

## 법랑모세포종의 재발과 p53, Ki-67, PCNA 및 cytokeratin 17, cytokeratin 18의 발현과의 상관관계에 관한 연구

홍지운 · 신상훈

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

### Abstract

#### EXPRESSIONS OF P53, KI-67, PCNA AND CYTOKERATIN 17, CYTOKERATIN 18 IN RECURRENT AND NON-RECURRENT AMELOBLASTOMA

Ji-Un Hong, Sang-Hun Shin

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University*

Ameloblastoma is a common odontogenic benign tumor of the jaw bone.

However, it might be able to infiltrate into the adjacent tissue, causing bony destruction and high recurrent rate. The aim of the study is to understand the biologic behavior of recurrent ameloblastoma through immunohistochemical study.

The PCNA, Ki-67, p53 and cytokeratin 17, cytokeratin 18 antibody staining were used. There was significant difference of positive reaction between non-recurrent ameloblastoma and recurrent ameloblastoma in PCNA and cytokeratin 17. There were no significant difference of positive reaction between non-recurrent ameloblastoma and recurrent ameloblastoma in p53, Ki-67 and cytokeratin 18.

From the above results, it is suggested that the recurrence of ameloblastoma is related to positive reactions of PCNA and cytokeratin 17 and the prognosis of the recurrence of ameloblastoma is able to be predicted by using PCNA and cytokeratin 17.

**Key words :** Ameloblastoma, p53, Ki-67, PCNA, Cytokeratin

### 1. 서 론

법랑모세포종은 가장 흔히 발생하는 치성 종양으로서 기원은 치제(dental lamina) 잔존물, 퇴축치성상피, Malassez 잔존상피, 치성낭종의 상피세포, 발생중인 법랑 기관, 구강상피의 기저층 등으로 알려져 있으며 조직학적으로 양성종양에 해당하나, 인접조직으로의 국소 침윤 및 파괴적 성장양상을 보이며 안면의 변형 및 기능부전을 나타내어 임상적으로 악성 종양과 유사한 경과를 보이고 높은 재발 성향을 나타낸다<sup>1)</sup>. 재발율에 있어서도 법랑모세포종의 생물학적 특성, 특히 재발 빈도와 임상적 특성들을 비교한 연구를 살펴보면 민<sup>2)</sup>은 법랑모세포종의 재발율을 23.8%로, 이<sup>3)</sup>는 22.9%로 보고하였다. 이와 같은 임상적인 악성

의 성향과 높은 재발율로 인하여 법랑모세포종의 처치시 각별한 주의가 요구되며 법랑모세포종의 생물학적 특성 및 예후에 대한 깊은 연구가 이루어져야 한다. 종양의 생물학적 특성, 분류 및 예후는 그 종양의 증식능력과 밀접한 연관이 있기 때문에 종양의 증식능력을 분석하기 위한 다각적인 연구가 시행될 수 있으며 최근에는 면역 조직 화학적 연구가 활발히 이루어지고 있다.

면역 조직 화학적 연구는 조직 내의 특정 물질의 항원-항체 반응을 이용하여 특이적으로 검출하는 방법으로 조직 표본에서 수많은 항원에 대한 특정 부위의 감수성을 분석함으로써 원하는 결과를 얻을 수 있는 효율적인 방법이다. 최근 여러 가지 단백질자에 대한 항체들이 개발됨으로써 치성 낭종이나 치계 종양의 증식성, 분화 활성도에 관한 연구가 활

발히 이루어지게 되었다. 특히 법랑모세포종에서 병리조직학적 유형을 비롯한 임상병리학적 인자들에 의한 재발 위험성에 대한 예측은 불충분하기 때문에 종양의 증식능을 비롯한 종양의 발달 과정에 영향을 주는 표지자들에 대한 여러 연구가 진행되고 있다<sup>4)</sup>.

즉 p53, Ki-67, PCNA(proliferating cell nuclear antigen)등의 세포주기와 관련되는 단백질과 cytokeratin 등의 세포 분화 활성도와 관련되는 단백질에 대한 항체를 이용한 면역 조직 화학적 연구 결과들이 보고 되어 왔다.

이러한 여러 표시자를 이용한 조직면역화학적 연구는 대부분의 연구들이 악성종양에서 주로 행해지고 있으며, 양성종양에서의 발현 정도를 연구한 문헌들이 매우 적은 상태이다. 법랑모세포종은 병리적으로는 양성이나 임상적으로는 악성도를 보이는 종양으로 유명하다. 이에 본 연구에서는 악성에 가까운 법랑모세포종에 있어 재발과 관련된 법랑모세포종의 생물학적 특성을 이해하기 위하여 현미경학적으로 재발된 법랑모세포종과 방사선학적으로 그리고 임상적으로 재발하지 않은 법랑모세포종의 파라핀 포매조직을 이용하여 기존에 종양의 악성도와 관련이 있는 것으로 알려진 p53과 세포증식 관련인자인 Ki-67, PCNA, 그리고 세포 분화 관련인자인 cytokeratin에 대한 면역 조직 화학적 연구를 시행하여 법랑모세포종의 재발과 각각의 유전자의 발현양상이 갖는 상호연관성을 통계적 분석을 통하여 재발과 관련한 인자로서의 의의를 알아보고자 한다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

연구대상은 1998년부터 2002년까지 부산대학교병원 구강악안면외과에서 법랑모세포종으로 진단받고 수술을 시행한 환자들 중 파라핀 포매 조직의 이용이 가능한 재발하지 않은 10례와 재발한 10례를 대상으로 하였으며 재발하지 않은 증례에 있어서는 최소 2년이상 구내 파노라마 사진과 컴퓨터 단층사진의 방사선학적 소견과 임상적으로 재발의 소견이 없는 경우를 선택하였고, 재발한 경우에 있어서는 첫 수술시의 파라핀 포매조직을 이용하였다. 환자의 평균나이는 각각 42.7세와 45.2세로 발생연령은 13세부터 60세까지와 13세부터 67세까지였으며, 남녀의 성비는 6 : 4로 둘다 남성에서 빈발하였다. 발생 부위별 빈도는 재발하지 않은 증례에서 하악 우측 구치부 5례, 하악 좌측 구치부 5례, 재발한 증례에서 하악 우측 3례, 하악 좌측 5례, 하악 전방부 1례, 상악 전방부 1례로 나타났다. 수술방법으로는 재발하지 않은 경우에는 보존적인 단순 절제가 8례, 골절제술이 2례였으며 재발한 경우에는 각각 9례와 1례였다 (Table 1).

