



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

중이 진주종에서의 Thrombomodulin
발현에 대한 연구

아주대학교대학원

의학과

전상훈

중이 진주종에서의 Thrombomodulin
발현에 대한 연구

지도교수 박기현

이 논문을 의학과 석사학위 논문으로 제출함.

1999년 12월 일

아주대학교 대학원

의학과

전상훈

전 상훈의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심 사 위 원 장 _____ (인)

심 사 위 원 _____ (인)

심 사 위 원 _____ (인)

아 주 대 학 교 대 학 원

1999년 12월 일

감사의 글

본 연구를 시작하여 여러 가지 어려운 가운데에도 수 차례의 반복된 실험을 통하여 이 논문을 무사히 끝마칠 수 있게 물심양면 도움을 주신 박 기현 교수님, 박 홍준 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 여러 가지 부족한 점에 대해서 많은 조언과 함께 기자재를 사용하는데 대해서 여러 도움과 편리함을 주셨던 생화학 박 태준 선생님, 해부학 황 우석 선생님, 해부병리학 김 경덕 선생님 등 여러 선생님들께도 감사하다는 말을 전하고 싶습니다.

마지막으로 이 논문이 나오기까지 끝까지 저를 지켜봐 주시고 성원해 주셨던 저희 가족들과 탈고의 기쁨을 함께 하고자 합니다.

1999년 12월

저자 씀

중이 진주종에서의 Thrombomodulin 발현에 대한 연구

중이 진주종은 중이강이나 유양동내의 상피 함입 낭종으로 조직학적으로는 정상 상피와 비슷하지만 증식 및 분화 과정에서는 정상 상피와는 다른 과증식과 과분화의 성향을 보여 이런 점이 진주종의 특징인 골 파괴 및 과각화의 한 요인이 될 수 있는 것으로 알려져 있다. 진주종의 병리 기전에 대한 연구는 최근 상피세포의 증식 및 분화인자에 대한 발견이 되고 실험적 진주종 모델들이 제안되어서 활발한 연구활동이 진행되고 있다.

Thrombomodulin은 내피세포의 표면에서 발현되는 막단백질로서 알려져 왔고 최근에는 피부의 극상층 각질세포의 분화인자로 여러 연구들에서 사용되어져 왔다. 본 연구는 정상적인 후이개 상피와 중이 진주종에서 Thrombomodulin의 분포를 관찰하고 중이 진주종의 병리기전에 관련된 연구에 기초자료로 삼고자 하였다.

본원에서 진주종성 중이염으로 진단 받고 수술 받은 4명의 환자에서 진주종 상피와 후이개 상피를 취하여 상피 분화인자인 Thrombomodulin에 대한 면역조직화학적 연구와 western blot 분석을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Western blot 분석에서는 진주종상피에서 후이개상피에 비하여 thrombomodulin에 대하여 증가된 양성반응을 보였고 면역화학적염색에서도 총 4례의 조직 표본중 3례에서 기저상층의 양성발현 및 부분적 양성발현을 보였고 후이개 상피는 모두 음성을 보였다.

결론적으로 진주종 상피는 후이개 상피와는 달리 기저상층에서 조기

분화가 일어나고 있음을 알 수 있었다. 그러므로, Thrombomodulin을 이용한 면역학적 연구 방법이 진주종과 다른 피부 질환에 유용한 진단적 방법으로 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

핵심 되는 말 : Western blot 분석, 면역조직화학적 연구, 상피성장인자 수용체, Thrombomodulin

차 례

논문인준서	i
감사의 글	ii
국문요약	iii
차례	v
그림차례	vii
표차례	viii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	2
A. 조직표본	2
B. Western blot 분석	2
C. 면역조직화학적 염색	3
III. 결과	4

IV. 고찰	8
V. 결론	11
참고문헌	12
영문요약	15

그림 차례

- 그림 1. 진주종 상피와 후이개 상피에서 anti-thrombomodulin (TM) antibody를 이용한 western blot 분석
..... 5
- 그림 2. 진주종 상피에서 thrombomodulin의 면역조직화학적 염색 (ABC염색, X 200).
..... 5
- 그림 3. 후이개 상피에서 thrombomodulin의 면역조직화학적 염색 (ABC염색, X 200).
..... 6

표 차례

표1. 진주종 상피와 후이개 상피에서 thrombomodulin 수용체의 발현.	7
--	---

중이 진주종에서의 Thrombomodulin 발현에 대한 연구

(지도 박 기 현 교수)

