

구강 편평태선에서 Elafin의 발현

이상신 · 이석근

강릉대학교 치과대학 구강병리학교실

접 수 : 2003년 7월 28일
게재승인 : 2004년 1월 26일

책임저자 : 이 석 근
우 210-702 강원도 강릉시 지변동 123
강릉대학교 치과대학 구강병리학교실
전화: 033-640-2228
Fax: 033-642-6410
E-mail: sklee@kangnung.ac.kr

*이 논문은 2001년도 강릉대학교 학술연구
조성비 지원에 의하여 수행되었음(2001-
0133).

Elafin Expression in Oral Lichen Planus

Sang Shin Lee and Suk Keun Lee

Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Kangnung National University, Gangneung, Korea

Background : Elafin is a potent anti-elastase in human saliva, and is supposed to play a role in preventing oral ulceration. The expression of elafin was observed in the oral lichen planus (OLP), one of the most common noninfectious oral mucosal diseases, which frequently manifests as extensive ulceration on the involved oral mucosa. **Methods :** 50 OLP, 10 oral leukoplakia, 3 inflammatory oral ulcers, and 3 normal oral mucosa cases were fixed with 10% buffered formalin, and immunohistochemically stained with monoclonal elafin antibody. Representative specimens were fixed with 4% paraformaldehyde, and RNA *in situ* hybridization, with an elafin RNA probe, was performed. **Results :** With both the immunohistochemistry and RNA *in situ* hybridization the expression of elafin was more decreased in the OLP compared to the normal mucosa, while in the hyperplastic epithelium of the leukoplakia and inflammatory ulcers the expressions of elafin was more intense. In the thin epithelia of the reticular and atrophic OLPs the expressions of elafin were reduced compared to the normal mucosa, and became almost negative in the epithelium of the erosive OLP. **Conclusions :** These data suggested that the extensive ulceration of the OLP was closely relevant to the reduced expression of elafin in the involved epithelium.

Key Words : Elafin-Lichen Planus-Immunohistochemistry-*In situ* hybridization

구강 편평태선(oral lichen planus)은 구강 점막에서 비교적 흔하게 비감염성 궤양을 일으키지만 아직도 그 원인이 분명하게 밝혀지지 않은 질환이다.¹⁻⁶ 이 질환은 구강 점막 궤양이 생기지 않는 그물망 형태(reticular type)가 가장 많이 나타나고 증상이 심해지면 통증과 저작장애 등이 일어나며 궤양을 수반하는 위축성 형태(atrophic type)나 침식성 형태(erosive type)로 나타나기도 한다.^{4,7,8} 구강 편평태선은 피부와 점막에 있는 항원에 대한 세포매개면역적 반응을 보이는 것으로 보고되어 있는데,^{9,10} 치료 범으로는 retinoic acid, griseofulvin이나 cyclosporine 등과 같은 화학요법과 8-methoxypsoralen이나 장파의 자외선을 이용하는 광화학요법¹¹이 사용되고 있으며 최근에는 병소의 표면에 스테로이드를 도포하여 증상을 완화시키는 방법들이 보고되었다.⁷ 또한 이 질환이 유전성 질환은 아니지만, 만성적이며 세포매개면역과 밀접한 관련이 있고 질환의 진행과정에서 다수의 림프구가 출현하며,^{4,12} 스테로이드 치료에 민감하게 반응하여 심한 증상이 완화되는 경향을 보인다.⁷ 구강 편평태선을 자가면역질환의 일종으로 생각하기도 하지만,^{3,8} 아직도 편평태선에 관련된 특이한 항원 또는 항체가 밝혀지지 않고 있다.¹³ 그리고 자가면역질환에서 흔하게 나타나는 다른 형태의 자가면역질환과의 전이성이 뚜렷하

게 관찰되지 않기 때문에 확실하게 자가면역질환이라고 구분하기도 어렵다.

최근 스트레스 등과 같은 이유로 구강 편평태선의 발병률이 점차로 증가하고 있는 추세이며, 폐경기 이후의 여성 및 중년기 이후의 남성에서 높은 발병 분포를 보이며 대부분 불점막과 치은에서의 발생이 보고되었다.⁴ 이와 같이 구강 편평태선은 퇴행성 질환의 형태로 나타나기도 하지만, 이물질, 구강내의 보철물, 아말감, 금관 등의 금속과의 과민 반응으로 나타나는 경우도 있어¹⁴⁻¹⁷ 현대 문명의 환경오염과도 밀접한 관련이 있고, 당뇨병이나 C형 간염,¹⁸ 간 질환, 구강암과 같은 다른 의학적 상태에도 연관되어 있다고 보고되었다.⁴

Elafin 유전자는 사람의 염색체 20q11.2-13.1에 위치하고 있는 유전자로, 크기는 약 1.7 kb이고 3개의 exon으로 나뉘어 있다. 여기서 생성되는 preproelafin은 25개의 signal peptide과 34개의 pro-sequence, 그리고 C-terminal에 57개의 아미노산 등으로 모두 117개의 아미노산으로 구성된 단백질이다.¹⁹ 분자량은 약 9.9 kD인 epidermal serine proteinase inhibitor로^{20,21} 면역화학적 방법으로 염색하였을 경우, 정상구강점막의 각화된 상피에서는 약한 발현양상을 보이고 가시세포층과 과립세포층에서는 더욱 강