### 2. 면역조직화학적 염색법

수술시 적출된 후 파라핀에 포매 되어 보관중인 조직 표본을 골라 4μm 두께의 연속 절편으로 만들어 silanized slide에 부착시켰고, xylene에 각각 10분간씩 3회 담가 탈파라

**Table 1.** Clinical Features of Patients Between Non-Recurred and Recurred Group

Pt. No.	Non-recurred Ameloblastoma					Recurred Ameloblastoma				
	sex/type	age	site	follow up(mon)	Tx.	sex/type	age	site	no. of rec.	Tx.
1	M/U	27	Mn.(Rt.)	24	Ex	M/A	67	Mn.(Ant.)	2	Ex
2	F/U	13	Mn.(Rt.)	46	Ex	M/U	21	Mn.(Rt.)	2	Ex
3	F/U	35	Mn.(Lt.)	35	Ex	M/U	13	Mx.(Lt.)	3	Ex
4	M/U	33	Mn.(Rt.)	26	Ex	F/U	23	Mn.(Lt.)	3	Res
5	F/U	42	Mn.(Lt.)	40	Ex	M/U	35	Mx.(Lt.)	2	Ex
6	M/A	27	Mn.(Rt.)	26	Res	M/P	63	Mn.(Lt.)	2	Ex
7	M/A	29	Mn.(Lt.)	38	Ex	M/U	27	Mn.(Rt.)	2	Ex
8	M/F	60	Mn.(Rt.)	51	Ex	F/F	43	Mx.(Ant.)	2	Ex
9	M/F	30	Mn.(Lt.)	46	Res	F/U	34	Mn.(Rt.)	2	Ex.
10	F/P	14	Mn.(Lt.)	36	Ex	F/A	29	Mn.(Lt.)	2	Ex

Abbreviation: mon, month; rec., recurrence; U, unicystic; A, acanthomatous; F, follicular; P, plexiform; Ex, excision; Res, block resection

핀화 과정을 거친 후 100%, 90%, 80%, 70% 에탄올에 3분간씩 처리하여 수화과정을 거쳤다. 이후 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위하여 메탄올-과산화수소용액에 10분간 처리하였다. pH 7.6의 Tris 완충액으로 5분간씩 3회 세척하였고 각각의 슬라이드는 pH 6.0 citrate buffer 용액에 충분히 잠기게 하여 autoclave에 15분간 가열하였다. 상온에서 PBS 용액에 20분간 방치하여 냉각한 후 각 단백질에 대한 일차항체를 반응시켰는데, p53에 대한 일차항체는 mouse monoclonal antibody인 clone DO-7(NEOMARKER, USA)을 1:100으로 희석하여 사용하였고, Ki-67에 대한 일차항체는 mouse monoclonal antibody인 clone A53-B(NEOMARKER, USA)를 1:50으로, 그리고 PCNA에 대한 일차항체는 mouse monoclonal antibody인 clone PC10(ZYMED LABORATORIES INC, USA)를 1:50으로 희석하였으며, cytokeratin 17, 18에 대한 일차 항체는 monoclonal antibody인 Anti-cytokeratin (Zymed Co., USA)를 1:50으로 희석하였으며 각각 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 이후 완충액에 세척한 뒤 일차항체를 실온에서 15분간 반응시킨 후 완충액으로 다시 세척하였다. 다음으로 streptavidine과 반응시킨 후 다시 완충액에 세척하였고, 발색제로 Histostain plus kits (Zymed Laboratories INC, USA)를 사용하여 발색을 하였다. 이후 다시 완충액에 세척하고 Meyer's hematoxylin 대조염색을 실시하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

### 3. 면역조직화학적 염색의 결과 평가 방법

염색된 슬라이드는 환자의 임상적 자료에 대한 지식이 없는 한명의 판독자에 의해 판독되었다. 현미경 관찰은 중앙의 중심부를 선택하여 시행하였으며, 100배와 400배 현미경 소견 하에서 시행하였다. p53, Ki-67, PCNA, 그리고 cytokeratin 모두 세포의 핵 안에 분명한 갈색의 과립성 반응을 보일때 의미 있는 것으로 판단하였다.

#### 1) p53, Ki-67, PCNA의 면역 조직 화학적 검사

염색 표본의 100배율 현미경 상에서 가장 진하게 염색된 부위를 다시 400배율로 확대하여 현미경하에서 1000개의 세포 중 염색된 세포의 백분율을 계산하여 전체 세포에 대한 양성 반응을 보이는 세포의 수를 counting하여 아래의 백분율로 표시 하였다<sup>5)</sup>.

$$(\text{염색된 세포의 수}) / (\text{전체 상피세포의 수}) \times 100(\%)$$

특히 p53은 염색된 세포의 백분율이 10% 이상인 경우를 양성, 그리고 미만인 경우를 음성으로 정하였다.

#### 2) cytokeratin 17, 18의 면역 조직 화학적 검사

염색 표본의 상피의 염색 정도를 intensity와 pattern으로 각각 평가 하였다<sup>6)</sup>. 염색 정도(intensity)는 negative(-), weak(±), moderate(+), strong(++)으로 나타냈으며, 염색 양태(pattern)는 상피 세포층의 부위에 따라 upper(상층), middle(중간층), basal(기저층), all(전층), focal(국소적) 등으로 나타내었다.