아주대학교 대학원 의학과

전 상 훈

I. 서론

정상 상피세포의 성장과 사멸을 볼 때 세포의 증식은 주로 기저층에서 이루어지고, 세포가 분화하고 성숙되면서 기저상층 또는 각질층에 도달하여 케라틴 형성과 함께 세포 탈락이 일어나면서 자연스럽게 고사하게 된다. 이렇게 정상 상피세포는 분화와 증식이 서로 항상성을 유지하면서 균형을 이루고 있지만 진주종은 이러한 균형이 깨지면서 과증식 및 과각화라는 이상 현상을 보이게 되며 임상적으로는 주위 골 조직을 파괴하며 만성적으로 염증반응을 일으킨다.¹ 진주종은 조직학적으로 피부조직과 유사하게 각질형 증층편평상피의 형태를 띠며 아래쪽부터 기저층, 극상층, 과립층, 그리고 각질층의 네 층으로 되어 있는 기질(matrix)과 상피하 결합조직인 주변기질(perimatrix)로 구성되어 있다.

최근에 진주종의 증식 및 분화 능력에 대한 병인을 규명하려는 노력이 활발하게 진행되고 있으며 분자생물학이 발전하면서 분화 및 증식에 관여하는 여러 인자들이 알려지고 있다. thrombomodulin(TM)은 내피세포의 표면에서 발현되는 막단백질로서 알려져 왔고 최근에는 피부의 기저상층 각질세포의 분화인자로 여러 연구들에서 사용되어져 왔다.

본 연구의 목적은 중이 진주종과 정상피부에서 상피의 분화인자인 thrombomodulin 항체를 이용하여 정상적인 후이개상피와 중이 진주종

상피에서 western blot 분석과 면역조직화학적 연구를 시행하여 진주종의 병리 기전에 관한 연구에 기초 자료로 삼고자한다.

II. 재료 및 방법

1. 조직표본

실험에 사용한 조직은 본원에서 진주종성 증이염으로 진단 받고 수술 받은 4명의 환자에서 진주종 상피와 후이개 상피를 취하였다. 면역조직화학적염색은 조직을 10% 중성 포르말린에 고정한 후 탈수하여 파라핀에 포매하였으며, 조직은 5 μ m로 절편 하였다. 또한 western blot을 위해 조직의 일부는 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하였다.

2. Western blot 분석

조직을 EBC buffer (40mM Tris/HCl, pH 8.0, 120mM NaCl, 0.5% NP-40, 2 μ g/ml aprotinine, 2 μ g/ml pepstatin, 2 μ g/ml leupeptin, 100 μ g/ml phenylmethylsulfonyl fluoride)에 넣은 후 유리파쇄기를 이용하여서 조직을 파쇄한 후, 4 $^{\circ}$ C에서 20 분간 보관하면서 5 분마다 vortex로 섞어주었다. 그 후 4 $^{\circ}$ C에서 12,000 rpm으로 15 분간 원심분리하여 상층액만을 다시 취하였다. 소의 혈청 알부민을 표준으로 하여 분광측정기 (595 nm, microplate reader, Bio-Rad)로 단백질 양을 측정 한 후 28 μ g/ml 농도의 단백질이 되도록 2X sodium dodecyl sulfate (SDS) sample buffer (100mM Tris/HCl, pH 6.8, 200mM dithiothreitol, 4% SDS, 0.2% bromophenol blue, 20% glycerol)을 가한 후 100 $^{\circ}$ C에서 5 분간 가열하여 시료로 이용하였다. 전기영동은 mini-gel kit (Bio-Rad)를 이용하여 100V로 1.5-2 시간 동안 분리하였고, 젤은 8% SDS-polyacrylamide를 사용하였다. 전기영동으로 분리된 단백질은 50V에서 약 1 시간 동안 전기적인 방법을 통하여 nitrocellulose membrane으로

옮겼으며, Ponceau S 용액을 이용하여 단백질이 nitrocellulose membrane으로 옮겨졌음을 확인하였다. 이 nitrocellulose membrane을 5% non-fat dry milk (Carnation)가 함유된 Tris-NaCl-EDTA (TNE) buffer(10mM Tris/HCl, pH 7.5, 2.5mM EDTA, 50mM NaCl, 0.1% Tween 20)로 1시간 처리한 후 일차항체를 4°C에서 16 시간 반응시켰다. 항thrombomodulin항체 (Santa Cruz Biotec. Inc., Santa Cruz, CA), 1:1,000으로 희석하여 사용하였다. 그 후 TNE buffer로 10분간 3회 세척 후 은박지로 싸 용기에 nitrocellulose membrane를 옮기고 이차 항체로 1 시간 처리한 다음 다시 TNE buffer로 세척한 후 chemiluminescence reagent (NEN, Boston, MA)를 이용하여 X-ray film(Kodak)에서 3초에서 5분 동안 감광시켰다.