하게 발견되며²² 타액선에서 다량 분비되므로 구강 내 타액에서도 풍부하게 발견된다.²³ Elafin은 건선이나 창상치유, 세포배양과 같이 상피세포의 증식이 과도하게 자극되는 경우에도 유도될 수 있으며²⁴ 주로 suprabasal keratinocytes에서 풍부하게 발견된다.²⁵ 이러한 elafin은 사람의 피부의 각질층에서도 분리할 수 있는데 leukocyte elastase와 pancreatic elastase에 대하여 강한 억제제로 작용하며,²⁶ 호중성 백혈구의 elastin을 분해하는 proteinase 3에도 억제작용을 한다.²⁷ 그러나 plasmin, 섬유소용해효소, trypsin, α -chymotrypsin, cathepsin G에는 억제작용이 없다.²⁶ 그리고 기저세포암종이나 편평세포암종과 같은 종양에서 elafin의 발현 양상을 관찰함으로써 편평상피세포의 이상을 조기에 관찰할 수 있었다.²⁴

본 연구는 구강 편평태선 질병의 진행 양상 가운데 구강 점막 상피세포의 변형과정을 관찰하던 중에, 구강 점막상피를 보호하는 기능을 하는 elafin의 발현이 현저하게 감소되는 것을 발견하고 구강 편평태선의 점막 케라틴과 elafin의 관련성을 알기 위하여 면역조직화학적 및 RNA *in situ* hybridization 연구를 수행하였다.

재료와 방법

병리학적 소견으로 구강 편평태선으로 진단되고 임상적으로 치료를 받고 계속 관리되고 있는 강릉대학교 치과병원에 의뢰된 50예의 조직을 재료로 하였다. 구강 편평태선 중에서 22예는 남성으로 평균연령은 56.9세였으며, 28예의 여성 평균연령은 51.8세였다. 그리고 다른 양성 점막질환들과 비교하기 위하여 10예의 구강백반증, 3예의 염증성, 3예의 정상 점막 상피를 함께 이용하였다. 이들은 모두 통법에 의하여 10% 중성 포르말린에 고정하여 면역조직화학적 염색을 실행하였고, 4% 중성 파라포름알데하이드에 고정한 후에 RNase 방지된 과정으로 파라핀 블록을 만들었다. 그리고 4 μ m 두께의 파라핀 절편을 만들어 RNA *in situ* hybridization을 실행하였다.

면역조직화학적 염색

면역조직화학적 염색은 DAKO LSABR[®] kit (DAKO, Denmark)를 이용하여 streptavidin-peroxidase 방법을 사용하였다. 파라핀 절편 슬라이드를 크실렌에서 10분씩 4회로 파라핀을 제거하고 100% 에탄올에서부터 90, 80, 70 및 60%까지 3분씩 수화시켰다. 그 다음 흐르는 물에서 에탄올이 제거되면 PBS 용액 (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 4.3 mM Na₂HPO₄ · 7H₂O, 1.4 mM KH₂PO₄, pH 7.4)으로 수세한 후, 메탄올로 희석한 3% 과산화수소 용액으로 6분간 처리하여 조직에 내재되어 있는 과산화수소를 불활성화시키고, 차단혈청을 이용하여 30분간 반응시켜 비특이적 항원-항체 반응을 극소화시켰다. 여분의 혈청을

제거하고 elafin 1차 항체 (Peptide Institute Inc, Osaka, Japan)를 1:100으로 PBS에 희석하여 조직에 반응시키고 상온에서 1시간 정도 반응시켰다. 이때 음성 대조군에는 1차 항원을 가하지 않고 같은 조건으로 반응시켜 대조군으로 이용하였다. 바이오틴이 결합된 2차 항체로 30분간 상온에서 반응시킨 후 PBS로 5분씩 3번 수세하였다. 그리고 1:100으로 희석된 streptavidin-peroxidase (DAKO, K681, Carpinteria, CA, USA)로 30분간 실온에서 반응시키고 PBS로 5분씩 3번 수세하였다. 그 다음 DAKO LSABR[®] kit (DAKO, Denmark)로 3분간 발색하고 흐르는 물에서 수세한 뒤 Mayer hematoxylin 용액으로 1분간 배경염색을 하고 수세하여 70% 에탄올 용액에서부터 80, 90 그리고 100%의 에탄올에서 탈수하여 크실렌을 거쳐 발삼으로 봉입하였다.

