대구외지 2007;33:94-102

법랑모세포종에서 Receptor Activatorof Nuclear Factor-κB Ligand(RANKL)와 Osteoprotegerin(OPG) 발현에 관한 연구

하우헌 · 황대석 · 김용덕 · 신상훈 · 김욱규 · 김종렬 · 정인교
부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2007;33:94-102)

IDENTIFICATION OF RECEPTOR ACTIVATOR OF NUCLEAR FACTOR-κB LIGAND(RANKL) AND OSTEOPROTEGERIN(OPG) IN AMELOBLASTOMA

Woo-Hun Ha, Dae-Seok Hwang, Yong-Deok Kim, Sang-Hun Shin, Uk-Kyu Kim, Jong-Ryoul Kim, In-Kyo Chung
Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University

The ameloblastoma is a common odontogenic tumor of the jaw bone and represents approximately 1% of tumor in the jaw. However, it might be able to infiltrate into the adjacent tissue, causing bony destruction and high recurrent rate. In this study, expression of RANKL and OPG in ameloblastoma in relation to age and gender of patient and recurrence, location of the lesion were examined through immunohistochemisry study. The RANKL and OPG antibody staining were used. The obtained result were as follow.

1. Positive immunoreactivity to RANKL/OPG in all specimens was found.
2. 1n recurrenc, location of ameloblastoma and age, gender of patients using immunohistochemical expression of RANKL. There was not significant difference.
3. 1n recurrence, location of ameloblastoma and age, gender of patients using immunohistochemical expression of OPG. There was not significant difference.

In summary, it is suggested that activation of osteoclasts by RANKL is an important mechanism by which ameloblastomas cause bone destruction.

Key words: Ameloblastoma, RANKL, OPG

Ⅰ. 서 론

법랑모세포종은 가장 흔히 발생하는 치성 종양이며 악골에서 발생하는 종양의 1%를 차지한다. 기원은 치제 (dental lamina) 잔존물, 퇴축치성상피, Malassez 잔존상피, 치성 낭종의 상피세포, 발생중인 법랑기관, 구강상피의 기저층 등으로 알려져 있으며 조직학적으로 양성종양에 해당하나, 인접조직으로의 국소 침윤 및 파괴적 성장양상을 보이고 안면의 변형 및 기능부전을 나타내어 임상적으로 악성 종양과 유사한 경과를 보이고 높은 재발 성향을 나타낸다[1,2]. 이와 같은 임상적인 악성의 성향과 높은 재발률로 인하여 법랑모세포종의 처치시 각별한 주의가 요구되며 법랑모세포종의 생물학적 특성, 분류 및 예후에 대한 깊은 연구가 이루어져야 한다.

최근 receptor activator of nuclear factor-κB ligand(RANKL)/receptor activator of nuclear factor-κB(RANK)/osteoprotegerin (OPG) system이 파골세포의 분화를 직접 조절하는 리간드-수용체 체계라는 것이 밝혀지면서[3] 다발성 골수종, 거대세포 육아종, 유방암 및 전립선암의 전이성 골 용해 병소, 관절염 등에서 그 역할에 대한 많은 연구가 있어 왔으나 두경부 영역에 발생한 치성 종양에서의 연구는 부족한 상태이다. RANKL은 tumor necrosis factor (TNF) ligand family member로 osteoclast differentiation factor (ODF), OPG ligand, TNF-related activation-induced cytokine (TRANCE) 이라고도 불린다. 이것의 역할은 파골세포의 분화를 촉진하고 파골세포의 활성과 생존, 골 표면에의 부착을 자극하며 부가적으로 면역체계와 유선 (mammary gland) 발달의 주요 조절 물질이다. OPG는 골수간질세포와 골모세포와 같은 여러 형태의 세포에 의해 생산되며 RANKL에 부착하여 RANKL이 RANK에 결합하는 것을 억제함으로써 파골세포의 분화를 방해하는 용해성 유인체이다.

김 용 덕
602-739 부산광역시 서구 아미동 1가 10번지
부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
Yong-Deok Kim
Dept. of OMFS. College of Dentistry, Pusan National University
1-10, Ami-Dong, Seo-Ku, Pusan, 602-739, Korea
Tel: 82-51-240-7429 Fax: 82-51-244-8334
E-mail: ydkimdds@pusan.ac.kr

※ 이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구(2년)에 의하여 연구되었음.

조직 내의 특정물질의 항원-항체 반응을 이용하여 특이적으로 검출하는 면역조직화학적 연구방법은 조직 표본에서 수많은 항원에 대한 특정 부위의 감수성을 분석함으로써 원하는 결과를 얻을 수 있는 효율적인 방법이다. 이번 연구에서는 법랑모세포종의 골 파괴 기전을 이해하기 위하여 조직병리학적으로 진단된 법랑모세포종의 파라핀 포매 조직을 이용하여 다발성 골수종과 같은 몇몇 악성 골 용해 병변에서 비정상적으로 조절되며 이환된 골의 파괴에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진[4] RANKL/OPG에 대한 면역조직화학적 연구를 통해 치성 종양의 골 파괴에서 RANKL/OPG의 역할과 환자의 연령, 성별, 병소의 발생부위, 재발유무와 그 발현율과의 상관관계를 통계학적 분석을 이용하여 알아보고자 하였다.