Western blotting 결과의 분석은 진주종과 후이개 상피의 해당 band의 발현 강도를 서로 비교하여 발현이 보통의 강도로 확실한 발현이 보이면 양성(+), 희미한 발현을 보이면 약양성(+), 발현이 되지 않으면 음성(-)으로 판정하였다.

3. 면역조직화학적 염색

5 μ m의 조직절편을 poly-L-lysine으로 도포된 슬라이드에 조직을 부착시키고 조직이 부착된 슬라이드를 섭씨 58도 오븐에서 12시간 처리한 다음 xylene으로 30 분간 3회 탈 파라핀 하였다. 100%, 90%, 80%, 70% 에탄올에 각각 10 분간 처리한 후 10 분간 증류수에 합수 시켰다. 조직내에 내인성 과산화 효소의 활성을 억제시키기 위하여 과산화수소수와 무수알콜을 1:9의 비율로 혼합한 용액에서 30 분간 반응시키고 phosphate buffered saline (10mM, pH7.4, PBS)으로 10분간 세척하였다. 조직내의 비특이적 항원-항체 반응을 억제하기 위하여 조직을 정상 염소 혈청으로 30 분간 처리한 후 1차 항체인 polyclonal anti-thrombomodulin antibody (Santa cruz Biotec. Inc. Santa cruz, CA)를 1:100으로 희석하여 상온에서 1.5 시간 동안 반응시켰다. PBS에 씻은후 anti-goat biotinylated IgG (DAKO Co., Denmark)를 2차 항체로 30 분

간 실온에서 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. Avidin-biotin complex와 30 분간 반응시킨 뒤 PBS로 세척하고 AEC (3-amino-9-ethyl-carbazole)로 5 분간 발색시킨 후 hematoxylin으로 대조 염색하였다. 면역조직화학적 염색의 판정은 염색이 된 조직을 상피의 아래쪽을 이루고 있는 기저층 (basal layer)과 기저상층(suprabasal layer) 으로 나누어 광학 현미경하에서 관찰하였다. 1차 항체 대신 PBS를 사용하여 염색한 표본을 음성대조군으로 하여 세포막 주변만 약하게 염색이 된 경우를 양성(+), 400배 시야를 거의 채우는 정도로 염색이 된 경우를 강양성(++)으로 판정하였으며 400배 시야에서 10회 판독하여 평균치를 구하였다.

III. 결과

1. western blot 분석(그림1)

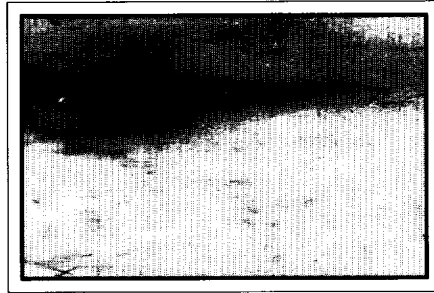
총 4 레의 실험중 3 레의 진주종상피에서 96kDa의 thrombomodulin band가 뚜렷하게 검출 되었으며 후이개 상피는 약양성을 나타내었다. 나머지 1 레의 진주종, 후이개 상피는 모두 음성이었다.

2 면역 조직화학적 염색(그림2, 3)

총 4 레중 3 레의 진주종상피에서 기저상층은 강양성으로 염색이 되었지만 기저층은 2 레에서 약양성 2 레에서 음성으로 염색되었으며 후이개상피에서는 기저층 및 기저상층 모두에서 음성으로 염색이 되지 않았고 나머지 1 레에서는 모두 음성이었다.