RNA *in situ* hybridization

신선한 구강 편평태선 조직을 4% 중성 파라포름알데하이드에 고정시킨 후 RNase 방지된 방법으로 파라핀 블록을 제작한 다음 4 μ m 두께의 현미경 절편을 silanized 유리 슬라이드에 부착하여 보관하였다. RNA *in situ* hybridization에 사용되는 RNA probe를 제작하기 위하여 RNA *in vitro* transcription 반응을 시켰다. 그리고 DNA template (6 μ L), 10 \times buffer (2 μ L), RNase inhibitor (1 μ L), NTP (DIG-UTP) mixture (1 μ L), T3 또는 T7 RNA polymerase (2 μ L)와 DEPC H₂O로 20 μ L의 용량을 만들어 혼합하여 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 포름아미드 용액 20 μ L를 첨가하여 -20°C에 보관하였다. RNA probe의 생산을 확인하기 위하여 보관된 반응물 중에서 2 μ L를 1% 아가로우즈 겔에 전기영동하여 띠를 조사하였다. 파라핀 절편 슬라이드를 크실렌에 20분간 넣어 파라핀을 제거하였고 100% 에탄올에서부터 90, 80, 70% 에탄올까지 2분씩 수화시킨 후 DEPC H₂O로 혼합한 PBS 용액으로 5분간 수세하였다. 단백질 완충액 (1M tris-HCl 20 μ L, 0.5 M EDTA 4 μ L)에서 proteinase K 용액 (0.01 μ g/ μ L)을 넣어 실온에서 15분간 반응시킨 후, 4% 파라포름알데하이드 용액으로 실온에서 10분간 재고정을 시킨 후 0.2N HCl 용액으로 실온에서 10분 동안 반응시켜 내재성 alkaline phosphatase를 불활성화시켰다. DEPC H₂O로 처리한 PBS 용액으로 5분씩 2회 수세한 후 0.1 M triethanolamine (TEA) 용액으로 10분간 반응시키고, 0.25% acetic acid가 포함된 0.1 M TEA 용액으로 실온에서 10분간 반응시켰으며, DEPC H₂O로 혼합한 PBS로 5분씩 2회 수세하였다. 50°C로 예열된 100 μ L의 hybridization 용액(50% formamide, 10 mM tris-HCl pH 7.6, 200 μ g/ μ L tRNA, 1 \times Denhardt's solution, 10% Dextran sulfate, 600 mM NaCl, 0.25% SDS, 1 mM EDTA, DEPC H₂O)에 5 μ L의 RNA probe를 첨가한 후 조직 위에 기포가 생기지 않도록 hybridlip으로 봉입시켜 55°C chamber에서 12시간 동안 hybridization시켰다. 50°C로 예열된 2 \times SSC (sodium chloride sodium citrate)-50% 포름아미드

용액에서 30분간 반응시킨 후 hybrislip을 제거하고 다시 50°C로 예열된 2×SSC-50% 포름아마이드 용액에서 30분간 반응시켰다. DIG 1 (0.1 M Tris, 0.15 M NaCl) 용액으로 37°C에서 30분간 반응시킨 후 blocking reagent가 들어 있는 DIG 2 (0.1 M Tris, 0.15 M NaCl, 2% blocking) 용액으로 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 여분의 용액을 제거하고 anti-DIG antibody (Boehringer Mannheim GmbH, Germany)를 DIG 1 용액에 1:1,000으로 희석하여 실온에서 2시간 반응시켰다. DIG 1 용액으로 30분씩 4회 수세하고 BCIP-NBT (Kirkegaard&Perry Lab, SF17, MA, USA)로 실온에서 20분간 발색시켰다. 발색이 끝난 후 DIG 4 (10 mM Tris, 1 mM EDTA) 용액으로 10분간 수세하여 발색을 중지시킨 후, glycerol gel (DAKO, 106-1, CA, USA)로 봉입하였다.

결 과

50예의 구강 편평태선 증례 중에서 그물망 형태의 구강 편평태선은 모두 20예였다. 여성이 8예고 평균 연령은 51.5세였으며 남성은 12예고 평균 연령은 54.4세로 나타났다. 상피 위축성 구강 편평태선은 여성에서만 2예로 나타났으며 평균 연령은 67.5세였다. 상피 침식성의 구강 편평태선은 모두 28예였는데 여성이 18예였고 평균 연령은 50.2세였으며 남성은 10예로 평균 연령은

Table 1. Different types of oral lichen planus and distribution of gender and average age

type	gender	cases (%)	average age (years)
reticular type	female	8 (16%)	51.5
	male	12 (24%)	54.4
atrophic type	female	2 (4%)	67.5
	male	0	-
erosive type	female	18 (36%)	50.2
	male	10 (20%)	68

Table 2. Immunohistochemical observation of elafin in different types of oral lichen planus, compared to the oral leukoplakia, inflammatory ulcer, and normal mucosa

type	cases	basal layer	spinous layer	granular layer	cornified layer
reticular OLP	20	-	+~+++	++	+
atrophic OLP	2	-	+	+	-
erosive OLP	28	-	+	+	-
leukoplakia	10	+	++	++	+
inflammatory ulcer	3	+	+++	+++	+
normal mucosa	3	-	++	++	+
total	66				

*Degree or positive reaction: -, negative; +, slight (5-10%); ++, moderate (10-20%); +++, severe (over 20%). (%): the ratio of positive cell among the total cells in Image Pro-4.0 analysis (Media cybernetics, Des Moines, USA).

68세로 나타났다(Table 1).