### 4. 통계학적 분석

재발한 법랑모세포종과 재발하지 않은 법랑모세포종 사이의 유의성의 검정은 Ki-67과 PCNA에서는 student T-test를 사용하였고, p53과 cytokeratin 17, cytokeratin 18에서는 paired T-test를 사용하였으며, 유의수준은 모두  $p < 0.05$ 를 유의성 있는 것으로 판정하였다.

## Ⅲ. 연구결과

### 1. p53 항원 항체 반응

p53의 경우, 재발한 법랑모세포종에서는 6례에서, 재발하지 않은 법랑모세포종은 4례에서 p53의 양성의 단백 반응을 보였으며, 재발한 경우와 재발하지 않은 경우에 있어 임상적으로 유의한 차이는 없었다(Table 3).

### 2. Ki-67 항원 항체 반응

PCNA에서 보이는 강한 양성 반응과는 달리 약한 양성 반응을 보였다. 또한 양성 반응을 보이는 핵의 분포에 있어서도 PCNA에서와는 달리 비특이적으로 관찰되었다. 재발하지 않은 법랑모세포종의 경우 평균 7.99%, 재발한 법랑모세포종의 경우 평균 9.12%로 통계학적으로 유의성이 관찰되지 않았다( $p = 0.54$ )(Table 2).

### 3. PCNA 항원 항체 반응

Ki-67에서 보이는 반응보다 강한 양성 반응을 보였으며 조직학적 소견에 따라 염색되는 핵의 위치가 다르게 관찰되었다(Fig. 5~8). 재발하지 않은 법랑모세포종에 있어서는 평균 23.81%, 재발한 법랑모세포종은 평균 41.35%로 재발한 경우에 있어서 통계학적으로 유의성이 있게 PCNA에 대한 발현율이 관찰되었다( $p < 0.001$ )(Table 3).

### 4. cytokeratin 17, cytokeratin 18 항원 항체 반응

cytokeratin 17은 재발한 법랑모세포종과 재발하지 않은

**Table 2.** Immunohistochemical Expression of Ki-67 & PCNA

Pt. No.	Ki-67(%)		PCNA(%)	
	Non-recurred	Recurred-recurred	Non	Recurred
1	4.92	4.15	17.58	38.24
2	13.76	8.2	23.87	48.35
3	4.9	13.5	19.38	38.37
4	13.68	7.25	16.64	29.2
5	6.65	9.5	20.95	51.3
6	2.98	8.63	22.15	48.45
7	12.15	14.82	26.25	38.75
8	3.1	3.1	26.85	43.85
9	11.5	10.4	28.35	32.36
10	6.32	11.65	36.15	49.25
Mean±SD	7.99±4.31	9.12±3.73	23.81±5.12	41.35±7.36
p-value		0.54		<0.001

**Table 3.** Immunohistochemical Expression of p53, cytokeratin 17, cytokeratin 18

Pt. No.	p53		cytokeratin 17				cytokeratin 18			
	Non	Recurred	Non-recurred		Recurred		Non-recurred		Recurred	
	-recurred		I	P	I	P	I	P	I	P
1	-	-	+	all	++	all	-	-	-	-
2	-	+	+	basal	++	focal	+	focal	+	upper
3	+	+	-	upper	+	all	+	-	-	-
4	+	-	+	all	++	all	-	upper	+	-
5	+	+	+	all	++	all	-	focal	-	-
6	-	-	+	focal	+	focal	-	-	+	focal
7	-	+	+	focal	++	all	-	focal	-	-
8	-	+	±	all	++	all	-	upper	-	-
9	-	-	-	all	+	all	-	-	+	upper
10	+	+	+	upper	++	all	+	-	-	-
p-value		0.34			<0.001					0.67

Abbreviation: -, negative; ±, weak; +, moderate; ++, strong; I, intense; P, pattern

법랑모세포종의 거의 모든 층에서 염색 정도(intensity)가 높은(strong) 양성 반응을 나타냈으며 재발한 그룹에서 보다 강렬한 양성반응을 나타내었다.

cytokeratin 18은 cytokeratin 17보다 염색 반응의 정도가 낮았으며 재발한 법랑모세포종에서 보다 높은 양성 반응을 나타냈다. 재발한 법랑모세포종과 재발하지 않은 법랑모세포종에서 cytokeratin 18의 발현은 통계적 유의성을 보이지 않았으나(p=0.67), cytokeratin 17은 통계적 유의성을 보였다(p<0.05)(Table 3).

#### IV. 총괄 및 고찰

면역조직화학적 연구중 가장 주목을 받고 있는 것은 p53 항원으로, 종양 억제 인자 중 가장 많이 연구되어 왔다.

p53은 종양억제유전자로서 SV40 DNA 바이러스의 T 항원에 결합되는 인 단백질로 처음 분리되었으며 이 유전자는 53kD으로 17번 염색체에 위치하며, p53단백질의 기능은 DNA에 결합하여 DNA의 수복 및 합성, 세포분화 그리고 apoptosis 과정에 관여한다고 알려져 있다<sup>7)</sup>. 다양한 종양 발생 자극에 의해 p53 유전자 자체의 돌연변이 또는 p53 단백질과 세포성 단백 또는 바이러스성 단백질의 결합 등의 변화가 나타나며, 변이된 p53 단백질은 정상적인 p53 단백질에 비하여 DNA에 대한 친화력이 감소하기 때문에 정상적인 기능을 소실하여 세포증식을 유발시키고 화학적으로 안정되어 핵 내에 축적하게 된다<sup>7)</sup>. p53은 극도로 짧은 반감기를 가지고 있기 때문에 정상적인 상태에서는 인지되기가 어렵다. 하지만 p53에 변이가 발생되면, 반감기가 보다 길어져서 조직 면역 현광 염색법으로 인지될 수 있는 정도가 된

다<sup>8)</sup>. 비록 p53은 임상적으로 양성 양성과 양성 음성을 빈번히 보이지만<sup>9)</sup>, 변이된 형태의 p53이 악성 종양의 인지자 역할을 할 수 있으며<sup>10)</sup>, 종양의 생물학적 악성도와 연관이 있는 경우가 많아서 각종 종양의 예후 인자의 역할을 할 수 있다는 사실에 대해서는 널리 인정되고 있다<sup>11)</sup>.

최근에 구강내 치성종양의 세포증식능 증가의 원인으로 p53 유전자의 변이에 관한 보고가 있었다<sup>5)</sup>. 법랑모세포종에서는 p53 단백 발현이 관찰되나 정상 치성상피에서는 나타나지 않으며<sup>12)</sup> el-Sissy<sup>13)</sup>는 p53 단백 발현이 단방성 법랑모세포종의 경우에서 일반적인 다방성 법랑모세포종에 비해 강하게 나타나므로 야생형 p53 유전자 억제제는 단방성 법랑모세포종의 성장 능력을 나타내며, 변이형 p53 단백 발현은 종양발생 과정 중 아마도 기존의 치성낭종에서 법랑모세포종으로의 종양성 전환을 시사하는 초기 변화로 여겨진다고 보고하였으며, 경계성 및 악성 법랑모세포종에서 p53 단백질의 발현이 나타나는 것은 변이형 p53이 종양의 성장을 촉진하는 oncogenic role을 하기 때문이라고 하였다. 따라

서 법랑모세포종에서 p53 단백 발현의 빈도와 강도가 증가하는 것은 악성 변화를 예견할 수 있는 선별 검사로 의의가 있다고 하였다.

Slootweg<sup>3)</sup>는 법랑모세포종에서 66.7%의 높은 p53 단백 발현율을 보고하였으며 세포증식과 상관관계는 있으나 병소의 위치와는 관계가 없다고 보고하였다. 이<sup>3)</sup>의 연구에서는 p53의 발현율이 25.7%로 Slootweg<sup>3)</sup>의 결과에 비해 낮은 양성 반응을 보였으며, 조직학적으로도 여포형에서는 15.8%의 발현율을 보인 반면 망상형인 경우 37.5%로 망상형에서 약간 높은 발현율을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 아니었다. 재발이 있는 경우 p53 단백 발현율이 12.5%로 재발이 없는 경우의 29.6%보다 오히려 낮아 p53 발현과 재발을 사이의 연관성은 나타나지 않았다.

본 연구에서 p53 단백 양성은 이<sup>3)</sup>의 결과보다는 높게 나왔으나 Slootweg<sup>3)</sup>의 결과보다는 낮게 나왔다. 그러나 이<sup>3)</sup>의 연구와 비슷하게 p53발현에 따른 재발율의 차이는 없어 재발율을 예견하는 인자로서의 의의는 없었다.

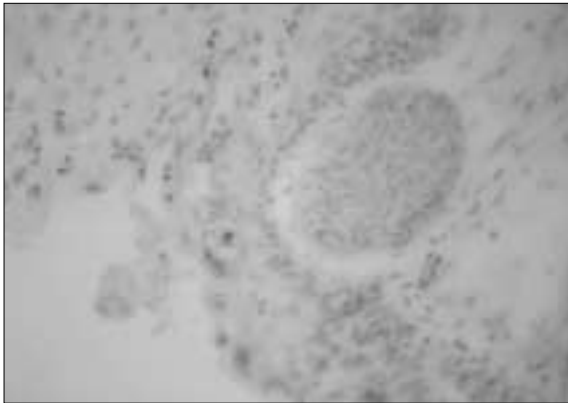


Fig. 1. p53 immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(original magnification × 400).

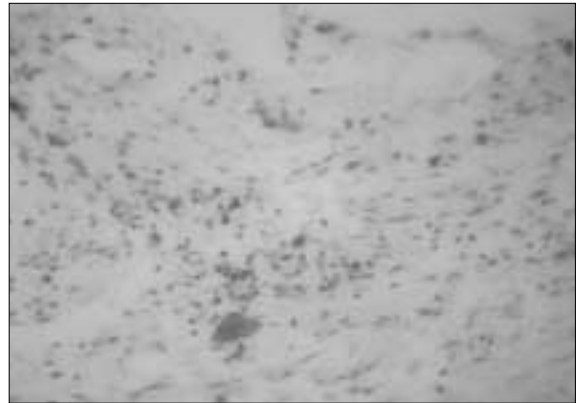


Fig. 2. p53 immunoreactivity on recurred ameloblastoma(original magnification × 400).

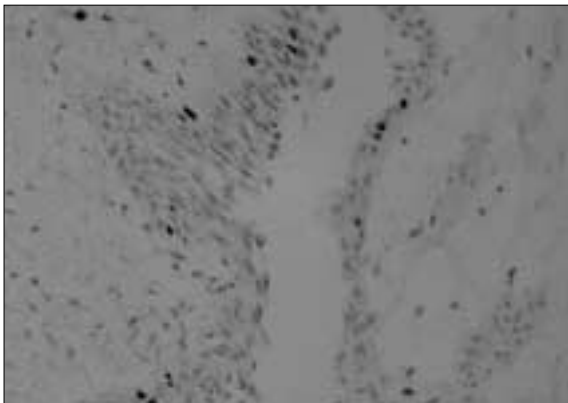


Fig. 3. Ki-67 immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma (original magnification × 400).