96kDa ⇒

TM



1

2

Fig. 1., The western blot analysis using anti-thrombomodulin (TM) antibody in retroauricular skin and middle ear cholesteatoma. 1: cholesteatoma, 2: retroauricular skin



Fig. 2., Immunohistochemistry of cholesteatoma with polyclonal anti-TM antibody shows positive staining at suprabasal layer and focal positive staining at basal layer(B: basal layer, SB: suprabasal layer, ABC method, X200).



Fig. 3., Immunohistochemistry of retroauricular skin with polyclonal anti-TM antibody shows negative staining at suprabasal layer and basal layer(B: basal layer, SB: suprabasal layer, 2ABC method, X200).

Table 1. Thrombomodulin expression in cholesteatoma and retroauricular skin

Specimen No.	Epithelial layers	
	Basal	Suprabasal
1. Chole	±	+
RAS	-	-
2. Chole	±	+
RAS	-	-
3. Chole	-	+
RAS	-	-
4. Chole	-	-
RAS	-	-

chole : cholesteatoma, RAS : retroauricular skin

± : focal staining, + : staining, - : no staining

IV. 고찰

중이 진주종은 종이강이나 유양동내에 비정상적으로 각화 상피세포가 존재하는 것으로 정의되며 조직학적으로는 중층의 편평상피와 표피각질로 구성된 기질과 상피하 결합조직인 육아조직으로 이루어져 있다.² ³ 현재까지 진주종의 발생과 성장기전으로는 태생기때 남아 있던 편평상피가 증식하여 발생했다는 선천성설 (congenital theory) 천공된 고막이나 상고실의 함몰 등으로 외이도나 고막의 상피가 유입되었다는 상피 이동설 (migration theory) 그리고 종이점막이 각화 편평 상피화 한다는 화생설 (metaplasia theory) 등이 알려져 있는데 오늘날에는 위요인들이 복합적으로 작용하여 진주종을 형성한다고 생각하고 있다.^{3, 4, 5, 6, 7} 진주종은 정상 고막이나 외이도 상피와 비교할 때 단지 상피하 결합조직내에 염증세포를 동반한다는 점 외에는 조직학적 차이가 발견되지 않는다. 하지만 이런 정상 조직의 성장 및 사멸은 기저세포가 증식하여 기저 상부 세포로 분화하면서 성장 이동하여 결국 각질층에 도달하여 각질을 형성하고 apoptosis되는 운명을 거치게 된다. 정상 상피 세포는 이런 증식과 분화가 균형을 유지하는데 비해 진주종에서는 이 균형이 깨지면서 지나친 증식과 분화가 가속화되어 과각화 및 과케라틴화를 이루게 되고 이는 골 파괴 및 합병증 유발에 한 인자로 작용하게 된다. 최근 분자 생물학적인 발전으로 이러한 진주종의 병리 기전에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 진주종에서 사이토케라틴에 대한 면역조직화학적 연구에서 정상 피부에 발현되는 각질형 CK10이 발현되었으나, 대표적인 비각질형 CK13이 발현되는 부위도 관찰되는 등 분화의 정도를 알 수 있는 CK의 발현 양상이 일정하게 나타나지 않고, 정상 피부조직의 분화도가 고정된 CK 발현과는 다른 양상을 보인다고 보고되었다.^{8, 9}

Epidermal growth factor receptor은 세포 증식 및 분화인자인 EGF와 TGF- α 의 공통 수용체로 건선과 같은 과증식 피부질환이나 악성종양에

서 과발현되며, 진주종에서도 과발현 양상이 보고되고 있다.^{10, 11, 12, 13} 이 외에도 TGF- β ,¹⁰ Ki-67,¹² IL-1,¹⁴ involucrin,¹⁵ filaggrin,¹⁵ PCNA¹⁶ 등 여러 가지 증식 및 분화인자에 대한 연구가 계속 되고 있다.

