

뼈/혈관 석회화: 신호전달경로와 관련 유전자들

경북대학교 의과대학 생화학-세포생물학교실

최 제 용

Bone/Vascular Calcification: Signal Transduction Pathway and Calcification Related Genes

Je-Yong Choi

Department of Biochemistry·Cell Biology, Kyungpook National University

I. 서 론

뼈와 연조직에 인산칼슘과 같은 무기질이 침착되는 현상을 광화 (mineralization) 또는 석회화 (calcification)라 한다. 혈관, 신장, 뇌, 심장, 폐 등 연조직에서의 석회화는 비정상 부위 석회화 (ectopic calcification)라 하고, 뼈나 치아와 같이 정상적으로 석회화가 되는 부위와는 다르게 병적인 것으로 분류 취급된다. 이는 연조직에 가해지는 손상이나 미네랄 불균형에 대한 조직의 반응 결과로 생기는 것으로 알려져 있다. 그러나 대부분 연조직 석회화는 정확한 원인과 그 기전이 밝혀져 있지 않다. 여기서는 연조직 석회화 중 주로 혈관 석회화에 국한해서 기술하고자 한다.

정상 석회화 관련 세포는 뼈를 형성하는 골모세포, 골세포, 비대연골세포와 치아의 여러 세포들이다. 이 중 치아를 제외하면 골모세포, 골세포, 그리고 비대연골세포만 석회화를 할 수 있는데 혈관 석회화에서도 이들 세포가 관여되는지, 아니면 전혀 다른 계통의 세포들인지 아직 잘 알려져 있지 않다.

정상 또는 비정상 석회화를 매개하는 중요 신호전달경로를 알아내는 것은 하나의 세포수준에서 석회화 기전을 이해하는데 중요하다. 여러 가지 신호전달계 중 어떤 경로가 혈관 석회화에 주된 역할을 하는지 잘 알려져 있지 않지만, 앞선 연구들을 살펴보면 주로 골형성과 관련 있는 BMP/TGF- β 경로가 많다[1]. 그 외 Wnt, RANK/RANKL/OPG [2~5], 그리고 Notch 경로를 들 수 있는데 RANK/RANKL/OPG 경로는 본 호의 다른 논문에서 상세히 다루게 되고, Wnt 경로는 골형성에 대하여 잘 연구되어 있지만, 혈관 석회화에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다. 최근 Msx2 매개 혈관 석회화는 Wnt 경로를 활성화해서 일어난다고 한 예

도 있으나 유전적으로 혈관 석회화와 명확히 연관된 결과는 아직 없다[6]. 반면에 Notch 경로는 사람 심장판막 석회화와 관련되어 있음이 밝혀졌다[7]. 따라서 본 논문에서는 혈관 석회화와 관련하여 비교적 많이 연구된 BMP/TGF- β 경로와 Notch 경로에 대하여 간략히 살펴보고, 혈관 석회화와 관련된 유전자들 중 분자 유전학적으로 잘 연구된 것들을 살펴보고자 한다.

II. BMP 경로와 석회화

BMP 경로는 뼈에 관련하여 연구가 잘 되어 있는 편인데, 혈관 석회화에 대해서도 다른 경로에 비해 비교적 많이 연구되어 있다. 골세포의 경우 BMP 경로는 수용체부터 RUNX2/Osterix 같은 전사인자까지 체계적으로 연구되어 있다. 혈관 석회화와 BMP 경로의 연관성은 최근 Hruska 등 [1]이 종합적으로 논의하였으므로 여기서는 그 내용들을 간략하게 소개하고자 한다. BMP 경로는 30개가 넘는 리간드, 3종류의 type 2 수용체, 3종류의 type 1 수용체, 세포내 5종의 R-Smad와 1 종의 co-Smad, 그리고 2종의 I-Smads들의 조합으로 신호의 다양성과 신호 강도의 미세 조절을 담당하고 있다. 또한 세포내외에 음성되먹임 작용을 하는 억제자들에 의해서도 복잡하게 조절 된다 (Fig. 1). BMPs는 새로운 뼈를 만들 수 있는 가장 강력한 뼈 형성 유도 인자로 알려졌다. 따라서 혈관 구성 세포들 (내피세포, 평활근세포) 중 어느 것이라도 BMP가 과발현되면 파하조직에서와 같이 혈관에서도 석회화가 시작 될 수 있다는 것이 혈관 석회화의 주된 설명 중 하나이다. 예로서, BMP-2나 BMP-4의 발현은 혈관 분지로 인한 와류가 생기는 곳에 낮은 shear stress 로 인하여 그 발현이 증가될 수 있다고 한다[8]. 동맥경화와 같

