

면역조직화학염색법을 이용한 자극성 섬유종과 구강 백반증에서의 TGF-β1과 EGFR 발현 비교 연구

유 미 현
남서울대학교 치위생학과

Expression of TGF-β1 and EGFR in Irritation Fibroma and Oral Leukoplakia

Mi-Heon Ryu

Department of Dental Hygiene, Namseoul University, Cheonan City 330-707, Korea

ABSTRACT Irritation fibroma (IF) is the most common tumor-like oral lesion that is evolved by proliferation of collagen in response to chronic irritation. Oral leukoplakia (OL) is considered as precancerous lesion characterized by proliferation of epithelial cells due to chronic irritation, smoking and drinking. TGF-β1 and EGFR are important factors that play an essential role in extracellular matrix remodeling during normal wound healing process. The epithelial reaction by chronic irritation may be connected with pathogenesis of IF and OL. In the present study, we examined the expression of TGF-β1 and EGFR in the IF and OL using immunohistochemistry. We used 88 cases of IF, 44 cases of OL and 9 cases of normal oral mucosa as normal control. TGF-β1 was decreased in the epithelium of IF and OL. As for EGFR, the epithelial cells revealed the increased positive expression in IF and OL. In case of OL, the Spearman correlation coefficient of TGF-β1 and EGFR was -0.10 ($p < 0.05$), which showed weak correlation. In the fibrous tissue, TGF-β1 was increased only in IF. The expression difference of TGF-β1 and EGFR may be involved in the pathogenesis of IF and OL.

Key words Irritation fibroma, Oral leukoplakia, Wound healing, TGF-β1, EGFR

서 론

구강에서 발생하는 자극성 섬유종은 구강 내 나타날 수 있는 가장 흔한 증식성 질환 중 하나이다. 발생 원인은 교합력, 잘 맞지 않는 의치, 치석 등에 의한 지속적인 자극, 협점막과 입술 등을 지속적으로 깨무는 행위 등에 의한 상피 하부 결체 조직의 증식이 초래되는 병소이다. 자극성 섬유종은 성인에서 많고 치은, 입술, 협점막, 혀의 가장 자리 등 흔히 자극을 받을 수 있는 위치에서 주로 발생한다. 임상적 소견은 정상 색깔의 매끈한 점막 표면으로 덮인 돔(dome) 모양의 성장 패턴을 나타낸다. 생검한 조직을 검경하였을 경우 결체 조직이 증식하여 상피 하부로 종괴를 형성한 소견을 관찰할 수 있으며 종괴를 피개하고 있는 구강 상피는 위축되어 얇은 층만을 남기거나 결체 조직층으로 downward growth pattern을 보이는 경우도 있다. 자극성 섬유종은 만성 자극에 대해 섬유아세포와 교원질(collagen) 성 산물의 과증식을 나타내어 형성된 병소로 생각된다⁽²⁾.

구강내 발생할 수 있는 또 다른 질환으로서 구강 내 백반

증이 있는데 이는 “벗겨지지 않고 다른 질환으로 분류되지도 않는 구강 점막에 발생한 백색 반점”으로 정의된다⁽¹⁾. 백반증은 자극성 섬유종과는 달리 전암 병소로 간주되며 치료 후 다시 재발할 수 있고 치료하지 않고 방치하였을 경우 5.4%의 비율로 편평세포암종으로 진행할 수 있는 병소로 알려져 있다. 발생 원인은 흡연, 음주, 구강 점막의 만성적 자극, 불결한 구강 위생, 우식이나 파절된 치아의 날카로운 면에 의한 지속적인 자극, HIV 감염 환자에서의 EBV 감염, *Candida albicans*에 의한 만성 감염, 만성 편평태선과 일부 유전성 질환 등이라고 알려져 있다⁽²⁾. 백반증은 구강 점막의 상피층의 증식으로 인해 발생하며 현미경적 소견으로는 구강 점막의 비후, rete ridge의 신장, 상피 세포의 이형성 소견, 상피 하부 결체 조직으로의 만성 염증 세포 침윤 등의 소견을 볼 수 있다⁽²⁾.

구강 점막에 만성적인 자극이나 외상이 가해졌을 경우 점막 상피에서 가장 먼저 자극을 받아들여 된다. 이러한 자극에 대한 신호가 기저막을 거쳐 상피 하부 결체 조직으로 전달되면 상처 치유 기전이 일어나 세포의 반응과 세포 기질의 반응, 이를 조절하는 인자들의 작용 등에 의하여 정상적인 조직으로 복구된다. 연조직에 외상을 받았을 경우 혈관계 반응이 가장 먼저 일어나고, 염증성 세포들인 호중구, 단핵구 세포, 림프구, 대식 세포들의 유주, 혈관 증대 등에 이어 상처 부위의 상피 세포화와

Corresponding author
Tel: 041-580-2562
Fax: 041-580-2560
E-mail: apollon@nsu.ac.kr

육아 조직의 형성이 일어난다. 육아 조직에서는 섬유아세포의 수가 증가하고, 섬유아세포는 세포 밖의 교원질과 procollagen 합성, 세포외 기질 합성 등에 능동적인 역할을 한다. 상처 치유 기전이 진행되어 정상적인 연조직 점막을 형성하는 과정에서 정교한 세포간 반응과 세포 활동 조절, 기질의 변화, 사이토카인(cytokine)과 여러 가지 인자의 작용이 복합적으로 작용한다^{3,4)}.

상처 치유 기전에서 작용하는 인자에는 PDGF(platelet derived growth factor), TGF(transforming growth factor)- β , EGF(epidermal growth factor), bFGF(basic fibroblast growth factor), VEGF(vascular endothelial growth factor), TNF(tumor necrosis factor)- α , 인터루킨(interleukin), 프로스타글란딘(prostaglandin), 교원질 분해 효소(collagenase), 엘라스틴 분해 효소(elastase), TIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase) 등이 있다. 이 인자들은 상처 치유 기전에서 초기 염증 반응과 이후 일어나는 수복 과정(repair process)에서 복합적으로 작용한다^{3,5)}.

상처 치유 기전이 정상적으로 일어나지 않는 경우 chronic wound healing, proliferative scar, keloid, submucosal fibrosis, gingival overgrowth, palmar fibromatosis 등의 질환이 일어날 수 있다. 이들 질환은 상처 치유 기전에서 작용하는 인자의 균형 이상에 의해 일어난다고 보고되었다. 구강 점막에 만성 자극이 가해졌을 때 자극성 섬유종에서는 상피 하부 결합 조직의 증식에 의해 섬유종 종괴가 형성되지만 구강 백반증에서는 상피층 증식과 과각화 현상이 일어난다. 자극성 섬유종은 진성 종양이라기 보다는 만성 자극에 의한 반응으로서 나타나는 반흔 조직을 닮은 교원질의 광범위한 합성으로 인한 병소이다^{1,2)}. 반면 구강 백반증은 만성 자극에 의해 상피 조직의 유전자적 변화를 일으켜 암중성 변화로 진행할 수 있는 전암 병소이다. 구강 점막에 만성 자극이 가해질 때 일어나는 두 병소에서의 서로 다른 반응 변화를 연구하기 위하여 상처 치유 기전에서 작용하는 인자 중 TGF- β 1과 EGFR(epidermal growth factor receptor)의 분비 변화 양상을 관찰 대상으로 하였다. 본 연구에서는 자극성 섬유종과 구강 백반증에서 상처 치유 기전에 관여하는 TGF- β 1과 EGFR의 발현 정도를 관찰함으로써 만성 자극에 대한 반응의 차이를 연구하여 상피-결합 조직간 신호 전달체계의 차이를 이해하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1) 정상 구강 점막

정상군의 연구 대상으로는 연세대학교 치과대학 부속 병원에 내원한 성인 남녀로서 흡연의 기왕력이 없으며 다른 구강 점막 병소가 없는 정상 성인의 구강점막을 채취하였다. 정상군으로 사용한 연구 대상은 총 9예였다.

2) 자극성 섬유종

1997년 1월부터 2004년 12월까지 연세대학교 치과대학 구강병리학 교실에서 자극성 섬유종으로 진단된 예 중 88예를 대상으로 하였다.

3) 구강 백반증

1997년 1월부터 2004년 12월까지 연세대학교 치과대학 구

강병리학 교실에서 구강 백반증으로 진단된 예 중 44예를 대상으로 하였다. 구강 백반증 상피 하부 결합 조직에 염증이 적고, 상피 이형성이 거의 없으며 조직 보관 상태가 양호하여 H/E 슬라이드의 검색이 가능한 예를 대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) 조직학적 검토

H/E 슬라이드를 검경하여 자극성 섬유종과 구강 백반증의 조직학적 양상을 관찰하였다.

2) H/E 염색과 면역조직화학적 염색

조직학적 관찰을 위해 생검된 정상 성인 9명과 자극성 섬유종, 구강 백반증 환자의 조직을 10% 중성 포르말린에 24시간 고정하고 증류수에 20분 세척하였다. 이후 에틸 알코올(ethyl alcohol)로 탈수하고 xylene으로 세척하여 파라핀으로 포매한 후 3 μ m의 박절 표본을 제작하였다. 이 박절 표본을 탈파라핀화 과정과 에틸알코올을 함수 과정, 수세 과정을 거쳐 H/E(hematoxylin and eosin) 염색을 시행하였다.

면역조직화학적 염색을 시행하기 위해 상기의 파라핀 포매 블록에서 박절 표본을 만들어 30분간 xylene 용액에 담가 파라핀을 제거하고 100%, 90%, 70% 에틸알코올에 순차적으로 함수하였다. 3% H₂O₂ 용액으로 10분간 endogenous peroxidase를 제거한 후, 0.4% trypsin 용액으로 20분간 효소 처리하여 항원을 노출시켰다. 이후 goat serum에 30분간 반응시킨 후 TGF- β 1(토끼의 혈청에서 추출한 복합 항체, Santa Cruz사 제품, 1:50 희석)와 EGFR(mouse의 혈청에서 추출한 복합 항체, Bio-Genex사 제품, 1:50 희석)을 일차 항체로 사용하여 각각 avidin-biotin 방법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 각 단계마다 phosphate buffered saline(PBS)으로 씻어냈고, DAB(3,3'-diaminobenzidine)로 발색한 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 광학 현미경(Olympus, CX31, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 음성 대조군으로는 일차 항체 대신 PBS를 반응시켰으며, 양성 대조군으로는 임신 3기의 태반 조직을 사용하여 함께 염색한 후 비교 관찰하였다.

