

발생 치배와 치성 종양에서 Osteonectin발현에 관한 연구

진국범 · 김수남 · 김은철

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 구강병리학교실*

Abstract

EXPRESSION OF OSTEONECTIN IN DEVELOPING TOOTH GERM AND ODONTOGENIC TUMORS

Goog-Beum Jeon, Soo-Nam Kim, Eun-Cheol Kim*

Dept. of OMFS, Dept. of oral pathology*, College of Dentistry, Wonkwang University

The osteonectin is a sort of glycoprotein which is secreted in human tissues. The osteonectin is generally detected in number of normal or neoplastic human tissues in vivo, but hasn't been studied the role of osteonectin in developing human teeth and odontogenic tumors.

We evaluated degree of the expression of osteonectin immunohistochemically in 20 cases of developing tooth germ which growth from fetus 5 to 38 weeks, and total 51 odontogenic tumors which has taken from routine biopsy, such as 10 ameloblastomas, 5 cases of adenomatoid odontogenic tumors and odontomas and odontogenic fibromas, 4 cases of cementomas and calcifying epithelial odontogenic cyst and odontogenic keratocyst and dentigerous cysts and periapical cysts, and 3 cases of ameloblastic fibromas and myxomas.

The results were as follows:

1. The osteonectin on the bud stage of tooth germ was strongly expressed in the epithelial dental lamina and in the outer dental epithelium on the early bell stage, and also strongly expressed in the inner dental epithelium on the late bell stage of tooth germs.
2. In ameloblastoma, the osteonectin was strongly expressed in the epithelial tumor component and especially in the acanthomatous types.
3. In both of calcifying epithelial odontogenic tumor and adenomatoid odontogenic tumors, the osteonectin was moderately expressed on the duct like spindle cells and epithelial tumor cells around calcification areas.
4. In odontogenic tumors originated from epithelial-mesenchymal tissues, the osteonectin was moderately expressed on the epithelial tumor components and in odontogenic cysts, it was expressed in ghost cells and calcification areas only.

These were summarized the osteonectin may be strongly related to the developing tooth germ and odontogenic tumors and could be regulated hard tissue of human tooth in morphogenesis and involved with calcification mechanism in development odontogenic tumors.

I. 서 론

발생 치배와 치성 종양은 정상조직과 병리조직의 비교 연구에 중요한 생물학적인 모델중의 하나이다.

치아형성은 상피전구세포가 법랑질 분비 법랑아세포로 분화하고 동시에 신경능 기원 간엽세포가 상피간엽 세포와 상호작용을 거쳐 상아질 분비 조상아세포로 분화한다^{1,2)}. 치성 종양은 발생치배 또는 치배 전구물에서 유래하며 치아형성의 발생단계에 따라 다양한 조직소견을 보인다. 치배의 상피와 간엽조직은 형

태학적 유사성을 보이며 기원에 따라 상피성 종양, 상피-외간엽성 종양, 외간엽성 종양으로 분류한다³⁾.

치성 종양의 기원과 발생 기전의 파악을 위해 세포각질(cytokeratin)에 대한 연구가 많이 진행되어 있으나 그 발현 양태가 다양하여 일관된 결과를 얻기 어렵다. 치아 발생과정 중 나타나는 다양한 조직의 증식과 분화 조절과정은 치성 종양의 발생과정을 연구하는데 있어 필수적이지만, 이들에 대한 정보는 아직 미흡하다^{4,5)}.

치아의 발생과 치성 종양의 형성 중에 상피-간엽 상호작용이 일어나며 이때 TGF- β 2 (Transforming growth factor beta)⁶⁾가 관여한다⁸⁾. 또한 tenascin, laminin, 제 7형 교원질과 같은 세포외 기질도 치아 발생과 치성 종양 형성에 중요한 역할을 하며⁹⁾ 치성 상피와 주변 기질 세포간의 상호 작용이 치배의 발생과 마찬가지로 치성 종양에도 관계된다.

법랑아세포종은 가장 흔한 상피성 치성 종양으로 치배의 법랑

진 국 범

570-749, 전라북도 익산시 신용동 344-2

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Goog-Beum Jeon

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Wonkwang University,

344-2, Shinyong-Dong, Iksan-City, Chumbuk, 570-749, Korea

Tel: 82-653-850-1921~3 FAX: 82-653-850-6632

아세포와 유사한 형태학적 특징을 가지나 법랑아세포와는 달리 분비 기능이 없고 종양내의 석회화 물질을 형성하지 않는 것이 일반적이지만 선양 치성 종양(adenomatoid odontogenic tumor), 석회화 상피성 치성 종양(calcifying epithelial odontogenic tumor, Pindborg tumor), 석회화 상피성 치성 낭종(calcifying epithelial odontogenic cyst)은 그 내부에 석회화 물질을 형성하기도 한다³⁷. 그러나 선양 치성 종양의 경우에는 상피-간엽 상호작용(epithelial-mesenchymal interaction)에 의해 석회화 물질이 형성되지만 석회화 치성 낭종이나 석회화 치성 종양의 경우에는 이러한 조절과정이 없으며 치성 섬유종이나 법랑아 섬유 치아종 등과 같은 간엽성, 간엽 상피성 종양은 다양한 석회화 물질의 형성을 보이지만 그 기전은 분명하지 않다⁸.

Osteonectin(SPARC-secreted protein, acidic and rich in cysteine, BM-40)은 골에서 가장 흔한 비교원성 단백질이며 칼슘결합 단단 단백질로서 분자량이 32kDa이며, 주로 발육중인 골의 무기성분에 존재하고⁹ *in vitro*에서 교원섬유가 수산화인회석을 형성하기 시작할 때 많이 분포되며¹⁰ 교원섬유와 칼슘에 부착한다고 보고가 있었으나¹¹ 조직에서 osteonectin의 기능은 명확하지 않다.

Osteonectin은 세포증식이나 기질 개조율이 높은 부위와 관련이 있는 세포외단백으로써 많은 악성조직에서 나타나는 것으로 보고되어 있으며¹⁰ 1995년 이후 여러 학자들의 보고에 의하면 직장암 조직은 비종양 점막에 비해 osteonectin이 많이 발현되고 위암, 난소암, 갑상선 선종에서도 발현되며 이는 세포와 세포외기질간에 상호작용에 의해 나타난다¹⁷⁻¹⁹. 또한 타액선의 집합관에서 기원한 종양 세포에서 vitamin D3를 처리했을 때 osteonectin의 발현이 증가한다고 하였고 Ewing's 육종에서도 발현된다고 하였으며 일반적으로 많은 종양 세포에서 발현될 가능성이 있다고 하였다^{14,15}. 1997년 Ledda 등^{20,22}은 osteonectin발현이 인간 흑색종의 종양 진행과정에 관련되며 이 과정에서 osteonectin antisense expression vector를 사용한 결과 생체 내에서는 암발생이 억제되고 생체 외에서는 종양세포의 부착 및 침습능력이 감소되었다고 보고하였다.

정상적인 조직과 세포에서는 osteonectin발현이 steroidogenic세포, 연골세포, 융모막세포, 평활근세포, 혈관내피세포에 국한되어 있지만²³ 최근에는 골 조직을 형성하는 종양, 즉 골육종, 골아세포종등의 종양세포에서도 발현하는 것으로 알려져 있으므로¹², 골육종 감별진단에 이용할 수 있다고 하였다¹³. 또한 Graham²⁴ 등, Bellahcene 등²⁵, Hirota 등²⁶, 및 Bellahcene 등²⁷에 의해, 유방암조직에서의 osteonectin 발현이 연구된바 있는데 유방암에서는 흔히 석회화 부위가 관찰되며, 석회화 부위에는 골과 치아의 중요 요소인 석회인(calcium phosphate)의 침착이 있고 석회인은 골과 치아에도 존재하는 중요한 생리적 요소로서 osteopontin, osteoclastin, osteonectin, bone sialoprotein이 유방암의 괴사부위내 석회화에 중요한 역할을 할 것이라고 하였다.

Chen 등(1998)^{28,29}에 의하면 골형성세포, 상아질형성세포, 백악질형성세포에서 분비, 합성되어 골형성이나 광화에 관여하는 것 중 bone sialoprotein은 치성 종양의 치성상피세포와 법랑상피에서 발현되는 것으로 보아 종양발생이나 병적 석회화에 중요한

역할을 할 것이라고 추정하였으며, Gao 등³⁰은 골형성단백질(bone morphogenetic protein)도 치성 종양의 석회화물질형성에 관여한다고 하였다. 그러나 인체의 발생 과정중 골 조직과 치아는 석회화를 동반하는 대표적 기관으로 치배의 발생과 연관되어 생기는 치성 종양은 다양한 석회화를 보이지만 각 종양에서 석회화물질형성과 연관된 osteonectin 발현에 대한 연구는 아직 미흡하다.