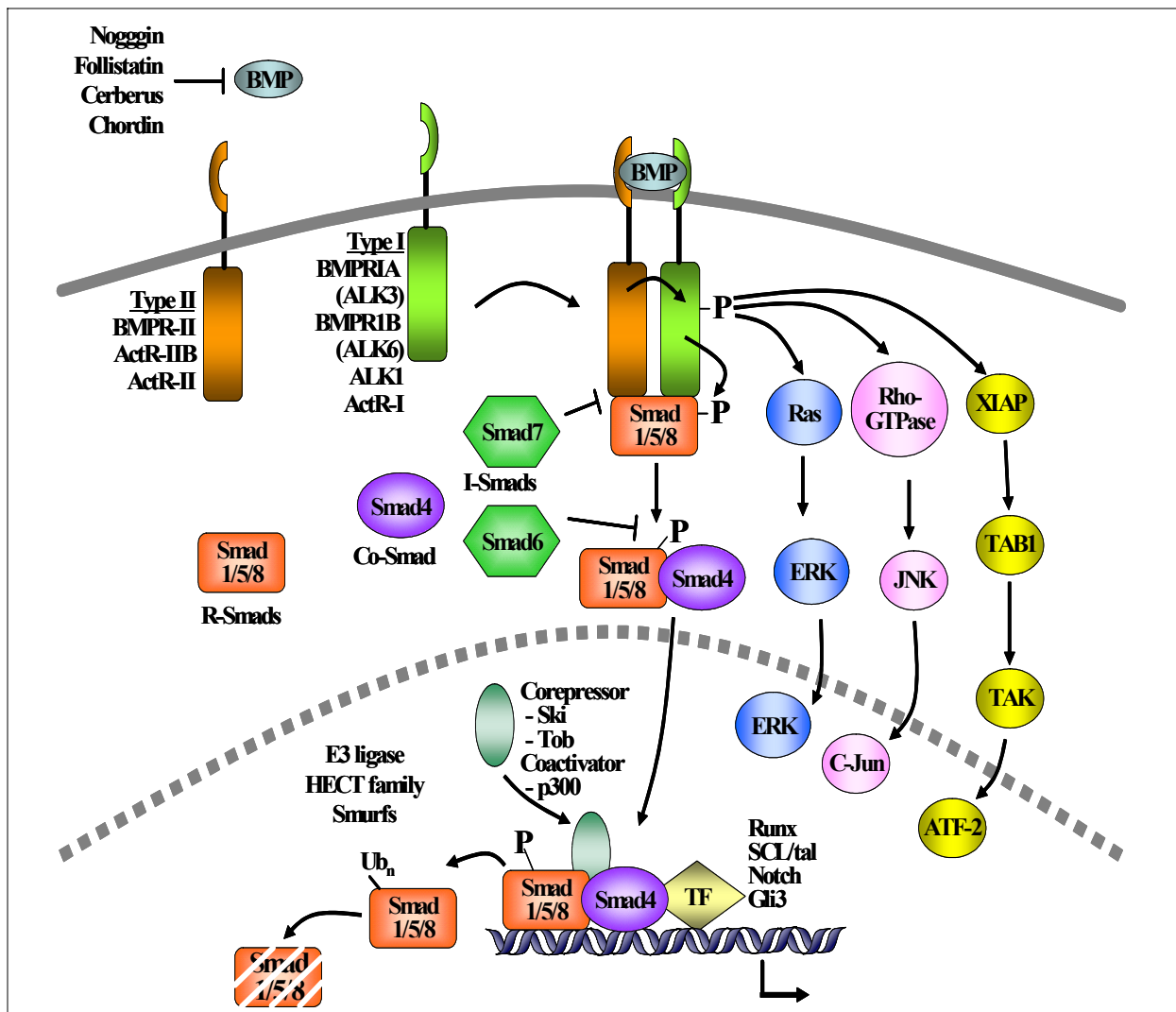


Fig. 1. BMP 신호전달경로

BMP 매개 신호는 BMP 수용체, Smads, I-Smad, coactivators, corepressors 등이 통합적으로 작용하여 생물 활성을 나타내게 된다. BMP 리간드 작용을 억제하는 인자들이 세포밖에 표시되어 있다. BMP 매개 신호는 표준 BMP 신호 전달 경로 외에 다른 ERK, JNK, TAK 경로로도 작용할 수 있는 것으로 알려져 있다. Ub, ubiquitin.

은 만성 염증 질환이 되면 혈관에서 증가된 BMPs는 뼈 관련 유전자들의 발현을 촉발시켜 혈관 석회화를 초래한다. 실제 이 가설을 뒷받침하는 많은 증거들이 보고되고 있다. 예로 BMP-2, -4, -5, -6는 혈관 석회화 부위에 관찰되고 이중 BMP-2와 BMP-4는 가장 연관성이 높게 나타나는 것으로 알려져 있다[9~12]. BMP-2는 골조직에서와 같이 혈관평활근 세포에서도 골모세포의 특성을 지닌 세포로 바꿀 수 있다. 분자 기전으로는 p21을 유도하여 세포 증식을 억제하고 골모세포양 특성을 지니게 한다는 것이다. 일부의 경우 BMP-2는 세포 사멸을 유도하여 만들어진 apoptotic body가 석회화를 유도한다고도 한다. 반면에 BMP-7은 BMP-2와 다르게 혈관평활근의 기능을 유지 촉진한다고 알려져 있다[13,14]. BMP-2와 BMP-7의 기능은 골세포에서는 비슷하지

만 혈관 평활근세포에서는 오히려 반대 현상이 관찰되어 그 기전이 흥미롭다. 최근 BMP-7은 투석이나 허혈성 신장 손상에 방어 효과가 있는 것으로 알려져 뼈와 신장 모두에 좋은 반응을 보이는 중요한 인자로 부각되고 있다[15]. 이는 BMP-7에 의하여 p21 뿐 아니라 Smad6, Smad7도 동시에 발현이 유도되기 때문이라는 설명도 있다. 또 다른 설명으로 endoglin (type III TGF- β 수용체)에 BMP-2는 결합할 수 있지만 BMP-7은 결합할 수 없어 혈관평활근에 미치는 영향이 다를 수 있다고도 한다[16]. 하지만 현재까지 형질전환 동물을 이용한 유전적 증거나 사람의 혈관 석회화 중 BMP 경로가 유전적 변이를 통하여 직접 관련이 있다는 증거는 제시되지 않고 있다[17]. Fibrous dysplasia ossificans의 경우 염증 세포가 BMP-4를 많이 만들어 인접 조직 세포인 근육세

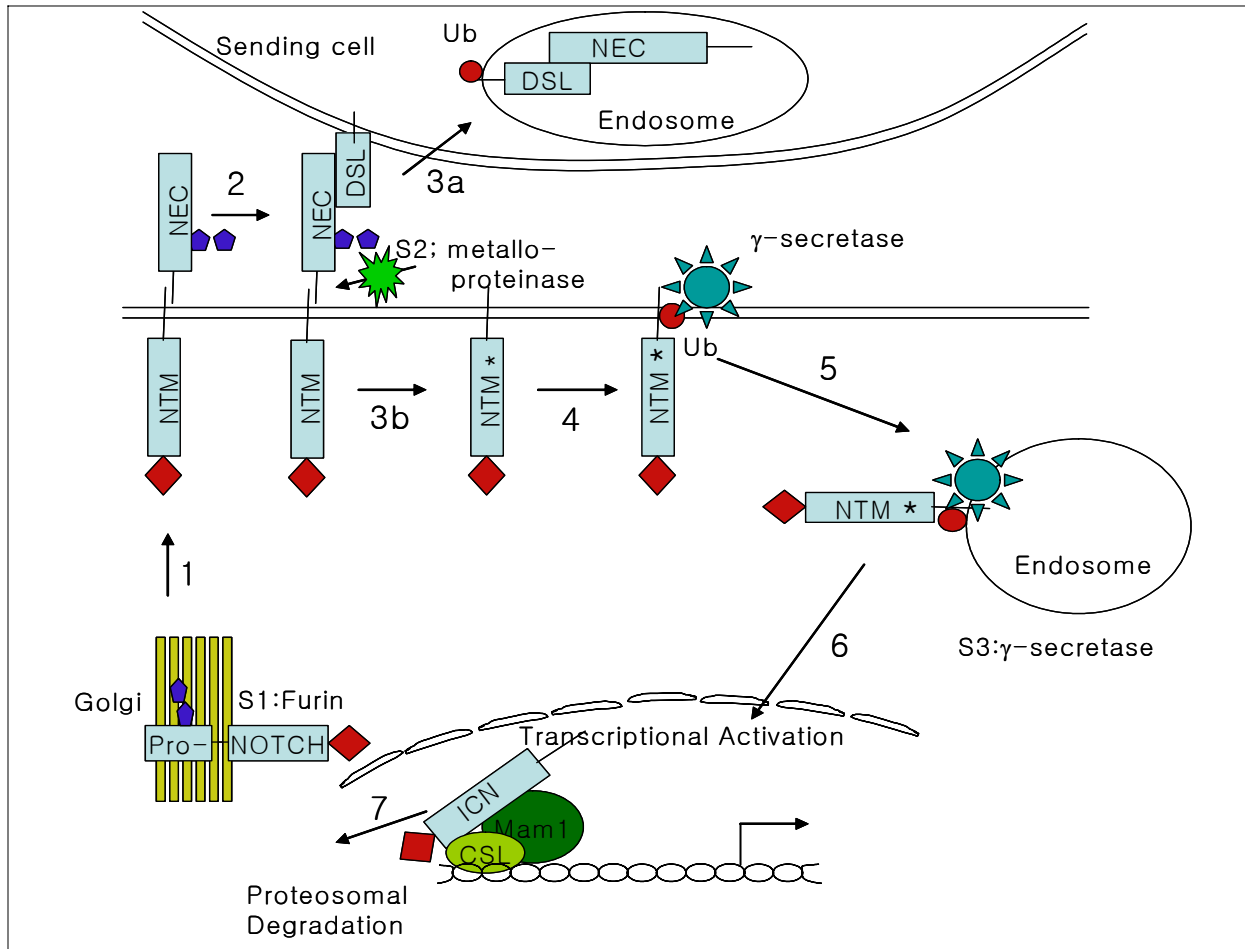


Fig. 2. NOTCH 신호 전달 경로

1. NOTCH는 처리되어 ER/Golgi에서 당성분이 결합된 후 세포표면에 이량체로 나타난다.
2. 인접세포에서 발현되는 리간드와 결합.
- 3a. S2 부위에 metalloproteinase 작용으로 NEC 부분 제거.
- 3b. S2 부위 절단으로 NTM* 생성
4. NTM*과 γ -secretase 복합체 결합
5. NTM* 이 γ -secretase에 의해 S3 부위 잘려 endocytosis
6. ICN이 핵으로 이동하여 하부 유전자 활성화
7. 일반적으로 ICN은 ubiquitination 단백질 분해과정으로 빨리 제거됨

NEC: NOTCH extracellular

NTM: NOTCH transmembrane

ICN: Intracellular domain

DSL: Delta, Serrate, Lag2

Mam 1: Mastermind

CSL: CBF-1, Suppressor of hairless, Lag-1

포를 골세포로 전환 한다고 알려져 있다[18]. 이 경우 혈관 석회화도 함께 진행 되는지는 아직 알려져 있지 않다.

BMP 수용체 중에서 유전적 변이로 인하여 혈관 석회화가 된다는 보고는 아직 없다. 다만 BMP1R 돌연변이는 일차 폐 고혈압 (primary pulmonary hypertension)을 야기하는 것으로 알려져 있다[19]. 세포내부에서 BMP 경로의 중요한 신호매개 단백질인 Smads 중 Smad6은 주로 심장과

혈관에 많이 발현된다. Smad6-/- 생쥐는 혈압이 높아지고, 심장판막의 증식, 고혈압, 대동맥의 석회화 등 여러 가지 임상 증상이 나타난다[20]. 이는 여타 다른 모델과 다르게 생리적인 골형성과 가장 유사하게 혈관 석회화가 일어나는 것으로 알려져 있다. 최근 많이 연구되기 시작한 혈관 석회화 과정과 BMP 경로간의 관계는 뼈에서 이루어지는 방식과 같은지 아니면 다른지, 같다면 골세포와 같은 석회화 담당

인자들이 관여하는지에 대하여 더 연구가 필요하다.

III. Notch signal과 석회화

1. Notch 경로 개요

Notch (N) 경로는 진화적으로 잘 보존된 세포와 세포사이의 신호전달계로 세포의 운명이나 심혈관 형성에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. N 신호전달계 구성은 리간드로 다섯 가지, 수용체로 네 가지가 알려져 있다. 밝혀진 리간드는 Jagged-1, Jagged-2, delta-like 1, delta-like 3, 그리고 delta-like 4가 있고, 수용체로는 N1, N2, N3, N4가 있다. Fig. 2는 N 신호전달경로에 대하여 설명한 것으로 N 수용체는 type I 막통과 단백질로 heterodimer 형태로 세포막에 위치하고 있다. 세포밖으로 NECD (Notch extracellular domain)가 있고 EGF 유사 반복 도메인이 많다. 리간드가 결합하면 N 수용체가 두 번 절단되어 세포밖에 존재하는 N 조각과 세포 속에 존재하는 N 조각의 위치가 각기 다르게 된다. 두 절단 중 첫 번째는 세포외 S2 부위에 리간드-유도 ADAM/TACE 에 의해 잘리는데 잘린 세포외 N 조각은 리간드를 발현하는 인접세포에 의하여 transendocytosis 된다. 세포막에 남은 수용체는 보통 활성화된 N 막수용체라 한다. 리간드가 결합되지 않을 때는 LIN-12/Notch (LNRs)이 세포밖에서 S2 절단을 차단하고 있다. S2 부위가 절단된 N 수용체는 presenilin 의존성 단백질 분해 세포막 효소인 γ -secretase 복합체 (presenilin, aph-1, pen-2, nicastrin으로 구성)에 의해 S3 부위가 잘린다. 이 Notch intracellular domain (NICD)가 수용체에서 떨어져 나와 핵으로 이동하여 DNA 결합 전사인자인 CSL (CBF-1 in human, RBP-J in mice, Su(H) in *Drosophila*, Lag in *C. elegans*)과 결합하여 CSL 의존성 신호전달이 되고 이것을 표준 N 경로라 한다[21]. 하부 유전자들은 hairy and enhancer of split (Hes) 군, hes related (hesr, hey, hrt, chf, gridlock, herp로도 알려짐)군 등이 있다.

N 신호전달에 미칠 수 있는 영향 인자를 세포밖, 세포막, 세포질, 그리고 핵내로 구분지어 살펴볼 수 있다. 먼저 세포밖에서 N 신호전달을 조절하는 것으로 glycosyltransferase 군에 속하는 Fringe가 있다. Fringe는 N-acetylglucosamine을 N 수용체의 EGF-like 도메인에 붙여 리간드 중 Jagged 신호를 차단하면서 Delta 신호를 전달하는 역할을 한다. 혈관에서 N 경로 유전자들을 보면 주로 동맥에서 N1, N3, N4, Jagged1, Jagged2, Delta4 등이 발현된다. 특이하게도 정맥에서는 관찰되지 않는다[22].

2. N 경로와 대동맥판 석회화

최근 N1의 돌연변이는 대동맥판 (aortic valve)에 석회화를 초래하는 것으로 판명되었다[7]. N1은 발생 과정 중 대동맥판에 많이 발현한다. N1에 의하여 발현되는 hairy-related 단백질은 Runx2와 결합하여 Runx2의 전사활성을 억제한다. 따라서 N1의 돌연변이는 태생기부터 구조적인 대동맥판 형성의 이상과 점진적인 칼슘 침착으로 인한 기능 이상을 초래한다.

Genome wide scanning 법으로 관련 유전자를 추적하여 염색체 9번 q34-35 위치라는 것을 알고 3 megabases 에 30 개의 알려진 유전자 (예상 유전자는 57개)를 살펴본 결과 N1이 포함되어 있었다. 환자 샘플에서 N1 유전자의 염기서열 분석을 통하여 R1108X나 H1505del 변이인 것을 확인하였다. 즉, N1 haploinsufficiency로 인하여 선천성 심장질환이 발생한 것이다. 생쥐의 발생과정 중 N1의 발현 패턴을 살펴보면 역시 미래 대동맥판이 될 부위에 많이 관찰된다. N1유전자를 Knock-out 하면 E9.5일에 죽게 되어 대동맥판 형성을 자세히 관찰할 수 없다. N1으로 인한 대동맥판의 석회화 기전은 판세포가 골모세포와 같은 세포로 분화 되어 그럴 것으로 가정하고, osteopontin, osteocalcin과 같은 Runx2 하부 유전자들의 발현 조사를 통하여 Runx2 작용이 N1 돌연변이에서 증가됨을 관찰하였다. Runx2의 발현이 생쥐[23]와 토끼[24]의 대동맥판 석회화 모델에서 증가한다는 사실을 바탕으로 N1 경로와 Runx2와의 상관관계를 더 조사했다. Runx2의 안정성은 HDAC4에 의하여 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있는데 강력한 HDAC 억제제인 trichostatin A를 처리하여도 N1 매개 Runx2 억제에는 영향이 없어 HDAC과는 독립적으로 일어나는 현상임을 밝혔다. 또한 N1 신호 경로의 하부 유전자인 Hey2의 bHLH 도메인이 Runx2를 억제하여 일어난다는 것을 밝혔다. Hes1[25]과 Runx2가 결합할 수 있다는 사실은 Hes1도 일부 관여할 것으로 추정된다. 다른 연구에서 N 경로는 골모세포의 분화를 차단하는데 Hey1이 Runx2 전사활성을 완전히 억제하여 일어난다고 하였다 [26]. 요약하면 N 신호전달경로가 제대로 작용하지 못하면 Runx2가 발현되어 골형성 세포들과 같은 작용으로 대동맥판이 석회화 된다는 것이다.

N 경로의 리간드인 Jagged1은 N과 다르게 사람에서 이형접합체 돌연변이로 기능을 하지 못하면 간, 심장, 뼈, 눈, 얼굴 등에 기형이 생기는 Alagille syndrome이 된다[27]. Jagged1 유전자가 심장이나, 혈관 또는 뼈의 석회화와는 어떤 관계가 있는지 아직 보고되어 있지 않다. 뼈 형성과 혈관 석회화 과정에 N 경로의 중요성은 조만간 형질전환 동물을 이용한 연구를 통하여 많은 사실이 밝혀질 것으로 전망된다.

IV. 혈관 석회화에 관련된 주요 유전자들

혈관 석회화와 연관성 있는 유전자들은 형질전환 동물을 통하여 많이 밝혀졌고, 각각에 대하여 간략히 요약해 보면 다음과 같다.

1. Fetuin

혈액, 림프액, 뇌척수액 등에 많이 분포하는 당단백질로 fetuin-A 또는 α 2-HS 당단백질이라 하고 주로 간에서 만들어져 뼈에 높은 농도로 존재한다. 동물 실험을 통하여 석회화 억제 인자로 알려져 있으며, 혈중에서 칼슘인산염과 복합체를 이루어 작용하는 것으로 알려져 있다 [28~30]. 이 복합체는 칼슘, 인산, fetuin-A, matrix Gla protein (MGP)가 포함되어 있다. 이를 fetuin-MGP-calcium (FMC) 복합체라 부른다. FMC 복합체가 어떤 기전으로 석회화 억제자로 작용하는지 아직 알려져 있지 않다. 현재 독일의 Jahnen-Dechent 그룹[28]과 미국의 Price 그룹[29]이 많이 연구하고 있다.

2. Matrix Gla Protein

MGP는 약 10 KDa의 작은 세포외 기질 단백질로 구성 아미노산 중 다섯 glutamic acid에 γ -carboxylation 된다. MGP의 γ -carboxylation은 vitamin K를 조효소로 γ -carboxylase에 의하여 glutamic acid가 γ -carboxyglutamic acid로 바뀌는 것을 말한다. MGP는 칼슘, 인, 인산칼슘염에 잘 결합하고, 혈관과 연골조직에서 많이 발현된다. MGP-/- 생쥐는 혈관 중막에 석회화가 많이 생긴다[31]. 흥미롭게도 MGP-/- 쥐에서 혈관 석회화 된 곳에 연골세포가 많이 관찰된다[32]. 아울러 이 쥐에서 죽상경화증은 관찰되지 않는다. 이 쥐는 몇 주내 혈관 석회화가 일어나고 약 2달 쯤 석회화로 인한 대동맥 파열로 죽게 된다. 마찬가지로 쥐에 warfarin을 고농도로 투여하여 MGP의 γ -carboxylation을 억제하면 혈관이나 심장 혈관에 석회화가 많이 생긴다. 혈관에 MGP 자체의 발현은 높으나 γ -carboxylation이 되지 않으면 석회화 억제 기능이 소실되는 것으로 보아 γ -carboxylation은 MGP의 석회화 억제 기능에 필수적임을 알 수 있다[33]. 그러나 사람에서 MGP가 기능을 못하는 경우 Keutel syndrome이 되는데 폐동맥판협착, 청각소실, 그리고 귀, 코, 후두, 기관, 늑골 연골조직의 비정상적인 석회화와 얼굴 중간부위의 미발달로 함몰된 콧잔등과 같은 특징적인 임상 소견을 보인다. 이 경우 생쥐와는 다르게 연골 석회화는 보이지 않지만 혈관 석회화는 관찰되지 않는다[34]. 이는 사람의 경우 혈관에 MGP 외에 다른 단백질 또는 요소가 석회화를 억제하는 것을 암시한다. MGP가 어떤 기전으로 석회화를 억제하는지 자세히 알려져 있지 않지만 BMP-2를 억제하여 일어나는 것으로 설명하고 있다[35].

3. Osteopontin

뼈를 구성하는 비교원성 기질 단백질들인 osteocalcin [36], osteonectin[37], osteopontin[38] 중 혈관 석회화 억제 효과가 있는 것은 osteopontin으로 알려져 있다. Osteocalcin-/-나 osteonectin-/- 생쥐에서는 혈관 석회화와 관련하여 보고된 적 없다. Osteopontin의 경우 인공심장 판막을 정상 쥐와 osteopontin-/- 쥐의 피하조직에 식립하여 관찰한 결과 osteopontin-/-에서 석회화가 4-5배 정도 증가되어 osteopontin이 생리적으로 석회화 억제 단백질로 작용함을 증명하였다[38].

4. Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (NPP1)

NPP1은 ectophosphodiesterase로 세포막통과 단백질로 존재하거나 세포외 기질에서 발견되기도 한다. 현재까지 NPP1부터 NPP7까지 7종의 NPPs가 알려져 있다[39]. NPPs는 ATP를 위시한 많은 phosphodiester 결합물들을 수화시켜 pyrophosphate (PPi)를 만든다. 이 중 NPP1은 특발성 유아 동맥 석회화 (idiopathic infantile arterial calcification) 관련 유전자이고 tip-tow walking (ttw/ttw) 생쥐 모델의 원인 유전자이다[40]. NPP1-/- 골수 기질 세포는 시험관 배양 조건에서 자연스럽게 연골세포로 분화되고 석회화도 증가되었다. 이러한 골수 기질 세포의 연골세포로의 분화와 그로 인한 석회화 촉진은 PPi에 의하여 모두 억제되었다. 이는 NPP와 PPi 부족이 세포 표현형의 유연성을 조절하여 혈관 석회화를 조장할 수 있음을 나타낸다[41]. 현재 PPi에 대한 세포내 유입이 어떻게 되는지, 특정 수용체가 있는지 알려져 있지 않다. PPi가 어떤 기전으로 이와 같은 생물학적 기능을 나타내는지 더 많은 연구가 필요하다.

5. Klotho

Glycosidase I 단백질군 중 하나인 Klotho는 유전자 기능이 소실되면 노화, 골다공증, 그리고 혈관, 폐, 위, 신장과 같은 연조직에 석회화가 일어난다[42~44]. Klotho 생쥐에서 연조직의 석회화는 혈중 calcitriol이 정상보다 5배나 높게 나타나는데, 이러한 고농도의 비타민 D는 혈중 칼슘과 인산 농도를 높여서 석회화를 초래하는 것으로 추정된다. 또한 klotho는 β -glucuronidase로 작용하여 세포막 칼슘 통로인 TRPV5의 N-linked oligosaccharide를 수화시켜 TRPV5를 활성화 하는 것으로 알려졌다[45]. Klotho가 뼈와 혈관 석회화에 어떤 기전으로 영향을 주는지 분자수준에서의 연구는 이제부터라 할 수 있다.

6. Alkaline phosphatase (ALP)

ALP (EC.3.1.3.1)는 식물, 세균으로부터 사람에 이르기까지 다양한 생물 종에서 발견되나 그 기능은 잘 밝혀져 있지 않다. ALP는 phosphoester를 탈인산화하는 막효소로 세포 막에 phosphatidylinositol glycan 으로 연결되어 있고 사람에서 4개의 독립적인 유전자들로 구성되어 있다[46]. 이 중 세 가지 ALP는 장 (intestine), 태반 (placenta), germ cell 형으로 조직 특이적으로 발현된다. 네 번째 유전자는 간/뼈/신장 등에 발현하는 조직 비특이적인 ALP (TNAP)다. 혈중 ALP는 주로 TNAP에서 유래한 것으로 부족한 경우 사람에서 저인산증 (hypophosphatasia)이 생긴다. 소아에서는 왜소증과 치아 조기 탈락이 나타나고, 성인에서는 골연화증을 나타내거나 증상이 없을 수도 있다. 사람과 생쥐에서 ALP 기능이 없어지면 유골 (osteoid)이 많아지는 유골과다증 (hyperostoidosis)이 생긴다[47~49]. ALP는 생후 뼈의 석회화 유지에 중요하다고 알려져 있다. 또한 ALP는 평활근세포의 석회화 모델에서 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다[50]. 특히 PTHrP나 statin 처치시 평활근세포의 석회화가 감소되는데, 그 이유는 ALP 감소를 통하여 이루어진다는 것이다[51,52]. 반대로 TNF- α 와 oncostatin M과 같은 염증인자를 함께 처리할 때 leptin 농도가 증가될 때 평활근세포의 석회화가 촉진되는데 ALP 증가도 함께 된다고 하여 ALP와 석회화의 연관성을 잘 설명해 주고 있다[53, 54]. 그러나 ALP가 유전적으로 직접 혈관 석회화와 관련되어 있는지는 알려져 있지 않다. ALP는 뇌나 심장의 혈관 벽에도 많이 발현되므로 ALP-/- 생쥐의 혈관 평활근 세포의 석회화능력을 *in vivo* 및 *in vitro* 실험을 통하여 알아보는 것은 매우 흥미 있을 것이다.

7. Carbonic anhydrase II

Car2-/- 생쥐에서는 작은 혈관의 석회화, 콩팥석회증 (nephrocalcinosis), 골다공증 등이 초래된다 [55]. Carbonic anhydrase II (CAII)는 국소부위의 pH와 무기 이온 활성 조절에도 중요하게 작용하고 있다. 석회화와 관련하여 자세한 분자 기전은 더 많은 연구가 필요한 상황이다.

8. Ank

Ank 유전자는 progressive ankylosis 생쥐의 원인 유전자로 세포내 pyrophosphate를 세포외로 보내는 pyrophosphate transporter 역할을 한다 [56]. Ank는 열 번 막을 통과하는 막통과 단백질로 pyrophosphate에 대한 통로로 작용하고 gain of function 변이가 오면 석회화가 과다하게 침착되어 여러 가지 증상이 나타난다. 사람의 경우 ANKH의 돌연변이는 머리뼈 뼈몸통끝 형성이상 (cranio-metaphyseal dysplasia [MIN 123000])이 발생하여 두개기저부에서 시작

하여 두개안면골의 골밀도가 높아지고, 뼈가 두꺼워져 두개공이 좁아지게 된다[57]. 나중에 심한 시각 및 신경장애로 얼굴 마비와 청각이 소실될 수 있다. 넓은 콧잔등, 부비돌출 (paranasal bossing), 안와만거리증 (orbital hypertelorism), 장골 끝 부위의 Erlenmeyer 플라스크 모양 등의 특징적인 임상 소견을 보인다. 또한 같은 유전자내 ANKH의 loss of function 변이는 N 말단과 C 말단에 주로 생기는 변이로 pyrophosphate가 오히려 과량 생겨 결정체가 침착되는 연골 석회증 (chondrocalcinosis)이 된다[58]. 연골석회증은 관절의 염증 때문에 관절연골과 활막에 칼슘염, 특히 인산칼슘의 결정체 침착을 특징으로 하는 질병이다. ANKH 발현은 비교적 다양한 조직에서 되고 그 중에서도 뼈, 연골, 심장, 근육, 비장 등에서 높다. 최근 ANKH와 혈관 석회화 사이의 연관성은 ank 생쥐 분석에서 대동맥 중막에 석회화의 관찰로 잘 설명될 수 있다[41]. 또한 혈관 석회화가 석회화 억제제 부족으로 인한 연골석회증과 많은 연관성이 있음을 보여 주고 있다[59].

9. Desmin

모든 근육에 분포하는 intermediate filament 중 하나인 desmin은 기능을 제거한 경우 석회화가 심장에서 심하게 발생되고[60], osteopontin, TGF- β 1, 그리고 angiotensin-converting enzyme의 발현도 증가 되었다[61]. Desmin이 어떤 기전으로 석회화와 관련되어 있는지 알려져 있지 않다.

10. Fibrillin-1

Fibrillin-1은 elastin을 감싸는 세포외 기질 단백질로 돌연변이가 생겨 기능을 하지 못하거나 양적으로 부족할 때 Marfan syndrome이 생긴다. Fibrillin-1의 발현이 감소되면 주로 박리동맥자루가 생기고 중막에 석회화가 생기는 경우가 많다[62]. 혈관 평활근 세포를 이용한 석회화 모델에서 elastin과 그 연관된 단백질들인 fibrillin-1, lysyl oxidase의 합성이 석회화됨에 따라 감소하고, ALP 억제 인자를 처리하여 석회화 억제한 경우 위의 단백질들의 발현 감소가 억제 된다[63]. 이는 elastin fiber의 기능이상과 혈관 석회화가 반비례 관계임을 암시한다.

V. 결론

신호전달 경로와 혈관 석회화를 초래하는 형질전환 동물들의 예에서 보듯이 아직 신호전달 경로, 개별 유전자, 그리고 석회화라는 중심말의 상호 연관성 연구가 많지 않다. 이는 혈관 석회화를 포함한 연조직 석회화 전반에 대한 분자 수준에서의 자세한 기전 연구가 부족한 까닭이다.

혈관 석회화와 뼈의 석회화는 크게 차이가 없고 비슷한 기전으로 일어난다는 연구 논문들이 대다수를 이루고 있고,

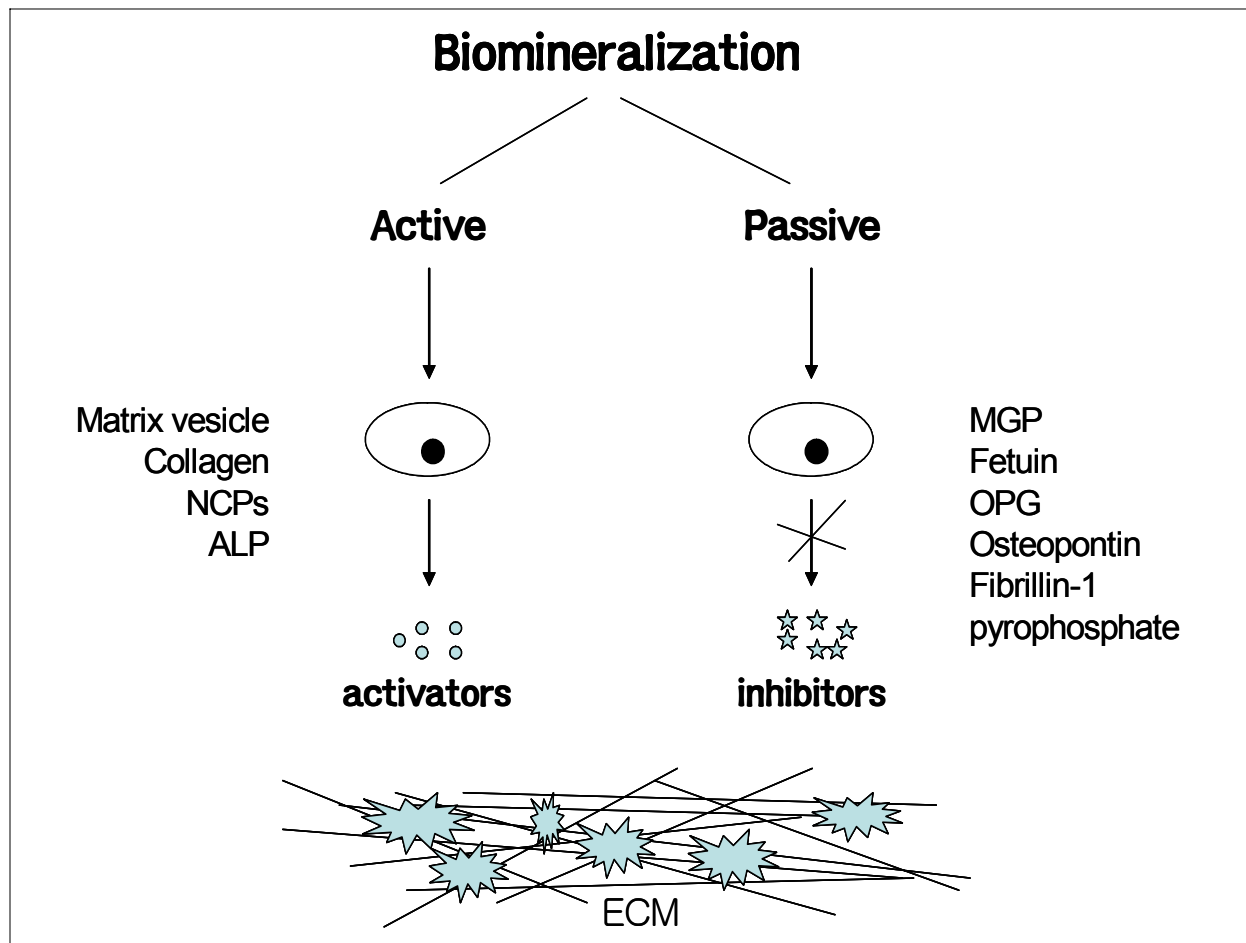


Fig. 3. 석회화 기전 모델

석회화 기전은 active와 passive 모델로 나눌 수 있고 active 모델은 석회화 세포가 무기질 침착을 유도하는 물질 발현을 통하여, passive 모델은 세포가 석회화 억제물질을 제거하는 과정을 통하여 세포외 기질 (ECM)에 인산칼슘을 침착한다는 설. NCP; noncollagenous proteins.

차이가 많다고 하는 연구들은 비교적 드물다. 오히려 석회화 기전 자체에 대하여 그 동안 알려진 사실과는 다르게 기질 소포가 없어도 일어날 수 있다는 가능성과 특정 유전자 발현을 매개로한 것 보다는 무기질들, 즉, 칼슘과 인, 그리고 pyrophosphate들의 상대적인 농도가 더욱 중요한 역할을 한다는 보고도 있다[64]. 혈관 석회화를 포함한 모든 석회화에 기질소포 없이도 가능한지 더욱 연구가 필요하다. Fig. 3은 뼈의 석회화나 병적인 연조직 석회화 모두 active 또는 passive한 과정이 종합되어 일어날 수 있다는 모델을 제시한 것으로 자세한 기전은 앞으로 더 연구가 필요한 부분이다.

참고문헌

1. Hruska KA, Mathew S, Saab G: Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. *Circ Res* 97:105-114, 2005
2. Browner WS, Lui LY, Cummings SR: Association of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 86:631-637, 2001
3. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS: Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Gene Dev* 12:1260-1268, 1998
4. Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, Haase KK, Sarikoc A, Kilic R, Brueckmann M, Lang S, Zahn I, Vahl C, Hagl S, Dempfle CE, Borggrete M: Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J Biol Cell Cardiol* 36:57-66, 2004
5. Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, Herzum M,

- Maisch B, Hofbauer LC: *Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. J Clin Endocrinol Metab* 88:1024-1028, 2003
6. Shao J-S, Cheng S-L, Pingsterhaus JM, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA: *Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. J Clin Invest* 115:1210-1220, 2005
7. Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, Grossfeld PD, Srivastava D: *Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. Nature* 437:270-274, 2005
8. Sorescu GP, Song H, Tressel SL, Hwang J, Dikalov S, Smith DA, Boyd NL, Platt MO, Lassegue BL, Griendling KK, Jo H: *Bone morphogenetic protein 4 produced in endothelial cells by oscillatory shear stress induces monocyte adhesion by stimulating reactive oxygen species production from a nox1-based NADPH oxidase. Circ Res* 95:773-779, 2004
9. Towler DA, Bidder M, Latifi T, Coleman T, Semenkovich CF: *Diet-induced diabetes activates an osteogenic gene regulatory program in the aortas of low density lipoprotein receptor-deficient mice. J Biol Chem* 273:30427-30434, 1998
10. Bostrom K, Watson KE, Horn S, Worthman C, Herman IM, Demer LL: *Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest* 91:1800-1809, 1993
11. Dhore CR, Cleutjens J, Lutgens E, Cleutjens K, Geussens P, Kitslaar P, Tordoir J, Spronk H, Vermeer C, Daemen M: *Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1998-2003, 2001
12. Griethe W, Schmitt R, Jurgensen JS, Bachmann S, Eckardt K-U, Schindler R: *Bone morphogenetic protein-4 expression in vascular lesions of calciphylaxis. J Nephrol* 16:728-732, 2003
13. Dorai H, Vukicevic S, Sampath TK: *Bone morphogenetic protein-7 (osteogenic protein-1) inhibits smooth muscle cell proliferation and stimulates the expression of markers that are characteristic of SMC phenotype in vitro. J Cell Physiol* 184:37-45, 2000
14. Dorai H, Sampath TK: *Bone morphogenetic protein-7 modulates genes that maintain the vascular smooth muscle cell phenotype in culture. J Bone Joint Surg* 83:S70-S78, 2001
15. Li T, Surendran K, Zawaideh MA, Mathew S, Hruska KA: *Bone morphogenetic protein 7: a novel treatment for chronic renal and bone disease. Curr Opin Nephrol Hypertens* 13:417-422, 2004
16. Barbara NP, Wrana JL, Letarte M: *Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. J Biol Chem* 274:584-594, 1999
17. Zhao GQ: *Consequence of knocking out BMP signaling in the mouse. Genesis* 35:43-56, 2003
18. Shafritz AB, Shore EM, Gannon FH, Zasloff MA, Taub R, Muenke M, Kaplan FS: *Overexpression of an osteogenic morphogen in fibrodysplasia ossificans progressiva. N Eng J Med* 335:555-561, 1996
19. Lane KB, Machado RD, