

측두하악 관절 장애 환자에서
관절 원판 후조직의
matrix metalloproteinase-1
단백 발현

연세대학교 대학원

치의학과

고 원 경

측두하악 관절 장애 환자에서
관절 원판 후조직의
matrix metalloproteinase-1
단백 발현

지도교수 김 형 곤

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2003년 6월 일

연세대학교 대학원

치의학과

고 원 경

고원경의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2003년 8월 일

감사의 글

연구 과제에 대한 동기를 부여해 주시고 많은 가르침과 가능성을 제시해주신 김형곤 교수님께 진심으로 감사드립니다. 실험 과정과 결과를 가까이서 지켜보시며 논문의 방향을 이끌어 주신 김진 교수님, 논문이 나오기까지 날카로운 지적과 조언을 아끼지 않으신 박광호 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 연구 주제를 정할 때부터 논문의 마무리까지 허종기 교수님께서 베풀어 주신 모든 것을 저도 제 후배에게 전할 수 있었으면 좋겠습니다. 수련의 생활과 대학원 과정 동안 많은 지도와 관심을 보여 주신 구강악안면외과학 교실 교수님들께 감사드립니다.

실험을 진행하는데 있어서 큰 힘이 되어 주신 공선영 선생님과 어려움 없이 연구할 수 있도록 배려해 주신 구강병리학교실 선생님들께 감사드립니다. 바쁜 일과 중에도 정성을 다해 도와주신 영동세브란스병원 구강악안면외과 의국원들께 고마움을 전합니다. 논문에 몰두할 수 있도록 세심한 부분까지 지원해 주신 연세덴티프로치과 원장님들께도 감사의 말씀을 드립니다.

자기 일에만 치중하는 저를 넓은 마음으로 이해하고 염려해 주는 언니, 동생들과 이 기쁨을 함께 나누고 싶습니다. 자랑스러운 딸이 되기를 바라시며 사랑과 믿음으로 후원해 주시는 부모님께 이 논문을 바칩니다.

언제나 제 곁에 계시며 지혜로운 삶을 살도록 이끌어 주시는 하느님께 감사드립니다. 앞으로도 '감사합니다'라는 말을 기쁘게 할 수 있는 사람이 되겠습니다.

2003년 7월

저자 씀

차 례

그림 차례	ii
표 차례	iii
국문요약	iv
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 연구 대상	3
2. 연구 방법	3
가. 면역조직화학 염색	3
나. 면역조직화학 염색의 평가	4
다. 자기공명영상 분석	4
라. 수술 소견	4
마. 현미경적 소견	5
III. 결 과	6
1. 면역조직화학 염색 결과	8
2. 자기공명영상과의 비교	10
3. 수술 소견과의 비교	11
4. 현미경적 소견과의 비교	12
IV. 고 찰	13
V. 결 론	17
참고문헌	18
영문요약	22

그림 차례

Fig. 1. Immunohistochemical localization of MMP-1 ; grade I	8
a. (X 100) / b. (X 400)	
Fig. 2. Immunohistochemical localization of MMP-1 ; grade II	8
a. (X 200) / b. (X 400)	
Fig. 3. Immunohistochemical localization of MMP-1 ; grade III	9
a. (X 100) / b. (X 400) / c. (X 200)	
Fig. 4. Immunohistochemical localization of MMP-1 ; negative control	9
(X 200)	
Fig. 5. Myxoid change (X40)	12
a. HE stain	
b. Immunohistochemical localization of MMP-1	
Fig. 6 Hyalinization (X100)	12
a. HE stain	
b. Immunohistochemical localization of MMP-1	

표 차 례

Table 1. Radiologic, operative findings and immunohistochemical expression of MMP-1 in temporomandibular disorders	6
Table 2. Relation of TMJ meniscus position and MMP-1 expression	10
Table 3. Relation of TMJ osteoarthritis and MMP-1 expression	11
Table 4. Relation of operation findings and MMP-1 expression	11

국문요약

측두하악 관절 장애 환자에서 관절 원판 후조직의 matrix metalloproteinase-1 단백질 발현

측두하악 관절의 구조는 관절 기능을 유지하는데 중요한 역할을 한다. 단순한 기계적 마찰, 손상이나 대사 작용이 활성화된 기질퇴화효소에 의해 구조적인 손상을 가져오면 자각되지 못하는 증상에서 통증이나 개구제한 등의 질병으로 진행하게 된다.

생체 내외에서 단백질로 구성된 물질을 분해하는 기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase; MMP)는 정상 조직의 발육과 성장, 치유와 관련된 결합 조직의 재형성 과정 및 병변의 악화에 관여한다. 본 연구는 이런 MMPs 중에서 관절 원판 후조직을 구성하는 콜라겐에 관여하는 MMP-1의 발현 여부를 살펴보고, 발현 정도와 자기공명영상 사진, 수술 소견을 비교하여 측두하악 관절 장애에 있어서 MMP-1의 작용에 대해 알아보려고 하였다.

측두하악 관절 장애로 수술 받은 43명 환자를 대상으로 수술시 제거된 관절 원판 후조직에 대해 면역조직화학 염색을 시행하여 MMP-1의 발현을 관찰하였다. 면역조직화학 염색의 결과를 0, I, II, III의 네 등급으로 구분하였으며, 관절 원판의 위치 및 상태와 골관절증 여부, 관절 원판의 유착이나 천공의 유무에 따른 각각의 연관성에 대해 평가하였다.

MMP-1의 발현은 총 43명 중에서 grade 0 3명, grade I 6명, grade II 12명, grade III 22명으로 나타났다. 관절 원판의 상태나 위치에 따른 평가에서 후기의 비복위성 변위군은 염색상 grade II와 III에 해당하였으며, 정상 위치와 복위성 변위군에서는 두드러진 차이가 없었다. 5명의 골관절증 환자 모두가 grade III를 나타냈으며, 수술시 관찰된 관절 원판의 유착과 천공은 모두 grade II나 III의 반응을 보였다. 또한 점액 또는 초자양 변성 소견이 관찰되는 부위

에만 MMP-1이 염색되었거나 염색이 더욱 두드러진 것을 관찰할 수 있었다. 이상에서, 관절원판 후조직에서 MMP-1의 발현은 관절 장애가 진행될수록 증가하며, 골과 연골의 파괴와 밀접한 관련성이 있을 것으로 보인다.

측두하악 관절 장애 환자에서 관절 원판 후조직의 matrix metalloproteinase-1 단백질 발현

< 지도교수 김형곤 >

연세대학교 대학원 치의학과

고원경

I. 서론

악관절 장애는 안면근 동통, 관절 원판의 변위, 골관절염으로 크게 분류할 수 있으나, 임상적 증상과 방사선학적 소견과의 연관성이 명확하지 않아서 세부적인 진단을 하기에는 어려움이 많다. 경도의 악관절 내장증은 골성 재형성을 동반하거나 그렇지 않은 관절 원판의 변위인 반면, 중증의 악관절 내장증은 관절 원판의 유착이나 천공, 골성 변화 및 골관절 변화를 포함한다(Wilkes, 1978). 이런 변화는 많은 종류의 세포외 기질과 그와 관련된 요소의 발현과 연관되며 (Ishibashi 등, 1996), 임상에서의 적용을 위해 관절 형태, 기능 및 병리학적 변화와의 관련성이 여러 문헌에서 고찰되고 있다.

기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase; MMP)는 활성도가 Zn^{2+} 에 의존하는 내인성 단백질분해 효소로서 모든 종류의 콜라겐, 단백질당과 세포외 기질, 특히, 연골의 세포외 기질 퇴행에 중요한 역할을 하며 기저막을 분해하기도 하고 정상 간질 조직의 대사에도 관여한다(McDonnell 등, 1999). 이들은 그 기능에 따라 interstitial collagenases (MMP-1, 8, 13), gelatinases (MMP-2, 9),

stromelysins (MMP-3, 11), membrane-type MMPs, 그 밖의 MMPs 의 다섯 집단으로 분류된다.

측두하악 관절에서 MMP의 존재, 특성, 활성도는 조기의 퇴행성 관절 변화에 중요한 지표가 되며, 질병의 진행 정도에 영향을 준다. 생체의 실험에서 인간의 측두하악 관절 세포는 MMP-1, 2, 3, 9를 합성한다는 보고가 있으며 (Kapli 등, 1995), MMP-1, 2, 3, 9, 13은 골관절증이 있는 환자의 활액에서 검출되었고(Vaatainen 등, 1998; Mohtai 등, 1993; Kubota 등, 1998a; Imai 등, 1997; Iwase 등, 1998; Imai 등, 1998), 악관절 내장증이나 골관절증 환자의 관절 활액에서 MMP-2, 3, 9의 발현 및 농도가 증가함을 보여주었다(Kubota 등, 1998a,b; Kubota 등, 1997). 이 중 MMP-1(interstitial collagenase 1)은 섬유모세포, 대식세포, 중성 백혈구에서 합성되어 I, II, III, X형 콜라겐과 I형 젤라틴을 분해하는 효소로서(Breckon 등, 1996), 측두하악 관절원판 후조직을 구성하는 I, II형 콜라겐에도 MMP-1이 관여하여 그 기질 변화에 영향을 줄 것이다.

측두하악 관절장애로 수술을 받은 환자의 관절 원판 후조직에서 섬유성 변성, 충혈, 유착, 천공 등의 다양한 변화가 관찰되나, 이와 관련된 세포의 기질과 관련된 요인에 대해서는 대상 선정의 제한점 때문에 연구가 활발하지 못한 실정이다. 이에 본 연구는 측두하악 관절 수술을 받은 환자들로부터 채취된 관절 원판 후조직의 면역조직화학적 염색을 통해 MMP-1의 발현을 살펴보고, MMP-1의 발현과 자기공명영상소견과 수술 소견을 비교하여 측두하악 관절 구조물 변화와의 연관성을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

2002년 1월부터 8월까지 측두하악 관절 장애를 주소로 연세대학교 영동세브란스병원 턱관절 클리닉에 내원하여 임상검사 및 자기공명영상사진 검사 결과 악관절 내장증 또는 골관절증으로 진단된 환자들 중 관절 원판 성형술이나 절제술을 시행 받은 43명의 43관절을 대상으로 하였다. 관절 원판 성형술은 원판 후조식의 외측부위를 썬기 모양으로 제거하였으며, 관절 원판 절제술은 관절 원판과 원판 후조식을 같이 제거하였다.

2. 연구 방법

가. 면역조직화학 염색

10% 중성 포르말린에 고정하여 파라핀에 포매된 조직을 5 μ m 두께로 박절하여 sialnized slide에 부착시킨 후 xylene을 이용하여 탈랍시키고 단계적 에탄올에 함수시켰다. 10분간 3% 과산화수소에 처리하여 내인성 과산화효소(endogenous peroxidase)의 활성을 억제시키고 PBS 완충액으로 수세하였다.