저자는 선학들의 연구를 통해 osteonectin이 석회화물질의 형성뿐만 아니라 종양 진행에 밀접한 연관을 가진다는 점에 착안하여 치배의 발생 과정 중 osteonectin의 발현과, 발생기원에 따른 다양한 치성 종양 및 낭종에서 석회화물질형성과 osteonectin관련성을 파악하기 위해 발생치배 조직과 치성종양조직을 면역조직화학적 방법으로 연구하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

1994년 3월부터 1998년 12월까지 전북 익산시에 있는 원광대학교 치과병원 구강악안면외과에서 수술시에 적출하여 구강병리학교실에 보관한 치성 낭종 및 종양의 생검자료 중 연구 목적에 부합된다고 생각되는 재료들을 이용하여 WHO에 의한 치성 낭종 및 종양 분류³¹(Table1)에 따라 검경하여 상피성 치성 종양 15례(법랑아세포종 10례, 선양 치성 종양 5례), 상피 간엽성 치성 종양 8례(법랑아세포 섬유종 3례, 치아종 5례), 간엽성 치성 종양 12례(점액종 3례, 치성 섬유종 5례, 백악질형성 섬유종 4례), 낭종 16례(석회화 치성 낭종, 치성 각화 낭종, 함치성 낭종, 치근단 낭종 각 4례)씩 모두 51예의 치성 낭종 및 종양생검 재료와 태령 5주부터 38주까지의 발생치배 20례를 연구재료로 하였다.

2. 연구방법

1) 면역조직화학 염색

생검 조직을 10% 중성 포르말린에 고정하고 cassette에 맞게 cutting하여 흰색 cassette에 일반 조직을 분홍색 cassette에 조그만 조직을 정리하여 gross과정을 거친 뒤에 5 - 10% nitric acid 성분의 decal액을 이용하여 탈회를 시키고 70 - 100% alcohol로 단계적 탈수한 뒤에 xylene으로 투명 시키고 48°C의 soft paraffin과 58°C의 hard paraffin에 embedding하여 냉동실에 30분 이상 보관한 뒤에 microtome으로 4 - 5 μ 두께로 연속 박절편을 제작하고 ProbeOn Plus슬라이드(Fisher Scientific, U.S.A.)에 부착시킨 후 충분히 건조시켰으며 염색은 ProbeOn Plus 슬라이드를 맞대어서 생기는 capillary gap action의 원리를 이용한 Microprobe System(Fisher Scientific, U.S.A.)을 사용하였고 면역조직화학검사를 위하여 LSAB(labelled streptavidine biotin, Dako Co, Denmark)kit를 이용하였으며 osteonectin(Santa Cruz, Polyclonal, U.S.A.) 일차항체를 1/50으로 희석하여 사용하여 30분간 침투를 시키고 이차항체는 anti-mouse IgG를 사용하여 10분간 부란 시켰으며, 발색을

Table 1. Classification of odontogenic tumors(Classified by WHO)³¹⁾

Ectodermal odontogenic tumors	
Ameloblastoma	
Calcifying epithelial odontogenic tumor	
Adenomatoid odontogenic tumors	
Ecto-mesenchymal odontogenic tumors	
Ameloblastic fibroma	
Ameloblastic fibrosarcoma	
Odontoma	
Ameloblastic odontoma(Odontoameloblastoma)	
Ameloblastic dentinosarcoma	
Complex odontoma	
Compound odontoma	
Mesodermal odontogenic tumors	
Myxoma and/or myxofibroma	
Odontogenic fibroma	
Cementoma	
Periapical cemental(fibrous)dysplasia	
Benign(true)cementoblastoma	
Cementifying fibroma	
Familial multiple(gigantiform)cementoma	

위하여 AEC(Aminoethyl Carbazole, Zymed Co, U.S.A.)를 이용하였다. 그리고 streptavidine alkaline phosphatase로 10분간 처리하고 발색시킨 후, Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 탈수와 투명과정 거친 뒤에 건조시켜 glycerine gelatine으로 mounting하여 검경을 하였다.

2) 면역조직화학 염색 결과의 분석 방법

염색 정도의 분석을 위하여 슬라이드 표본을 저배율로 관찰하여 염색 양상이 미만성인가 혹은 특정부위에 국한된 것인가를 판별하고 고배율로 osteonectin이 어떤 세포에 양성으로 나타나는가를 관찰하였다.

항체에 대한 양성반응을 관찰하여 전혀 염색성을 관찰할 수 없는 경우를 음성(-), 거의 염색성을 관찰할 수 없는 경우를 경미(±), 약간의 염색성이 관찰되는 경우 경도(+), 중등도의 세포질내 염색상 보이면서 양성세포의 밀집도가 중등도인 경우 중등도(++), 매우 강한 세포질내 염색상 보이면서 양성 세포가 밀집되어있는 경우를 심도(+++)로 판독하여 상대적인 5단계로 표현하였고 동일한 병명의 여러 개의 표본은 중복 검경하여서 최빈값을 선택하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 발생 치배에서 osteonectin의 발현(Table 2)

뇌상기(bud stage)에는 하악골의 구강상피는 외간엽 세포가 증식하여 치관(dental lamina) 및 전정판(vestibular lamina)을 형성하며, 주로 치관에서 osteonectin이 발현되었으며 신생 골에서 치관보다 많은 발현을 보였고, 구강상피 전정판 및 외간엽 세포에서는 경미한 면역반응이 관찰되었다(Fig. 1).

초기 모상기(early cap stage)에는 치유두와 인접한 간엽조직에서 거의 발현되지 않았고 치배를 둘러싸는 외치성상피에서 중등도로, 치낭에서 경도의 발현이 관찰되었으며 내치성상피와 성상세망층이나 중간층에서는 경미하였고 치경륜에서는 음성이었다.

말기 모상기(late cap stage)에는 내치성상피에서 중등도의 발현을 보였고 외치성상피와 치낭에서는 경도로, 성상세포나 중간층에서는 경미하였고 치경륜에서는 음성이었다.

초기 종상기(early bell stage)에는 치제상피의 말단부가 증식하여 법랑기(enamel organ)를 형성하고 그 아래에 간질세포들이 밀집되어 치유두를 이루며 osteonectin은 외치성상피와 치낭에서 중등도로 발현되었으며 내치성상피에서는 경미하였고 치유두에서는 음성이었다(Fig. 2A, 2B).

말기 종상기(late bell stage)에는 치성상피가 종 모양으로 되어 팽윤 증식하는 치성 중배엽 조직을 둘러싸는 양상을 보이며 이때 osteonectin은 주로 법랑기의 상피성 성분에서 발현이 되며 내치성상피에서 초기 종상기보다 발현이 약간 증가되었고(Fig. 3A) 성상세망층이나 중간층에서도 내치성상피와 유사한 중등도로 발현되었으나 치경륜이나 치유두 및 치낭에서의 발현은 거의 없었고(Fig. 3B), 치제잔사에서는 구강상피와 유사한 경도의 발현을 보였다(Fig. 3C).

초기 침착기(early apposition stage)에는 상아기질과 법랑기질의 형성이 시작되어 치관부위의 형태가 이루어지는 시기로 osteonectin은 치유두와 치낭에서 발현되지 않았고, 분비법랑아세포보다 조상아세포에서 많은 발현을 보였다(Fig. 4).

말기 침착기(late apposition stage)에는 법랑아세포의 성숙형(matured)이 관찰되고 상아질 및 법랑질의 성숙이 일어나는 시기로 osteonectin의 발현 정도가 감소되었으며 성숙형 법랑아세포에서는 발현이 경미하였다(Fig. 5).

또한 치배를 둘러싼 치낭 및 치유두에는 발현되지 않았으나 구강상피에서는 상피잔사와 유사한 경미한 발현이 있었다.

2. 상피성 치성 종양에서 osteonectin 발현(Table 3)

1) 법랑아세포종에서 osteonectin의 발현

여포형(follicular) 법랑아세포종은 종양 실질이 법랑기와 유사한 상피도(islands)로 이루어져 있으며 상피도의 주변은 원주상피로 배열되고 그 내부는 성상세포로 이루어져 성상세망과 유사하고 간질조직은 섬유결체 조직으로 이루어져 있으며 osteonectin

Table 2. Expression Patterns of osteonectin at Different Stage of Tooth Germ Maturation

Structural component	Bud	Stage Early Cap	Late Cap	Early Bell	Late Bell	Early Apposition	Late Apposition
Oral epithelium	±	±	±	±	+	±	±
Dental lamina	+	±	±	±	±	±	±
Ectomesenchymal cells	±						
Dental papilla	-	±	±	-	-	-	-
Inner dental epithelium	±	++	±	++			
External dental epithelium		++	+	++	+		
Stellate reticulum		±	±	±	++		
Stratum intermedium		±	±	±	++		
Dental follicle		+	+	++	-	-	
Cervical loop	-	-	-	-	-	-	-
Ameloblast						+	±
Odontoblast						+++	+
Remnants of dental lamina					+	±/+	±/+
Enamel, Dentin, Cementum						±	±

(-; negative, ±; trace, +; mild, ++; moderate, +++; severe)

Table 3. Expression Patterns of Osteonectin in Ectodermal Odontogenic Tumor

Structural components	Expression degree
Ameloblastoma	
Follicular or plexiform ameloblastoma :	
Palisading columnar cells	++
Central stellate cells	±
Basement membrane zone	+
Interface with fibrous stroma	+
Acantomatous type ameloblastoma :	
Palisading columnar cells	+
Central stellate cells : squamous cell	+++
Basement membrane zone	+
Granular cell type ameloblastoma :	
Palisading columnar cells	±
Central stellate cells : granular cell	±
Basement membrane zone	±
Unicystic type ameloblastoma ;	
Luminal epithelium	±
Stellate reticulum like cells	+
Adenomatoid odontogenic tumor	
Palisading columnar cells(duct area)	+
Neoplastic spindle cells(whoring area)	+
Cells neighboring calcified area	++
Calcifications	+

(-; negative ±; trace, +; mild, ++; moderate, +++; severe)

의 발현은 상피성 종양 성분에서 주로 양성발현을 보였고 상피도간의 결합조직 간질 내에서는 경도의 발현이 있었으나 여포의 변연부인 법랑아 유사세포가 중심부 세포인 성상세포보다 더 많은 중등도의 발현이 관찰되었다(Fig. 6A).