면역조직화학적 염색

Image Pro-4.0 (Media cybernetics, Des Moines, USA)를 이용하여 면역염색된 표본에서 전체 세포의 수에 대한 염색된 세포의 수를 백분율로 측정하였다. 정상점막 상피의 전층에서 elafin 항체가 미만성으로 양성 반응(5-10%)을 보였는데, 가시세포층과 과립세포층에서 중등도의 양성 반응(10-20%)을 보였으며 각 화세포층에서는 국소적으로 양성 반응을 보였다(Table 2, Fig. 1-1a, b). 염증성 점막계양 병소에서는 염증성 상피증식으로 상피가 두꺼워지고 망상돌출이 증식되었는데, 상피세포 전층에서 정상적인 점막 조직보다 매우 강한 elafin 양성 반응(20% 이상)이 관찰되었다(Fig. 1-3). 구강백반증 병소에서는 각화 상피층을 제외한 모든 상피세포층에서 elafin의 강한 양성 반응(10-20%)이 관찰되었는데 염증성 점막 병소에 비하여 다소 감소된 양성 반응을 보였다(Fig. 1-2a, b).

구강 편평태선 병소 중 그물망 형태의 구강 편평태선에서는 점막상피의 과립세포층에서 중등도의 elafin 양성 반응(10-20%)이 나타났으며, 세포층이 얇게 위축되는 곳에서는 양성 반응이 5% 이하로 현저히 감소하였다(Fig. 1-5a, b). 상피 위축성과 침식성 구강 편평태선은 그물망 형태보다 elafin의 양성 반응이 전반적으로 감소하였다. 상피 위축성 구강 편평태선에서 점막의 궤양이 진행되는 얇은 세포층에서는 elafin 양성 반응이 3% 이하로 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1-6a-c). 상피 침식성 구강 편평태선의 점막 상피세포에서는 elafin 양성 반응이 비교적 감소되어(5-10%) 일부의 과립세포들에서 제한적인 양성 반응이 관찰되었다(Fig. 1-7a-c).

RNA in situ hybridization

정상점막 조직의 상피 전층에서 미만성으로(5-10%) elafin

Table 3. Elafin mRNA expression by RNA in situ hybridization in oral lichen planus, compared to the oral leukoplakia, inflammatory ulcer and normal mucosa

type	cases	basal layer	spinous layer	granular layer	cornified layer
reticular OLP	20	+	+	++	-
atrophic OLP	2	-	+	+	-
erosive OLP	28	-	+	+	-
leukoplakia	10	+	++	+	+
inflammatory ulcer	3	+	+++	+++	+
normal mucosa	3	-	++	+++	-
total	66				

*Degree or positive reaction: -, negative; +, slight (5-10%); ++, moderate (10-20%); +++, severe (over 20%). (%): the ratio of positive cell among the total cells in Image Pro-4.0 analysis (Media cybernetics, Des Moines, USA).