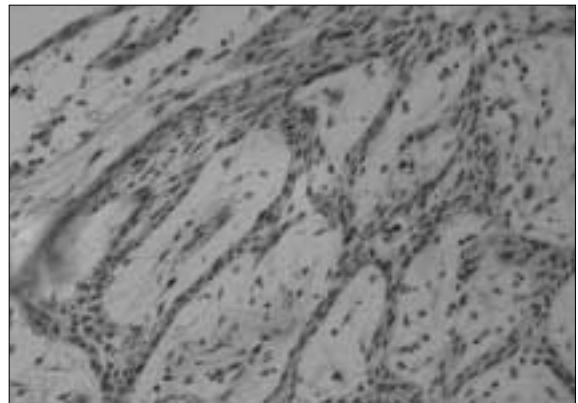
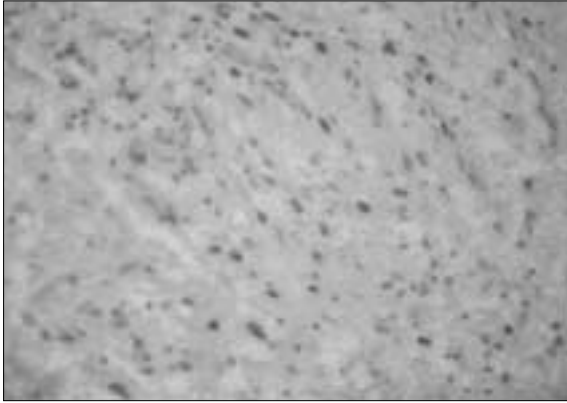


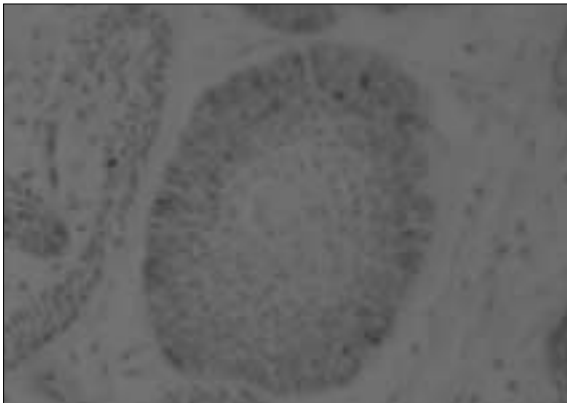
Fig. 4. Ki-67 immunoreactivity on recurred ameloblastoma(original magnification × 400).



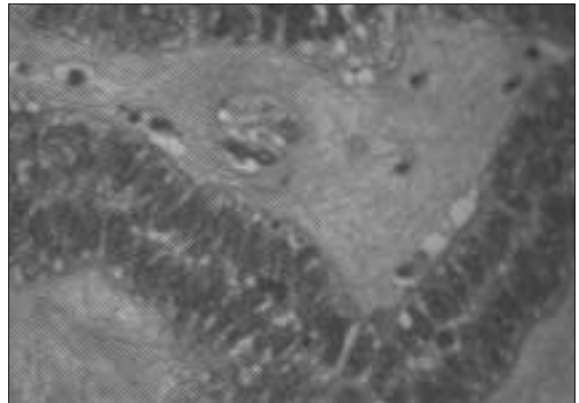
**Fig. 5.** PCNA immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(uncystic, original magnification × 400).



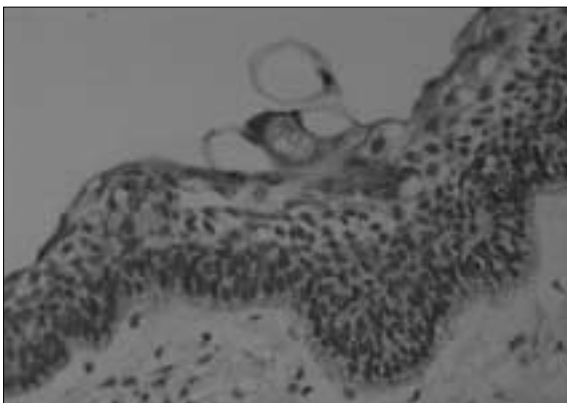
**Fig. 6.** PCNA immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(follicular, original magnification × 400).



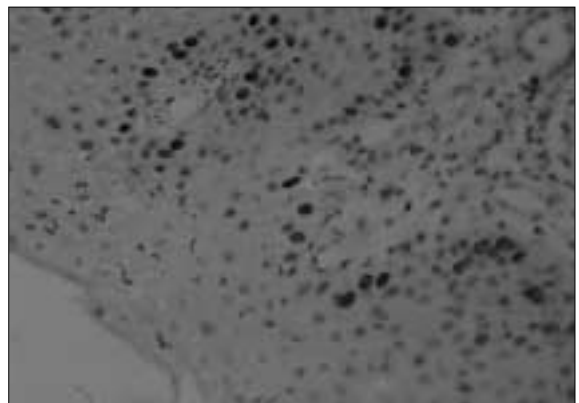
**Fig. 7.** PCNA immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(acanthomatous, original magnification × 400).



**Fig. 8.** PCNA immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(plexiform, original magnification × 400).



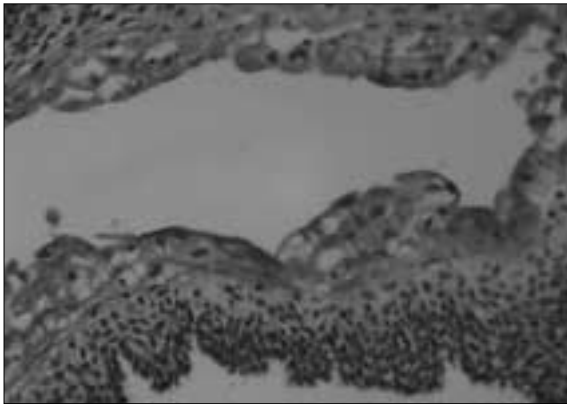
**Fig. 9.** PCNA immunoreactivity on recurred ameloblastoma(original magnification × 400).