색상형(plexiform) 법랑아세포종은 종양상피가 치제와 유사한 색상으로 증식하였고 상피도 내부의 성상세포들이 변성에 의하여 미세낭종을 형성하였고 간질은 액화 상을 보이는데 osteonectin의 발현은 여포형과 유사하였다.

극세포종형(acanthomatous) 법랑아세포종은 여포 중앙부가 편평세포로 이루어지고 여포 변연은 원주상피가 울타리 모양으로 배열되어 있으며 osteonectin은 여포형이나 색상형과는 반대로 상피도 중앙부내 편평세포에서 변연부세포보다 많은 발현을 보였고(Fig. 6B), 다른 여러 법랑아세포종 가운데서 가장 많은 발현을 보였다.

과립세포형(granular) 법랑아세포종은 종양상피도의 중앙이 과립으로 충만 되고 세포가 크고 호산성 과립이며 핵은 편재된 과립세포들로 구성되어있고 여포 변연 부위는 원주형 세포들이 울타리(palisade)모양으로 배열되었으며 osteonectin의 발현은 과립세포가 있는 상피도내의 원주세포와 성상세포사이에 별 차이 없이 나타나 법랑아세포종중 가장 경미한 발현을 보였으며 결체조직 내에서의 발현은 없었다(Fig. 6C).

단방성(unicystic) 법랑아세포종은 낭종 내강으로 증식을 보이거나 낭종 벽으로부터 내강측으로 색상의 종양조직의 증식상을 보였으며 osteonectin의 발현은 상피 증식부위와 주변의 혈관에서 미약하였으나 이장 상피중 성상세포와 유사세포에서 심도의 발현을 보였다(Fig. 6D).

Table 4. Expression Patterns of Osteonectin in Ectomesenchymal Odontogenic Tumors

Structural component	Expression degree
Ameloblastic fibroma	
Dental papilla like or ectomesenchymal cells	-
Enamel organ like epithelial cells	+++
Odontoma	
Enamel matrix	+
Dentin	±
Pulp	±

(-; negative, ±; trace, +; mild, ++; moderate, +++; severe)

2) 선양 치성 종양(adenomatoid odontogenic tumor)에서 osteonectin 발현

선양 치성 종양은 간질이 거의 없고 종양상피는 방추상 또는 다각형의 상피덩어리로 증식되고 원주상 또는 입방상의 세포들이 관상구조나 장미 꽃송이형의 석회침착을 보이며 치배의 전분비 법랑아세포와 정상세망과 유사세포로 이루어져 있고 osteonectin의 발현은 도관세포(Fig. 7A)와 종양상피세포(Fig. 7B) 들간에 큰 차이가 없었으며 석회화 물질과 석회화 주위 종양세포에서(Fig. 7C)는 중등도의 발현을 보였다.

3. 상피간엽성 치성 종양에서 osteonectin 발현(Table 4)

1) 법랑아세포성 섬유종(ameloblastic fibroma)

치유두에 유약 결체조직과 유사한 섬유세포와 여포상 또는 색상의 치성 상피잔사가 증식되어 있고 osteonectin은 대부분의 치성 상피에서 심도의 발현을 보이는데 비해 결체조직세포 또는 외간엽 세포들에서는 음성반응을 보였다(Fig. 8A, 8B).

2) 치아종(odontoma)

Table 5. Expression Patterns of Osteonectin in Mesodermal Odontogenic Tumors

Structural component	Expression degree
Myxoma	
Dental papilla resembling mesenchymal cells	-
Odontogenic fibroma	
Odontogenic epithelial rests	++
Fibroblasts	-
Osteoblasts	+
Calcifications	±/+
Cementifying fibroma	
Fibroblasts	-
Cementoblasts	+
Cementum	±/+

(-; negative, ±; trace, +; mild, ++; moderate, +++; severe)

법랑기질부위 주변에는 불규칙한 상아질이 침착되어 있으며 상아기질에는 osteonectin이 거의 발현되지 않았으나 법랑기질에는 경도의 발현을 보였다(Fig. 9).

4. 간엽성 치성 종양에서 osteonectin 발현(Table 5)

1) 치성 점액종(myxoma)

치유두와 유사한 방추상 또는 성상의 세포로 이루어져 있으며 osteonectin의 발현은 없었다(Fig. 10).

2) 치성 섬유종(odontogenic fibroma)

성숙 섬유아세포들과 치성 상피들이 줄 또는 색상을 이루며 때로 석회침착이 관찰되는데 osteonectin은 간질 내 섬유세포들에서는 음성이거나 치성상피 잔사에서만 중등도의 발현을 보였다(Fig. 11).

3) 백아질형성 섬유종(cementifying fibroma)

섬유세포의 증식과 많은 구상 또는 난원형의 석회괴 주위는 방추상의 조백악세포로 둘러싸여있으며 osteonectin은 섬유아세포에는 음성이나 조백악세포는 경미한 발현을 보였다(Fig. 12).

5. 치성 낭종에서 osteonectin 발현(Table 6)

치근단 낭종, 함치성 낭종, 치성 각화 낭종에서는 osteonectin의 발현이 이장상피와 결체조직에서 음성이었으나(Fig. 14A), 석회화 치성 낭종에서는 유령세포와 석회화 물질에서 중등도의 양성 발현을 보였다(Fig. 14B).

Table 6. Expression Patterns of Osteonectin in Odontogenic Cysts

Structural component	Expression degree
Periapical cyst	
Lining epithelium	-
Inflammatory cells	-
Fibrous connective tissue wall	-
Dentigerous cyst	
Lining epithelium	-
Inflammatory cells	-
Fibrous connective tissue wall	-
Odontogenic keratocyst	
Lining epithelium	-
Fibrous connective tissue wall	-
Calcifying odontogenic cyst	
Lining epithelium	-
Ghost cells	++
Fibrous connective tissue wall	-
Calcifications	++

(-; negative, ±; trace, +; mild, ++; moderate, +++; severe)

IV. 총괄 및 고찰

최근 분자 생물학적 기법의 발달로 다양한 종양의 발생 기전에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 그중 세포-세포의 기질, 세포-세포간의 상호 작용에 대한 세포생물학적 연구에 많은 노력이 집중되고 있다. Osteonectin은 발견초기에는 석회화 기질의 형성에 관여하는 당단백으로 알려졌으나 최근의 연구결과 세포의 기질과의 상호 작용, 상피와 결합조직 상호작용에 관여함으로써 조직의 발생과 분화뿐만 아니라 종양의 발생이나 종양 세포의 석회화 물질 형성에 관여한다^{16,20}). 그러나 이러한 연구들은 대부분 골 형성 조직이나 골종양, 유방암 등에서 많은 연구가 있었으나 두경부에 발생하는 종양이나 치성 종양에서는 연구된 바가 비교적 희귀한 편이다. 이러한 계기로 발생 치배와 치성 종양에서의 osteonectin 발현에 대한 규명은 치아의 발생과정과 치성 종양의 발생 기전을 이해하는데 도움이 될 수 있는 연구라 생각되어 시행하였다. 치배의 발생과 경조직의 형성은 상피-결체조직간의 상호 작용(epithelial-mesenchymal interaction)에 의해 조절되며³⁰ 치성 종양의 발생에서는 fibronectin, tenascin, laminin 등의 세포외기질이 관여한다^{8,33,34}).

Osteonectin은 32kDa의 칼슘결합 당단백으로 골 조직과 배양 혈관내피세포와 Englebreth-Holm-Swam 종양에서 처음으로 분리되었으며^{35,36} 비석회화 세포외기질의 형성에도 관여할 것으로 추측되고 있으며³⁷ 정상조직의 발생과 분화와 연관되어 성인과 배아 조직에서 분비되는데³⁸ 내피세포의 국소적 유착을 감소시키고, 기질의 광화에 영향을 주며, 혈관의 신생성을 조절하고^{9,39,41} 또한 금속함유단백분해효소(metallo proteinase)와 제 1형 plasminogen activator inhibitor (PAI-I)와, 세포외기질요소의 파괴에 관여하는 효소들의 발현을 유도한다⁴¹).

Osteonectin은 교원질과 결합하여 골 기질 형성에 중요한 역할을 하는데^{42,43} 최근의 연구에 의하면 기저막 구조는 칼슘을 필요로 하고 특히 osteonectin은 제 4형 교원질과 결합하며 이 과정에 칼슘이 필수적이다⁴⁴. 또한 phosphate group의 입체적인 배열이 칼슘의 결합을 용이하게 하고 이들이 골 기질 형성시 apatite 결정을 형성하게 하며 제 1형 교원질과 결합할 수 있어 교원질 기질의 석회화 과정에 밀접한 연관성을 갖는다. 최근에는 미세 석회화물을 형성하는 유방암종에서 osteonectin의 발현이 증가한다고 알려져 있어²⁷ 일반적으로 osteonectin이 종양에서도 석회화에 관여함을 알 수 있다.