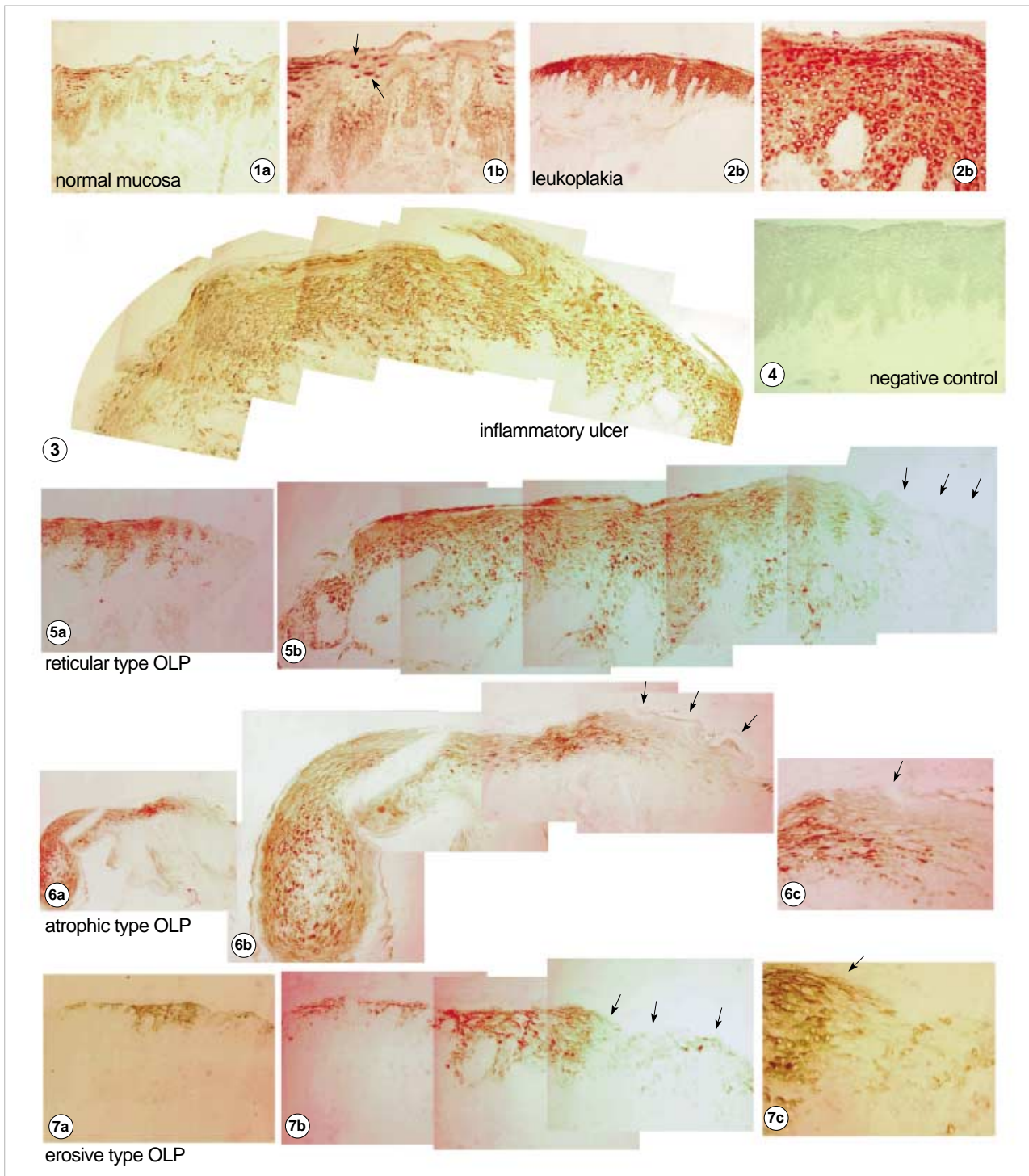


Fig. 1. Immunohistochemical staining by elafin antibody. 1: normal mucosa, 1a: low magnification of panel 1b, 1b: The elafin was diffusely and intense positive reaction in the spinous and granular cell layer (arrows). 2: leukoplakia, 2a: The elafin was intensely positive in all epithelial layers except the cornified cell layer. 2b: high magnification of panel 2a. 3: In the inflammatory ulcer lesion the elafin was intensively positive in all epithelial layers. 4: negative control. 5: reticular type oral lichen planus, 5a: The elafin was positive in the granular cell layer and decreased in the atrophic layer (arrows). 5b: high magnification of panel 5a. 6: atrophic type oral lichen planus, 6a: low magnification of panel 6b, 6b: The elafin was almost negative in the atrophic thin layer (arrows). 6c: high magnification of panel 6b. 7: erosive type oral lichen planus, 7a: low magnification of panel 7b, 7b: Positive staining was observed in small amount of the granular cells and almost negative staining in the atrophic thin layer (arrows). 7c: high magnification of panel 7b.

