Bostrom 등은 혈관 중막에서 장기간 세포 배양을 통하여 석회 결절을 형성하는 클론을 분리하여 내었는데, 이를 석회화 혈관세포 (calcifying vascular cell: CVC)라고 명명하였다. CVC는 조골세포와 유사하게 alkaline phosphatase, osteocalcin을 발현하고, 배양조건에 따라 지방세포로도 분화한다.

그러나 클론으로 분리하지 않은 혈관 평활근 세포는 CVC와 같이 자연적으로 석회화 결절을 형성하지 못한다. 이들 세포는 배양액에 인의 농도가 높아야만 석회화를 일으킨다. 높은 인의 농도가 평활근 세포의 지표인 SM α -actin, SM22 α 의 발현을 소실시키고, OPN, RUNX2, osteocalcin 등 골 지표로 전환시키는데, 이러한 효과는 Na⁺-dependent phosphate cotransporter (NPC)에 대한 억제제를 첨가하였을 때 억제된다고 보고된다. 이로써 증가된 인의 세포내 유입이 표현형의 전환을 유도한다고 추정된다. 이와 유사한 전환은 MGP^{-/-} 생쥐모델에서도 관찰된다고 보고되고, 노령의 생쥐모델에서는 이형화된 연골 주위로 연골세포와 유사한 세포들이 둘러싸여 있는 것이 관찰되어 특징적인 연골 조직 형성의 양상을 보인다고 보고된다.

3. 세번째 가설: 혈액내 핵화 복합체 (Circulating nucleational complexes)

혈관 석회화와 골재형성이 상호 연관성이 있다는 증거들이 발표된다. OPG는 조골세포, 활성화된 T 림프구 등에서 분비되는 당화단백으로, RANK-L의 decoy receptor로써 RANK-L의 작용을 억제함으로써 파골세포의 분화화 활성을 억제한다.

OPG^{-/-} 생쥐모델에서 골다공증과 혈관 석회화가 관찰된다. 그러나 OPG의 혈관에 대한 작용에 대한 연구는 많지 않다.

OPG와 비스포스포네이트 제제가 골흡수를 억제하는 용량에서 와파린과 비타민 D 처치 쥐에서 혈관 석회화를 억제한다고 보고된다. 파골세포 특이성 vacuolar H⁺-ATPase 억제제인 SB242784를 사용하였을 때 파골세포 골흡수 및 혈관석회화가 모두 억제된다고 발표되었다. 따라서 Price 등은 골흡수 장소에서 형성되는 결정 핵 (crystal nuclei)이 혈관을 따라 이동하여 연조직 석회화를 일으킨다는 가설을 내었다. 그러나 이러한 혈액내 복합물질이 어떻게 혈관 내막을 통과하는지에 대한 설명은 없다.

4. 네번째 가설: 세포 사멸 (Cell death)

세포 사멸은 오래 전부터 혈관 석회화의 주요 핵심으로 여겨왔다. 넓은 괴사부위가 관찰되는 죽상경화증에서 특징적인데, 사멸하는 세포에서는 칼슘, 인 등의 투과성이 높고 따라서 이러한 이온들이 농축되면 용해점을 넘어 결정화 된다고 생각한다. 실험실 연구에서 혈관 평활근세포의 석회 결절이 세포자연사 (apoptosis) 후에 생긴다는 것이 관찰되었고, 세포자연사를 조절하면 석회화 결절의 형성도 조절되며, apoptotic body 주변으로 칼슘이 응집된 것이 관찰된다. Matrix vesicle처럼 apoptotic body내의 칼슘도 크리스탈화되어 있음이 관찰된다. 그러나 이것이 matrix vesicle로 어떻게 연결이 되는지는 밝혀져 있지 않다.

결 어

과거에는 단순히 칼슘과 인의 과잉으로 인한 연조직 침착을 혈관 석회화의 원인으로 생각하였으나, 최근에는 매우 정교하게 조절되고 있는 기전에 의하여 일련의 혈관 석회화가 진행될 것이라는 증거들이 밝혀지고 있다. 정상 혈관에서는 석회화를 조장시키는 쪽보다는 억제시키는 쪽이 우세하지만 어떠한 자극이나 원인에 의하여 억제 기전이 역할을 못하고 조장하는 쪽으로 갈 때 혈관 석회화가 발생한다고 생각한다. 그러나 그 정확한 일련의 기전이나 관여하는 세포들의 역할이 아직은 명확하지 않다. 이에 대한 연구가 진행되면 예방 및 치료제의 개발까지도 가능하리라 기대하여 본다.

참고문헌

1. Bostrom K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL: Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 91: 1800-1809, 1993
2. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK: Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by

- warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1610-1616, 2001
3. Price PA, Faus SA, Williamson MK: *Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:817-824, 2001
 4. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK: *SB 242784, a selective inhibitor of the osteoclastic V-H⁺ ATPase, inhibits arterial calcification in the rat. Circ Res* 91:547-552, 2002
 5. Price PA, Caputo JM, Williamson MK: *Bone origin of the serum complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix Gla protein: biochemical evidence for the cancellous bone-remodeling compartment. J Bone Miner Res* 17: 1171-1179, 2002
 6. Watson KE, Bostrom K, Ravindranath R, Lam T, Norton B, Demer LL: *TGF-beta 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. J Clin Invest* 93:2106-2113, 1994
 7. Speer MY, Giachelli CM: *Regulation of cardiovascular calcification. Cardiovasc Pathol* 13:63-70, 2004
 8. Magne D, Julien M, Vinatier C, Merhi-Soussi F, Weiss P, Guicheux J: *Cartilage formation in growth plate and arteries: from physiology to pathology. Bioessays* 27:708-716, 2005
 9. Abedin M, Tintut Y, Demer LL: *Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:1161-1170, 2004