본 연구의 발생치아에서 osteonectin발현은 뇌상기 단계에서는 치배를 둘러싸고 있는 간엽조직에서 발현이 미약하였고 치제에서만 경도의 발현을 보였는데(Fig. 1) 이 시기에는 경조직이 전혀 형성되지 않은 시기로 비광화 조직에서 관찰되는 osteonectin의 분포는 광화의 개시를 조절하는 이 단백질의 특별한 역할을 나타내는 것으로, 최근 Sage와 Lane^{38,39,45}의 연구에서 osteonectin이 칼슘 의존성 친화도 인해 골 개조와 형태 발생에 관련된 성장조절인자로서 작용한다고 한 연구결과와 일치한다.

초기 종상기에서는 osteonectin이 법랑기의 세포들, 특히 외치성상피에서 발현되다가 말기종상기에는 내치성상피에서 발현

되는데 향후 법랑아세포가 될 세포에서의 발현 증가가 먼저 있었으므로 상아질과 법랑질의 상호유도를 나타낸다고 여겨진다. 또한 법랑 및 상아기질을 형성할 때 이런 osteonectin은 법랑아세포에서 조상아세포로 발현 되었다. 따라서 osteonectin발현은 상아질 형성 전에는 전분비 법랑아 세포에서 발현되었고, 상아질 형성 때에는 분비조상아세포에서 주로 발현되었다. 또한 경조직의 성숙이 일어나는 시기에는 법랑아세포나 조상아세포의 발현이 크게 감소되므로 발생단계별 발현 차이가 있음이 관찰되었다.

치배에서는 조상아세포의 성숙이 이루어진 후에야 전구법랑아세포가 법랑아세포로 분화하는데 본 연구에서 전구법랑아 세포에서 분화된 조상아세포로 osteonectin 발현 전환이 관찰되었고 유사한 전구법랑아 세포에서 조상아세포로 TGF- β 발현 전환이 생쥐 발생치아에서도 보고된바 있어⁴⁰, osteonectin이 분화단계에서 중요한 역할을 할 것이라고 추정 할 수 있다. 또한 치경륜이나 치성 간엽조직에서 발현이 전혀 안된 것은 osteonectin이 간엽조직 분화에는 관여하지 않는다는 증거이다.

Osteonectin의 발현은 골화중인 조직에서 높은 발현을 보이며, 특히 조상아세포, 연골세포, 그리고 perichondrial fibroblast와 연관된 골 및 치아에서 발현이 많고^{47,48} osteonectin은 골의 석회화뿐만 아니라 상아질 및 백악질 형성과정에도 밀접한 관련성을 갖는다^{50,51}). Reichert⁵⁰ 등은 법랑기 세포들인 내외치성상피, 중간층, 성상세포, 법랑아세포에서의 발현은 음성이라 하였으나 본 연구에서는 이와는 달리 법랑기세포에서 발현되는 차이를 보였으며 법랑질을 만드는 시기에도 분비 법랑아세포에서 발현이 되므로 osteonectin이 상아질이나, 백악질 형성 뿐 아니라 법랑질 형성 과정에도 관련성을 보인다. 특히 치낭에서 발현된 점(Fig. 2)은 치주인대나 치조골 발생 과정에도 관련이 있음을 보이는 주요한 소견이라고 보며, Reichert⁵⁰ 등의 연구와 osteonectin발현 차이가 보였다.

법랑아세포종의 상피는 발생 치아의 법랑질기관, 치성 상피의 잔사, 치성 낭의 이장상피, 구강점막의 기저세포층에서 기원한다고 생각되고 있지만^{52,53} 종양의 발생 기전에 대해서는 명확하지 않다.

최근의 연구에 의하면 법랑아세포종의 상피는 발생 치배의 법랑 기관과 유사한 세포 골격 단백을 가지고 있어 그 기원이 치성상피임을 보여준다⁵⁶. 아울러 법랑아세포종에서 상피세포 성장인자와 TGF- α 와 그 수용체 (epidermal growth factor receptor)와 섬유세포 성장인자 수용체 (fibroblast growth factor receptor)들이 증가되고 있어 종양 형성 단계에서 이들 수용체와 성장인자들이 관여함을 알 수 있다^{6,54,55}). 본 연구의 법랑아세포종에서 osteonectin의 발현은 상피성 종양성분에서 경도 또는 중등도 양성발현을 보였고 상피도간 결합조직 간질에서는 대부분 미약하였으며 여포형 및 색상형 법랑아세포종에서는 여포변연부인 법랑아 유사세포가 중심부 세포인 성상세포보다 많은 중등도의 osteonectin발현을 보였으며, 극세포형은 중심부세포에서 발현을 보여 법랑아세포종 가장 강한 발현을 보였고 과립세포형은 법랑아세포종중 가장 적은 발현을 보였다. 따라서 극세포형에서 강

한 발현을 보인 점은 여포내 정상세포가 편평상피로 화생(metaplasia)된 법랑아세포종의 유형이라는 점에서 상피분화에 osteonectin이 관여하는 것을 나타내는 소견이다. 또한 과립세포가 오래된 병소의 노화 또는 변성변화로⁷⁾ 출현하기 때문에 정상 세망 세포가 변이된 과립세포형에서 정상적인 법랑아세포종 보다는 미약한 발현을 보였다. 단방성 법랑아세포종은 이장 상피 변연부와 정상유사세포에서 osteonectin 발현을 보이므로 osteonectin 발현이 없는 치성낭종과 감별에 이용될 수 있음을 제시해준다.

Osteonectin은 섬유세포, 골육종세포 등에서 기저막 성분, 즉 fibronectin과 laminin의 분비를 조절함으로써 세포의 부착에 관여한다⁵⁶⁾. 따라서 osteonectin은 연골 세포, 골세포, 투명세포, Sertoli 세포 등의 다양한 종류의 세포에서 형성되어 세포의 증식과 분화, 신생 혈관 형성에 관여하고 나아가 여러 종류의 성장 호르몬에 영향을 받는다⁵⁷⁻⁵⁹⁾. 본 법랑아세포종도 결체조직과 만나는 기저막 부위에서 osteonectin 발현의 증가가 관찰되므로(Fig. 6A나 6B) 다른 종양에서도 기저막성분에도 관련을 갖는 것으로 추정된다.

Osteonectin은 또한 위암, 대장암, 유방암, 폐암, 신장암등에서도 다양한 정도의 발현 증가를 보여⁶⁰⁾ 종양의 발생과도 연관되며, 종양에서는 침윤성 성장을 하는 부위에서 발현이 증가된다고 하였는데¹⁶⁾ 골에 침범한 여포형이 연조직 침범의 경우보다 발현이 강해 침습성인 경우에 osteonectin의 발현이 많음을 보여준다.

인간 치배 발생 및 치성 종양형성 동안 세포성장 및 발생의 조절에 상피간엽간의 상호작용이 관련된다^{16,60,61)}. 치배 발생동안 세포상호간 전달장애는 신호전달에 반응능력 장애를 일으키거나 성장인자 등의 발현 부족으로 인해 성장조절이 안되거나 종양이 발생한다. 법랑아세포종에서 osteonectin 발현은 상피성 종양성분에 국한되어 관찰되므로 상피세포가 발생치아 및 종양 발생 중에 osteonectin 효과가 집중되는 부위라고 생각된다. 또한 치배 조직의 법랑기 성분에서 osteonectin이 발현되는 것은 법랑아세포종의 발생이 osteonectin 발현과 연관된 세포적 조절 기능의 상실로 기인되는 것으로 생각된다.

선양 치성 종양은 경조직을 형성할 수 있는 유도능이 있는 종양으로, 도관세포와 종양상피세포들 사이에 큰 차이 없이 osteonectin이 발현되었고 석회화 물질내부에는 발현이 미약하였으나 석회화 주위 종양세포에서는 강한 양성반응을 보였는데 이는 치배 경조직 형성단계에서 법랑아세포 및 조상아세포가 강한 발현을 보인점과 비교해 보았을 때 치배의 조직의 발생과 분화 뿐만 아니라 치성 종양의 발생이나 종양세포의 석회화 물질 형성에도 관여한다고 생각된다.

상피간엽성 치성 종양인 법랑아세포성 섬유종에서도 치유두 유사 간엽세포에서는 음성이었으나 치성상피에서는 강한 양성 발현을 보여 osteonectin이 상피조절 인자임을 보였는데 치아종의 경우 상아질, 법랑질, 치수등 분화가 종료된 상태에서는 이러한 발현이 크게 감소함은 본 연구의 치배의 성숙 법랑아세포에서 발현이 경미한 것과 일치한다(Fig. 5).

간엽성 치성 종양인 치성 섬유종에서는 치성 상피에서 osteonectin 발현이 되었으나 치유두 및 간질 내에서는 음성이었고, 백아질 형성 섬유종에서는 섬유조직은 음성이고 조백악아세포에서만 발현되었으며, 또한 치성 점액종에서는 osteonectin 발현은 음성이었다. 이는 osteonectin이 간엽조직 분화에는 관련을 갖지 않는 대신 상피 분화의 조절인자로 작용한다는 것을 나타낸다.

본 연구에서 치성 석회화 낭종을 제외한 치근단 낭종, 합치성 낭종, 치성 각화 낭종을 비롯한 다른 치성 낭종에서는 osteonectin이 발현되지 않았다. 석회화 치성 낭종 중에서도 결체조직 벽에서는 발현이 안된 대신 유령세포, 석회화 되고 있는 유령세포, 석회침착물에서만 이런 osteonectin 발현이 관찰되므로 낭종 및 종양의 석회화에 관련된다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서는 osteonectin이 치배의 세포분화과정에도 관여하고 치성 종양세포에서 발현되고 있음을 보였는데, 향후 종양세포내의 석회화 및 amyloid변성에 관여하거나 다른 기질물질과 biochemical modification에 의한 현상이 밝혀진다면 발생학 및 병리학적으로 중요한 발견이라고 할 수 있을 것이므로 이러한 연구가 더 이루어져야 될 것이다.