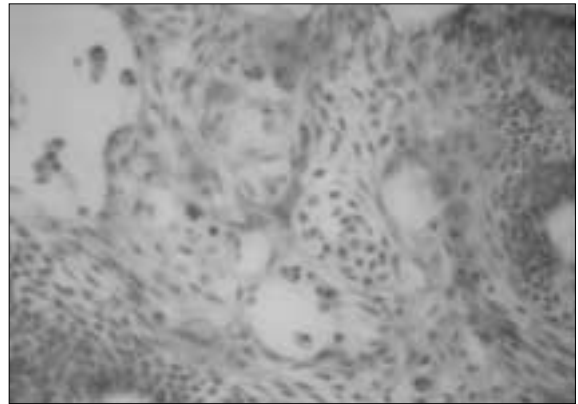
**Fig. 10.** Cytokeratin 17 immunoreactivity on non-recurred ameloblastoma(original magnification × 400).

종양의 생물학적 특성을 나타내는 인자로 종양의 증식능이 중요하며, Hall 등<sup>13)</sup>은 조직진단에 있어서 형태학적 소견과 함께 세포 증식능의 평가를 함으로써 객관적이고 합리적인 진단을 할 수 있다고 하였고, 이후 세포증식 관련 항원의

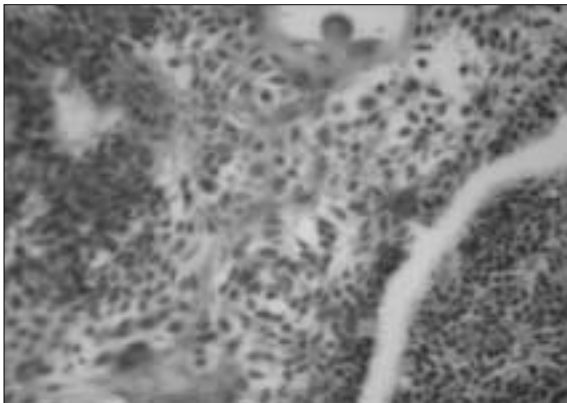
면역조직학적 평가가 널리 시행되어 왔다. 종양의 증식능을 알기 위해 널리 이용되는 항체중의 하나가 Ki-67이며<sup>14)</sup>, 이 항원은 G2기와 M기에 주로 발현되는 세포핵의 항원으로, 1983년에 처음으로 소개되었으며, 종양의 성장 정도를 측



**Fig. 11.** Cytokeratin 17 immunoreactivity on recurrent ameloblastoma(original magnification × 400).



**Fig. 12.** Cytokeratin 18 immunoreactivity on non-recurrent ameloblastoma(original magnification × 400).



**Fig. 13.** Cytokeratin 18 immunoreactivity on recurrent ameloblastoma(original magnification × 400).

정하는데 있어 비교적 정확하며 비용과 시간을 아낄 수 있는 장점이 있어서 널리 사용되어 왔다<sup>15)</sup>. Ki-67항원의 일부 재조합 부위에 대한 단클론성 항체인 MIB항체를 사용함으로써 파라핀으로 포매된 조직에서도 면역 화학적 반응을 할 수 있게 되었다. 따라서 저장되어 있는 오래된 파라핀 포매 조직으로도 면역 화학적 염색이 가능해지고 세포분열의 활성도에 대한 후향적 연구도 가능하게 되었다<sup>16)</sup>. 본 연구에서도 신선 조직 절편이 아닌 파라핀 포매 조직을 이용하여 법랑모세포종의 상피 세포의 증식성을 확인하였다. 면역조직 화학적 방법에 의한 Ki-67 항원의 검출은 두경부 암종을 포함한 악성 종양에서 악성도를 나타내는 증식능의 평가를 위한 방법으로 이용되고 있으며 종양의 Ki-67 발현이 임상적 경과와 연관성이 있다는 보고가 많다<sup>17-19)</sup>. 법랑아세포의 Ki-67 양성 세포는 종양조직 군집의 변연부와 중심부의 망상형 세포에서 관찰되며, 표지지수는 망상형은 3.68%, 여포형은 1.78%로서 망상형에서 높다고 하였다<sup>20)</sup>. Ong'uti 등<sup>21)</sup>은 법랑모세포종의 MIB-1 발현율이 81.5%라고 보고하였고, 환자의 연령, 성별, 종양의 크기 등과의 연관성은

찾을 수 없다고 보고하였으며, 여포형의 표지지수 평균은 5.0%, 망상형은 3.2%로서 여포형에서 유의하게 높은 표지지수를 보인다고 하였다. 또한 하악의 전방부에 발생한 망상형 법랑모세포종의 경우는 후방부에 발생한 경우에 비해 현저히 낮은 표지지수를 보이며, squamous arcades 부분에서 epithelial cords와 cysts이 비해 높은 표지지수를 보여 Ki-67 표지지수는 법랑모세포종의 조직학적 양상과 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있다고 보고하였다. Slootweg<sup>5)</sup>는 법랑모세포종에서 치성 낭종에 비해 높은 Ki-67의 발현율을 보이지만 악성 종양에 비해 그 강도는 약하다고 보고하였으며, 조직학적 소견에 따른 차이는 없다고 하였다. 이<sup>3)</sup>의 연구에서는 77.1%의 MIB-1 발현율을 보여 다른 결과와 비슷하였고, 재발이 있었던 예에서 87.5%로 재발이 없었던 예의 71.4%에 비해 다소 높게 발현되었으나 통계학적 유의성은 없었으며, 조직학적 유형에 따라서는 망상형에서 81.3%로 여포형의 73.7%에 비해 다소 높게 나타났다. 이번 연구에서는 Ki-67의 경우 PCNA에서 보이는 양성 반응보다는 낮게 나타났으며 재발한 법랑모세포종에서는 9.12%로 재발하지 않은 법랑모세포종의 7.99% 보다 높게 나타났으나 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