비특이적 단백질과의 결합을 방지하기 위하여 차단혈청(serum blocking solution)을 10분간 처리한 후 일차항체 MMP-1을 1:50으로 희석하여 실온에서 24시간 반응시켰다. MMP-1(Clone 41-1E5, Oncogene, MA, USA) 단일클론항체는 332에서330 residues에 해당하는 VQGQNVLHGYPKDIYSSFG 올리고펩타이드를 쥐에 면역화시켜 제조된 것이다. PBS 완충액으로 수세한 후 이차항체(biotinylated second antibody)를 실온에서 10분간 반응시키고 다시 수세하였으며, streptavidin-peroxidase를 실온에서 10분간 처리한 후 PBS 완충액으로 수세하였다. 위의 과정은 Histostain-plus kit(Zymed co., CA, USA)를 사용하

였다. 마지막으로 diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)로 발색하고 hemoatoxylin 으로 대조 염색한 후 glycerin으로 봉입하였다.

양성 대조군으로 흰쥐의 대퇴골두 조직을 사용하였으며, 음성 대조군은 일차 항체 대신 PBS를 반응시켰다.

나. 면역조직화학 염색의 평가

MMP-1에 대한 염색 정도를 다음의 네 가지 등급으로 구분하였다. grade 0은 음성 대조군에서와 같이 염색이 나타나지 않은 경우, grade I은 관찰된 조직 총 면적에 대해 양성으로 염색된 부위가 1/3 이하에 해당하는 경우, grade II은 염색 부위가 1/3에서 2/3이며, grade III은 2/3이상으로 판정하였다.

다. 자기공명영상 분석

자기공명 T1 강조영상에서 관절원판의 상태 및 변위정도를 정상위치군(normal position), 복위성 변위군(disc displacement with reduction), 초기 비복위성 변위군(early stage of disc displacement without reduction), 후기 비복위성 변위군(late stage of disc displacement without reduction)으로 구분하였다 (Huh 등, 2003).

관절의 퇴행성 여부는 골관절증의 유무를 판단하였는데, 하악 과두나 관절와의 침식, 피질골의 골경화나 흡수, 골수의 신호 변화가 보이는 경우가 이에 해당한다.

라. 수술 소견

수술시 관절원판과 후조직의 상태를 유착이나 천공이 관찰되지 않는 집단, 관절원판 또는 관절원판 후조직이 관절융기나 관절외에 부분적으로 또는 전체가 붙어있는 유착(adhesion), 상관절강과 하관절강이 개통되어 있는 천공(perforation), 그리고 유착과 천공이 동시에 관찰되는 집단의 네 군으로 나누었

다.

마. 현미경적 소견

Hematoxilin and eosin(HE) 염색 슬라이드에서 관찰된 점액 변성(myxoid change) 또는 초자양 변성(hyalinization) 부위를 면역조직화학 염색된 부위와 비교하여 연관성을 조사하였다.

III. 결 과

연구대상 43명 중 남자는 8명(18.6%)이었고, 여자는 35명(81.4%)이었으며, 평균연령은 32세(18세~67세)였다. 30명이 관절 원판 성형술을 시행 받았으며, 나머지 13명은 관절 원판 절제술이었다. 면역조직화학 염색에서 grade 0은 3명, grade I은 6명이었으며, 보다 염색 정도가 높은 grade II, III은 각각 12명과 22명이었다.

Table 1. Radiologic, operative findings and immunohistochemical expression of MMP-1 in temporomandibular disorders

Case	Age	Sex	Radiologic findings		Operation name	Operation findings		Expression of MMP-1 (grade)
			Status of joint	osteo-arthrosis		adhesion	perforation	
1	22	F	DDsR (late)	O	M/S	O	O	III
2	29	F	DDsR (late)	O	M/P	O	X	III
3	59	F	DDsR (late)	O	M/S	X	X	III
4	63	F	DDsR (late)	O	M/S	X	X	III
5	27	F	DDsR (late)	O	M/P	X	X	III
6	59	F	DDsR (late)	X	M/S	O	O	III
7	31	F	DDsR (late)	X	M/S	X	O	III
8	33	M	DDsR (early)	X	M/S	X	O	III
9	31	M	DDsR (early)	X	M/S	X	O	III
10	23	F	DDsR (early)	X	M/S	X	O	III
11	35	F	NP	X	M/S	O	X	III
12	34	F	DDsR (early)	X	M/S	X	X	III
13	36	F	DDsR (late)	X	M/S	X	X	III
14	23	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	III
15	24	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	III
16	28	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	III

NP: normal position of disc, DDcR: disc displacement with reduction, DDsR: disc displacement without reduction, M/P: meniscoplasty, M/S: menisectomy

Table 1. (continued) Radiologic, operative findings and immunohistochemical expression of MMP-1 in temporomandibular disorders

Case	Age	Sex	Radiologic findings		Operation name	Operation findings		Expression of MMP-1 (group)
			Status of joint	osteo-arthrosis		adhesion	perforation	
17	26	M	DDsR (early)	X	M/P	X	X	III
18	28	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	III
19	23	M	DDsR (late)	X	M/P	X	X	III
20	40	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	III
21	22	M	DDcR	X	M/P	X	X	III
22	30	F	DDsR (late)	X	M/S	O	O	II
23	31	M	DDsR (early)	X	M/P	O	O	II
24	45	F	DDsR (late)	X	M/S	X	O	II
25	38	F	DDsR (late)	X	M/P	X	O	II
26	39	F	DDsR (late)	X	M/P	X	O	II
27	22	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
28	33	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
29	28	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
30	18	M	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
31	30	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
32	33	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
33	25	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
34	23	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
35	26	F	DDsR (late)	X	M/P	X	X	II
36	30	F	DDcR	X	M/P	X	X	II
37	25	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
38	25	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
39	27	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
40	36	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
41	37	F	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
42	23	M	DDsR (early)	X	M/P	X	X	II
43	67	F	DDcR	X	M/P	X	X	II