V. 결 론

저자는 치배의 발생과정 및 치성 종양 형성 과정에서 osteonectin의 발현 분포 정도 및 양상을 분석하고 치성 낭종 및 종양에서 석회화 물질 형성의 관련성을 파악하고자 면역조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치배 발생과정중 뇌상기에 osteonectin은 치체에 주로 발현되었으며 초기 증상기에는 법랑기중 외치성 상피세포에 주로 발현되었으나 말기에는 내치성 상피세포에 가장 강한 발현을 보였고 초기와 말기 모두 치유두에서는 음성이었다. 경조직 침착기 초기에는 법랑아세포보다 조상아세포에서 더 많았으나 말기에는 법랑아세포 및 조상아세포에서의 발현이 감소되었다.
2. 상피성 치성 종양중 법랑아세포종은 법랑기 유사 종양상피도에서 osteonectin 발현을 보였으며 특히 극세포형에서 가장 많은 발현을 보였고 과립세포형에서 적은 발현을 보였다.
3. 상피성 치성 종양중 선양 치성 종양의 도관세포와 종양 상피 세포들간에는 차이가 없었으며 osteonectin이 경도의 발현을 보였고 석회화 물질이나 석회화 주위 종양 세포에서는 중등도의 발현을 보였다.
4. 상피간엽성 치성 종양중 법랑아세포성 섬유종에서 osteonectin 발현이 치성 상피에서는 나타났으나 치유두 및 간질 내에서는 음성이었고, 치아종에서는 경미하였다. 간엽성 치성 종양중 치성 점액종, 치성 섬유종 및 백아질 형성 섬유종의 간엽조직에서는 발현이 없었으며 치성 낭종에서는 치성 석회화 낭종의 유령세포와 석회화물을 제외하고는 발현이 없었다.

이상과 같은 소견으로 볼 때 osteonectin은 치아형태 발생과정

및 치아 경조직 형성, 치성 종양의 발생 과정에서 중요한 상피분화의 조절인자이며 치성 낭종 및 종양의 석회화 물질 형성에도 관여하는 것으로 추정할 수 있다.

참 고 문 헌

- Thesleff I and Hurmerinta T : Tissue interactions in tooth development. *Differentiation* 18:pp75-88, 1981.
- Lumsden AGS : Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Devel Suppl* 103: pp155-169, 1988.
- Lucas RB: Pathology of tumors of the oral tissue. Churchill Livingstone, London: pp31-89. 1984.
- Heikinheimo K, Sandberg M, Happonen RP, Virtanen I and Bosch FX: Cytoskeletal gene expression in normal and neoplastic human odontogenic epithelia. *Lab Invest* 65:pp688-701, 1991.
- Gao Z, Mackenzie IC, Cruchley AT, Williams DM, Leigh I and Lance EB: Cytokeratin expression of the odontogenic epithelial in dental follicles and developmental cysts. *J Oral Pathol* 18: pp63-67, 1989.
- Heikinheimo K, Happonen RP, Miettinen PJ, and Ritvos O: Transforming growth factor β 2 in epithelial differentiation of developing teeth and odontogenic tumors. *J Clin Inves* 91: pp1019-1027,1993.
- Neville BW, Damm DD, Allen CM, and Bouquet JE: Oral & maxilla facial pathology, Philadelphia, Saunders CO, 1995 , pp511-538.
- Nadami HH and Toto PD: Product identification of ameloblastomas: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol* 15: pp439-444, 1986.
- Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, and Martin GR: Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 26: pp99-105, 1981.
- Romsberg RW and Riggs BL: Inhibition of hydroxyapatite crystal growth by bone-specific and other calcium binding proteins. *Biochem* 25: pp1176-1180, 1986.
- Pacifici M, Oshima, Fisher LW, Young MF, Shapiro LM, and Leboy PS: Changes in osteonectin distribution and levels are associated with mineralization of the chicken tibial growth cartilage. *Calcif Tissue Int* 47: pp51-61, 1990.
- Serra M, Morini MC, Scotalandi K, Fisher LW, Zini N, Colombo MP, Camanacci M, Maral NM, Olivari S, and Baldini N: Evaluation of osteonectin as a diagnostic marker of osteogenic bone tumors. *Human Pathol* 23: pp1326-1331, 1992.
- Fanburg JC, Rosenberg AE, Weaver DL, Leslie KO, Mann KG, Taatjes DJ, and Tracy RP : Osteocalcin and osteonectin immunoreactivity the diagnosis of osteosarcoma. *Am J Clin Pathol* 108: pp464-473,1997.
- Pagani A, Fisher-Colbrie R, Eder U, Pellin A, Llombart-Bosch A and Bussolati G: Neural and mesenchymal differentiations in Ewing's sarcoma cell lines. Morphological, immunophenotypic, molecular biological and cytogenetic evidence. *Int J Cancer* 63: pp738-743, 1995.
- Sato M, Iga H, Yoshioka N, Fukui K, Kawamata H, Yoshida H, Hisrota S and Kitamura Y : Emergence of osteoblast-like cells in a neoplastic human salivary cancer cell line after treatment with 22-oxa-1 α , 25-dihydroxyvitamin D3. *Cancer Lett* 115: pp149-160, 1997.
- Porte H, Chastre E, Prevot S, Nordlinger B, Empereur S, Basset P, Chambon P, and Gespach C : Neoplastic progression of human colonrectal cancer is associated with overexpression of the strome lysin-3 and BM-40/SPARC genes. *Int J Cancer* 20: 64: pp70-75, 1995.
- Burgi-Saville ME, Gerber H, Peter HJ, Paulsson M, Aeschlimann D, Glaser C, Kaempf J, Ruchti C, Sidiropoulos I and Burgi U: Expression patterns of extracellular matrix components in native and culture normal human thyroid T and in human toxic adenoma T. *Thyroid* 7: pp347-356, 1997.
- Hirota S, Nakajima Y, Yoshimine T, Kohri K, Nomura S, Taneda M, Hayakawa T and Kitamura Y: Expression of bone-related protein messenger RNA in human meningiomas: possible involvement of osteopontin in development of psammoma bodies. *J Neuropathol Exp Neurol* 54: pp698- 703, 1995.
- Mok SC, Chan WY, Wong KK, Muto MG and Berkowitz RS.: SPARC, an extracellular matrix protein with tumor-suppressing activity in human ovarian epithelial cells. *Oncogene* 12:pp1895-1901, 1996.
- Ledda MF, Adr is S, Bravo Al, Kairiyama C, Bover L, Chernajovsky Y, Mordoh J and Sodhajcer OL: Suppression of SPARC expression by antisense RNA abrogates the tumorigenicity of human melanoma cells. *Nat Med* 3: pp171-176, 1997.
- Ledda F, Bravo Al, Adris S, Bover L, Mordoh and Podhajcer OL: The expression of the secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with the neoplastic progression of human melanoma. *J Invest Dermatol* 108: pp210-214, 1997.
- Ledda MF, Adris S, Bover L, Bravo AL, Mordoh J and Podhajcer OL: The role of SPARC gene in tumorigenic capacity of human melanoma cells. *Medicina(B Aires)* 56: pp51-54, 1996.
- Porter PL, Sage EH, Lane TF, Funk SE and Gown AM: Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue. *J Histochem Cytochem* 43: pp791-800, 1995.
- Graham JD, Balleine RL, Milliken JS, Bilous AM and Clarke CL: Expression of osteonectin mRNA in human breast tumors is inversely correlated with estrogen receptor content. *Eur J Cancer* 33: pp1654-1660, 1997.
- Bellahcene A and Castronovo V: Expression of bone matrix proteins in human breast cancer: potential roles in microcalcification formation and in the genesis of bone metastasis. *Bull Cancer* 84: pp17-24, 1997.
- Hirota S, Ito A, Nagoshi J, Takeda M, Kurata A, Takasuka Y, Kohri K, Nomura S and Kitamura Y: Expression of bone matrix protein messenger ribonucleic acids in human breast cancers. Possible involvement of osteopontin in development of calcifying foci. *Lab Invest* 72: pp64-69, 1995.
- Bellahcene A and Cstronovo V: Increased expression of osteonectin and osteopontin, two bone matrix proteins in human breast cancer. *Am J Pathol* 146: pp95-100, 1995.
- Chen J, Aufdemorte TB, Jiang H, Liu AR, Zhang W and THomas HF: Neopalstic odontogenic epithelial cells express bone sialoprotein. *Histochem J* 30: pp1-6, 1998.
- Chen J, Sasaguri K, Sod J, Aufdemorte TB, Jianf H and Thomas HF: Odontogenic epithelium express bone sialoprotein. *Eur J Oral Sci* 106: pp331-336, 1998.
- Gao YG, Yang LJ and Yamaguchi A: Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein in odontogenic tumor. *J Oral Pathol Med* 26: pp273-277, 1997.
- 임창윤: 구강병리학 p300,304 고려의학, 1999.
- Ruch JV, Lesot H, Karcher-Djuricic V, Meyer JM and Mark M: Epithelial-mesenchymal interaction in tooth germs: mechanism of differentiation. *J Biol Buccale* 11: pp173-193, 1983.
- Sauk JJ: Basement membrane confinement of epithelial tumor islands in benign and malignant ameloblastoma. *J Oral Pathol* 14: pp307-314, 1985.
- Thesleff I and Ekblom P: Distribution of keratin and laminin in ameloblastoma. Comparison with developing tooth and epithermoid carcinoma. *J Oral Pathol* 13: pp85-96, 1984.
- Termine JD, Kleinman HK, Eithson SW, Conn KM, McGarvey ML and Martin GR: Osteonectin, a bone specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 26: pp99-105, 1981.
- Dziadek M, Paulsson M, Aumailley M and Timpl R: Purification and tissue distribution of a small protein (BM-40) extracted from a basement membrane tumor. *Eur J Biochem* 161: pp455-464, 1986.
- Yurcheno PD, Tsilibary EC, Charonis AS and Furthmayr H: Laminin polymerization in vitro: Evidence for a two-step assembly with domain specificity. *J Biol Chem* 260: pp7636-7644, 1987.
- Sage EH, Vernon RB, Decker J, Funk S and Iruelaarispe ML: Distribution of the calcium binding protein SPARC in tissues of embryonic and adult mice. *J Histochem Cytochem* 37: pp819-829,1989.
- Lane TF and Sage EH: The biology of SPARC, a protein modulates