Thrombomodulin (TM)은 혈관 세포의 표면에 존재하는 막 단백질로 thrombin과 결합한 후 protein C의 활성화를 통하여 혈액응고에 작용하는 중요한 조절 단백질로 처음 알려졌으며 현재는 임파 내막, 운할막 세포, 근세포, 뇌막, 흉막, 심막, 복막, 근세포, 백혈구, 혈소판등 많은 조직들과 장액, 소변 등에도 존재하나 분비 상피나 연골조직, 골 조직, 신경조직, 간이나 신장의 실질에는 존재하지 않는 것으로 알려져 있다.^{17, 18} 최근에는 TM이 상피세포에도 존재한다고 알려져 있다. 그러나, 아직까지는 상피세포에서 TM의 기능과 특성에 대해서는 확실하게 알려진 것은 없으나 TM이 기저상층에 특징적으로 분포하는 것이 밝혀져 상피세포에서 TM은 기저상층 표식인자일 것으로 생각되어져 왔다. 최근 연구에서 여러 종류의 폐암 중 TM은 편평상피암에서는 그 발현이 증가되지만 선암이나 원주세포종 등 상피에서 기인하지 않는 폐암에서는 그 발현을 볼 수 없다.¹⁹ 또한 피부암에서도 편평상피암에서는 발현이 증가되지만 발생근원이 다른 기저세포암에서는 발현이 되지 않는다고 보고되고 있어²⁰ TM은 기저상층의 분화에 관여하는 preterminal 분화인자로 생각되고 있다.^{19, 20} 혈관내피세포에서 TM은 thrombin과 결합하여 항응고 작용을 하지만 상피세포내 TM은 혈관 내로 노출이 되지 않고 있으며 thrombin의 축적이 상피세포에서는 관찰되지 않아 혈액응고 작용에는 관계하지 않는 것으로 알려져 있다.¹⁸ TM과 동일한 태내 단백질인 fetomodulin은 신경상피, 폐아세포의 분화과정에서 발현되는 것으로 보고되어 왔고 이것으로 미루어 TM은 조직 형태발생에 관련 있는 것으로 알려져 왔다. 또한 TM은 N-terminal기에 lecitin과 유사한 영역을 가지고 있어 세포간 유착에도 관여하는 것으로 추측된다.^{19, 20}

최근 gerbil에서 실험적으로 유도된 진주종중 상피세포의 분화인자로 TM을 사용하여 면역조직화학적 염색 방법 통한 각 부위별 상피의 기

저상층의 염색정도를 비교하였다. 후이개상피는 음성, 심부 외이도상피는 양성, 진주종상피는 강양성반응을 보였고 기저층은 후이개상피와 진주종에서는 음성 심부 외이도상피는 부분적으로 염색이 되었다. 이 결과로 진주종상피와 심부 외이도상피는 기저상층의 과분화가 일어나고 있으며 진주종상피가 심부 외이도상피보다 더 심한 분화가 일어남을 보고한 바 있다.²¹

본 연구는 사람 진주종중 TM을 사용하여 western blot방법으로는 후이개상피에 비해 진주종상피에서 TM이 증가된 것을 알수 있었고 면역조직화학적 염색 방법을 통하여 후이개상피에서는 음성, 진주종상피의 기저상층에서는 양성반응을 볼수 있었다. 이결과는 실험적으로 유도된 gerbil 진주종에서와 동일한 결과였으며 역시 사람에서도 후이개상피에서 비하여 진주종상피 기저상층이 과분화가 일어나고 있음을 TM을 사용하여 확인할 수 있었고 TM을 진주종 연구에서 분화인자로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결론

저자들은 중이 수술중 채취한 진주종에 상피세포의 분화인자인 thrombomodulin을 western blot analysis와 면역조직화학적 연구를 통하여 진주종상피는 후이개상피와는 달리 thrombomodulin이 증가된 것을 볼 수 있었으며 조기 분화가 일어나는 곳이 기저상층임을 알 수 있었고 진주종의 특성으로 알려진 과분화 현상은 기저상층의 조기 분화가 한 원인임을 추정할 수 있었다.

참고문헌

- 1) Kopan R, Fuchs E: The use of retinoic acid to probe the relation between hyperproliferation associated keratins and cell proliferation in normal and malignant epidermal cells. *J Cell Biol* 109:295-307, 1993
- 2) Bujia J, Holly A, Schilling V, Stammberger M: Aberrant expression of epidermal growth receptor in aural cholesteatoma. *Acta Otol* 113:326-329, 1993
- 3) Lim DJ: Epithelial invasion, contact guidance and contact inhibition In:Cholesteatoma and mastoid surgery. *J Sade(ed)*:131-152, 1982
- 4) Buckingham RA: Etiology of a middle ear cholesteatoma, kocachrome study of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 77: 1054, 1968
- 5) Lim DJ, Saunders WH: Acquired cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 91:2, 1972
- 6) Ruedi L: Cholesteatoma of the attic. *J Laryngol Otol* 72:593, 1958
- 7) Sade J, Babiacki A, Pinkus G: The metaplastic and congenital origin of cholesteatoma. *Acta Otollaryngol* 96(Stockh):119, 1983
- 8) Chao WY, Huang CC: An immunohistochemical study of cytokeratin expression in human middle ear cholesteatoma. *Arch Otol Rhino Laryngol* 246:37-42, 1988
- 9) Van Blitterswijk CA, GroteJJ: Cytokeratin patterns of tissues related to cholesteatoma pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 98:635-640, 1989
- 10) 여상원, 박용수, 강진한, 서병도: 중이진주종에서 transforming growth factor-beta(TGF- β)의 발현. *한이인지* 40:719-724, 1997