PCNA는 DNA polymerase delta의 보조적인 단백질로<sup>22)</sup>, DNA의 복제에 관여한다고 알려져 있다<sup>23)</sup>. 일반적으로 PCNA의 조직면역형광법은 종양조직에서 성장에 관여하는 부분이 얼마 만큼인지 알려주는 척도로 작용한다. 이 PCNA는 1978년 Miyachi 등이 흉반성 낭창 환자의 혈청에 항체가 존재함을 밝힌 이후 알려졌고, Bravo 등은 PCNA가 36kDa의 핵 단백질로서 G1후기에서부터 S기의 전반에 걸쳐 발현됨으로써 이 단백질에 대한 항체는 증식 세포의 핵을 면역 조직 화학적으로 검출하는데 매우 유용한 도구로 사용될 수 있다고 하였다<sup>22,24)</sup>. 즉 PCNA 항원성은 세포주기의 G1 후기부터 S기의 초기 세포의 특징적인 표지자가 될

수 있다. 따라서 조직 내에서 관찰하고자 하는 세포군의 증식성을 쉽게 관찰 할 수 있으며, 비교적 항원성이 뚜렷해서 포르말린 고정 처리된 표본에서도 식별이 가능하다<sup>25)</sup>.

이번 연구에서 PCNA에 대한 양성반응을 보이는 핵의 위치는 조직학적 소견에 따라 다른 소견이 관찰되었는데 망상형에서는 PCNA에 양성인 핵이 중앙섬의 중심부와 주변부의 양쪽에서 관찰되었으며 여포형에 있어서는 기저층에 주로 관찰 되었다. 또한, 극세포형은 주로 중앙섬의 주변부에서 관찰되었고 단방형은 중앙섬에서 주로 관찰된 반면 재발한 법랑모세포종에서는 비교적 불규칙하게 관찰되었다(Fig 5~9). 이는 이전의 Funaoka 등<sup>26)</sup>의 연구의 결과와 동일하였다.

이번 연구에서 재발한 법랑모세포종에서는 41.35%로 재발하지 않은 법랑모세포종의 23.81%보다 높게 나타났으며 이는 통계학적으로 유의성이 있게 관찰되었다. 이러한 결과는 재발한 법랑모세포종의 PCNA의 발현율이 비교된 어떠한 다른 개체의 법랑모세포종보다 높게 나타난 것이며 치근단 낭종, 치성각화낭종과 다른 개체의 법랑모세포종보다 PCNA의 발현이 재발한 법랑모세포종 개체에서 더 높았다고 보고한 Piattelli 등<sup>27)</sup>의 결과와 일치하였다.

Cytokeratin은 상피 세포의 체질을 유지하는 데 관여하며 상피 세포에 존재하는 중간 세사(intermediate filament)를 구성하는 섬유성 단백질로 각각의 polypeptide는 분자량에 따라 분류된다. 약 20종의 cytokeratin이 알려져 있으며 각각의 cytokeratin은 상피 세포의 분화 수준에 따라 발현 된다. Moll 등<sup>28)</sup>은 cytokeratin의 생성이 원래의 조직뿐만 아니라 종양 세포에서도 원래의 특성과 규칙성을 지닌다고 하였다. 따라서 이들은 상피세포의 종류와 분화도에 따라 다양하므로 상피세포의 분화도와 악성 전환의 표지자로 활용될 수 있는데, 여러 치성 낭종과 중앙 상피에 따른 cytokeratin 발현의 차이에 대한 연구가 계속되어져 왔다<sup>29)</sup>. cytokeratin 17은 저분자량의 산성 keratin으로 진피, 각화세포, 모낭, 편평 상피 기원의 종양 등에서 발견 된다<sup>28)</sup>. Cytokeratin 18은 타액선 상피와 타액선 기원의 종양에서 나타나며 치성 낭종과 중앙에서는 드물게 나타난다<sup>30)</sup>. 본 연구에서는 cytokeratin 17은 재발한 법랑모세포종과 재발하지 않은 법랑모세포종의 모든 층에서 염색 정도(intensity)가 높은(strong) 양성 반응을 나타냈으며 재발한 그룹에서 보다 강렬한 양성반응을 나타내었다. 그리고, cytokeratin 18은 Cytokeratin 17보다 염색 반응의 정도가 낮았으며 재발한 법랑모세포종에서 보다 높은 양성 반응을 나타냈다. 재발한 법랑모세포종과 재발하지 않은 법랑모세포종에서 cytokeratin 18의 발현은 통계적 유의성을 보이지 않았으나(p=0.67), cytokeratin 17은 통계적 유의성을 보였으며(p<0.05), cytokeratin 17이 cytokeratin 18보다 재발한 법랑모세포종에서 높게 발현 되었다.

## V. 결 론

부산대학교 치과병원 구강악안면외과에서 수술을 통해 법랑모세포종으로 현미경학적으로 증명된 표본중 재발한 경우의 10례와 재발하지 않은 10례를 이용하여 재발과 관련된 법랑모세포종의 생물학적 특성을 이해하기 위하여 종양의 악성도와 관련이 있는 것으로 알려진 p53과 세포증식 관련인자인 PCNA, Ki-67, 세포 분화 관련인자인 cytokeratin에 대한 면역 조직 화학적 연구를 통해 법랑모세포종의 재발과 각각의 유전자의 발현양상이 갖는 상호연관성을 통계적 분석을 통하여 이 유전자들의 발현양상이 갖는 예후인자로서의 의의를 알아보하고자 하였으며, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. p53 및 Ki-67, 그리고 cytokeratin 18의 발현과 법랑모세포종의 재발의 상관관계에서는 통계적으로 유의성을 보이지 않았다.
2. PCNA 및 cytokeratin 17의 발현과 법랑모세포종의 재발의 상관관계에서는 통계적으로 유의성이 있는 것으로 나타났다.

이번 연구 결과 PCNA와 cytokeratin 17은 법랑모세포종의 재발을 예측하는 하나의 예후인자로 생각해 볼 수 있다. 하지만 앞으로 더 많은 대상군을 이용한 추가적인 연구를 통해 보다 더 유의성 있는 예후인자에 대한 분석이 필요할 것으로 생각한다.

## 참고문헌

1. Charles A : Odontogenic cysts and tumors in Neville, Damm, Allen, Bouquot : Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 611, 2002.
2. Gao Z, Mackenzie C, Cruchley A : Cytokeratin expression of odontogenic epithelia in dental follicles and developmental cyst. J Oral Pathol Med 18 : 63, 1989.
3. Tsuji T, Mimura Y, Wen S, Kanekawa K, Sasaki F : The significance of PCNA and p53 protein in some oral tumors. Int J Oral Maxillofac Surg 24 : 221, 1995.
4. Ong'uti MN, Cruchley AT, Howells GL, Williams DM : Ki-67 antigen in ameloblastomas correction with clinical and histological parameters in 54 cases from Kenya. Int J Oral Maxillofac Surg 26 : 376, 1995.
5. Slootweg PJ : P-53 protein and ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions on immunohistochemical study. J Oral Pathol Med 24 : 393, 1995.
6. Hall PA, Woods AL : Immunohistochemical markers of cellular proliferation, achievement, problems and prospects. Cell Tissue Kinet 23 : 505, 1990.
7. Levine AJ, Momand J, Finlay C : The p53 tumor suppressor gene. Nature 351 : 453, 1991.
8. Tsuji T, Mimura Y, Wen S, Kanekawa K, Sasaki F : The significance of PCNA and p53 protein in some oral tumors. Int J Oral Maxillofac Surg 24 : 221, 1995.
9. Wynford-Thomas D : p53 protein in the cellular response to DNA damage. Cancer Res 51 : 6304, 1991.
10. Hall PA, Lane DP : p53 in tumor patholog : can we trust



- imm- unocytochemistry? Revisited J Pathol 72 : 1, 1994.
11. Lane DP : p53, guardian of the genome. Nature 385 : 15, 1992.
  12. el-Sissy NA : Immunohistochemical detection of p53 protein in ameloblastoma types. East Mediterr Health J 5 : 478, 1995.
  13. Hall PA, Woods AL : Immunohistochemical markers of cellular proliferation, achievement, problems and prospects. Cell Tissue Kinet 23 : 505, 1990.
  14. Gernes J, Schwab U, Lemke H : Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer 31 : 13, 1989.
  15. Gerdes J, Lemke H, Baisch H : Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 133 : 1710, 1984.
  16. Cattoretti G, Becker MHG, Key G : Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67, antigen(MIB1 and MIB3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. Pathol 168 : 357, 1992.
  17. Gerdes J, Lemke H, Bainsch H : Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 133 : 1710, 1984.
  18. Grogan TM, Lippman SM, Spier CM : Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. Blood 71 : 1157, 1988.
  19. Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Montin J : Ki-67 immunostaining human breast tumors and its relationship to prognosis. Cancer 67 : 421, 1991.
  20. Nagao Y, Wato M, Tanaka A : Histochemistry of Ki-67 antigen in ameloblastomas. J Osaka Dent Univ 33 : 53, 1999.
  21. Ong'uti MN, Cruchley AT, Howells GL, Williams DM : Ki-67 antigen in ameloblastomas correlation with clinical and histological parameters in 54 cases from Kenya. Int J Oral Maxillofac Surg 26 : 376, 1997.
  22. Bravo R, Frank R, Blundell P : Cyclin/PCNA is auxiliary protein of DNA polymerase delta. Nature 326 : 515, 1978.
  23. Jaskulski D, Deriel JK, Mercher WE, Calabretta B, Baserga R : inhibition of cellular proliferation by antisense of oligodesoxynucleotides to PCNA Cyclin. Science 240 : 1544, 1988.
  24. Miyachi K, Frizler MJ, Tan EM : Autoantibody to a nuclear in proliferating keratocyst. J Immunol 121 : 228, 1978.
  25. Yu CC, Filipe MI : Update on proliferation-associated antibodies applicable to formalin-fixed paraffin-embedded tissue and their clinical applications. Histochem J 25 : 515, 1978.
  26. Funaoka K, Risue M, Kobayshi I : Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 23 cases of ameloblastoma. Oral Oncol Eur J Cancer 32B : 328, 1996.
  27. Piattelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C : Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts. Oral Oncology 34 : 408, 1988.
  28. Moll R, Franke WW, Schiller DL : The catalog of human cytokeratins : patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 31 : 11, 1982.
  29. Matthews JB, Gillian IM, Browne RM : Epithelial cells markers and proliferating cells in odontogenic jaw cysts. J Pathol 156 : 283, 1998.
  30. Gao Z, Mackenzie C, Cruchley A : Cytokeratin expression of odontogenic epithelia in dental follicles and developmental cyst. J Oral Pathol Med 18 : 63, 1989.

**저자 연락처**

우편번호 602-739  
 부산시 서구 아미동 1-10  
 부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실  
**신상훈**

원고 접수일 2005년 5월 14일  
 게재 확정일 2005년 8월 19일

**Reprint Requests**

**Sang-Hun Shin**  
 Dept. of OMS, College of Dentistry, Pusan National University  
 1-10, Ami-dong, Seo-gu, Pusan, 602-739, Korea  
 Tel: 051-240-7429  
 E-mail: ssh8080@pusan.ac.kr

Paper received 14 May 2005  
 Paper accepted 19 August 2005