- cell matrix interactions. *FASEB J* 8: pp163-173, 1994.
40. Pelton RW, Dickinson ME, and Moses HL Hogen BLM: In situ hybridization analysis of TGF- β 2 RNA expression during mouse development: comparative studies with TGF- β 1 and β 2. *Development* 110, pp609-620, 1990.
 41. Tremble P, Lane T, Sage EH and Werb Z: SPARC, a secreted protein associated with morphogenesis and tissue remodeling, induces expression of metalloproteinases in fibroblasts through a novel extracellular matrix-dependent pathway. *J Cell Biol* 121: pp1433-1444, 1993.
 42. Romberg RW, Werness PG, Lollar P, Riggs, BL and Mann KG: Isolation and characterization of native adult osteonectin. *J Biol Chem* 260: pp2728-2736, 1985.
 43. Engel J, Taylor W, Paulsson M, Sage H and Hogan B: Calcium binding domains and calcium-induced conformational transition of SPARC/BM-40/ Osteonectin, an extracellular glycoprotein expressed in mineralized and non-mineralized tissues. *Biochem* 26: pp6958-6965, 1987.
 44. Mayer U, Aumailley M, Mann K, Timpl R and Engel J: Calcium-dependent binding of basement membrane collagen type IV. *Eur J Biochem* 198: pp141-150, 1991.
 45. Sage EH, Johnson C and Bornstein P: Characterization of a novel serum albumin-binding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture. *J Biol Chem* 259: p3993, 1984.
 46. Vahtokari A, Vainio S and Thesleff I: Association between TGF- β RNA expression and epithelial-mesenchymal interactions during tooth morphogenesis. *Development* 113: pp985-994, 1991.
 47. Bianco P, Silvestrini G, Termine JD and Bonucci E: Immunohistochemical localization of osteonectin in developing human and calf bone using monoclonal antibodies. *Calcif Tissue Int* 43: p155, 1988.
 48. Pacifici M, Oshima O, Fisher LW, Young MF, Shapiro IM and Leboy PS: Changes in osteonectin distribution and levels are associated with mineralization of the chicken tibial growth cartilage. *Calcif Tissue Int* 47: p51, 1990.
 49. Reed M, Puolakkainen P, Lane T, Deckerson D, Bornstein P and Sage EH: Differential expression of SPARC and thrombospondin-1 in wound repair; immunolocalization and in situ hybridization. *J Histochem Cytochem* 41: p1467, 1993.
 50. Reichert T, Stoorkel S, Becker K and Fisher LW: The role of osteonectin in human tooth development: An Immunohistological study. *Calcif Tissue Int* 50: pp468-472, 1992.
 51. Tung PS, Domenicucci C, Wasi S and Sodek J: Specific immunohistochemical localization of osteonectin and collagen type I and III in fetal and adult procrine dental tissue. *J Histochem Cytochem* 33: pp531-540, 1985.
 52. Hartman KS: Granular cell ameloblastoma: A survey of twenty cases from the Armed Forces Institute of Pathology. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 38: pp241-253, 1984
 53. Heikinheimo K, Happonen R-P, Miettinen PJ and Ritvos O: Transforming growth factor beta2 in epithelial differentiation of developing teeth and odontogenic tumors. *J Clin Invest* 91: pp1019-1027, 1993.
 54. Ueno S, Miyagawa T, Kaji R, Mushimoto K and Shirasu R: Immunohistochemical investigation of epidermal growth factor receptor expression in ameloblastomas. *J Pathol* 173: pp33-38, 1994.
 55. Myoken Y, Myoken Y, Okamoto T, Sato JD and Takada K: Immunohistochemical localization of fibroblast growth factors-1 (FGF-1) and FGF-2 in cultured human ameloblastoma epithelial cells and ameloblastoma tissues. *J Oral Pathol Med* 24: pp387-392, 1995.
 56. Kamihagi K, Katayama M, Ouchi R and Kato I: Osteonectin/SPARC regulates cellular secretion rates of fibronectin and laminin extracellular matrix protein. *Biochem Biophys Res Comm* 200: pp423-428, 1994.
 57. Bosse A, Ueda Y, Wuisman P, Jones DB, Bollmer E and Roessner A: Histogenesis of clear cell chondrosarcoma. An immunohistochemical study with osteonectin, a non-collagenous structure protein. *J Cancer Res Clin Oncol* 117: pp43-49, 1991.
 58. Iruela-Arispe M, Diglio C and Sage EH: Modulation of extracellular matrix proteins by endothelial cells undergoing angiogenesis in vitro. *Arterioscler Thromb* 11: pp805-811, 1991.
 59. Chandrasekhar S, Harvey AK, Johnson MG and Becker GW: Osteonectin/SPARC is a product of articular chondrocytes/cartilage and is regulated by cytokines and growth factors. *Biochem Biophys Acta* 1221: pp7-14, 1994.
 60. Wewer UM, Albrechtsen R, Fisher LW, Young MF and Termine JD: Osteonectin/SPARC/BM-40 in human decidua and carcinoma, tissues characterized by de novo formation of basement membrane. *Am J Pathol* 132: pp345-355, 1988.
 61. Colombo MP, Biondi G, Galasso D, Baracetti P, Howe CC and Parmiani G: Osteonectin transcript and metastatic behavior in v-Ki-ras transformed fibroblasts. *Int J Cancer Suppl* 4: pp76-77, 1989.

사진부도 설명

-
- Fig. 1 - 5 ; Microphotography of tooth germ.
 Fig. 6 - 7 ; Microphotography of ectodermal odontogenic tumors.
 Fig. 8 - 9 ; Microphotography of ectomesenchymal odontogenic tumors.
 Fig. 10 - 12 ; Microphotography of mesodermal odontogenic tumors.
 Fig. 13 - 14 ; Microphotography of odontogenic cysts
-

- Fig. 1. The bud stage of tooth germ.
 Osteonectin was expressed in dental lamina mildly and it was in ectomesenchymal cells rarely ($\times 100$).
- Fig. 2. The early bell stage of tooth germ.
 2A ; Osteonectin was concentrated in connective tissue surrounding tooth germ ($\times 40$).
 2B ; Strong to moderate expression was shown in the dental follicle and outer dental epithelium, but the dental papilla was not expressed ($\times 100$).

- Fig. 3. The late bell stage of tooth germ.
3A ; Major parts of the dental organ, such as stellate reticulum, stellate intermedium, and presecretory ameloblasts was expressed moderately for osteonectin($\times 100$).
3B ; Cervical loop region was not expressed($\times 40$).
3C ; Oral epithelium and remnants of dental lamina were expressed mildly ($\times 40$).
- Fig. 4. The early apposition stage of tooth germ.
Pronounced staining reaction for osteonectin was noted in odontoblasts and dentin matrix.
Expression of secretory ameloblasts were revealed less than that of odontoblasts($\times 200$).
- Fig. 5. The late apposition stage of tooth germ.
Mature ameloblasts were expressed rarely for osteonectin($\times 40$).
- Fig. 6. Ameloblastoma.
6A ; In the follicular ameloblastoma, epithelial strands were expressed moderately($\times 100$), and peripheral tumor cells resembling ameloblast cells of epithelial rests were expressed intensively but the stellate reticulum resembling central tumor cells were expressed rarely. There also appeared mild reaction in stromal connective tissue near the tumor epithelium.
6B ; In the acanthomatous type ameloblastoma, central tumor cells were expressed intensively but the peripheral cells were expressed mildly ($\times 200$).
6C ; In the granular cell type, osteonectin was expressed rarely in epithelial rests or granular cells($\times 100$).
6D, 6E ; Unicystic ameloblastoma disclosed focal osteonectin immunoreaction in luminal epithelium($\times 40$).
Overlying epithelial cells were loosely cohesive and resemble stellate reticulum, which reacted mildly for osteonectin($\times 100$).
- Fig. 7. Adenomatoid odontogenic tumor.
7A ; Tumor cells recapulated presecretory ameloblasts and stellate reticulum of the cap/early bell stage of odontogenesis.
Duct structure and spindled epithelial cells were expressed mildly for osteonectin($\times 200$).
7B, 7C ; Most of tumor epithelium was expressed mildly in the epithelial strands and calcifications($\times 200$).
- Fig. 8. Ameloblastic fibroma.
It revealed dental papilla, enamel organ and strands or islands of odontogenic epithelium resembling dental lamina. Most of odontogenic epithelial rests were expressed severely for osteonectin, while the stromal connective tissue or ectomesenchymal cells were not expressed(8A; $\times 40$, 8B; $\times 200$).
- Fig. 9. Odontoma.
It consisted of dentin and enamel matrix, and osteonectin was expressed in enamel matrix mildly($\times 40$).
- Fig. 10. Odontogenic myxoma.
In dental papilla resembling spindle mesenchymal cells, osteonectin was not expressed($\times 100$).
- Fig. 11. Odontogenic fibroma.
It was containing multiple islands of odontogenic epithelium.
Most of odontogenic epithelial rests, osteonectin was expressed moderately while the stromal fibroblasts, osteonectin was not expressed($\times 40$).
- Fig. 12. Cementifying fibroma.
Only cementoblasts were expressed mildly for osteonectin($\times 100$).
- Fig. 13. Odontogenic keratocyst.
The lining epithelium and connective tissue wall were not expressed($\times 40$).
- Fig. 14. Calcifying odontogenic cysts.
Ghost cells and calcification were expressed mildly for osteonectin($\times 100$).