NP: normal position of disc, DDcR: disc displacement with reduction, DDsR: disc displacement without reduction, M/P: meniscoplasty, M/S: menisectomy

1. 면역조직화학 염색 결과

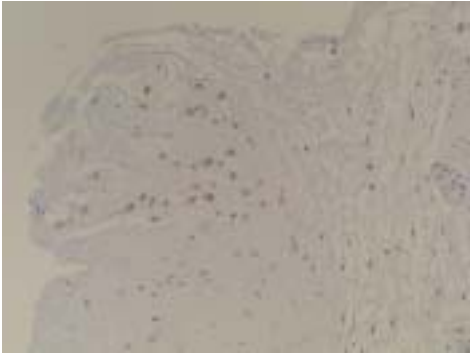


Fig. 1a. (x200)

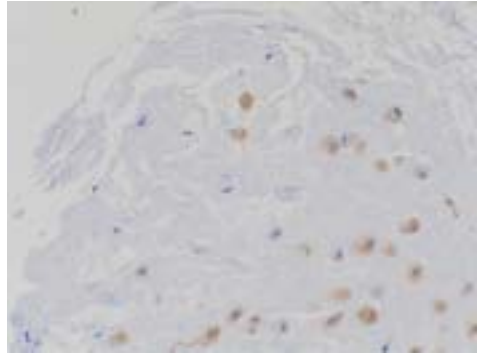


Fig. 1b. (x400)

Fig. 1a와 1b는 염색상 grade I에 해당하는 조직 소견으로 악관절 성형술 후 제거된 원관 후조직 중에서 극히 일부만 발색된 것을 보여준다.

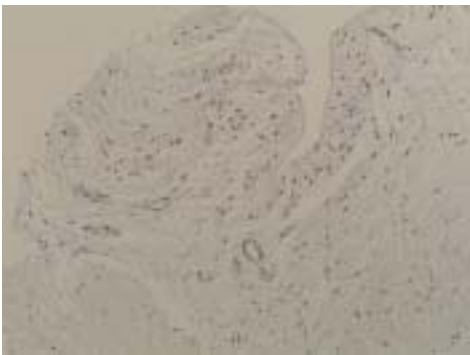


Fig. 2a. (x100)

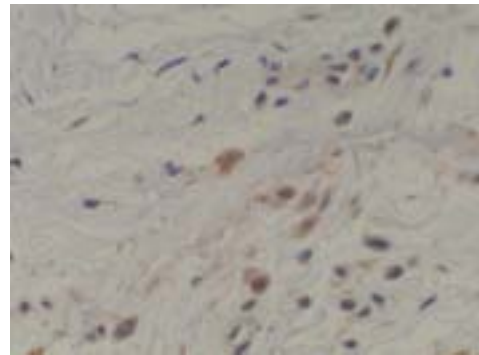


Fig. 2b. (x400)

Fig. 2a와 2b는 염색상 grade II으로 분류된 조직 소견이며, grade I에 비해 발색이 뚜렷하고 양성을 보이는 세포 수가 증가한 것을 볼 수 있다.

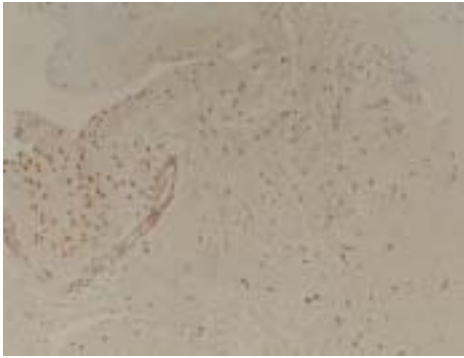


Fig. 3a. (x100)

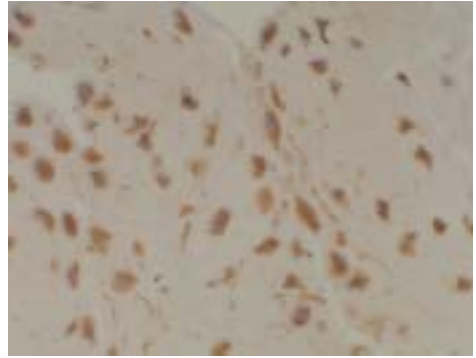


Fig. 3b. (x400)

Fig. 3a와 3b는 염색상 grade III에 해당하는 조직 소견이며, 세포질에 균등하게 발색되어 있고 광범위한 염색상을 보여 준다.

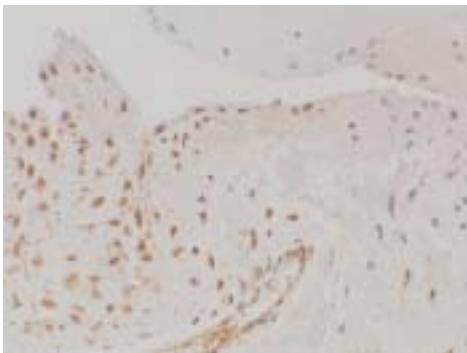


Fig. 3c. (x200)

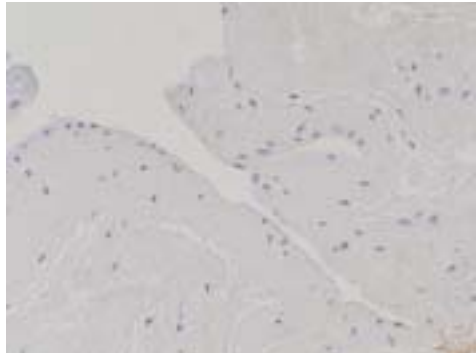


Fig. 4. (x200)

Fig. 3a, 3b, 3c와 Fig. 4는 같은 환자의 약관절 원판 성형술 후 제거된 원판 후조직 소견이며, 음성 대조군인 Fig. 4는 MMP-1 대신 PBS 완충용액을 처리하여 발색 여부를 비교하였다.