염색 후 각 슬라이드당 10개의 부위(상피 5부위, 결합 조직 5부위)를 임의로 선정하여 digital camera가 부착된 현미경(Olympus, BX5IT, Tokyo, Japan)을 사용하여 200 배율로 사진 촬영하였다. 각 부위에서 상피의 경우는 기저막 상방에 위치하는 상피 부위의 상피 세포, 결합 조직의 경우는 기저막 하방 결합 조직내 위치하는 섬유아세포를 평가 대상으로 하였다. 임의로 선정된 부위에서 상피와 결합 조직 부위의 TGF- β 1과 EGFR의 양성 발현 정도를 평가하기 위하여 각 선정 부위에서 양성 발현도를 4개 그룹으로 나누어 측정하는 semi-quantitative manner를 사용하였다⁶⁾. (a) grade 0: 양성 발현이 없는 경우(negative), (b) grade 1: 양성 발현된 세포가 전체의 30% 이하인 경우(1+) (c) grade 2: 양성 발현된 세포가 전체의 30~70%인 경우(2+) (d) grade 3: 양성 발현된 세포가 전체의 70% 이상인 경우(3+) 각 그룹으로 분류한 후, 각 그룹마다 0~3점의 점수를 부여하여 점수화하였다.

3) 통계 처리

정상 구강 점막군과 자극성 섬유종, 구강 백반증 군 간

TGF-β1와 EGFR의 수치를 상피 부위 지수, 결합 조직 지수의 항목으로 나누어 독립 변수로 지정한 후 평가하였다. 자료의 분포가 정규 분포를 하지 않았고, 측정에 이용한 변수의 척도가 ordinal scale이었기 때문에 비모수 검정을 시행하였다. 정상 구강 점막군과 자극성 섬유종, 구강 백반증군간 TGF-β1와 EGFR 발현차이를 알아 보기 위해 Mann-Whitney U test를 이용하여 비교하였다. TGF-β1와 EGFR군간의 상관관계는 피어슨 상관 계수를 구하였다. SAS(statistical analysis system) 8.2 통계 패키지를 이용하였다.

결 과

1. 자극성 섬유종의 조직학적 양상

자극성 섬유종을 조직학적으로 관찰하는 기준으로는 상피 증식 유무와 섬유종을 형성하고 있는 섬유아세포의 증식 양상과 교원질 섬유와의 배열 관계 등을 관찰하였다.

자극성 섬유종은 일반적으로 다양한 세포 충실도를 보이는 섬유아세포로 이루어져 있고 사이사이에 호산성으로 염색되는 굵은 교원질 섬유 다발이 관찰되었다. 섬유아세포의 조직학적 특징으로 단형의 핵을 보이며 세포질을 관찰할 수 없는 휴지기의 모습을 하고 있는 상태의 세포가 낮은 충실도로 관찰되었으며(Fig. 1-a, b), 종괴를 피개하는 상피에서는 46에서 상피 증식을 보였다.

2. 구강 백반증의 조직학적 양상

구강 백반증을 조직학적으로 관찰하는 기준으로는 극세포층 두께 증가와 각화층 두께 증가, 상피 이형성, 상피 하부 결합 조직의 소견 등을 관찰하였다.

구강 백반증은 거의 모든 예에서 극세포층 두께 증가나 진성 각질 또는 착각질로 이루어진 각화층의 두께 증가를 보였

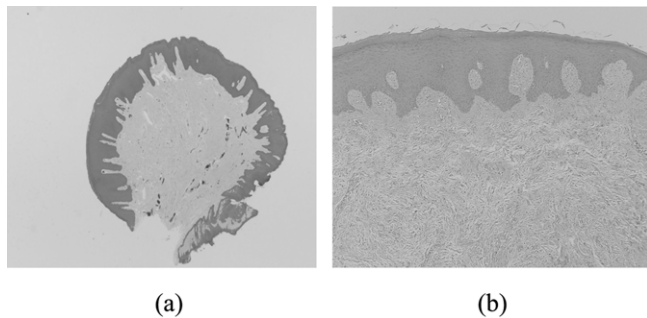


Fig. 1. (a), (b) Irritation fibroma(a : H/E, × 10, b : H/E, × 200).

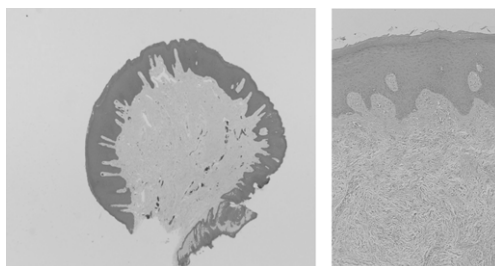


Fig. 2. Oral leukoplakia (a) (b)

다. 약 46에서 상피 하부 결합 조직에 중등도의 염증 세포 침윤을 보였으며 결합 조직 세포의 충실도 증가는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

3. 면역조직화학 염색

1) TGF-β1 염색

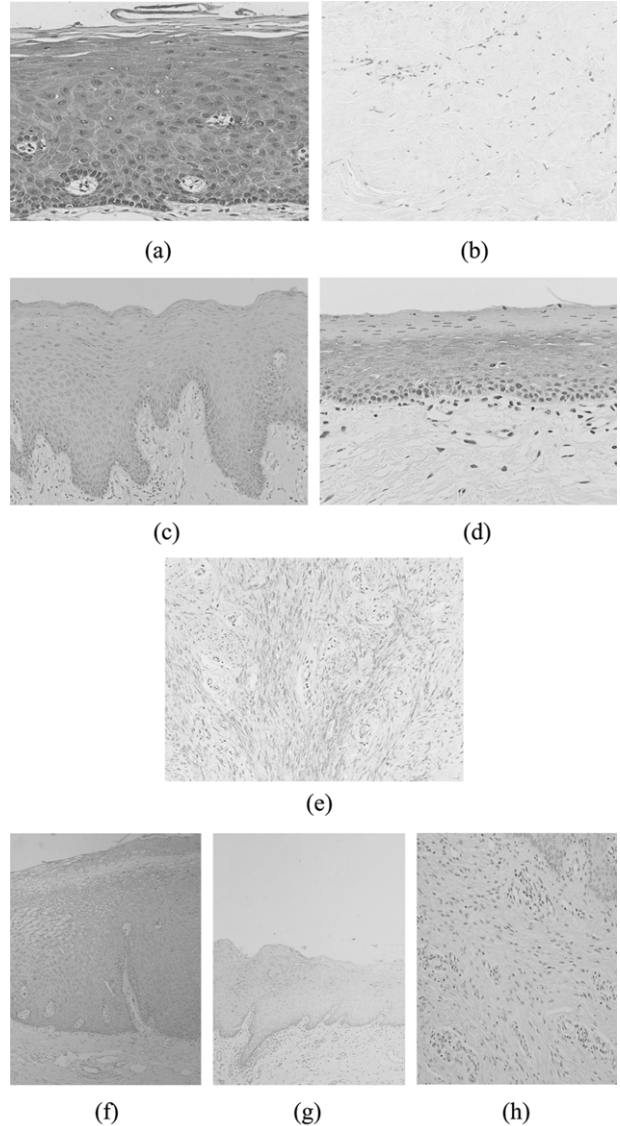


Fig. 3. (a) Normal oral mucosa - Positive staining in the all layers except keratinized layer (TGF-β1, × 100). (b) Normal oral mucosa - Focal positive staining of the fibroblasts (TGF-β1, × 100). (c) Irritation fibroma - Focal positive staining of the epithelial cells in the prickle cell layer in the case of proliferative epithelium (TGF-β1, × 100). (d) Irritation fibroma - Positive staining of the epithelial cells in the basal cell layer and prickle cell layers in the case of atrophic epithelium (TGF-β1, × 200). (e) Irritation fibroma - Positive staining of the fibroblasts in the mass of irritation fibroma (TGF-β1, × 100). (f) Oral leukoplakia - Positive staining of the epithelial cells in the basal cell layer and the prickle cell layer (TGF-β1, × 100). (g) Oral leukoplakia - Focal positive staining of the epithelial cells in the prickle cell layer (TGF-β1, × 100). (h) Oral leukoplakia - Focal positive staining of the fibroblasts in the submucosal connective tissue (TGF-β1, × 200).

Table 1. Expression of TGF-β1

	Normal Oral Mucosa	Irritation Fibroma	Oral leukoplakia	
Epithelium (%)	No stain	0.0	10.4	3.4
	Prickle cell layer (focal)	22.2	48.0	50.0
	Basal cell & Prickle cell layer (diffuse)	77.8	40.3	46.4
Connective tissue(%)	< 30%	66.7	31.2	64.3
	30 ~ 70%	22.2	10.4	7.1
	> 70%	11.1	58.4	28.6

① 정상 구강 점막

정상 구강 점막 상피에서는 각화층을 제외한 상피 진층에 걸친 양성 반응을 나타내었다(Fig. 3-a). 상피 하부 결합 조직에서는 소수의 세포에서만 양성 반응을 나타내었다(Fig. 3-b). 양성 대조군으로 사용한 임신 3기의 태반 조직에서는 태반의 용모를 둘러싸는 영양막 세포에 TGF-β1의 강양성 반응을 보였고, 일차 항체 대신 PBS를 반응시킨 음성 대조군에서는 모두 염색되지 않았다.

② 자극성 섬유종

자극성 섬유종의 피개 상피에서는 상피 증식을 보이는 경우는 유극층에서만 간헐적인 양성 반응을 보였으며(Fig. 3-c) 상피 위층을 보이는 경우에는 기저층과 유극층에서 TGF-β1이 강양성으로 염색되는 소견을 나타냈다(Fig. 3-d). 자극성 섬유종 종괴 내에서는 섬유아세포와 대식 세포, 혈관 내피 세포에서 TGF-β1이 강양성으로 염색되어 발현 증가를 나타내었다(Fig. 3-e, Table 1).

③ 구강 백반증

구강 백반증의 상피에서는 기저층과 유극층에서 TGF-β1이 강양성으로 염색되거나(Fig. 3-f), 기저층, 유극층에서 소수 세포들이 양성으로 염색되는 소견을 나타냈다(Fig. 3-g). 상피 하부 결합 조직에서는 섬유아세포에서 간헐적인 TGF-β1 양성 발현을 나타내었다(Fig. 3-h, Table 1).

상피 부위의 TGF-β1 염색 결과를 비교하였을 때, 자극성 섬유종과 구강 백반증에서 정상 구강 점막보다 TGF-β1 발현이 감소하였으며 통계학적으로 의미 있는 차이를 나타내었으나($p < 0.05$), 자극성 섬유종과 구강 백반증을 비교하였을 때는 통계학적으로 의미 있는 차이가 없었다. 결합 조직 부위의 TGF-β1 염색 결과를 비교하였을 때, 자극성 섬유종의 경우 TGF-β1 발현이 구강 백반증, 정상 구강 점막보다 증가하였으며, 통계학적으로 의미 있는 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

Table 2. Expression of EGFR

Basal cell layer	Normal Oral Mucosa			Irritation Fibroma			Oral leukoplakia				
	Prickle cell layer			Basal cell layer	Prickle cell layer			Basal cell layer	Prickle cell layer		
	Lower 1/3	Middle 1/3	Upper 1/3		Lower 1/3	Middle 1/3	Upper 1/3		Lower 1/3	Middle 1/3	Upper 1/3
88.9	11.1	0.0	0.0	2.0	7.0	39.3	52.5	3.8	30.8	23.0	42.4

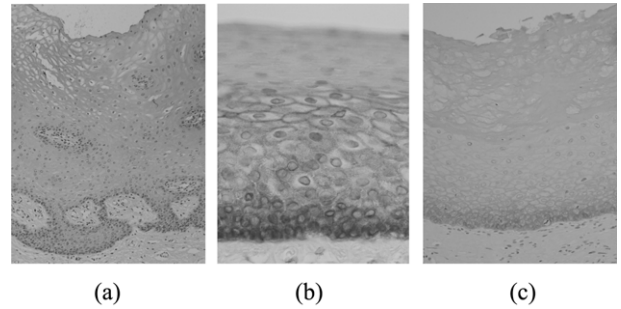


Fig. 4. (a) Normal oral mucosa - Positive staining of the epithelial cells in the basal layer (EGFR, ×100). (b) Irritation fibroma - Positive staining of the epithelial cells in the basal cell layer and the prickle cell layer (EGFR, ×200). (c) Oral leukoplakia - Positive staining of the epithelial cells in the basal cell layer (EGFR, ×100).

2) EGFR 염색

① 정상 구강 점막

정상 구강 점막 상피에서는 기저층 세포에서만 약한 양성 반응을 나타내었다(Fig. 4-a). 상피 하부 결합 조직에서는 양성 반응을 보이지 않았다. 양성 대조군으로 사용한 임신 3기의 태반 조직에서는 태반의 용모를 둘러싸는 영양막 세포에 EGFR의 강양성 반응을 보였고, 일차 항체 대신 PBS를 반응시킨 음성 대조군에서는 모두 염색되지 않았다.

② 자극성 섬유종

자극성 섬유종의 피개 상피에서는 기저층과 유극층 상방에 이르기까지 EGFR이 강양성으로 염색되는 소견을 보여주어(Fig. 4-b, Table 2) 자극성 섬유종에서 EGFR 발현이 증가함을 나타내었다. 상피 하부 결합 조직에서는 양성 반응을 보이지 않았다. EGFR 염색 결과를 정상 구강 점막과 비교하였을 때 통계학적으로 의미 있는 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

③ 구강 백반증

구강 백반증의 상피에서는 기저층과 유극층 하방 1/2의 세포에서 양성 반응을 보여주었고 상피 하부 결합 조직에서는 혈관 내피 세포와 상피 직하 부위의 대식 세포에서 EGFR 양성 발현을 나타내었다(Fig. 4-c, Table 2). EGFR 염색 결과를 정상 구강 점막과 비교하였을 때 통계학적으로 의미 있는 차이를 나타내었으며, 자극성 섬유종과 비교하였을 때도 의미 있는 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

3) TGF-β1과 EGFR간 상관 관계를 알아보기 위해 피어슨 상관 계수를 구하였을 때 구강 백반증 상피 부위의 TGF-β1과 EGFR간 피어슨 상관 계수는 -0.10이었으며($p < 0.05$), 자극성 섬유종 상피 부위에서는 통계학적으로 의미있는 상관관계를 보이지 않았다.

고 찰

TGF- β 는 상처내 세포외기질 합성을 촉진하고 상처 치유 기전에서 합성된 세포외기질의 재구성에 관여하여 상처 치유 기전에 중요한 역할을 하며⁷⁾, 점막 상피의 변화에도 관여한다. 섬유아세포의 교원질 합성 능력이 증가되거나 합성된 교원질의 양적 증가를 규명하기 위해서 섬유아세포에 작용하는 성장 인자 중 하나인 TGF- β 1의 발현 양상을 관찰하였다. TGF- β 는 모든 세포에서 생산되는 세포의 단백질이며 다기능 조절 인자로서 상피 세포와 결합 조직에 작용하여 이중적 기능을 나타낸다. 상피 세포에서는 성장을 억제하며, 결합 조직에서는 세포의 기질 침착과 remodeling을 매개함으로써 morphogenesis를 조절한다. TGF- β 는 포유류에서 모두 5가지 종류가 존재하는 것으로 알려져 있는데, 그중 TGF- β 1은 상처 치유나 켈로이드 조직 형성에서도 발현되는 것으로 보고되어 있으며, 과도한 반흔 조직이 형성되는 경우 TGF- β 1과 그 signaling pathway에서의 조절 기전에 이상이 있다는 연구 결과가 보고되었다⁸⁻¹⁰⁾. TGF- β 1의 면역조직화학적 염색 결과 상피 부위에서는 정상 구강 점막과 자극성 섬유종, 구강 백반증의 염색 결과는 통계학적으로 유의한 차이를 보였으나 자극성 섬유종과 구강 백반증의 염색 결과를 비교할 때 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 자극성 섬유종의 피개 상피는 일반적으로 위축되어 있다고 기술되나 본 연구에는 46예의 자극성 섬유종의 피개 상피에서 상피 증식 소견이 관찰되었고 구강 백반증에서도 극세포증이 관찰되었다. TGF- β 는 각화 상피세포에서는 세포 주기 중 G1에서 S단계로의 이행 과정에서 세포 주기를 정지시켜 세포 증식을 억제하는 효과를 나타낸다. Karatsaidis는 구강 편평 태선에서 TGF- β /Smad 경로가 억제되어 TGF- β 가 억제될 경우 상피층의 과증식이 일어남을 보고하였다¹¹⁾. 상피 세포의 증식 억제 효과를 나타내는 TGF- β 1은 자극성 섬유종 상피가 증식한 경우와 약 50%의 구강 백반증에서 감소한 것으로 나타나 이 경우 TGF- β 1의 상피 증식 억제 효과를 상실한 것으로 생각된다. 구강 점막에 만성 자극이 가해지면 자극에 대한 반응성으로 상피층에 대한 TGF- β 1 발현이 변화하는 것으로 생각된다.

반면 결합 조직 부위에서는 자극성 섬유종에서 TGF- β 1 발현이 증가하였다. 결합 조직 상처 치유 기전에서는 섬유아세포 증식, 교원질의 합성과 촉진하는 기능을 하는 TGF- β 1이 치유 과정을 증진시키는 핵심적인 역할을 한다. 상처받은 조직에 TGF- β 1 투여하면 골과 조직 치유 과정이 증진된다⁷⁾. 또한 섬유아세포의 증식과 교원질, 파이브로넥틴, 탄력 섬유, TIMP의 합성을 촉진하며 교원질 분해 효소 생산을 억제한다. 또 제 I, III, VI, X형 교원질의 합성과 성숙 과정에서도 TGF- β 1이 중요한 역할을 한다고 보고된 바 있다¹²⁻¹⁴⁾. 켈로이드(keloid)나 과도한 흉터(hypertrophic scar)를 형성하는 경우에 있어서 진피 섬유아세포의 TGF- β 1 농도가 정상 진피의 경우보다 높은 것으로 보고되었으며 섬유아세포내 TGF- β 1가 증가하는 경우 procollagen 제 1형 mRNA 농도도 증가하는 것으로 알려져 있다. 또한 유전적 치은 섬유종(hereditary gingival fibromatosis)이나 약물성 치은 과증식(drug-induced gingival hyperplasia)의 경우에서도 TGF- β 1 농도가 증가하는 것으로 보고되었다^{15,20)}. 본 연구에서도 정상 구강 점막에 비해 자극성 섬유종의 종괴 내 존재하는 섬유아세포의 양성 반응이 증가된 소견을 보였다. 따라서 TGF- β 1

은 섬유아세포를 자극하여 교원질을 다량 합성하며 자극성 섬유종 종괴 형성 과정에서 TGF- β 1이 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.

EGFR(epidermal growth factor receptor, ErbB)은 상피 세포의 기능을 조절하는데 중요한 역할을 하는 인자로서 세포막에 존재하는 수용기 단백질 중 하나이다. 정상적인 세포의 세포막에는 EGFR이 40,000에서 100,000개 정도 분포한다²¹⁾. 이들 수용기의 세포의 부분에 자극 단백질이 결합하면 활성화되어 유전자 발현, 세포 증식, 혈관 증식, 세포 자멸사(apoptosis)의 억제, 콜라겐 합성 증가, 결합 조직의 글라이코사미노글리칸 합성의 증가, 악성 종양 세포의 발현, 악성 종양의 전이 등 다양한 세포의 기능을 조절하는 역할을 한다^{22,23)}. EGFR이 과발현되는 경우 세포질 내 전달되는 신호 전달 체계가 과활성화되어 세포의 과성장과 침윤성 성장을 촉진하는 역할을 한다²¹⁾. EGF(epidermal growth factor)는 상피 세포의 이동과 상처 부위의 재상피화를 촉진하는 역할을 하며, 구강 백반증과 같은 전암 병소가 발생할 때 초기 병소에서 발현되는 것으로 보고되어 있다.

EGFR의 면역조직화학적 염색 결과 정상 구강 점막과 자극성 섬유종, 구강 백반증의 염색 결과는 통계학적으로 유의한 차이를 나타내었다. 정상 구강 점막의 상피 조직에서는 기저층에서 양성 반응을 보였으며, 유극층 하방 1/3에 염색되는 세포들은 약 양성 반응을 나타내었다. 자극성 섬유종에서는 피개 상피에서 EGFR이 유극층 상방까지 강양성의 발현을 보였으며, 이러한 EGFR의 발현 증가는 만성 자극에 의한 반응성 작용으로 일어나는 것으로 생각된다. 분비된 EGF는 상피 세포 근처의 제한된 부위에 축적되고, 축적된 EGF 근처에는 EGFR에 양성인 상피 세포가 항상 존재한다고 보고되어 있다²⁴⁾. 구강 점막이 손상을 입을 경우 keratinocyte가 TGF- α 를 발현한다고 알려져 있다²⁵⁾. 또한 EGFR은 염증이 있는 조직이나 과증식 조직에서도 양성 반응을 보인다. Rotaru 등의 연구에서는 자극성 섬유종의 점막 상피에서 TGF- α 이 발현 증가함을 보고하였는데, 이러한 TGF- α 는 인접 비증식 세포에 paracrine effect를 나타내어 인접 상피층과 섬유아세포의 자극 효과를 나타내는 것으로 해석하였다²⁶⁾. 구강 내 정상 점막 상피는 기저층에서 EGFR을 발현하나 상피의 증식 효과는 나타나지 않는다. 자극성 섬유종을 피개하고 있는 상피 조직을 정상 구강 점막 상피와 비교하였을 때 심한 acanthosis나 과각화 소견은 보이지 않는다. 따라서 자극성 섬유종의 경우 증가된 EGFR이 상피층의 증식은 유발하지 않으며 인접 섬유아세포에 paracrine effect를 나타내어 세포의 증식을 유발하는 것으로 생각된다.

상피 세포에서 합성된 EGF는 인접 섬유아세포 활성도를 촉진하고 교원질과 글라이코사미노글리칸의 합성을 촉진한다. Palmar and plantar fibromatosis의 TGF- β 와 EGF 발현에 관한 연구에서는 EGF와 제I형 procollagen의 발현이 증가하였음을 관찰하였으며²⁵⁾, 이러한 발현 증가 소견이 fibromatosis의 early stage에서 현저함을 보고하였다. 또한 Irwin 등도 염증이 있거나 과증식된 조직에서 EGFR의 발현이 증가함을 보고하였고, Margo 등의 palmar fibromatosis에서 TGF- α 와 EGFR의 발현 연구에서는 종괴 내 존재하는 근섬유아세포와 섬유아세포의 양성 발현을 보고하였다²⁶⁾. 섬유아세포의 transformation은 기본적으로 EGFR과 같은 성장 인자 수용체의 활성화에 의해 이루어진다. 따라서 EGFR의 발현이 증가하면 세포외기질의 침착,

특히 교원질 합성이 촉진되며 EGFR의 autocrine function과 paracrine function이 섬유아세포를 자극하는 효과를 보이고 교원질 침착으로 유도하며, 이에 따라 섬유성 과증식 상태를 유발하는 것으로 보인다. 구강 점막의 만성 자극에 의해 EGFR의 분비가 증가하면 TGF- β 1의 감소가 일어난다고 알려져 있다. 본 연구에서는 구강 백반증의 경우 EGFR과 TGF- β 1간 피어슨 상관 계수가 -0.10로 나타나 기존의 연구를 뒷받침하는 것으로 생각되었다.

EGFR은 구강 편평세포암종의 발암 기전에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 편평세포암종의 암화과정의 초기 단계에서부터 발현되어 상피 이행성이 나타나면서 발현이 증가하는 것으로 보고되었다¹⁵⁾. 본 연구에서는 구강 백반증 중 조직학적으로 상피 이행성이 없는 경우를 연구 대상으로 하여 편평세포암종으로의 암화과정을 배제하였다. 그러나 EGFR은 편평세포암종의 초기 단계에서부터 발현되기 때문에 조직학적으로 상피 이행성 소견이 없다 하더라도 이미 유전자적 변화가 일어나 EGFR의 발현이 증가하였을 가능성도 있을 것이라고 생각된다.

이와 같은 결과를 종합해보면 구강 점막에 만성 자극이 가해지면 이에 관련된 신호가 기저막을 통하여 전달되고, 상처 치유 기전이 일어나 이에 의해 EGFR과 TGF- β 1 발현 변화가 일어나는 것으로 생각된다. 자극성 섬유종의 경우 상피층의 EGFR 발현 증가와 TGF- β 1 발현 감소에 의해 상피층의 조직학적 변화와 허부 결합 조직의 섬유화가 일어난다고 생각된다. 구강 백반증의 경우 상피층의 EGFR 발현 소견이 자극성 섬유종과 차이를 나타내어 이러한 발현 차이가 만성 자극에 대한 반응의 차이로서 병소의 발생 기전으로 작용할 수 있을 것이라고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 자극성 섬유종의 병인론을 이해하고자 1997년 1월부터 2004년 12월까지 연세대학교 치과대학 구강병리학 교실에서 자극성 섬유종으로 진단된 88예와 구강 백반증으로 진단된 44예를 대상으로 연구하였다. 상처 치유 기전에서 작용하는 인자 중 TGF- β 1과 EGFR에 대한 일차 항체를 이용한 면역조직화학적 검사를 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. TGF- β 1의 면역조직화학염색 결과, 자극성 섬유종과 구강 백반증의 상피에서 TGF- β 1 발현이 감소하였고 자극성 섬유종 종괴내 섬유아세포의 TGF- β 1 발현이 증가하였다.
2. EGFR의 면역조직화학염색 결과, 자극성 섬유종과 구강 백반증 상피에서 EGFR의 발현이 증가하였다.
3. TGF- β 1과 EGFR간 피어슨 상관 계수를 구하였을 때 구강 백반증의 상피 조직에서 역상관관계의 발현 양상을 나타내었다.

감사의 글

이 연구는 남서울대학교 지원 연구비에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1. 대한 구강악안면병리학회: 구강악안면병리학. 제 1판, 군자 출판사, 서울, pp. 267-268, 250-255, 2002.

2. 대한 구강악안면병리학: 최신 구강악안면병리학. 제 2판, 나라 출판사, 서울, pp.152-154, 177-186, 297-303, 2005.

3. 박광균: Oral biochemistry. 제 1판, 군자 출판사, 서울, pp.54-58, 521-546, 1999.

4. Armstrong DG, Jude EB: The role of matrix metalloproteinases in wound healing. J Am Podiatr Med Assoc 92(1): 12-18, 2002.

5. Goldman R: Growth factors and chronic wound healing: Past, present, and future. Adv Skin Wound Care 17: 24-35, 2004.

6. Bankfalvi A, Krabort M, Végh A, Felszeghy E, Piffkó J: Deranged expression of the E-cadherin/catenin complex and the epidermal growth factor receptor in the clinical evolution and progression of oral squamous cell carcinomas. J Oral Pathol Med 31: 457, 2002.

7. Yang GP, Lim IJ, Phan TT, Lorenz HP, Longaker MT: From scarless fetal wounds to keloids: Molecular studies in wound healing. Wound Rep Reg 11: 411-418, 2003.

8. Chin D, Boyle GM, Parsons PG, Coman WB: What is transforming growth factor-beta (TGF- β)? Br J Plast Surg 57: 215-221, 2004.

9. Denler S, Goumans MJ, Dijke P: Transforming growth factor β signal transduction. J Leukoc Biol 71: 731-740, 2002.

10. Shi Y, Massagué J: Mechanism of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. Cell 113: 685-700, 2003.

11. Karatsaidis A, Schreurs O, Axéll T, Helgeland K, Schenck K: Inhibition of the transforming factor- β /Smad signaling pathway in the epithelium of oral lichen. J Invest Dermatol 121: 1-8, 2003.

12. Elder MJ, Dart JK, Lightman S: Conjunctival fibrosis in ocular cicatricial pemphigoid-the role of cytokines. Exp Eye Res 65: 165-176, 1997.

13. Kim JH, Kim BK, Moon KC, Hong HK, Lee HS: Activation of the TGF- β /Smad signaling pathway in focal segmental glomerulosclerosis. Kidney Int 64(5): 1715-1721, 2003.

14. Lee EH, Joo CK: Role of transforming growth factor- β in transdifferentiation and fibrosis of lens epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 40: 2025-2032, 1999.

15. Andrade CR, Cotrin P, Graner E, Almeida OP, Sauk JJ, Coletta RD: Transforming growth factor- β 1 autocrine stimulation regulates fibroblast proliferation in hereditary gingival fibromatosis. J Periodontol 72(12): 1726-1733, 2001.

16. Bunduneli N, Kütükçüler N, Aksu G, Atilla G: Evaluation of transforming growth factor- β 1 level in crevicular fluid of cyclosporin A - treated patients. J Periodontol 72(4): 526-531, 2001.

17. Linden GJ, Haworth SE, Maxwell AP, Poulton KV, Dyer PA, Middleton D, Irwin CR, Marley JJ, McNamee P, Short CD, Hull PS, James JA: The influence of transforming growth factor- β 1 gene polymorphism in the severity of gingival overgrowth associated with concomitant use of cyclosporin A and a calcium channel blocker. J Periodontol 72(6): 808-814, 2001.

18. Uzel MI, Kantarci A, Hong HH, Uygur C, Sheff MC, Firatli E, Trackman PC: Connective tissue growth factor in drug-induced gingival overgrowth. J Periodontol 72(7): 921-931, 2001.

19. Wrights HJ, Chapple ILC, Matthews JB: TGF- β isoforms and TGF- β receptors in drug-induced and hereditary gingival overgrowth. J Oral Pathol Med 30: 281-289, 2001.

20. Mills BG, Frausto A, Brien E: Cytokines associated with the pathophysiology of aggressive fibromatosis. J Orthop Res 18: 655-662, 2000.

21. Herbst RS: Review of epidermal growth factor receptor biology. Int J Radiation Oncology Biol Phys 59(2): 21-16, 2004.

22. Ellis LM: Epidermal growth factor receptor in tumor angiogenesis. Hematol Oncol Clin N Am 18: 1007-1021, 2004.

23. Rotaru HR, Choi JY, Hong SP, Lee YC, Yun KI, Kim SG: Transforming growth factor- α and oral fibroma: Immunohistochemical and In situ hybridization study. J Oral Maxillofac Surg 61: 1449-1454, 2003.

24. 김태연: 구강 점막의 백반증과 편평상피세포암종에서 Epidermal

Growth Factor 및 Transforming Growth Factor- β 1 수용체의 발현.
연세대학교 대학원 석사학위논문, 1997.

25. Zamora RL, Kraemer BA, Erlich HP, Groner JP: Presence of growth factors in palmar and plantar fibromatosis. *J Hand Surg* 19A: 435-441, 1994.
26. Margo G, Lanteri E, Micali G, Paravizzini G, Travali S, Lanzafame S: Myofibroblasts of palmar fibromatosis co-express

transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor. *J Pathol* 181: 213-217, 1997.

(Received June 26, 2005; Accepted August 31, 2005)