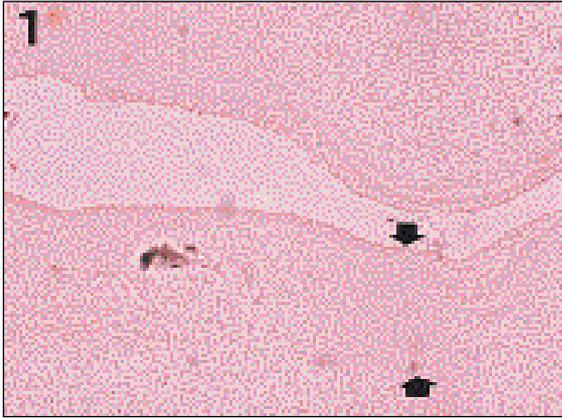


Fig. 1

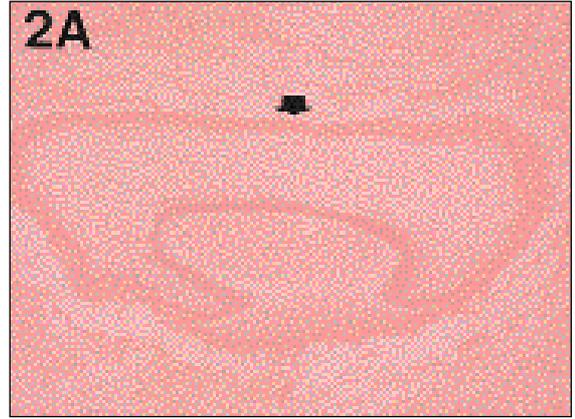


Fig. 2A

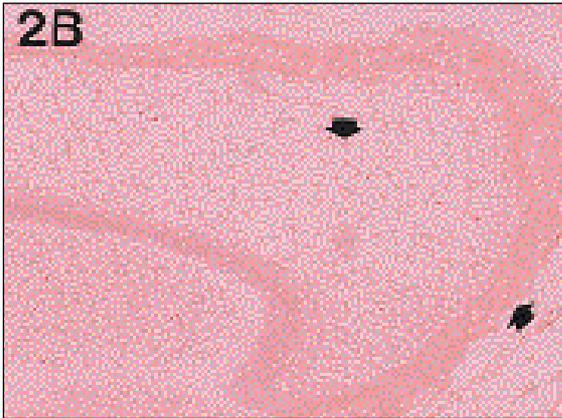


Fig. 2B

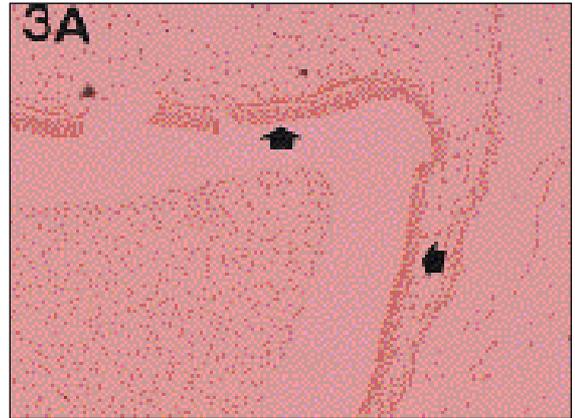


Fig. 3A

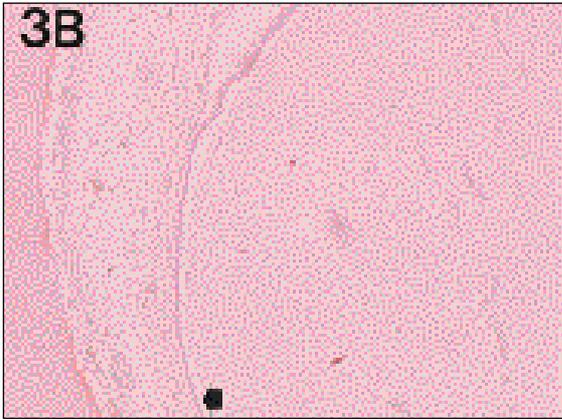


Fig. 3B

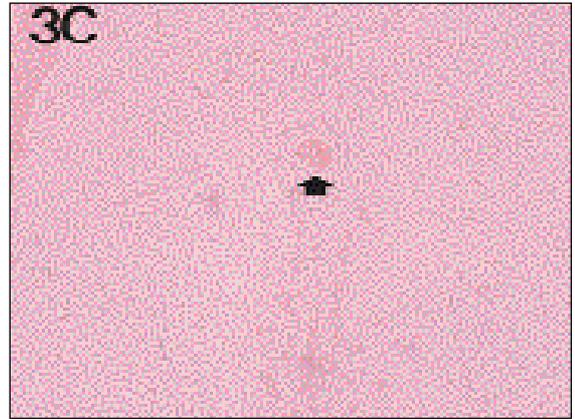


Fig. 3C

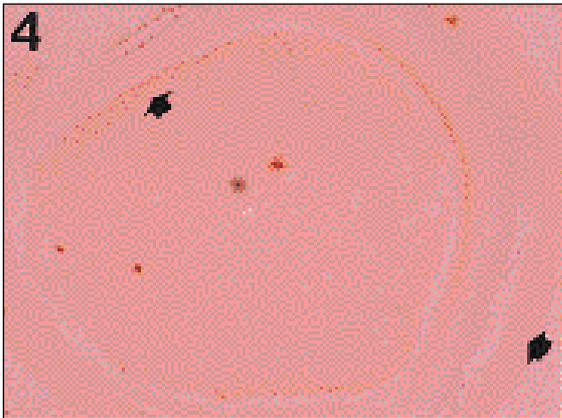


Fig. 4

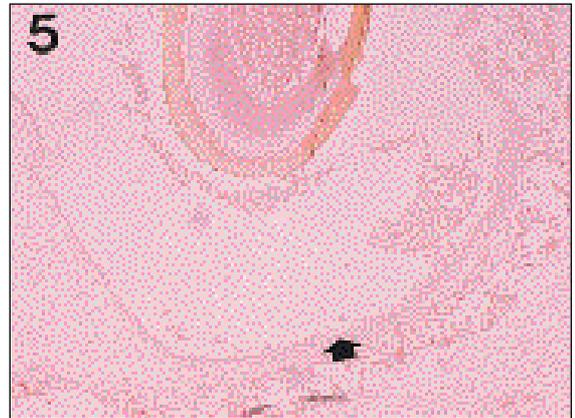


Fig. 5

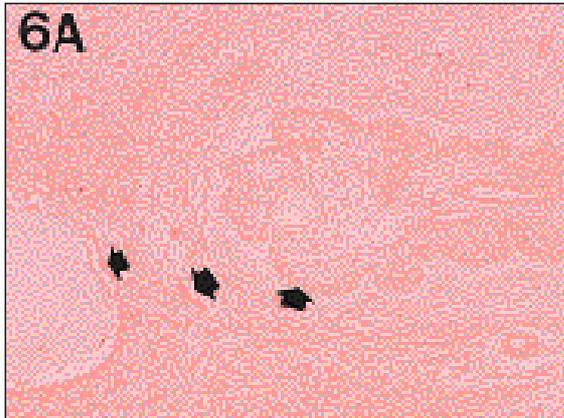


Fig. 6A

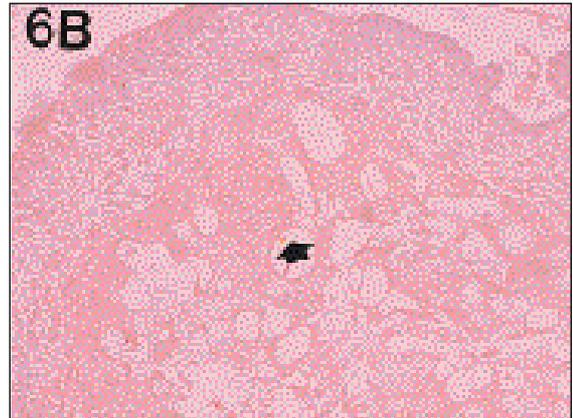


Fig. 6B

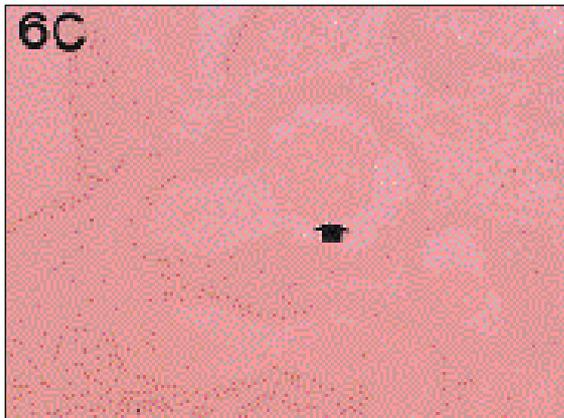


Fig. 6C