- 11) Coffey RJ, Sipes NJ: growth modulation of mouse keratinocytes by transforming growth factors. *Cancer Research* 48:1596-1602, 1988
- 12) Cowley GP, Smith JA, Gusterson BA: Increased EGF receptors on human squamous carcinoma cell lines. *Br J Cancer* 53:223-229, 1986
- 13) King LE, Gates RE, Stoscheck CM: EGF/TGF- receptors and psoriasis. *J Invest Dermatol* 95:10-12, 1990
- 14) Marena SA, Aufdemorte TB: Localization of cytokines in cholesteatoma tissue. *Otolaryngol Head Neck Surg* 112:395-398, 1995
- 15) Stammberger M, Bujia J, Kastenbauer E: Alteration of epidermal differentiation in middle ear cholesteatoma. *Am J Otol* 16:527-531, 1995
- 16) 장경훈, 조현철, 황친승, 양훈식, 김춘길, 박인섭: 진주종과 외 이도에서 PCNA의 발현. *한이인지* 39:1832-1838, 1996
- 17) Jacson DE, Mitchell CA, Salem HH, Hayman JA: Immunohistochemical localization of thrombomodulin in normal skin and skin tumors. *J. Pathol* 175:421-432, 1995
- 18) Mizutani H, Ohyanagi S, Hayashi T, Groves RW, Suzuki K, Shimizu M: Functional thrombomodulin expression epithelial skin tumors as a differentiation marker for suprabasal keratinocytes. *Br J Dermatol* 135:187-193, 1996
- 19) Tamura A, Matsubara O, Hirokawa K, Aoki N: Detection of thrombomodulin in human lung cancer cells. *Am J Pathol* 142:79-85, 1993
- 20) Jacson DE, Tetaz TY, Selen HH, Mitchell CA: Purification and characterization of two forms of soluble thrombomodulin in human urine. *Eur J Biochem* 221:1079-1087, 1994

21) 이진석: 실험적으로 유도된 중이 진주층에서 TM과 EGFR의 발현에 대한
면역조직화학적 연구. 1998

-Abstract-

**Expression of thrombomodulin in middle ear
cholesteatoma**

Sanghoon Chun

**Department of Medicine
The Graduate School, Ajou University
(Directed by Professor Keehyun Park)**

Normal epidermal homeostasis is maintained by balance between proliferation and differentiation. However, this balance is broken in cholesteatoma because cholesteatoma has hyperdifferentiation and hyperproliferation properties. With the development of cell biology, there have been many efforts to find the cause and to examine the biological behaviors of cholesteatoma, mainly by using keratinocyte differentiation and proliferation marker both in human and in animal model. Thrombomodulin(TM) expression has been investigated in normal human skin. The aim of this study is to elucidate the distribution of TM in cholesteatoma matrix by comparing with normal retroauricular skin and to provide a molecular biological basis for future studies concerning the pathogenesis of cholesteatoma.

8 cholesteatoma matrixes and 8 retroauricular skin was obtained from operated patients for immunohistochemistry and western blot analysis. we used anti-thrombomodulin polyclonal Antibody(Santa

Crus Biotec, CA, U.S.A) for detection of thrombomodulin known as keratinocyte differentiation marker.

Thrombomodulin (TM) was readily detectable in suprabasal layers in cholesteatoma matrix on immunohistochemistry. By western blot analysis, considerably higher levels of TM protein were detectable in cholesteatoma matrix. These findings suggest that cholesteatoma reveals altered differentiation in the suprabasal layer. So TM immunolocalization can be a useful diagnostic marker of cholesteatoma as well as other skin diseases.

KEY WORDS : Immunohistochemical study,
Western blot analysis,
Cholesteatoma
Thrombomodulin