2. 자기공명영상과의 비교

관절 원판의 상태나 위치에 따른 평가에서 정상위치군은 1명, 복위성 관절 원판 변위군은 3명, 초기의 비복위성 관절원판 변위군은 16명, 후기의 비복위성 관절 원판 변위군은 23명이었다. 후기의 비복위성 변위군은 주로 염색상 grade II,III을 보였으나, 그 밖의 경우는 염색 정도에서 두드러진 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. Relation of TMJ meniscus position and MMP-1 expression

Expression of MMP-1 (grade)	Status of joint (MR T1-weighted image)			
	Normal position (n=1)	DDcR (n=3)	Early stage of DDsR (n=16)	Late stage of DDsR (n=23)
0	0 (0.0%)	1 (33.3%)	2 (12.5%)	0 (0.0%)
I	0 (0.0%)	1 (33.3%)	4 (25.0%)	1 (4.3%)
II	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (12.5%)	11 (47.8%)
III	1 (100%)	1 (33.3%)	8 (50.0%)	11 (47.8%)

DDcR: disc displacement with reduction,

DDsR: disc displacement without reduction

골관절증에 관련하여 자기공명영상사진 상에서 관절의 퇴행성 변화를 보인 환자는 5명이었고 염색 결과 모두 grade III으로 나타났다(Table 3).

Table 3. Relation of TMJ osteoarthrosis and MMP-1 expression

Expression of MMP-1 (grade)	Bony status	
	Osteoarthrosis (n=5)	Normal (n=38)
0	0 (0.0%)	3 (7.9%)
I	0 (0.0%)	6 (15.8%)
II	0 (0.0%)	12 (31.6%)
III	100 (100%)	17 (44.7%)

3. 수술 소견과의 비교

유착이나 천공이 관찰되지 않은 집단은 30명, 유착만 나타낸 집단은 3명, 천공만 나타낸 집단은 7명이었으며, 유착과 천공을 동시에 나타낸 집단은 4명이 있었다. 관절 원판이나 후조직의 유착과 천공은 모두 염색상 grade II과 III에 해당하였다(Table 4).

Table 4. Relation of operation findings and MMP-1 expression

Expression of MMP-1 (grade)	Operation findings			
	Adhesion (n=2)	Perforation (n=7)	Adhesion and perforation (n=4)	Others (n=30)
0	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (10.0%)
I	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	6 (20.0%)
II	0 (0.0%)	3 (42.9%)	2 (50.0%)	8 (26.7%)
III	2 (100%)	4 (57.1%)	2 (50.0%)	13 (43.3%)

Others: Operation findings except for adhesion and perforation were observed.

4. 현미경적 소견과의 비교

현미경적 소견에서 점액 변성이나 초자양 변성이 관찰된 부위에서만 MMP-1이 염색되었거나 다른 부위보다 더욱 뚜렷한 염색을 보였다.

(1) Myaline change

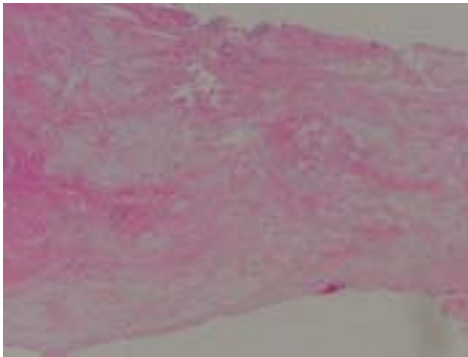


Fig. 5a. HE stain (X40)



Fig. 5b. Immunohistochemical localization of MMP-1 (X40)

(2) Hyalinization

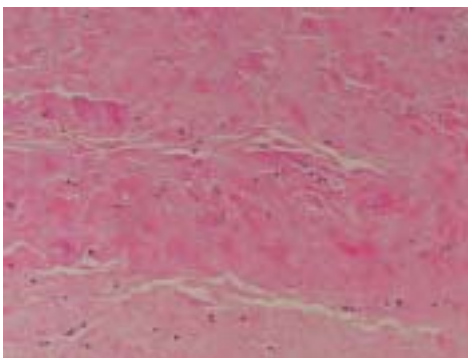


Fig. 6a. HE stain (X100)



Fig. 6b. Immunohistochemical localization of MMP-1 (X40)

IV. 고 찰

측두하악 관절 장애의 임상적 증상은 통증, 관절 잡음, 하악 운동 제한 등을 포함하는 비특이적인 것이어서, 임상 증상만으로 질병의 정도를 평가해 내는데 어려움이 있다. 근래에는 자기공명영상 사진을 통해 근접한 진단을 얻을 수 있으나 이 또한 오차를 발생시킬 수 있는 문제점을 가지고 있다. 현재 측두하악 관절로부터 채취된 조직이나 용액의 분자들로부터 이런 질병의 표식자를 밝히는 연구가 진행되고 있으며, 이는 임상가에게 병인에 대한 정보를 제공하고 질병 초기에 환자를 감별할 수 있어서 유용하다.