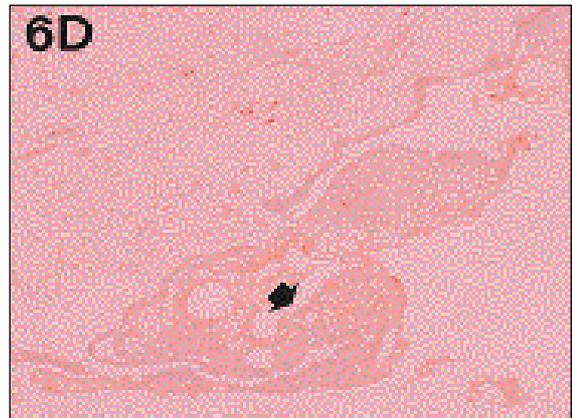


Fig. 6D

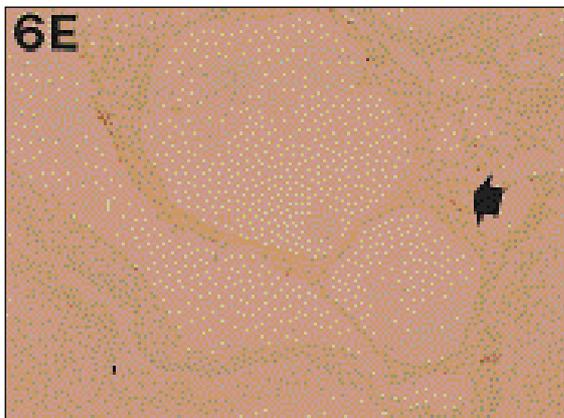


Fig. 6E

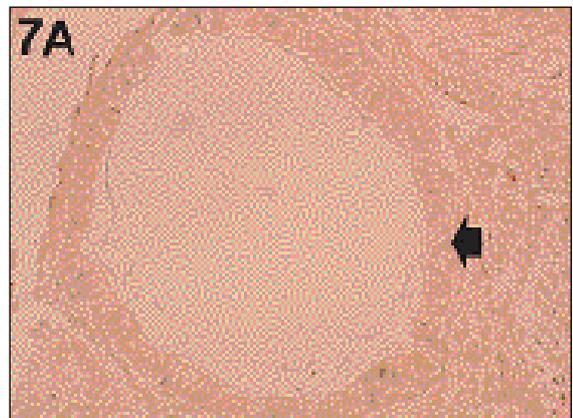


Fig. 7A

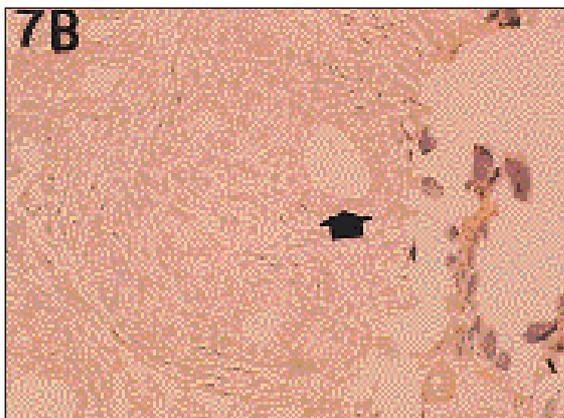


Fig. 7B

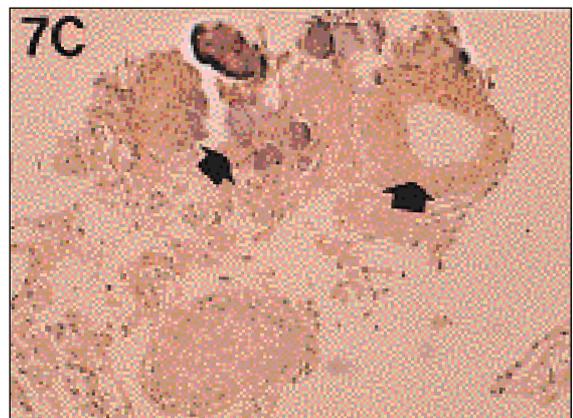


Fig. 7C

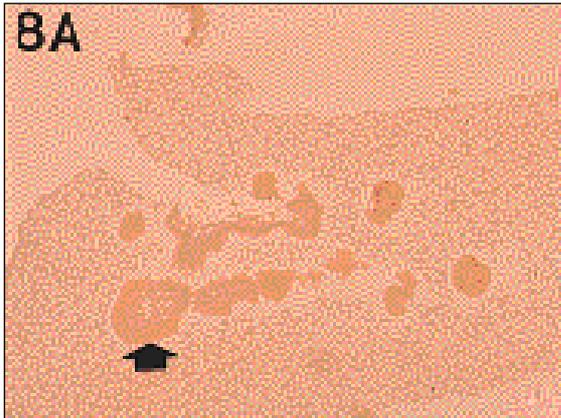


Fig. 8A

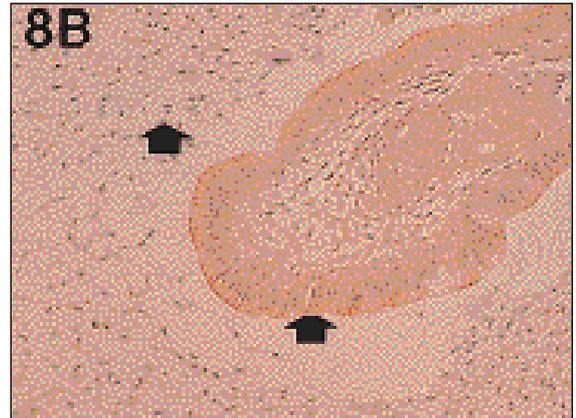


Fig. 8B



Fig. 9

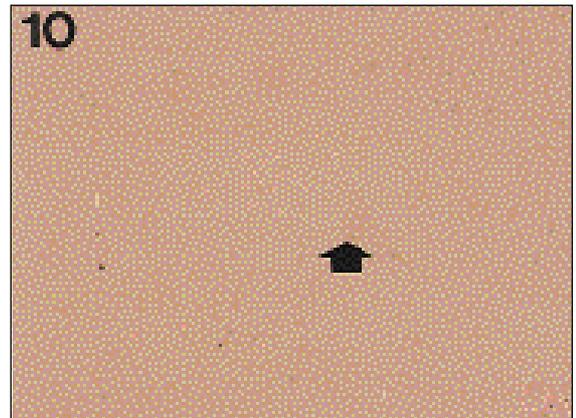


Fig. 10

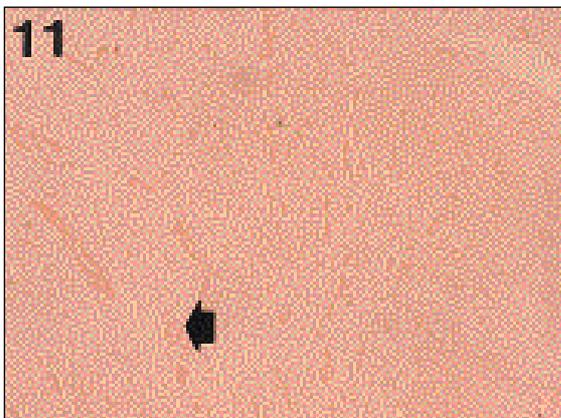


Fig. 11

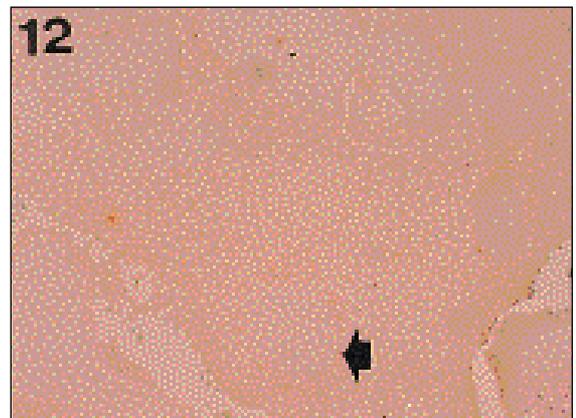


Fig. 12



Fig. 13

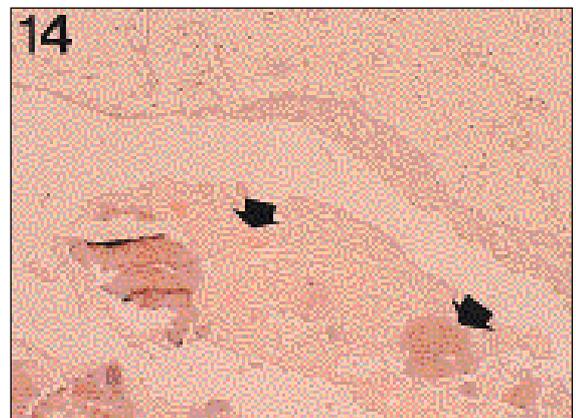


Fig. 14