

골거대세포종에서 혈관신생과 VEGF 및 MMP-9의 발현과 임상양상의 상관성에 관한 연구

이경화 · 김조현 · 심민근 · 한창우
김성순 · 정상우 · 정성택 · 이재혁

전남대학교 의과대학 병리학교실
정형외과학교실

접 수 : 2006년 3월 21일
게재승인 : 2006년 11월 8일

책임저자 : 이재혁
우 519-809 전남 화순군 화순읍 일심리 160
화순전남대학교병원 병리과
전화: 061-379-7073
Fax: 061-379-7099
E-mail: jhlee@chonnam.ac.kr

*본 연구는 2004년도 전남대학교 학술연구비(2004-0871)를 지원받아 이루어졌음.

Expression of VEGF, MMP-9 and Neovascularization in Relation-ship to the Clinical Behavior of Giant Cell Tumors of Bone

Kyung Hwa Lee, Jo Heon Kim, Min Keun Shim, Chang Woo Han, Sung Sun Kim, Sang Woo Juhng, Sung Taek Jung¹ and Jae Hyuk Lee

Departments of Pathology and ¹Orthopaedic Surgery, Chonnam National University Medical School, Korea

Background : Giant cell tumors (GCTs) of bone are benign but can be locally aggressive neoplasms. Their clinical behavior has been difficult to predict on the basis of histology alone. This study investigated the neovascularization and expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) as well as matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in GCTs of bone; in addition we evaluated their relationship to clinical behavior. **Methods :** We evaluated the microvessel number and density in 33 samples of giant cell tumor using CD34 immunohistochemistry. In addition, we examined the immunohistochemical expression of VEGF and MMP-9. **Results :** The microvessel number alone, not the microvessel density, had statistical association with the clinical stage of GCTs ($p=0.045$). The proportion of cases with strong expression of VEGF increased with advancing clinical stage, however, these results were not statistically significant ($p=0.257$). The percentage of the cases with strong expression of MMP-9 also increased with advancing clinical stage and this was statistically significant ($p=0.022$). **Conclusions :** These results suggest that intratumor microvessel count and the expression of MMP-9 correlate with GCT stage. Evaluation of their expression may therefore provide prognostic information on the aggressive behavior of GCTs of bone.

Key Words : Giant cell tumor of bone; Vascular endothelial growth factor; Matrix metalloproteinases; Immunohistochemistry; Prognosis

골거대세포종(giant cell tumor of bone)은 20대에서 50세 사이의 비교적 젊은 나이에 발병한다.¹ 또 골거대세포종은 소파술 등 수술 후에도 자주 재발하고, 양성종양임에도 폐 및 다른 부위로 전이되어 사망에까지 이르게 하는 것으로 알려져 있다.² 그러나 다른 종양에서는 의의가 있는 것으로 평가되는 핵 다형성, 유사분열 수, 배수성 등이 국소적 재발이나 전이 등의 침습성을 반영하지 못하기 때문에, 조직학적 특성만으로는 골거대세포종의 임상상을 예측하기 어렵다.³ 이러한 골거대세포종의 침습성과 전이성에 관련된 예측인자들을 알아보고자 현재 많은 연구가 진행되고 있다.

골거대세포종은 높은 신생혈관을 많이 만들어내는 종양으로 알려져 있다.⁴ 따라서 다른 종양에서처럼 종양세포의 성장이나 전이, 재발 등에 신생혈관 형성이 관련되어 있을 것으로 여겨진

다. 지금까지 알려진 많은 신생혈관 형성인자 중에서 혈관내피세포성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)와 종양의 침습성과 전이에 관여하는 대표적인 단백질분해효소인 matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)이 골거대세포종에서 높은 빈도로 발현되고 임상적 특성과도 상관성이 있음이 알려져^{5,6} 예후인자로서 가능성이 제시되고 있다. VEGF는 종양혈관 생성을 유도하는 강력한 자극인자이자 충실성 종양의 진행에도 관여하는 것으로 알려져 있다.⁷ 골거대세포종에서 VEGF는 파골세포의 전구세포에 대한 화학주성인자로 작용하며, 이들 세포의 분화에도 영향을 미친다.⁸ Matrix metalloproteinase family는 파골세포의 소집에도 필수적인 뿐만 아니라,⁹ 골흡수 부위에서 VEGF와의 상승작용도 잘 알려져 있다.⁸ MMPs 중 골거대세포종에서 가장 많이 발현되는 MMP-9은 세포외바탕질의 단백질분해를 조절하고,