콜라겐을 비롯한 세포외 기질의 조합이 관절에 가해지는 압축 및 인장력을 완화시키지만, 이런 힘이 관절 내의 세포에 손상을 주게 되면 여러 가지 기질 퇴행 효소가 분비되어 결합조직을 퇴화시킨다. 관절 활액의 연구는 이렇게 손상 받은 기질과 그에 관여하는 효소가 활액으로 확산된다는 기반에서 측두하악 장애에 대한 평가 도구로 활발하게 진행되어 오고 있다(Mizui 등, 2001). 그러나, 악관절 내장증에 동반된 관절 원판 후조직의 변성이나 유착, 천공 등에 대해서는 조직의 채취가 용이하지 않아 제한적인 연구가 시행되고 있다. 본 연구는 수술시 제거된 관절 원판 후조직을 이용하여 보다 일차적으로 이에 대한 연구를 진행하였다.

기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase; MMP)는 구조적으로나 기능적으로 zinc endopeptidase와 관련되어 형성된다. 이들은 생체 내, 외에서 세포간질, 기저막 콜라겐, 단백당, fibronectin, laminin 같은 세포외 기질 단백 성분을 퇴화시키며, 태아 발육, 임신, 성장 및 창상 치유 등의 결합조직 재형성에도 관계한다. 정상적으로 MMP의 활성도는 내인성 특이적 단백질 억제자(tissue inhibitors of metalloproteinases; TIMP)와 비특이적 억제자(α_2 -macroglobulin 등)에 의해 조절되며, MMP-TIMP의 불균형은 류마티오이드, 골관절염, 죽상동맥경화, 종양 성장, 전이, 섬유화 등을 가져온다. MMP의 억제는

이런 질병들의 치료하는 데 있어서 가능성을 지니며, 따라서 MMP 구조와 이들의 TIMP 복합체는 합리적인 억제 모형의 대상이 되고 있다(Clark, 2001).

MMP-1이 모든 관절의 활액에서 검출되며 골관절염을 보이는 환자에서 높은 빈도를 보인다는 보고(Kanyama 등, 2000)가 있는 반면, MMP-1은 주로 통증을 호소하는 환자의 활액에서 검출되며 MMP-1의 농도가 관절의 염증 상태를 증가시킨다는 연구(Ishimaru 등, 2000)도 있다. 이처럼 MMP-1의 발현 여부에 대해서는 확실하게 밝혀진 것은 없지만, 콜라겐이 관절 원판 후조직의 주요 구성성분인 만큼 MMP-1이 관절 원판의 변위나 그에 관련된 질환에 관여한다고 추정할 수 있다. 본 연구에서 측두하악 관절 장애로 수술 받은 환자의 관절 원판 후조직에 대한 MMP-1의 발현이 모두에서 나타난 것은 아니지만 음성반응(grade 0)보다는 양성반응(grade I, II, III)을 보이는 경우(93.3%)가 월등히 많았다.

관절원판의 위치나 상태와의 비교에서 후기 비복위성 변위군의 경우 염색정도가 뚜렷한 grade II이나 III을 보였는데, 이는 악관절 내장증이 진행되면서 관절 원판의 변성에 관여하는 분해 효소의 작용이 활발해졌음을 시사한다. 관절 원판이 정상 위치에 있거나 복위성 변위군, 초기의 비복위성 변위군인 경우 음성 반응의 빈도가 높았지만 음성을 나타낸 실험군의 규모가 작고 양성 반응과의 차이가 두드러지지 않아 관련성을 찾기 어렵다고 본다. Grade III의 염색상을 보이면서 자기공명영상사진 상에서 관절원판이 정상위치로 관찰된 경우는 관절원판과 하악 과두의 유착이 심하여 관절원판 절제술을 시행 받은 환자였다.

허 등의 연구(2002)에서 MMP-1 mRNA가 검출된 8관절 중 7관절에서 골관절염증을 보였으며, 이는 관절 원판 후조직에서 유리되는 MMP-1이 하악 과두와 관절와의 골과 연골의 파괴와 관련이 있을 것으로 보인다고 하였다. 본 연구에서도 퇴행성 관절 장애 소견을 보이는 5명의 환자들 모두가 grade III의 염색정도를 나타내었고, 비록 실험군의 규모가 작지만 이를 통해서도 MMP-1이 측

두하악 관절 원판 주위의 골과 연골의 파괴와 관련이 있을 것으로 보인다고 할 수 있다.

수술 소견과 관련하여 관절 원판이나 원판 후조직의 유착이나 천공은 모든 경우에서 grade II, III의 염색 결과를 나타내었다. 유착과 천공은 관절 원판 변위에 있어서 가장 불량한 형태 변화이므로 후기의 비복위성 변위에서 관찰된 결과와 연관지어 볼 수 있을 것이다. 염색상 grade 0나 I으로 판정된 총 9명은 관절원판의 변위만 관찰될 뿐 퇴행성 골변화나 유착, 천공은 보이지 않았다.

Marcetti 등(1999)의 연구는 손상된 관절 원판에서 세포 수 증가와 세포 내 MMP-2 존재가 기질 퇴화와 재생에 있어서 원판 세포의 능동적인 작용에 의해 기계적인 부하에 적응한다는 것을 제시한다고 하였다. 본 연구는 현미경상에서 관찰되는 점액 또는 초자양 변성 부위가 콜라겐 분해효소인 MMP-1과 관련이 있을 것이라 추측하여 HE염색과 비교 관찰한 결과, 점액 변성이 있는 부위에 세포 수가 증가하였으며 점액 또는 초자양 변성 부위만 염색이 되거나 다른 부위에 비해 더욱 뚜렷하게 염색된 것을 볼 수 있었다. 이러한 변성은 관절 원판 변위로 인해 전가된 부하를 원판 후조직이 적응하거나 악화되는 경우에 나타나는 것이며, 이때 MMP-1이 관여한다는 것을 추측할 수 있다.

MMP-1과 금속단백 분해요소의 조직 억제자(tissue inhibitors of metalloproteinases; TIMP)-1 간의 불균형 역시 세포외 기질의 분해에 있어 중요한 역할을 한다(Sawatsubashi 등, 1998). 세포외 기질의 분해를 억제하는 TIMP-1의 발현 감소와 MMP-1 및 TIMP-1간의 불균형이 골이나 연골에 대한 공격적인 양상을 반영할 수 있을 것이다. Gaye 등(2001)은 초기 척추의 염증성 관절염 환자에서 관절의 부식을 예방하고 장기간 기능 향상을 위해 MMP-1의 생산과 활성을 억제하는 것을 치료 방법으로 제안하였다. 본 연구에서 TIMP-1에 대한 염색을 병행하지 못했지만, MMP-1에 대해 grade III의 발색정도를 나타내면서 관절 구조물의 변화나 파괴를 보이지 않는 경우는 TIMP-1 작용 또한 활발히 이루어졌을 것이다. 앞으로 임상에서의 적용을 위해

여 MMP-1과 TIMP-1의 상호 작용에 대한 연구는 물론, 측두하악 관절 장애 중 골관절증 환자의 증상과 관련한 장기적인 추적 조사가 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 관절원판 후조직에 대한 면역조직화학 염색을 통해 MMP-1의 발현 여부를 살펴보고, 발현 양상을 토대로 하여 측두하악 관절 장애 환자에서 볼 수 있는 악관절 내장증, 골관절증, 유착 및 천공 등의 연관성을 알아보고자 하였다. 연구 대상 43명의 조직 염색 정도를 grade 0, I, II, III의 네 등급으로 구분하였으며, 각각 3, 6, 12, 22명으로 관찰되었다. 관절 원판의 상태나 위치에 따른 평가에서는 후기의 비복위성 변위군의 경우 양성 반응이 뚜렷한 grade II나 III으로 나타났으며, 정상 위치나 복위성 변위군에서는 집단간에 두드러진 차이를 보이지 않았다. 골관절증이 있는 경우는 5관절 모두 뚜렷하고 광범위한 발색을 보이는 grade III을 나타냈다. 수술시 관찰된 관절 원판이나 후조직의 유착 및 천공은 모든 경우에서 grade II와 III이었다. 병리조직학적 검사에서는 점액 또는 초자양 변성 소견이 관찰되는 부위에만 MMP-1이 염색되었거나 염색이 더욱 두드러진 것을 관찰되었다. 이상에서, MMP-1은 측두하악 관절장애에 있어서 질병이 진행될수록 증가하며, 특히, 관련 구조물의 퇴행성 골 변화에 영향을 준다는 것을 알 수 있다.

참고 문헌

- 허중기: 측두하악 관절원판 후조직의 MMP(Matrix metalloproteinase)-1과 MMP-2 mRNA의 발현. 박사학위논문, 연세대학교 대학원, 서울, 2002.
- Ali AM, Sharawy MM, O'dell NL, Al-Behery G: Morphological alterations in the elastic fibers of the rabbit craniomandibular joint following experimentally induced anterior disk displacement. *Acta Anat* 147: 159 - 167, 1993.
- Amira G, Sarah S, Gil A, Nitza L, Erella L: Expression of matrix metalloproteinases in articular cartilage of temporomandibular and knee joint of mice during growth, maturation, and aging. *Arthritis&rheumatism* 46: 3240-3250, 2002.
- Breckon JJW, Hembry RM, Reynolds JJ, Meikle MC: Identification of matrix metalloproteinases and their inhibitor in the articular disc of the craniotemporomandibular joint of the rabbit. *Archs oral Biol* 4: 315-322, 1996.
- Clark IM: Structural studies on MMPs and TIMPs. In Matrix metalloproteinase protocols. pp 45-77, Humana Press, 2001
- Edwards JCW, Wilkinson LS, Soothill P, Hembry RM, Murphy G, Reynolds JJ: Matrix metalloproteinases in the formation of human synovial joint cavities. *J Anat* 188: 355 - 360, 1996.
- Gaye C, Oliver F, Charlotte B, Tim EC, Barry B: Early joint erosion and serum levels of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 3, and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 44: 2263-2274, 2001