Ⅱ. 연구 재료 및 방법

1. 연구재료

본 연구는 1998년부터 2004년까지 부산대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실에서 법랑모세포종으로 진단받고 수술을 시행한 환자들 중 파라핀 포매 조직의 이용이 가능한 재발한 11 례, 재발하지 않은 29 례, 총 40 례를 대상으로 하였으며 환자의 평균나이는 30.55 세로 발생연령은 12 세부터 50 세까지였으며 남녀 성비는 21:19이었다. 발생부위별 빈도는 하악골에서 36 례, 상악골에서 4 례로 나타났다.

2. 면역조직화학적 염색법

수술시 적출된 후 파라핀에 포매 되어 보관중인 조직 표본을 골라 5 ㎛ 두께의 연속 절편으로 만들어 silanized slide에 부착시켰고, xylene에 각각 10분씩 3회 담궈 탈파라핀화 과정을 거친 후 100%, 90%, 80% 에탄올에 3분씩 처리하여 수화과정을 거쳤다. 이후 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위하여 메탄올-과산화수소용액에 10분간 처리하였다. phosphate-buffered saline (PBS) 용액으로 2분씩 3회 세척하였고 OPG의 경우 각각의 슬라이드를 pH 6.0 citrate buffer 용액에 충분히 잠기게 하여 autoclave에 10분간 가열하였으며 RANKL의 경우 pepsin에 담근 후 37℃ 에서 10분간 반응시켰다. 이후 각 슬라이드에 2방울씩의 일차항체를 반응시킨 후 1시간 동안 moist chamber에 담근 후 2분간 3회 PBS에 세척하였다. OPG에 대한 일차항체로 monoclonal antibody to human osteoprotegerin(IMGENEX, USA)을 1:00으로 희석하여 사용하였고, RANKL에 대한 일차항체는 monoclonal antibody to RANKL (IMGEN- EX, USA)을 1:100으로 희석하여 사용하였다. 이후 각 슬라이드에 HRP polymer conjugate을 떨어뜨리고 10분간 반응시킨 후 PBS에 2분 동안 3회 세척하였다. 또 DAB chromogen으로 5분간 반응 후 증류수로 세척하였다. 이후 Meyer's hematoxylin 대조염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

3. 면역조직화학적 염색의 결과 평가 방법

1) RANKL/OPG의 면역조직화학적 검사

RANKL에서 10% 미만인 경우를 weakly reaction, 이상인 경우를 high reaction으로 정하였고 OPG에서 50% 이하인 경우를 weakly reaction, 그리고 초과인 경우를 high reaction으로 정하였다. 염색된 슬라이드를 100배, 200배, 400배 현미경하에서 관찰하였다. 표본의 100배율 현미경 상에서 가장 진하게 염색된 부위를 다시 400배율로 확대하여 전체 종양세포에 대한 양성 반응을 보이는 종양세포의 수를 counting하여 백분율로 표시하였다.

4. 통계학적 분석

재발의 유무, 발병 위치, 성별 사이의 유의성의 검정은 Fisher's exact test와 chi-square(X^2) test를 시행하였으며, 나이와의 유의성 검정은 ANOVA를 시행하였다. 유의수준은 모두 $p<0.05$를 유의성 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. RANKL 항원 항체 반응 검사 결과

29 례(72.5%)의 재발하지 않은 법랑모세포종에서 8 례(20.0%), 재발한 11 례(27.5%)에서 1 례(2.5%)의 high reaction을 보였으며, 재발한 경우와 재발하지 않은 경우에 있어 통계학적 유의성은 없었다 (Table 1).

하악에서 발생한 36 례(90.0%)중 9 례(22.5%)에서 high reaction

Table 1. Immunohistochemical expression of RANKL relating to recurrence

	Weakly	High	Total	p-value
Non-recurrent ameloblastoma	21	8	29	0.399
	52.5%	20.0%	72.5%	
Recurrent ameloblastoma	10	1	11	
	25.0%	2.5%	27.5%	
Total	31	9	40	
	77.5%	22.5%	100.0%	

을 보였으며 상악에서 발생한 4 례(10.0%)중에서 high reaction을 보이는 조직 표본은 없었다. 남성에서 발생한 21 례(52.5%)중 5 례(12.5%)에서 high reaction을 보였으며 여성에서 발생한 19 례(47.5%)중 4 례(10%)에서 high reaction을 보였다. 20대, 30대, 40대 이상에서 11 례(27.5%) 씩으로 동일하게 호발하고 있었으며 high reaction은 30대 환자에서 4 례(10.0%)로 가장 많이 나타났다. 병소의 위치, 성별, 연령에 따른 발현도와의 상관관계에서는 통계학적 유의성은 없었다(Table 2).

2. OPG 항원 항체 반응 검사 결과

11 례(27.5%)의 재발한 법랑모세포종에서는 2 례(5.0%), 재발하지 않은 29 례(27.5%)의 법랑모세포종에서 14 례(35.0%)의 high reaction을 보였고 재발한 경우와 재발하지 않은 경우에 있어 통계학적 유의성은 없었다(Table 3).

하악에서 발생한 36 례(90.0%)중 14 례(35.0%)에서 high reaction을 보였으며 상악에서 발생한 4 례(10.0%)중 2 례(5.0%)에서

Table 2. Immunohistochemical expression of RANKL relating to location, gender, age

		Weakly	High	Total	p-value
Location					
	Mandible	27	9	36	
		67.5%	22.5%	90.0%	
	Maxilla	4	0	4	0.557
		10.0%	0%	10.0%	
	Total	31	9	40	
		77.5%	22.5%	100.0%	
Gender					
	Male	16	5	21	
		40.0%	12.5%	52.5%	
	Female	15	4	19	1.000
		37.5%	10.0%	47.5%	
	Total	31	9	40	
		77.5%	22.5%	100.0%	
Age					
	≦19yrs	5	2	7	
		12.5%	5.0%	17.5%	
	20-29yrs	9	2	11	
		22.5%	5.0%	27.5%	
	30-39yrs	7	4	11	0.455
		17.5%	10.0%	27.5%	
	≧40yrs	10	1	11	
		25.0%	2.5%	27.5%	
	Total	31	9	40	
		77.5%	22.5%	100.0%	

Table 3. Immunohistochemical expression of OPG relating to recurrence

	Weakly	High	Total	p-value
Non-recurrent ameloblastoma	15	14	29	
	37.5%	35.0%	72.5%	0.148
Recurrent ameloblastoma	9	2	11	
	22.5%	5.0%	27.5%	
Total	24	16	40	
	60.0%	40.0%	100.0%	

Table 4. Immunohistochemical expression of OPG relating to location, gender, age

		Weakly	High	Total	p-value
Location					
	Mandible	22	14	36	
		55.0%	35.0%	90.0%	
	Maxilla	2	2	4	1.000
		5.0%	5.0%	10.0%	
	Total	24	16	40	
		60.0%	40.0%	100.0%	
Gender					
	Male	13	8	21	
		32.5%	20.0%	52.5%	
	Female	11	8	19	1.000
		27.5%	20.0%	47.5%	
	Total	24	16	40	
		60.0%	40.0%	100.0%	
Age					
	≦19yrs	5	2	7	
		12.5%	5.0%	17.5%	
	20-29yrs	9	2	11	
		22.5%	5.0%	27.5%	
	30-39yrs	4	7	11	0.154
		10.0%	17.5%	27.5%	
	≧40yrs	6	5	11	
		15.0%	12.5%	27.5%	
	Total	24	16	40	
		60.0%	40.0%	100.0%	

high reaction을 보였다. 남성에서 발생한 21 례(52.5%)중 8 례(20.0%)에서 high reaction을 보였으며 여성에서 발생한 19 례(47.5%)중 8 례(20.0%)에서 high reaction을 보였다. 연령에 따른 OPG 발현율 역시 통계학적 유의성은 없었다. High reaction은 30대 환자에서 7 례(17.5%)로 가장 많이 나타났다. 병소의 위치, 성별, 연령에 따른 발현도와의 상관관계에서는 통계학적 유의성은 없었다(Table 4).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

골은 탄력성과 강도를 부여하는 광화된 기질에 의해 형성된 특수한 결합조직으로 골모세포에 의한 유기질의 합성과 파골세포에 의한 골 흡수를 통한 골 재생으로 그 형태와 기능을 유지하게 된다. 골모세포는 중간엽 줄기 세포에서 분화되고 점진적으로 골세포로 전환된다. 골모세포와 골세포는 간극결합에 의해 연결되어서 골 표면과 골 기질 내에서 세포망을 구성한다. 파골세포는 정상상태와 병적상태 모두에서 나타나는 원발성 골 흡수 세포로 골 표면에 부착해서 reffled border 아래 형성된 세포외 구획으로 양성자를 분비함으로써 골을 흡수한다. 이로 인해 골의 무기질이 용해되고 유기질은 산단백분해효소에 의해 소화된다[5]. 단핵구, 대식세포, 림프구 및 상피세포와 같이 골 미세 환경에 나타나는 다른 세포들도 골세포에 직접 접촉하거나 용해성 효과기를 방출함으로써 골재형성에 기여한다. 골모세포와 파골세포 활성도의 평형상태는 기계적인 자극과 여러 가지 호르몬, 사이토카인에 의해 엄격하게 조절되고 있는데 이런 효과기사이의 어떤 장애로 인해 osteoporosis나 osteopetrosis가 발생하게 된다. 폐경기후 골다공증, Paget's disease, 원발성 골종양, 용해성 골 전이, 다발성 골수종, 류마티스 관절염에서는 파골세포의 활성이 증가하게 되어 골 흡수의 증가와 골질의 감소가 나타난다.

골모세포는 파골세포의 골 흡수 활성도를 조절하고 파골세포의 분화에도 관계한다. 한 연구에서 골모세포와 파골세포 전구세포를 합동 배양했을 때 기능적인 파골세포가 형성되었다. 반면에 두 세포를 용해성 효과기는 투과시키지만 세포는 투과하지 않는 선택적인 막으로 분리했을 때, 파골세포는 형성되지 않았다[6,7]. 이 연구는 파골세포형성을 유도하기 위해서는 골모세포와의 접촉이 필요함을 처음으로 증명했다. 더욱이, 이 자료는 골모세포가 파골세포 표면 수용체에 의해 인지

되는 막의 리간드로 작용함을 의미한다. 이 후 골모세포와 파골세포의 상호작용의 원인이 되는 효과기에 대해 주목했고 1998년 골재형성을 조절하기위해 필요한 TNF family내의 RANKL/RANK/OPG system이 확인되었다.

RANKL은 세 가지 형태로 존재하며 cell-bound peptide, truncated ectodomain created from the cell-bound form by enzymatic cleavage, primary secreted form으로 존재한다. cell-bound form은 주로 stromal cell, osteoblast, mesenchymal periosteal cell, chondrocyte, endothelial cell에서 나타나며 primary secreted form은 activated T cell, SCC cell line에 국한된다[8-13]. 그 역할은 파골세포의 분화를 촉진하고 파골세포의 활성과 생존, 골 표면에의 부착을 자극하며 면역체계와 유선(mammary gland) 발달의 주요 조절 물질이다. OPG는 골수간질세포, 골모세포와 같은 여러 형태의 세포에 의해 생산되며 RANKL에 부착하여 RANKL이 RANK에 결합하는 것을 억제함으로써 파골세포의 분화를 방해하는 용해성 유인체이다[14].

파골세포의 기능은 많은 호르몬이나 사이토카인에 의해 조절되고 있다. 그러나 골 흡수 인자로 알려진 vitamin D3, parathyroid hormone- related protein (PTH-rP), interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor- alpha (TNF-α), prostaglandin E2 등에 대한 수용체는 모두 파골세포에는 존재하지 않는다. 이러한 인자는 우선 골모세포에 작용한 후, 파골세포 활성화 인자로 불리는 액성인자가 골모세포에 의해 생산되고 이 인자를 매개로 파골세포의 활성화가 일어나는 것으로 추정된다. 한편 갑상선에서 분비된 calcitonin은 파골세포에 있는 수용체에 결합하여 그 결과 ruffled membrane의 작용이 정지되어 골 흡수 능력은 급격히 저하되게 된다.

많은 연구에서 악성 종양의 파골세포성 골 흡수를 유발하는 종양 매개 자극에 의해 골 파괴가 일어나는 것으로 보고되고 있다. 종양생산물은 골의 미세 환경에서 국소적으로 파골세포의 형성을 자극하거나 PTH-rP, IL-1, IL-6, TNF-α, 그리고 macrophage inflammatory protein-1-alpha (MIP-1α) 등과 같은 호르몬을 생산하여 전신적으로 파골세포의 형성을 자극한다[15]. 이 중 다발성 골수종, 전립선암, 신경모세포종의 종양세포는 파골세포 분화와 활성에 작용하는 RANKL을 직접 생산한다[16,17]. 이러한 요소들은 골의 미세 환경 속으로 방출되어 골모세포의 간질세포에 작용하여 파골세포 활성화 요소의 생산을 증가시킨다. 이러한 과정에 의해 파골세포의 활성화로 골 흡수가 증가되며 골 기질로부터 transforming growth factor-beta (TGF-β) 이외에도 bone morphogenetic protein (BMP), heparin-binding fibroblast growth factor, insulin-like growth factor Ⅰ와 같은 성장 인자가 방출되어 다시 종양세포를 활성화 시키는 악성순환이 반복되어 골 파괴가 일어난다[18,19].

RANKL과 OPG는 여러 조절제의 영향을 받고 있는데 TNF-α, IL-1은 osteoclast pool을 증가시키는 M-CSF의 생산을 자극하고 직접 RANKL 의 발현을 증가시켜 RANKL/OPG system을 조절하는 것으로 보인다[20,21]. TGF-β는 OPG의 생산을 증가시키고[22] 1,25 dihydroxyvitamin D3은 RANKL의 생산을 증가시키며[23] parathyroid hormone과 glucocorticoid는 RANKL의 생산을 증가시키는 동시에 OPG의 생산은 감소시킨다[18,24]. 또 estrogen은 OPG의 생산을 증가시키고 RANKL signaling을 방해하여 파골세포의 분화를 억제할 뿐 아니라 파골세포의 apoptosis를 유도한다[18].

현재까지 다발성 골수종, 거대세포 육아종, 전립선암, 유방암 및 악성병 소의 골 전이 병소, 관절염 등에서 RANKL/RANK/OPG에 대한 연구가 있어왔다. Grimaud 등[19]은 RANKL/OPG 비율이 건강한 조직과 비교해서 종양과 관련된 고도의 골 용해 환자에서 유의한 수준으로 증가되었음을 RT-PCR과 ELISA를 통해 보고했으며 Good 등[25]은 후향적인 면역화학조직검사에서 16 례의 원발성 양성 및 악성 골종양과 골 전이 병소 중 13 례에서 RANKL에 대한 양성반응을 보고 했다. 그리고 최근에는 치성 낭종과 치성 종양에서 RANKL/RANK/OPG의 발현에 관한 연구가 있어왔다. Rani와 Wise는 다양한 치성세포 (dental cell)들이 RANKL과 OPG를 발현하며 이러한 분자들은 치아가 발생하고 맹출 하는 동안 파골세포형성과 골 흡수를 조절하는데 중요한 역할을 한다고 보고[26,27]하였다. Hiroyuki 등[28]은 PTH-rP, RANKL, OPG 모두 양성 및 악성 법랑모세포종의 다양한 부분에서 발견되며 이들은 치성 상피성 종양에서 종양의 progression과 골 흡수를 조절하는 요인이라고 하였다. Tay등[29]은 법랑모세포종, 함치성낭종, 치성각화낭종, 치근단낭종의 모든 표본에서 RANKL의 발현을 보고하였으며 골흡수에 중요한 기전으로 작용한다고 하였다. Kawamoto 등[30]은 Interleukins, prostaglandins(PGs), TNF-α는 RANKL을 up-regulation하며 PGs는 dental cyst에 의해 합성 된다고 하였고 IL-1, TNF-a, IL-6는 법랑모세포종의 stellite reticulum cell에서 생산되며 치성각화낭종과 치근단낭종이 IL-1과 IL-6를 생산한다고 알려져 있다[31,32]. 이와 같이 치성 낭종, 치성 종양 및 tooth germ, dental cell에서 RANKL/RANK/OPG의 발현에 관한 연구가 있어 왔지만 그 발현율과 여러 임상양상과의 상관관계를 통계적으로 분석한 연구는 없었다. 이번 연구에서는 법랑모세포종의 골 파괴에서 RANKL/OPG의 역할과 환자의 연령, 성별, 병소의 발생부위, 재발유무와 그 발현율과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

이번 연구에서 이전 Hiroyuki, Tay 등의 결과와 마찬가지로 모든 법랑모세포종의 조직 표본에서 다양한 정도로 RANKL과 OPG에 대한 positive immunoreaction을 보였는데 이것은 RANKL에 의한 파골세포의 활성화가 법랑모세포종의 골 파괴 메커니즘에 있어 일정한 역할을 하고 있음을 의미한다고 생각할 수 있다. 한편 법랑모세포종의 높은 재발률로 인해 이것의 재발에 영향을 미치는 인자들에 대한 연구가 많이 있어왔으며 병소의 임상병리학적 양상, 발생부위, 수술방법 등이 원인으로 제안되고 있다. Gardner 등[33]은 단방성에 비해 다방성 법랑모세포종의 경우 인접 골수강으로 침윤하는 경향이 있어 보존적으로 치료할 경우 재발율이 75-90%에 이른다고 하였으며 Hartman 등[34]은 granular type에서 재발율이 높게 나타난다고 하였다. Khanna 등[35]은 얇은 피질골을 가진 상악의 경우 주위 조직으로 침윤하는 법랑모세포종에 대한 장벽을 형성해주지 못

해 하악 보다 재발률이 5배 높게 나타난다고 하였다. 그리고 p53, Ki-67, PCNA와 같이 증식하는 세포에서 특징적으로 발현되는 단백질과 재발율과의 상관관계를 평가한 연구들이 있었는데 Piattelli 등[36]은 PCNA가 재발한 법랑모세포종에서 통계학적으로 유의하게 높게 나타난다고 보고하였다. 하지만 현재까지 법랑모세포종의 재발과 RANKL/OPG 발현율과의 상관관계에 대한 연구는 없었으며 이전 연구에서 원발성 악성병소 및 골 전이병소 뿐 아니라 치성 낭종, 치성 종양의 골 파괴 과정에서 중요한 역할이 확인되었고 골 파괴 정도가 심할수록 RANKL/OPG 비율이 증가한다는 보고가 있었으므로 골생물학적으로 재발한 법랑모세포종에서 RANKL/OPG의 발현율이 유의성 있게 높게 나타날 것으로 유추해 볼 수 있었다. 그러나 연구 결과 법랑모세포종의 재발과 RANKL/OPG 발현율 사이에 통계학적 유의성을 찾을 수는 없었다.

이번 연구에서 OPG의 경우 5-90%까지 다양하게 전반적으로 높게 발현되고 있었으나 RANKL의 경우 5-50%로 OPG에 비해 발현되는 정도가 낮았다. 현재 두 종류의 human RANKL에 대한 antibody가 생산되고 있는데 두 종류 모두 비슷한 결과를 보였다. 이러한 RANKL/OPG 발현율의 차이는 RANKL에 의해 증가된 골 흡수를 보상하기 위한 보호적인 메커니즘으로 OPG의 발현이 높게 발생한 것으로 생각해볼 수 있다. 또한 법랑모세포종 성장과정에서 파골세포형성을 위해 이미 RANKL이 RANK에 결합하였기 때문에 항원-항체 반응을 이용한 면역조직화학 검사상 OPG에 비해 상대적으로 적게 발현된 것으로도 유추할 수 있다. 추후 법랑모세포종의 여러 임상병리학적 요소와 RANKL/OPG 발현율과의 상관관계를 평가하기 위해 신선 조직 절편을 이용한 추가적인 정량적 분석이 필요할 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실에서 조직검사상 법랑모세포종으로 진단된 40례의 표본에서 RANKL/OPG에 대한 면역조직화학적 연구를 통해 법랑모세포종의 골 파괴에서 RANKL/OPG의 역할과 환자의 성별 및 연령, 병소의 재발유무, 발생부위와의 상호연관성을 통계적 분석을 통하여 그 의의를 알아보고자 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모든 조직 표본에서 RANKL/OPG가 다양한 정도로 발현되었다.
2. RANKL의 발현과 환자의 성별 및 연령, 병소의 재발유무, 발생부위와의 상관관계에서 통계적으로 유의성을 보이지 않았다.
3. OPG의 발현과 환자의 성별 및 연령, 병소의 재발유무, 발생부위와의 상관관계에서 통계적으로 유의성을 보이지 않았다.

이번 연구 결과 RANKL/OPG는 법랑모세포종의 골 파괴를 통한 성장기전에서 일정한 역할을 한다는 것을 추정할 수 있었지만 재발율과의 상관관계를 찾을 수는 없었다. 추후 신선 조직 절편을 이용한 추가적인 정량적 분석이 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Barns L: Surgical pathology of the head and neck. New York, Marcel Dekker. 1986, 1332.
2. Neville, Damm, Allen, Bouquot: Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 2002, 611-9.
3. Tsuda E, Goto M, Michizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Hisgashio K: Isolation of a novel cytokine from human fibroblast that specifically inhibits osteoclastogenesis. Biochem Biophys Res Commun 1997;234:137-42.
4. Wttrant Y, Theoleyre S, Chipoy C, Padrines M, Blanchard F, Heymann D, Redini F: RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumors and associated osteolysis. Bioch et Biophys Acta 2004;1704:49-57.
5. Rousselle AV, Heymann D: Osteoclastic acidication during bone resorption. Bone 2002;30:533-40.
6. Takahashi N, Akatsu T, Saaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, Martin TJ, et al: Osteoclastic cells are involved in osteoclast formation. Endocrinology 1998;123:2600-2.
7. Jimi E, Nakamura I, Amano H, Taguchi Y, Tsurukai T, Tamura M, et al: Osteoclast function is activated by osteoclastic cells through a mechanism involving cell-to-cell contact. Endocrinology 1997;137:2187-90.
8. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al: Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell 1998;93:165-76.
9. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuchi SI, et al: Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:3597-602.
10. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ: TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. J Exp Med 1998;188:997-1001.
11. O' Brien EA, Williams JH, Marshall MJ: Osteoprotegerin ligand regulates osteoclast adherence to the bone surface of mouse calvaria. Biochem Biophys Res Commun 2000;274:281-90.
12. Wong BG, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, et al: TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. J Biol Chem 1997;272:25190-4.
13. Nagai M, Kyakumoto S, Sato N: Cancer cells responsible for humoral hypercalcemia express mRNA encoding a secreted form of ODF/TRANCE that induces osteoclast formation. Biochem Biophys Res Commun 2000;269:532-6.
14. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al: Osteoprotegerin. a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997;89:309-19.
15. Guise TA, Mundy GR: Cancer and bone. Endocr. Rev. 1998;19:18-54.
16. Croucher PI, Shipman CM, Lippitt J, Perry M, Asosingh K, Hijzen A, Van Beek EJ, Holen I, Skerry TM, Dunstan CR, Russel GR, Van Camp B, Vanderkerken K: Osteoprotegerin inhibits the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. Blood 2001;98:3534-40.
17. Zhang Dai J, Qi Y, Lin D.L, Smith P, Strayhorn C, Mizokami A, Fu Z, Westman J, Keller ET: Osteoprotegerin inhibits prostate cancer-induced osteoclastogenesis and prevents prostate tumor growth in the bone. J Clin Invest 2001;107:1235-44.
18. Hofbauer LC, Gori F, Rigg BL, Lacey LD, Dunstan DR, Spielsberg TC, et al: Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoid in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanism of glucocorticoid induced osteoporosis. Endocrinology 1999;140:4382-9.

19. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, Coipeau P, Moreau A, Passuti N, Gouin F, Redini F, Heymann D: RANKL/OPG ratio in increased in severe osteolysis. Am J Pathol 2003;163:2021-31.
20. Wong BG, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, et al: TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. J Biol Chem 1997;272:25190-4.
21. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al.: Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell 1998;93:165-76.
22. Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, et al: Transforming growth factor-beta stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. J Biol Chem 1998;273:27091-6.
23. Kitazawa R, Kitazawa S, Maeda S: Promoter structure of mouse RANKL/TRANCE/OPGL/ODF gene. Boichem Biophys Acta 1999;1445:134-41.
24. Lee SK, Lorenzo JA: Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. Endocrinology 1999;140:3552-61.
25. Good CR, O' Keefe RJ, Puzas JE, Schwarz EM, Rosier RN: Immunohistochemical study of RANKL in human osteolytic bone tumors. J Surg Oncol 2002;79:174-9.
26. Rani CSS, MacDougall M: Dental cells express factors that regulate bone resorption. Mol Cell Biol Res Comm 2000;3:145-52.
27. Wise GE, Lumpkin SJ, Huang H, Zhang Q: Osteoprotegerin and osteoclst differentiation factor in tooth eruption. J Dent Res 2000;79:1937-42.
28. Hiroyuki K, Kiyoshi O: Expression of PTHrP, ODF/RANKL and OCIF/OPG in ameloblastoma. J Oral Pathol Med 2004;33:46-52.
29. Tay JYY, Bay BH, Yeo JF, Harris M, Meghji S, Dheen ST: Identification of RANKL in osteolytic lesions of the facial skeleton. J Dent Res 2004;83:349-53.
30. Kawamoto S, Ejiri S, Hoshi K, Nahaoka E, Ozawa H: Immunolocalization of osteoclast differentiation factor in rat periodontium. Arch Oral Biol 2002;47:55-58.
31. Horowizt MC, Xi Y, Wilson K, Kacena MA: Control of osteoclastogenesis and bone resorption by members of the TNF family of receptors and ligands. Cytokine Growth Factor Rev 2001;12:9-18.
32. Miyamoto T, Ohneda O, Arai F, Iwamoto K, Okada S, Takagi K, et al: Bifurcation of osteoclasts and dendritic cells from common progenitors. Blood 2001;98:2544-2554.
33. Gardner DC: Controversies in the nomenclature, diagnosis and treatment of ameloblastoma. Controversies in Oral and maxillofacial Surgery. Philadelphia, W.B Saunders, 1994, 301.
34. Hartman Ks: Granular cell ameloblastoma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1974;38:241.
35. Khanna S, Khanna NN: Predicting recurrence in the mandibular and maxillary ameloblastoma. Ear Nose Throat J 1978;57:56.
36. Piattelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C: Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastoma and odontogenic cysts. Oral Oncology 1998;34:408-12.

사진부도 ①

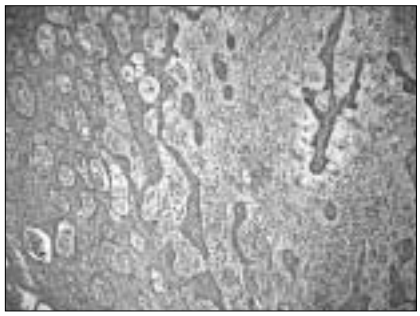

Fig. 1. RANKL weakly immunoreactivity (5%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

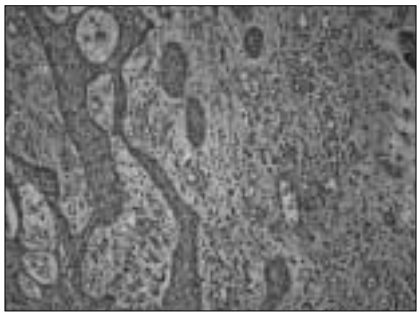

Fig. 2. RANKL weakly immunoreactivity (5%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

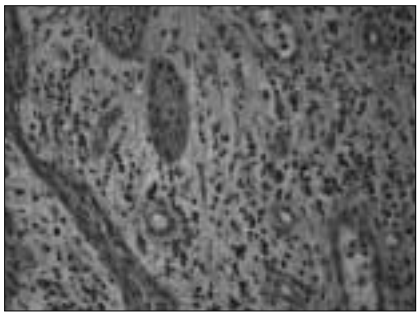

Fig. 3. RANKL weakly immunoreactivity (5%) on ameloblastoma (original magnification × 400).

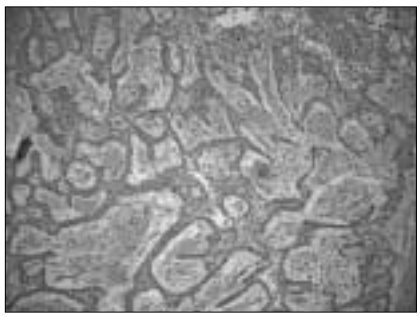

Fig. 4. RANKL high immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

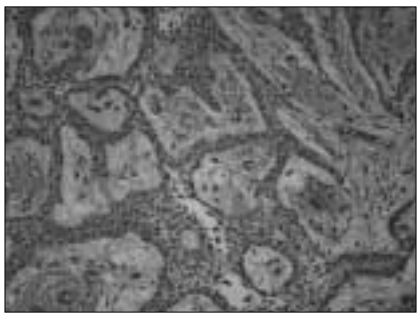

Fig. 5. RANKL high immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

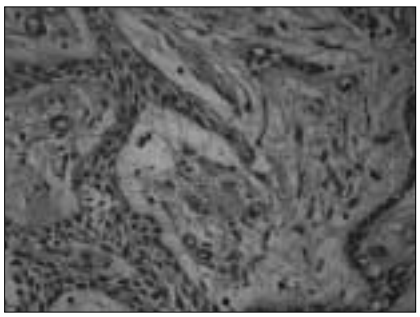

Fig. 6. RANKL high immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 400).

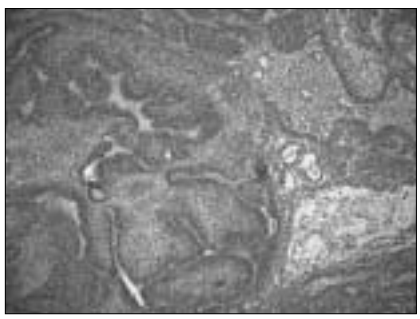

Fig. 7. RANKL high immunoreactivity (40%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

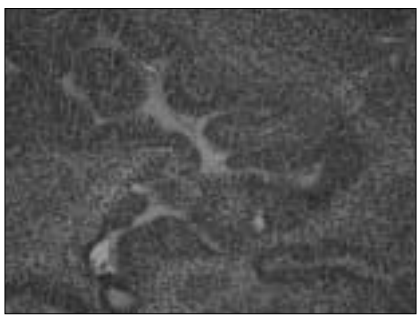

Fig. 8. RANKL high immunoreactivity (40%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

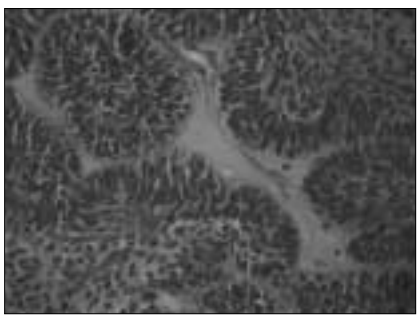

Fig. 9. RANKL high immunoreactivity (40%) on ameloblastoma (original magnification × 400).

사진부도 ②

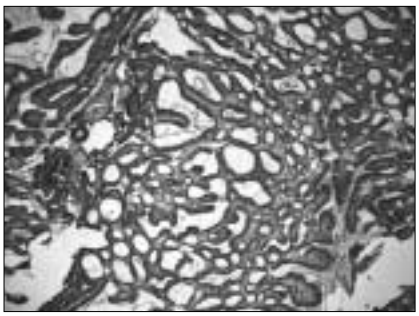

Fig. 10. OPG weakly immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

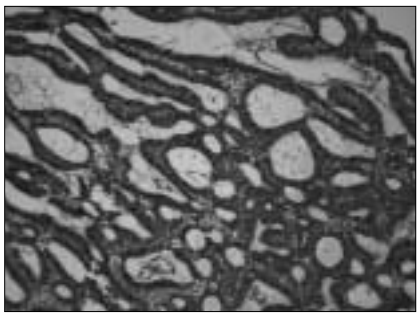

Fig. 11. OPG weakly immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

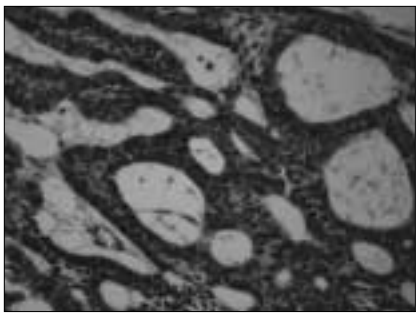

Fig. 12. OPG weakly immunoreactivity (20%) on ameloblastoma (original magnification × 400).

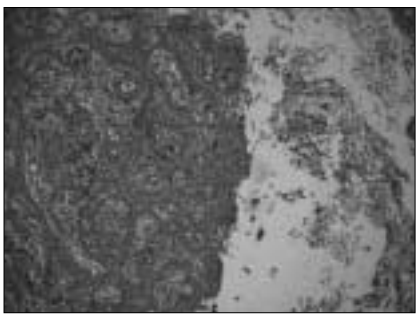

Fig. 13. OPG high immunoreactivity (60%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

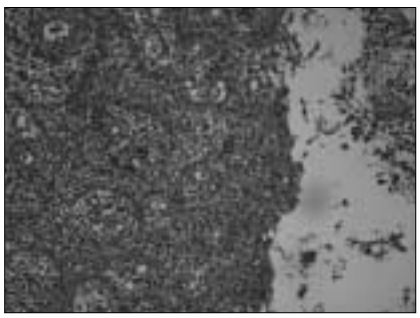

Fig. 14. OPG high immunoreactivity (60%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

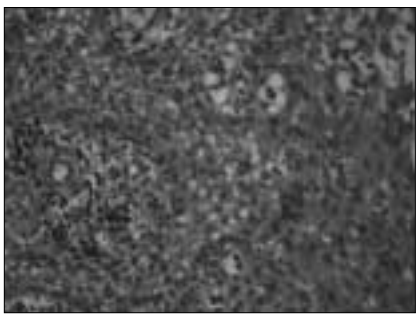

Fig. 15. OPG high immunoreactivity (60%) on ameloblastoma (original magnification × 400).

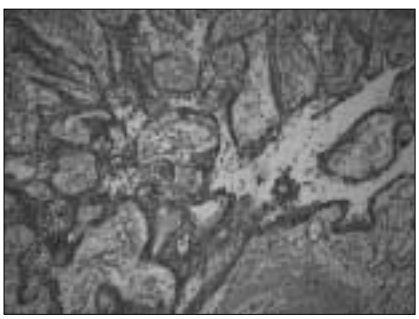

Fig. 16. OPG high immunoreactivity (90%) on ameloblastoma (original magnification × 100).

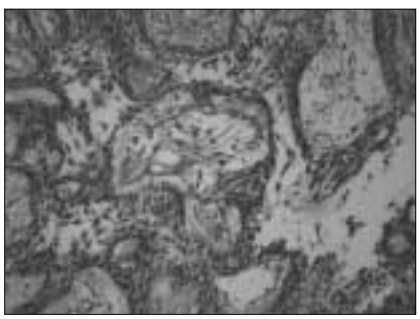

Fig. 17. OPG high immunoreactivity (90%) on ameloblastoma (original magnification × 200).

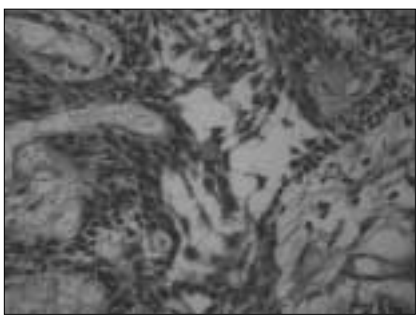

Fig. 18. OPG high immunoreactivity (90%) on ameloblastoma (original magnification × 400).