세포외바탕질에 부착된 VEGF를 방출시켜 다핵거대세포에 영향을 준다고 한다.¹⁰

골거대세포종에서 VEGF와 MMP-9의 발현은 종양의 재발 및 침습성과 관련된 생물학적 성상을 예측하는 데 중요하리라고 기대된다. 저자들은 일차 발생 또는 재발한 골거대세포종에서 신생혈관 형성과 이러한 표지자들의 발현이 재발이나 임상 병기에 어떠한 영향을 미치는지 조사하고 예후인자로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

재료와 방법

재료

1993년부터 2003년까지 전남대병원에서 골거대세포종으로 진단된 33예를 대상으로 임상 특징을 조사하고 방사선 소견 및 병리학적 소견을 검토하였다. 그런 다음 Enneking 등¹¹이 제시한 분류법에 따라 각 증례별로 병기를 분류하였다. Enneking의 병기는 다음과 같이 정의한다.

병기 1) 양성의 잠복성 골거대세포종(benign, latent GCT)으로, 증상이 나타나지 않고 국소적인 침범이 없어 골 내에 한정된 경우.

병기 2) 양성의 활동성 골거대세포종(benign, active GCT)으로, 증상이 나타나고 방사선 소견상 저음영의 확장된 병변 때문에 발생골의 원래 모양이 변형되는 경우.

병기 3) 침습성 골거대세포종(aggressive GCT)으로, 빠르게 성장하는 병변 때문에 임상증상이 심하고 때때로 병적 골절이 동반되며 발생 부위의 피질골을 파괴하면서 주위 연부조직으로 침범하는 경우.

면역조직화학적 염색

10% 중성 포르말린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매괴로 3 μ m 두께의 절편을 만들고 이를 탈파라핀과 함수과정을 거쳤다. 그런 다음 내재성 peroxidase를 억제하기 위해 3% hydrogen peroxidase에 반응시킨 후 조직항원이 잘 노출되도록 microwave 처리를 하였다. CD34 (QBEND10, DAKO, Carpinteria, CA, USA), VEGF (A-20, Santa Cruz Biotech, Santa Cruz, CA, USA), 그리고 MMP-9 (R&D, Minneapolis, MN, USA)을 각각 1:100으로 희석하여 일차항체에 약 60분간 작용시킨 후 완충액으로 세척하였다. 반응산물을 검출하기 위해 biotin이 부착된 anti-mouse IgG와 anti-rabbit IgG 및 streptavidin-horseradish peroxidase를 각각 12분간 작용시켰다. Horseradish peroxidase의 발색은 AEC (3-amino-9-ethyl carbazole)와 DAB (diaminobenzidine)를 이용하였다. 발색반응이 끝난 다음 헤마톡실린 대조염색을 시행하였다. 염색 과정에서 부치온도는 45°C를 유지

했으며, 음성대조군은 일차항체 대신 anti-mouse IgG와 anti-rabbit IgG 희석액을 반응시킨 슬라이드를 동일한 과정을 거쳐 실험에 이용하였다.

광학현미경으로 미세혈관 수 산정 및 유전산물의 발현 정도 판정

신생혈관 수는 Bosari 등¹²의 방법에 따라 세정맥 및 모세혈관만을 포함시켜 측정했다. CD34에 양성이며 인접한 큰 혈관과 떨어져 있고 명백하게 분리되어 있는 개개의 내피세포 또는 내피세포의 군집을 하나의 미세혈관으로 간주하고, 내강이 있는 혈관의 경우 적혈구를 8개 이상 포함하거나 근육층이 있는 것은 측정에서 제외하였다. 200배의 광학현미경 시야에서 미세혈관이 풍부하게 형성된 부위 10곳 이상을 무작위로 선택하여 일정 면적당 (대물렌즈 20배와 대안렌즈 10배 0.7386 mm²) 미세혈관 수를 산정하였다. 그리고 그 평균값으로 각 증례당 미세혈관 수를 표시하였다.

VEGF와 MMP-9이 5% 이상의 종양세포에서 발현되는 경우 양성반응으로 판정하였다. 그런 다음 염색강도에 따라 강양성(+++, strong)을 보이는 것과 중등도 및 경도의 양성(++~+, weak)을 보이는 것으로 구분하고 음성반응을 보이는 것은(-)로 표현하였다. 염색된 표본 슬라이드를 디지털 카메라가 부착된 광학현미경으로 촬영하여 얻은 미세혈관의 단면적을 화상분석 소프트웨어(analySIS 3.2, Soft-Imaging System GmbH, Munster Germany)를 이용하여 측정하였다. 종양 내에 존재하는 미세혈관의 밀도를 저배율(100배)로 관찰한 뒤 미세혈관이 가장 풍부하게 형성된 부위를 선택하여 200배율로 10필드 이상을 이동하면서 측정하였다. 각 증례당 신생혈관의 밀도는 측정된 값을 전체 면적으로 나눈 백분율(%)로 나타내 평균값으로 표시하였다.