- Helmy ES, Bays RA, Sharawy MM: Histopathological study of the human TMJ perforated disk with emphasis on synovial membrane response. *J Oral Maxillofac Surg* 47: 1048 - 1052, 1989.
- Huh JK, Kim HG, Ko JY: Magnetic resonance imaging of temporomandibular joint synovial fluid collection and disk morphology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95:665-71, 2003
- Imai K, Ohta S, Matsumoto T: Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and activation of progelatinase A in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol* 151: 245-56, 1997.
- Imai S, Konttinen YT, Jumppanen, et al: High levels of expression of collagenase-3 (MMP-13) in pathological condition associated with a foreign-body reaction. *J Bone Joint Surg Br* 80: 701-10, 1998.
- Iannaroon A, Wallon UM, Overall CM, Diewert VM: Expression of 72-kDa gelatinase (Matrix metalloproteinase-2) in the developing mouse craniofacial complex. *Arch Oral Biol* 41: 1109 - 1119, 1996.
- Ishibarshi H, Takenoshita Y, Ishibarshi K, Oka M: Expression of extracellular matrix in human mandibular condyle. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 81:402-412, 1996.
- Kanyama M, Kuboki T, Kojima S, Fujisawa T, Hattori T, Takigawa M, Yamashita A: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids of patients with temporomandibular joint osteoarthritis. *J Orofac Pain* 14: 20-30, 2000.
- Kapila S, Lee C, Richards DW: Characterization and identification of proteinases and proteinase inhibitors synthesized by temporomandibular joint disc cells. *J Dent Res* 74: 1328 - 1336, 1995.
- Kubota E, Kubota K, Matsumoto J, Shibata T, Murakami K: Synovial fluid

- cytokines and proteinases as marker of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 192-8, 1998a.
- Kubota T, Kubota E, Matsumoto A, Kawai Y, Saito H, Mikuni-Takagaki Y, et al: Identification of matrix metalloproteinases(MMPs) in synovial fluid from patients with temporomandibular disorder. *Eur J Oral Sci* 106:992-998, 1998b.
- Kubota E, Imamura H, Kubota T, Shibata T, Murakami K: Interleukin 1 and stromelysin (MMP3) activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 55: 20-27, 1997.
- Marchetti C, Piacentini C, Farina A, Bernasconi G, Calligaro A: A microscopic and immunocytochemical study of structural changes in dysfunctional human temporomandibular joint discs. *Arch Oral Biol* 40: 549 - 557, 1995.
- Marchetti C, Bernasconi G, Reguzzoni M, Farina A: The articular disc surface in different functional conditions of the human temporomandibular joint. *J Oral Pathol Med* 26: 278 - 282, 1997.
- Marchetti C, Cornaglia I, Casasco G, Bernasconi U, Baciliero U, Stetler-Stevenson WG: Immunolocalization of gelatinase-A (matrix metalloproteinase-2) in damaged human temporomandibular joint discs. *Arch Oral Biol* 44: 297-304, 1999.
- McDonnell S, Morgan M, Lynch C: Role of matrix metalloproteinases in normal and disease process. *Biochem Soc Trans* 27: 234-40, 1999.
- Mizui T, Ishimaru JI, Miyamoto K, Kurita K: Matrix metalloproteinase-2 in synovial lavage fluid of patients with disorders of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 39: 310-314, 2001.

- Mohtai M, Smith RL, Schurman DJ: Expression of 92-kD type collagenase/gelatinase (gelatinase B) in osteoarthritic cartilage and its induction in normal human articular cartilage by interleukin 1. *J Clin Invest* 92: 179-85, 1993.
- Parks WC, Mecham RP: Interstitial collagenases. In Matrix metalloproteinases. pp. 15-27, Academic Press, San Diego. 1998.
- Sawatsubashi M, Mizokami H, Tokunaga O, Shin T: Expression of MMP-1, TIMP-1, and type I collagen in laryngeal carcinoma. *Mod Pathol* 11:878-885, 1998.
- Sharawy MM, Larke V, Helmy E: Ultrastructural alterations in monkey TMJ following disc perforation. *J Dent Res* 66: 119, 1987.
- Vaatainen U, Lohmander LS, Thoner E, et al: Marker of cartilage and synovial metabolism in joint fluid and serum of patients with chondromalacia of patella. *Osteoarthritis Cartilage* 6: 115-24, 1998.
- Wilkes C: Arthrography of the temporomandibular joint in patients with the pain-dysfunction syndrome. *Minn Med* 61:645-652, 1978.

Abstract

Expression of matrix metalloproteinase-1 of retrodiscal tissues in temporomandibular joint disorder patients

Won Gyung Gho

Department of Dental Science

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hyung-Gon Kim)

The structure of temporomandibular joints(TMJ) plays an important role in maintaining joint functions. Should simple mechanical abrasions, injuries or metabolic reactions induce structural injury through the active matrix degradation enzyme, this may cause noises in the joint, pain or limitations in mouth movement.

Matrix metalloproteinases(MMPs) are a family of zinc-dependent enzymes that take part in development and growth of normal tissue, remodeling of connective tissue related to healing, and the deterioration of diseases. In this study, the expression of MMP-1 in retrodiscal tissue of temporomandibular joint disorder patients was examined and compared with magnetic resonance imaging, as well as operative and microscopic findings.

MMP-1 immunoreactive patterns were classified grade 0, I, II, III with estimated position coordinates in relation to the position and condition of the joint disc, presence of osteoarthritis(OA), adhesion or perforation of joint discs or retrodiscal tissue and myxoid or hyaline changes in collagen

tissues.

MMP-1 was expressed in 3 cases to grade 0, 6 to I, 12 to II, and 22 to III among 43 patients. In relation to the condition and position of joint disc, late stages of disc displacement without reduction groups displayed grade II or III, and normal disc positions and disc displacement with reduction groups did not show remarkable differences. All five cases of OA expressed grade III. Adhesion or perforation in operative findings was grade II or III. In microscopic findings, only areas of myxoid or hyaline change were stained or displayed prominent expression compared with other areas.

The expression of MMP-1 may increase as TMJ disorder becomes aggravated and may have a close relationship to the destruction of bone and cartilage.

Key Word : Matrix metalloproteinase, Temporomandibular joint disorder,
Immunohistochemistry