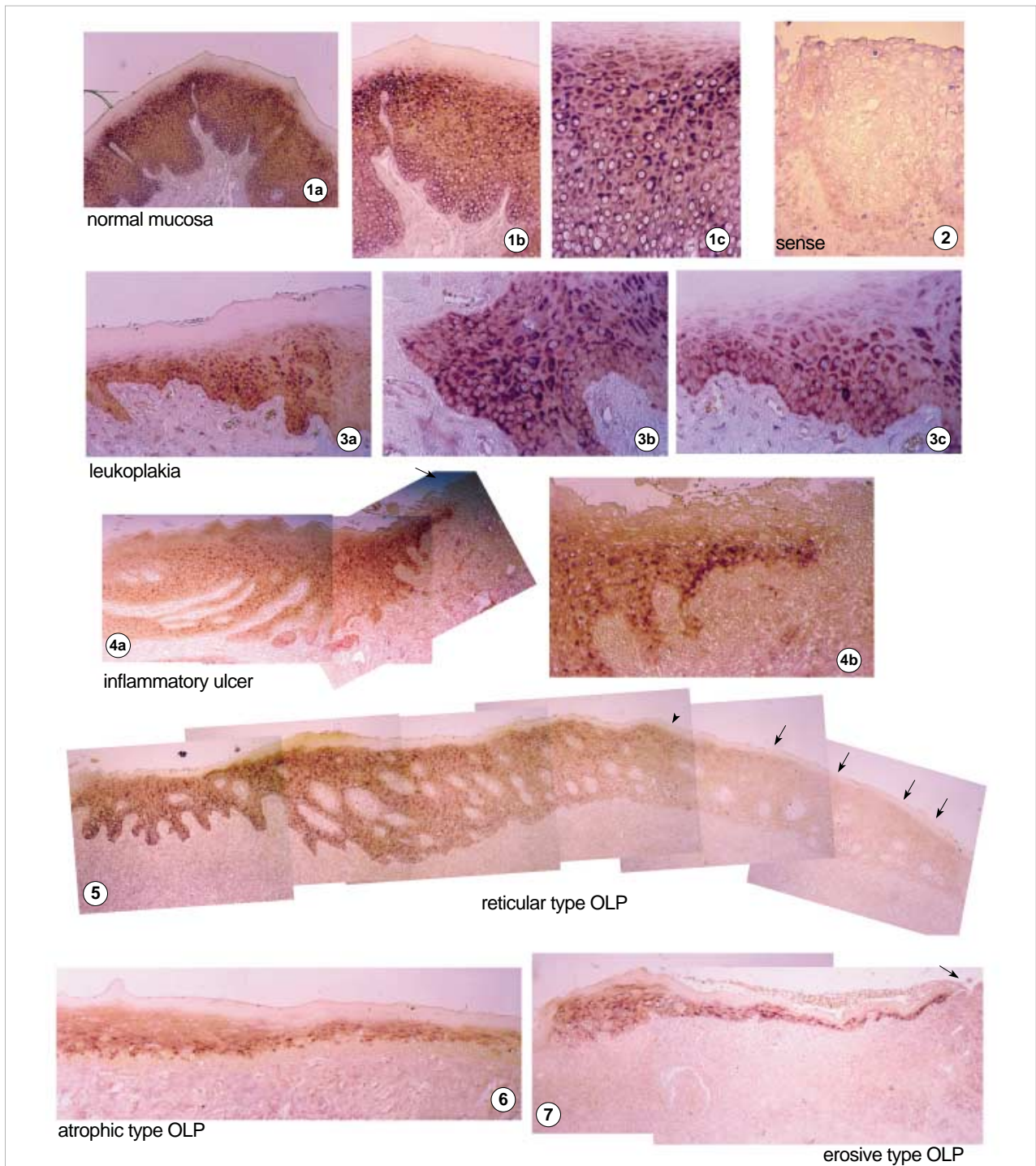


Fig. 2. RNA *in situ* hybridization for elafin mRNA. 1: normal mucosa, 1a: low magnification of panel 1b, 1b: Intense positive reaction was observed in the spinous and granular cell layers, and elafin mRNA expression leaned to the superficial side. c: high magnification of panel 1b. 2: sense treatment for negative control. 3: leukoplakia, 3a: Positive reaction was observed in the spinous cell layer and gradually decreased in the granular and cornified cell layers. 3b: high magnification of panel 3a, 3c: high magnification of panel 3a. 4: inflammatory ulcer, 4a: Intense positive reaction was observed in all epithelial cell layers up to the ulcerated region (arrow). 4b: high magnification of panel 4a. 5: In reticular type oral lichen planus the elafin mRNA expression was almost stopped in the center of the lesion (arrow head, borderline; arrows, almost negative). 6: In atrophic type oral lichen planus the elafin mRNA was almost negative in the atrophic thin epithelial layer. 7: In erosive type oral lichen planus the elafin mRNA was positive limitedly in the granular cell layer but almost disappeared in the ulcer area (arrow).

mRNA 양성 반응이 관찰되었는데 특히 가시세포층과 과립세포층에서 중등도의 양성 반응(10-20%)을 보였다. 상피세포 내 elafin mRNA의 발현이 상피세포의 바깥쪽 세포질에 치중되어 나타났으며, 각화층으로 이행될수록 점차 elafin mRNA의 발현이 현저하게 감소되어 거의 나타나지 않았다(Table 3, Fig. 2-1a-c). 염증성 병소의 점막상피에서는 기저층의 증식 및 상피층의 비대가 보이는 상피 전층에서 elafin mRNA의 강한 발현(20% 이상)이 관찰되었는데, 비대하게 증식되는 망상돌출 부위에서도 경등도의 양성 발현(5-10%)을 보였다(Fig. 2-4a, b). 구강백반증 병소의 점막상피에서는 기저층과 가시세포층에서 elafin mRNA의 발현이 증가되어 있으나(10-20%), 과립세포층과 각화층에서는 elafin mRNA의 발현이 감소되었다(5-10%) (Fig. 2-3a-c).

구강 편평태선 병소 중에서 그물망 형태의 구강 편평태선에서는 점막상피의 과립세포층에서 elafin mRNA의 발현이 증가(10-20%)되었으나, 상피의 위축이 일어나는 부분에서는 발현이 감소하였다(3% 이하) (Fig. 2-5). 상피 위축성 구강 편평태선에서는 점막상피 궤양이 진행되는 얇은 상피세포층에서 elafin mRNA의 발현이 거의 관찰되지 않았으며(Fig. 2-6), 상피 침식성 구강 편평태선 점막 상피의 과립세포층에서는 elafin mRNA의 발현이 국한되어 나타났다(5-10%) (Fig. 2-7).

고 찰

구강 편평태선에는 상피층 하방의 결합조직에 심한 림프구 침윤층을 보이고 점막상피의 괴사가 나타나는데, 결국 기저막의 파괴로 상피의 기저층 세포들이 점차로 위축되거나 괴사되는 현상이 연속적으로 나타난다.²⁸ 이러한 상피의 괴사는 단순히 림프구의 침윤과 여러 종류의 cytokine들이 분비되어 야기되는 상피세포 외부적 요인에 의한 괴사뿐만이 아니라 이들 외부적 요인에 충분히 대응하지 못하여 상피세포의 비대, 각화 등이 생기고 점막상피의 망상돌출이 위축되어 톱니모양의 상피구조를 이루기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 비록 림프구가 침윤하여 점막상피의 자극이 야기되지만 점막상피 자체는 비교적 나쁜 조건에서도 활발하게 반응하는 대상성 기능이 많은 것으로 알려져 있다.²⁹ 이때 임상적으로 점막상피의 각화 및 궤양이 주요 증상으로 나타난다. 따라서 상피세포의 괴사과정을 구강 편평태선의 진행 과정 중에 살펴보는 것은 매우 중요하다.

일반적으로 구강점막상피는 단단한 탄력섬유(elastic fiber)에 의하여 피개되어 있어서 기계적 또는 화학적 손상에 대하여 강한 내성이 있으며, 특히 구강 내 세균의 침투를 억제하는 두터운 상피구조를 갖고 있다. 그런데 구강 내 세균 중에는 구강 점막상피세포내의 탄력섬유를 파괴시킬 수 있는 효소를 분비함으로써 쉽게 구강점막 궤양을 일으키기도 하는 것이 있다. 따라서 구강 점막 상피는 이러한 세균성 또는 내인성 elastase에 대항하기 위

한 성분을 발달시켜 왔는데, 그 중 하나가 elafin이라는 anti-elastase이다. 이 elafin은 주로 타액 내에 풍부히 존재하면서 구강 점막을 보호하는데, 일반적인 상피 세포에서도 elafin을 다량 분비하는 기능이 있어서 마찬가지로 상피를 보호하는 역할을 담당하고 있다.²³

Elafin은 하나의 분자가 단백분해효소의 위치에 결합하여 그 효소의 촉매중심부위인 serine을 방해함으로써 효과를 나타낸다.³⁰ 그리고 elafin은 비교적 작은 크기의 단백질로서 점액질 내에서 쉽게 분해되지 않고 C-말단부에 transglutaminase binding motif와 anchoring domain을 갖고 있어서, 단백질 분해 효소나 다른 세포외 기질에 부착되어 장기간 항단백분해효소의 기능을 할 것으로 여겨진다. 따라서 elafin은 구강 내 점막 상피에서 강력한 항단백분해효소의 기능을 효과적으로 유지할 것으로 추측된다. 본 연구에서는 면역조직화학적 방법과 RNA *in situ* hybridization 방법들을 동시에 사용하여 elafin의 발현을 조사하였다. 특히 임상적으로 편평태선으로 간주되는 병소는 절제된 후 바로 4% 글루타르알데하이드에 고정하여 RNase 방지된 상태에서 파라핀 절편을 제작하여 RNA *in situ* hybridization을 하였는데, 생검시 통법에 의하여 10% 중성 포르말린에 고정된 파라핀 block을 RNase 방지된 상태에서 제작된 파라핀 절편을 이용한 RNA *in situ* hybridization의 결과에서도 4% 글루타르알데하이드에 고정된 경우와 유사한 elafin 발현 양상이 관찰되었다. 결과적으로 정상 점막상피, 구강백반증이나 염증성 궤양 상피에 비하여 구강 편평태선의 점막상피에서 elafin mRNA 발현에 큰 변화가 있는 것이 확인되었다.

대체로 정상 구강점막상피보다는 비후된 구강백반증이나 염증성 궤양을 일으킨 병소에서 elafin의 발현이 증가하였다(Table 2, 3). 이것은 정상 구강점막상피보다 증가된 림프구 등으로 인해 분비된 elastase을 elafin의 작용으로 억제시키기 위한 대상적 반응이라고 생각한다. 구강 편평태선은 병소의 진행이나 재발 양상 등에 따라 대체로 세 가지 형태로 나타나게 되는데, 망상형 편평태선에서 과립세포층은 elafin 발현이 비교적 뚜렷하게 나타났으나 상피층이 점차 위축되어 얇아지는 부위에서는 elafin이 거의 발현되지 않았다. 이것으로 미루어 볼 때 elafin으로 인한 elastase의 억제 작용이 한도가 넘어서는 경우 상피층의 손상이 생길 것으로 추측된다. 망상형 편평태선보다 예후가 나쁜 것으로 알려진 위축성이나 침식성 편평태선에서는 병소의 주변 부위의 두터운 상피에서 elafin에 대한 양성 반응이 약하게 관찰되지만, 병소의 중심 부위에서 이행성된 상피에서는 elafin의 양성 반응이 점차 소실되었다. 이것은 분화가 잘되어 성숙된 상피세포에서는 외부의 단백분해효소 작용으로부터 자신의 세포를 보호하기 위하여 elafin을 생산할 수 있으므로 아직 잘 분화된 상피세포로 이루어진 병소 주변 부위에서는 elafin의 생산이 비교적 뚜렷하게 관찰되지만, 편평태선 병소의 중앙 부위에서는 면역세포에 의한 지속적인 염증반응으로 구강 점막상피의 성숙이 이루어지지 않아서 elafin 생산이 점차적으로 감소되어 염증반응에 의한 구강

점막의 파괴가 증가된다는 사실을 보여주는 것이다.

본 연구에서 관찰한 구강내 편평태선은 심한 면역세포 침윤과 함께 점막의 궤양을 수반하는 고질적인 병소이다. 구강 편평태선에서 보이는 구강점막 상피의 궤양현상에서는 비대화된 상피가 점차로 그물형 또는 위축성 점막 상피로 이행되면서 상피의 망상 돌출이 소실되고 결국 상피가 궤양으로 되는 현상이 나타난다. 이때 elafin의 분비가 현저하게 감소된다는 것에는 중요한 의미가 있다. 본 연구에서는 편평태선의 종류와 병소의 위치에 따라 면역조직화학적 및 RNA *in situ* hybridization 방법에 의하여 elafin의 발현을 관찰하였는데, elafin의 발현 이상이 편평태선 발생의 직접적인 원인은 아니지만 편평태선이 진행될수록 점막 상피에서 elafin의 생산이 현저하게 감소됨으로써 편평태선의 병소를 악화시켜서 광범위한 궤양성 질환을 일으킨다는 것을 알 수 있었다. 아울러 이들에 대한 심도 있는 연구를 계속하면 elafin 단백질을 편평태선의 치료제로 사용할 수 있는 방법이 개발될 수 있을 것이라 사료된다.

참고문헌

- Batsakis JG, Cleary KR, Cho KJ. Lichen planus and lichenoid lesions of the oral cavity. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 103: 495-7.
- Vincent SD, Fotos PC, Baker KA, Williams TP. Oral lichen planus: the clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70: 165-71.
- Colella G, Gritti P, De Luca F, de Vito M. [The psychopathological aspects of oral lichen planus (OLP)]. *Minerva Stomatol* 1993; 42: 265-70.
- Lozada-Nur F, Miranda C. Oral lichen planus: epidemiology, clinical characteristics, and associated diseases. *Semin Cutan Med Surg* 1997; 16: 273-7.
- Camisa C, Hamaty FG, Gay JD. Squamous cell carcinoma of the tongue arising in lichen planus: a case report and review of the literature. *Cutis* 1998; 62: 175-8.
- Markopoulos A, Kayavis I, Paleologoy A, Papanagioutou P, Trigoniadis G. [Oral lichen planus. A clinical study of 228 cases]. *Hell Stomatol Chron* 1989; 33: 107-11.
- Bricker SL. Oral lichen planus: a review. *Semin Dermatol* 1994; 13: 87-90.
- Edwards PC, Kelsch R. Oral lichen planus: clinical presentation and management. *J Can Dent Assoc* 2002; 68: 494-9.
- Femiano F, Cozzolino F, Gaeta GM, De Luca P, Perfetto B, Baroni A. Recent advances on the pathogenesis of oral lichen planus (OLP). The adhesion molecules. *Minerva Stomatol* 1999; 48: 151-9.
- Toto PD, Nadimi HT. An immunohistochemical study of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 63: 60-7.
- Lundquist G, Forsgren H, Gajecki M, Emtestam L. Photochemotherapy of oral lichen planus. A controlled study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79: 554-8.
- Regezi JA, Dekker NP, MacPhail LA, Lozada-Nur F, McCalmont TH. Vascular adhesion molecules in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81: 682-90.
- Thornhill MH. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 174-7.
- Eversole LR, Ringer M. The role of dental restorative metals in the pathogenesis of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 57: 383-7.
- Mobacken H, Hersle K, Sloberg K, Thilander H. Oral lichen planus: hypersensitivity to dental restoration material. *Contact Dermatitis* 1984; 10: 11-5.
- Laeijendecker R, van Joost T. Oral manifestations of gold allergy. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 205-9.
- Pang BK, Freeman S. Oral lichenoid lesions caused by allergy to mercury in amalgam fillings. *Contact Dermatitis* 1995; 33: 423-7.
- Pilli M, Penna A, Zerbini A, *et al.* Oral lichen planus pathogenesis: A role for the HCV-specific cellular immune response. *Hepatology* 2002; 36: 1446-52.
- Saheki T, Ito F, Hagiwara H, *et al.* Primary structure of the human elafin precursor preproelafin deduced from the nucleotide sequence of its gene and the presence of unique repetitive sequences in the prosegment. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 185: 240-5.
- Molhuizen HO, Alkemade HA, Zeeuwen PL, de Jongh GJ, Wieringa B, Schalkwijk J. SKALP/elafin: an elastase inhibitor from cultured human keratinocytes. Purification, cDNA sequence, and evidence for transglutaminase cross-linking. *J Biol Chem* 1993; 268: 12028-32.
- Sallenave JM, Silva A. Characterization and gene sequence of the precursor of elafin, an elastase-specific inhibitor in bronchial secretions. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 8: 439-45.
- Robinson PA, Markham AF, Schalkwijk J, High AS. Increased elafin expression in cystic, dysplastic and neoplastic oral tissues. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 135-9.
- Lee SK, Lee SS, Hirose S, *et al.* Elafin expression in human fetal and adult submandibular glands. *Histochem Cell Biol* 2002; 117: 423-30.
- Alkemade HA, Molhuizen HO, van Vlijmen-Willems IM, van Haelst UJ, Schalkwijk J. Differential expression of SKALP/Elafin in human epidermal tumors. *Am J Pathol* 1993; 143: 1679-87.
- Alkemade HA, de Jongh GJ, Arnold WP, van de Kerkhof PC, Schalkwijk J. Levels of skin-derived antileukoproteinase (SKALP)/elafin in serum correlate with disease activity during treatment of severe psoriasis with cyclosporin A. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 189-93.
- Wiedow O, Schroder JM, Gregory H, Young JA, Christophers E. Elafin: an elastase-specific inhibitor of human skin. Purification, characterization, and complete amino acid sequence. *J Biol Chem* 1990;

- 265: 14791-5.
27. Wiedow O, Luademann J, Utecht B. Elafin is a potent inhibitor of proteinase 3. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 174: 6-10.
28. Jungell P, Konttinen YT, Nortamo P, Malmstrom M. Immunoelectron microscopic study of distribution of T cell subsets in oral lichen planus. *Scand J Dent Res* 1989; 97: 361-7.
29. Dorr W, Weber-Frisch M. Repopulation response of mouse oral mucosa during unconventional radiotherapy protocols. *Radiother Oncol* 1995; 37: 230-6.
30. Ying QL, Simon SR. Kinetics of the inhibition of human leukocyte elastase by elafin, a 6-kilodalton elastase-specific inhibitor from human skin. *Biochemistry* 1993; 32: 1866-74.