통계학적 분석

각 지수는 평균±표준편차로 표기하였으며 SPSS 프로그램(SPSS 12.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 이용하여 Wilcoxon signed rank test, Mann-Whitney test, Chi square test를 실시하여 p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

임상소견

환자들의 연령분포는 7세에서 68세까지(평균 34.3세)였으며, 남녀의 성비는 1:0.65로 남성의 비율이 더 높았다. 종양의 발생 부위는 대퇴골이 14예로 가장 많았고, 경골이 7예, 비골과 수지

골이 각각 3예씩이며, 무릎 근처에서 발생한 경우가 모두 22예로 나타났다(Table 1). Enneking 등¹¹이 제시한 분류법에 따라 병기를 분류한 결과 병기 1이 3예, 병기 2가 17예, 병기 3이 13예로 병기 2인 예가 52%로 가장 많았다. 재발된 4예의 경우, 수술 후 처음 재발하는 데 걸린 시간은 3개월에서 41개월로 평균 17.5개월로 나타났다. 재발된 예 중에서 폐 전이 등이 관찰된 예는 없었다.

미세혈관 형성과 재발 및 병기의 상관관계

면역조직화학 염색 결과 CD34에 염색된 미세혈관은 200배 시야에서 쉽게 확인할 수 있었는데 대부분 풍부한 미세혈관들을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B). 각 증례별로 측정된 미세혈관 수와 밀

도는 재발이 없었던 예에서는 35.2 ± 14.2 개, $2.99 \pm 1.44\%$ 였고, 재발한 예에서는 44.3 ± 8.7 개, $4.26 \pm 0.93\%$ 였다. 이처럼 재발이 있었던 증례에서 모두 높은 값을 보였으나(Table 2), 그 차이가 통계학적인 의의는 없었다($p=0.224$, 0.098). 병기에 따른 미세혈관 수는 각각 24.3 ± 5.9 개와 35.8 ± 12.9 개로 병기 차이에 따라 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.045$). 그러나 미세혈관 밀도는 낮은 병기(병기 1)와 진행된 병기(병기 2와 병기 3)에서 각각 $2.00 \pm 0.50\%$ 와 $3.68 \pm 2.00\%$ 로 차이를 보였으나 통계학적인 의의는 없었다($p=0.19$)(Table 3). 재발한 예에서 측정된 미세혈관 수와 밀도는 첫 발생 시 조직과 재발 시의 조직 사이에 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(자료 제시하지 않음, $p>0.05$).

Table 1. Clinicopathologic summary of microvascularization and expression of VEGF and MMP-9 in giant cell tumors

Case No.	Age/Sex	Site	Stage	P/R	Vessel count (No.)	Vessel density (%)	VEGF	MMP-9
1	27/F	Left metatarsal bone	2	P	56.9	5.14	+	+
				R	51.6	5.48	+++	+
2	14/F	Right proximal humerus	2	P	42.5	3.02	+	+
		Right distal femur		R	45.6	8.57	++	+++
3	33/M	Right distal femur	2	P	38.8	4.14	++	+
				R	45.3	6.81	++	+
4	56/F	Right distal femur	3	P	39.0	4.76	+	+++
				R	20.2	6.02	++	+++
5	29/M	Right distal femur	3	P	30.9	4.91	+	+++
6	21/M	Right distal femur	2	P	36.1	5.26	++	+++
7	29/F	Right distal femur	2	P	66.4	6.59	+	++
8	33/F	Right distal femur	2	P	36.8	4.16	+	+++
9	68/F	Left distal femur	2	P	38.0	1.61	++	+
10	33/M	Right proximal tibia	2	P	34.4	2.44	+	+
11	44/M	Right distal femur	3	P	40.7	4.29	++	+++
12	24/M	Right proximal tibia	3	P	31.8	2.97	+++	+++
13	35/M	Left distal femur	2	P	40.7	4.28	+++	++
14	19/F	Right fibular head	2	P	32.3	2.42	++	+
15	22/F	Left thumb	1	P	24.5	1.94	+	++
16	7/M	Left mandible	1	P	18.3	1.54	++	+
17	25/F	Right fibular head	2	P	12.8	3.12	+	++
18	33/M	Right distal femur	2	P	19.8	1.52	+	+++
19	34/M	Right proximal fibula	2	P	37.3	2.67	++	+
20	38/F	T8 vertebral body	3	P	76.4	6.16	+	++
21	18/M	Left proximal humerus	2	P	32.4	4.26	+	++
22	38/F	Right proximal tibia	2	P	35.3	2.36	++	+
23	25/F	Right distal femur	3	P	35.5	1.38	++	+++
24	42/M	Left distal radius	3	P	43.0	5.53	+	+++
25	37/M	Left distal femur	3	P	27.7	2.51	++	+
26	26/M	Right distal tibia	1	P	30.2	2.54	++	++
27	48/M	C4 vertebral body	3	P	30.6	2.54	+	+
28	61/M	Right distal femur	3	P	33.6	3.55	+	+++
29	50/M	Left metacarpal head	2	P	32.9	2.12	+	++
30	40/F	Left fibular head	3	P	20.1	1.37	+++	+++
31	37/M	Right femur neck	2	P	35.0	1.75	+	+
32	32/M	Left proximal tibia	3	P	28.0	1.13	+++	+
33	56/M	Left proximal tibia	3	P	44.0	5.61	++	++

P, primary; R, recurrent.

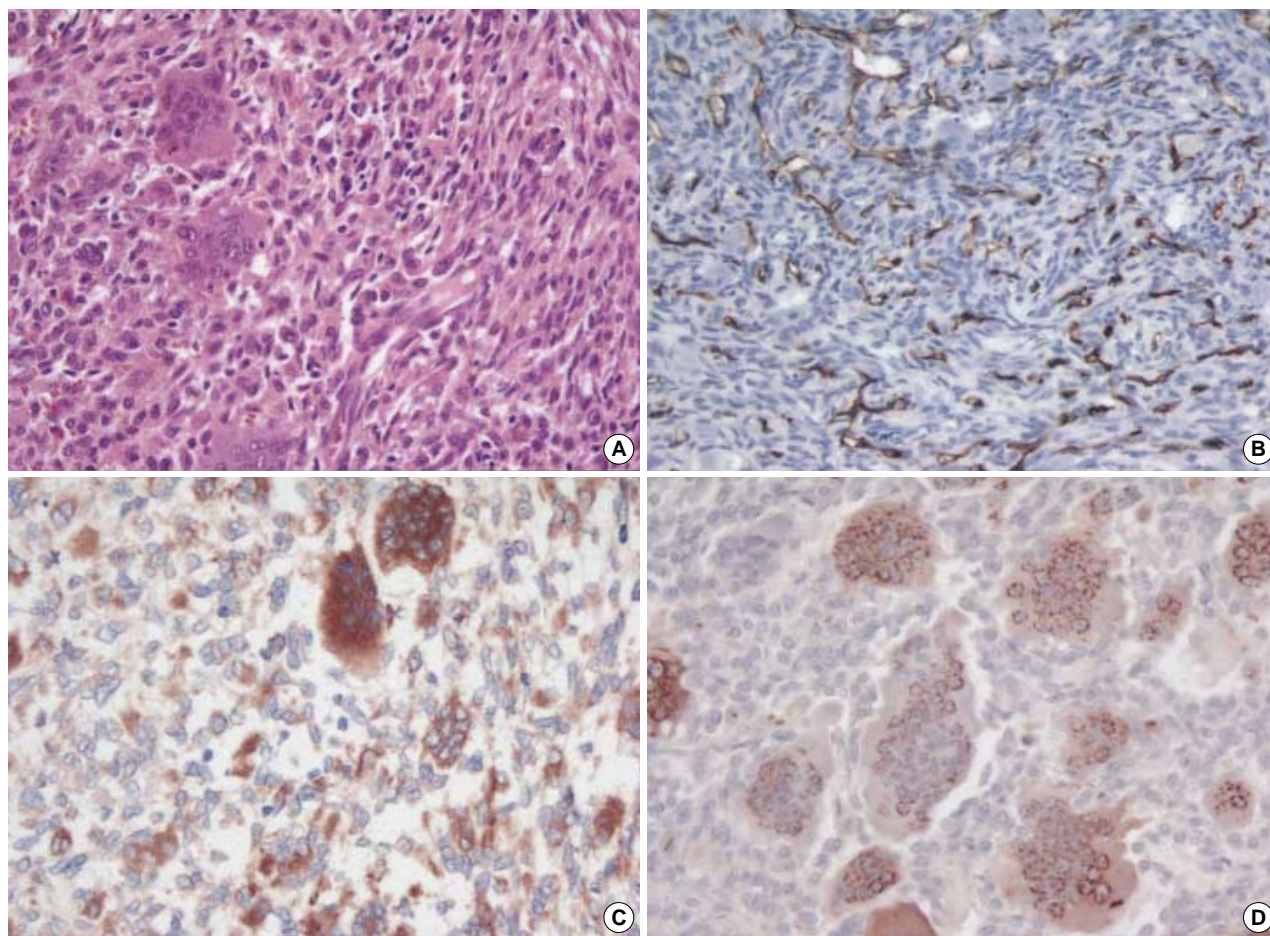


Fig. 1. (A) Tumor cells are composed of osteoclast-like giant cells, round mononuclear cells, and spindle-shaped stromal cells. (B) Microvessel distribution is manifested by CD34 immunohistochemical staining in giant cell tumor of bone. High-density microvessels are distributed in a stromal cell background. (C) VEGF is expressed in both stromal cells and osteoclast-like giant cells, with stromal cells outnumbering osteoclast-like cells. (D) MMP-9 is expressed in multinucleated giant cells with perinuclear dot-like pattern.

Table 2. Microvessel count & density in recurrent and nonrecurrent cases

	Microvessel count (No.)	Microvessel density (%)
Nonrecurrent cases	35.2±14.2	2.99±1.44
Recurrent cases	44.3±8.7	4.26±0.93
p-value	0.224	0.098

Table 3. Microvessel count & density in early and advanced stages

	Microvessel count (No.)	Microvessel density (%)
Early stage (stage 1)	24.3±5.9	2.00±0.50
Advanced stage (stage 2/3)	35.8±12.9	3.68±2.00
p-value	0.045	0.19

Table 4. VEGF expression with radiologic stages

Clinical stage	Intensity		Total
	Weak (+~++)	Strong (+++)	
Stage 1	3 cases (100%)	0 case (0%)	3 cases
Stage 2	15 cases (88.2%)	2 cases (11.8%)	17 cases
Stage 3	10 cases (76.9%)	3 cases (23.1%)	13 cases

p-value=0.257.

Table 5. MMP-9 expression with radiologic stages

Clinical stage	Intensity		Total
	Weak (+~++)	Strong (+++)	
Stage 1	3 cases (100%)	0 case (0%)	3 cases
Stage 2	13 cases (76.5%)	4 cases (23.5%)	17 cases
Stage 3	6 cases (46.1%)	7 cases (53.9%)	13 cases

p-value=0.022.

VEGF와 MMP-9의 발현

VEGF와 MMP-9의 면역조직화학 염색 결과 전체 33예 모두 양성반응을 보였다. VEGF는 간질세포와 다핵거대세포 모두에서 양성으로 발현되기는 하였으나 간질세포에서 양성을 보이는 세포의 수가 더 많았다(Fig. 1C). 강양성(+++)을 보이는 것과 중등도 및 경도의 양성(++~+)을 보이는 것으로 나누어, 병기 별로 강양성에 해당하는 예를 비율로 표시하였다. 그 결과, 병기 1에서는 0%, 병기 2에서는 11.8%, 병기 3에서는 23.1%로 병기의 진행에 따라 강양성을 보이는 비율이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 통계학적인 의의는 없었다($p=0.257$) (Table 4).

MMP-9은 주로 다핵거대세포에서 양성으로 나타났으며 일부 간질세포에서도 양성반응을 보였다. 특히 다핵거대세포에서는 핵과 세포질의 경계를 따라 점상으로 발현되는 특징적인 양상을 보였다(Fig. 1D). MMP-9도 강양성(+++)을 보이는 것과 중등도 및 경도의 양성(++~+)을 보이는 것으로 나누어본 결과, 강양성을 보이는 비율이 병기 1에서는 0%, 병기 2에서는 23.5%, 병기 3에서는 53.9%로 증가하는 경향을 보였으며 통계학적으로도 의의가 있었다($p=0.022$) (Table 5).

고 찰

골거대세포종은 방추형 간질세포(spindle-shaped stromal cells), 원형 단핵세포(round mononuclear cells), 그리고 파골세포양 거대세포(osteoclast-like giant cells)의 세 가지 세포로 이루어져 있으며^{13,14} 미세혈관이 풍부한 것이 특징이다(Fig. 1A). 최근 이루어진 연구 결과는, 이중 원형의 단핵세포와 파골세포양 거대세포는 반응성 성분이며, 방추형 간질세포가 증식성 종양세포임을 시사하고 있다.¹⁴ 그중에서도 파골세포양 거대세포는 간질세포가 만들어내는 MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) 등 화학주성물질에 의해 유도된 말초혈액 중 단핵구/대식세포(monocyte/macrophage) 계열의 조혈세포에서 유래하여¹⁵ 세포융합을 통해 만들어지는 것으로 보인다.^{13,14}

본 연구에서는 비재발 예보다 재발 예에서 미세혈관 측정치가 높게 나타났지만 통계학적 유의성은 없었다. 또 재발 예에서도 첫 발생 시 조직과 재발 시 조직 사이에 미세혈관의 차이가 나타나지 않았다. 임상 병기와 관련해서는 미세혈관 수와 밀도 모두 낮은 병기(병기 1)보다 높은 병기(병기 2 및 병기 3)에서 높게 측정되었지만, 미세혈관 수의 변화만이 통계학적인 의의가 있는 것으로 나타났다. VEGF와 MMP-9의 경우 모두 강양성을 보이는 증례의 비율이 병기의 진행에 따라 증가하는 결과를 보였으며, MMP-9의 경우 이러한 증가 경향이 통계학적으로도 유의했다.

신생혈관 생성(angiogenesis)은 종양의 성장과 전이, 재발 및 악성화에 필수 요건으로 알려져 있다.^{16,17} 그러나 기존 연구자들

은 골거대세포종의 재발 예와 비재발 예의 미세혈관 형성에서 뚜렷한 차이를 발견하지 못했고,¹⁸ 미세혈관 밀도와 Enneking 임상 병기의 관련성이 높지 않다고 여겼다.¹⁵ 또 소파술로 얻은 조직이 다수를 차지하는 경우, 미세혈관이 가장 발달한 종양 주변부를 결정하기 어려운 점도 문제였으며, 미세혈관 수나 밀도 등 미세혈관 측정 방법에서도 방법론적 함의를 끌어내지 못하였다.^{5,18} Zheng 등⁵의 연구에서도 미세혈관 형성은 동일 종양 내에서도 부위에 따라 차이를 보이고, Enneking의 임상 병기와도 관련성을 보이지 않았다. 본 연구에서도 미세혈관의 개수를 세는 방법과, 미세혈관의 단면적을 측정하는 혈관밀도 측정 방법을 모두 사용하였지만, 재발 예와 높은 병기 증례들에서 미세혈관 측정치의 증가 경향을 확인하고, 이 중 병기 차이에 따른 미세혈관의 수의 변화만이 통계적으로 유의한 결과를 얻었다. 이는 미세혈관의 직경과 두께 등이 반영되는 혈관 밀도와 미세혈관의 증식 정도가 정비례하지는 않는다는 점과, 혈관 측정의 객관적 접근이 어렵다는 점 때문으로 생각할 수 있다.

VEGF의 경우 병기가 진행함에 따라 통계학적 유의성을 보이는 못했지만 발현이 증가하는 경향을 볼 수 있었고, 역시 통계학적 유의성을 보이는 못했지만 미세혈관의 측정치가 재발 예와 진행된 병기에서 증가하는 경향을 보인 것에도 기여했을 것으로 판단된다. 면역조직염색 결과, 원형의 단핵세포, 방추형 간질세포, 파골세포양 거대세포에서 모두 양성을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 혈관 증식과 공격적 골 파괴, 그리고 국소적 재발은 많은 골용해성 병변에서 공통적으로 나타나는 특징으로, Kumta 등⁶의 연구에서도 지적한 바 있다. 파골세포양 거대세포는 증식성 종양세포가 아닌 반응성 세포성분이지만 골용해성 파괴를 매개하고 종양의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁴ 간질세포와 파골세포양 거대세포에서 모두 양성을 보이는 것으로 미루어보아, VEGF가 종양성분인 간질세포에서 혈관 증식에 기여할 뿐만 아니라 골 파괴에 직접적인 역할을 담당하는 파골세포양 거대세포에서 또 다른 상승작용을 하리라는 것을 추론할 수 있다.

VEGF는 다양한 종양에서 신생혈관을 유도하는 인자로,^{16,19} 혈관 생성을 매개하고, 충실성 종양의 진행에도 관여할 것으로 여겨진다.⁷ VEGF는 혈관의 투과성을 높여 섬유모세포나 혈관 내피세포의 이동을 쉽게 할 뿐 아니라 직접 혈관내피세포 표면에 존재하는 수용체(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)와 결합하여 혈관을 증식시키는 기능이 있다고 알려져 있다.^{19,20} 골거대세포종에서는 VEGF가 골 흡수에 주된 역할을 하는 파골세포양 거대세포의 전구세포가 말초혈액에서 유래하여 분화에 이르기까지 강력한 화학주성인자이자 분화 자극원의 역할을 담당하고 있다.⁸ Zheng 등⁵은 반정량적(semiquantitative) RT-PCR 방법으로 유전자 단계에서 Enneking 임상 병기와 관련하여 VEGF의 발현이 증가한다는 사실을 입증하였고, 본 연구에서는 병기가 높아질수록 강양성 발현율이 증가하는 경향을 확인할 수 있었다. Kumta 등⁶은 골거대세포종을 비롯한

동맥류성 골낭종, 섬유성 형성이상, 호산구성 육아종 등 골용해성 병변에서 VEGF의 발현 정도가 골 파괴 정도 및 국소 재발과 높은 관련성을 보인다고 보았다.

Matrix metalloproteinases (MMPs)는 zinc metalloendopeptidases의 유전자 계열에 속하며, 종양세포 침습 시 첫 장벽이 되는 기저막을 분해하는 데 중요한 역할을 한다. 사람에게서 발현되는 종류는 20가지 이상이 밝혀졌으며 그 중에서 MMP-9이 골거대세포종에서 가장 많이 발현되는 아형으로 알려져 있다.²¹ MMP-2와 함께 MMP-9은 혈관기저막의 주성분인 4형 아교질과 라미닌 등을 분해하여 종양의 침습과 전이에 관여하는데, 이러한 MMP-9의 활동성이 여러 종양의 전이 잠재성과 관련이 있다고 여겨진다.²² 특히 골거대세포종에서 MMP-9은 파골세포양 거대세포 주위에서 주로 강하게 발현되며, 거대세포가 부착하고 있는 부위의 혈관기저막이 소실되는 소견을 나타냄으로써 종양 조직의 혈관 침습에 깊이 관련되어 있음을 보인다.²³ Ueda 등²¹은 모든 골거대세포종의 실험에 조직소견에서 다핵거대세포에 의한 혈관 침입 소견과 다수에서 간질세포에 의한 혈관 침입 소견을 관찰하였으며, 이러한 다핵거대세포의 혈관 침습 부위나 골흡수 부위에서 MMP-9이 더욱 강하게 발현된다는 것을 확인하였다. Kumta 등⁶은 진행된 병기에서 MMP-9가 더 강하게 발현되는 것을 관찰하였다. 본 연구에서 강양성 발현을 보이는 증례의 비율이 병기의 진행에 따라 증가하는 것은 이와 유사한 결과를 나타낸 것으로 볼 수 있다. Si 등²⁴은 MMP-9 뿐만 아니라 인접 기질세포를 자극하여 MMPs 합성을 유도하는 extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) 역시 다핵거대세포의 세포막에서 강하게 발현되며 골거대세포종의 임상 병기에 따라 발현율이 증가함을 관찰하고 예후인자로서의 가능성을 제시하였다.

MMP-9는 간질세포와 산재한 파골세포양 거대세포에서 모두 발현되었고, 특히 파골세포양 거대세포에서 강하게 발현되는 양상을 보였는데, 이는 기존의 실험 결과와도 일치하였다. 전술한 바와 같이, MMP-9가 파골세포양 거대세포에서 VEGF와 함께 상승작용을 일으키며, 골파괴성 병변에 기여하는 근거로 추론할 수 있는 소견이었다. 그러나 다수의 다핵거대세포의 핵과 세포질 사이에서 점상 패턴으로 양성을 보이는 모습이 특징적으로 관찰되었다. 이러한 소견이 종양의 진단적 가치 혹은 생물학적 행동 양상과 연관이 있는지는 확인할 수 없었고, 추후 연구를 통해 확인해야 할 것으로 생각한다.

본 연구에서는 33예를 대상으로 몇 가지 인자에 대한 검증을 시도하였다. 그렇지만 상대적으로 재발 예의 비율이 낮았고(33예 중 4예), 병기 1에 해당하는 증례 수가 적어(33예 중 3예), 여러 가지 인자를 평가하는 데 제한이 있었다. 이러한 문제는 앞으로 충분한 증례를 축적하고 계속 실험함으로써 해결해야 할 과제라고 생각된다. 본 연구에서는 골거대세포종에서 재발 여부와 임상 병기에 따른 신생혈관의 수와 밀도를 측정하였다. 그 결과 신생혈관 수만이 병기에 따라서 유의한 차이를 보였고, 재발 예에서

는 유의한 차이를 보이지 못했다. 이는 기존에 연구를 수행한 연구자들이 지적인 재발에 관련된 예측인자로서 신생혈관 형성의 의의 한계를 반영하는 것으로 보인다. 또한 신생혈관 밀도와 수를 측정하는 방법에 대해서도 각 연구자마다 다른 의견을 보여왔기 때문에, 병기에 따른 신생혈관 수의 차이에 큰 의미를 두기는 어려웠다. VEGF의 경우 역시 병기에 따라 증가하는 경향을 보이는 하였지만, 유의한 차이를 보이지는 않았다. MMP-9에서 강양성으로 발현하는 예의 비율이 종양의 침습성을 반영하는 임상 병기에 따라 증가하는 결과를 보여주었으며, 이는 골거대세포종의 생물학적 성상을 반영하는 중요한 인자로서 가능성을 보여준다.

참고문헌

1. Scully SP, Mott MP, Temple HT, O'Keefe RJ, O'Donnell RJ, Mankin HJ. Late recurrence of giant-cell tumor of bone. A report of four cases. *J Bone Joint Surg Am* 1994; 76: 1231-3.
2. Rock MG, Pritchard DJ, Unni KK. Metastases from histologically benign giant-cell tumor of bone. *J Bone Joint Surg Am* 1984; 66: 269-74.
3. Schwartz HS. Giant cell tumor of bone. *Compr Ther* 1993; 19: 64-8.
4. Prando A, deSantos LA, Wallace S, Murray JA. Angiography in giant-cell bone tumors. *Radiology* 1979; 130: 323-31.
5. Zheng MH, Xu J, Robbins P, et al. Gene expression of vascular endothelial growth factor in giant cell tumors of bone. *Hum Pathol* 2000; 31: 804-12.
6. Kumta SM, Huang L, Cheng YY, Chow LT, Lee KM, Zheng MH. Expression of VEGF and MMP-9 in giant cell tumor of bone and other osteolytic lesions. *Life Sci* 2003; 73: 1427-36.
7. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-9.
8. Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, et al. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol* 2000; 151: 879-89.
9. Blavier L, Delaisse JM. Matrix metalloproteinases are obligatory for the migration of preosteoclasts to the developing marrow cavity of primitive long bones. *J Cell Sci* 1995; 108: 3649-59.
10. Vu TH, Shipley JM, Bergers G, et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell* 1998; 93: 411-22.
11. Enneking WF. A system of staging musculoskeletal neoplasms. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 204: 9-24.
12. Bosari S, Lee AK, DeLellis RA, Wiley BD, Heatley GJ, Silverman ML. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma.

- ma. Hum Pathol 1992; 23: 755-61.
13. Goldring SR, Roelke MS, Petrisson KK, Bhan AK. Human giant cell tumors of bone identification and characterization of cell types. J Clin Invest 1987; 79: 483-91.
 14. Zheng MH, Fan Y, Smith A, Wysocki S, Papadimitriou JM, Wood DJ. Gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in giant cell tumors of bone osteoclastoma: possible involvement in CD68+ macrophage-like cell migration. J Cell Biochem 1998; 70: 121-9.
 15. Huang TS, Green AD, Beattie CW, Das Gupta TK. Monocyte-macrophage lineage of giant cell tumor of bone. Establishment of a multinucleated cell line. Cancer 1993; 71: 1751-60.
 16. Brown LF, Berse B, Jackman RW, *et al.* Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. Cancer Res 1993; 53: 4727-35.
 17. Plate KH, Breier G, Weich HA, Mennel HD, Risau W. Vascular endothelial growth factor and glioma angiogenesis: coordinate induction of VEGF receptors, distribution of VEGF protein and possible in vivo regulatory mechanisms. Int J Cancer 1994; 59: 520-9.
 18. Sulh MA, Greco MA, Jiang T, Goswami SB, Present D, Steiner G. Proliferation index and vascular density of giant cell tumors of bone: are they prognostic markers? Cancer 1996; 77: 2044-51.
 19. Plate KH, Breier G, Weich HA, Risau W. Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo. Nature 1992; 359: 845-8.
 20. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. Am J Pathol 1995; 146: 1029-39.
 21. Ueda Y, Imai K, Tsuchiya H, *et al.* Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B) is expressed in multinucleated giant cells of human giant cell tumor of bone and is associated with vascular invasion. Am J Pathol 1996; 148: 611-22.
 22. Brown PD, Levy AT, Margulies IM, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Independent expression and cellular processing of Mr 72,000 type IV collagenase and interstitial collagenase in human tumorigenic cell lines. Cancer Res 1990; 50: 6184-91.
 23. Schoedel KE, Greco MA, Stetler-Stevenson WG, *et al.* Expression of metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in giant cell tumor of bone: an immunohistochemical study with clinical correlation. Hum Pathol 1996; 27: 1144-8.
 24. Si AI, Huang L, Xu J, Kumta SM, Wood D, Zheng MH. Expression and localization of extracellular matrix metalloproteinase inducer in giant cell tumor of bone. J Cell Biochem 2003; 89: 1154-63.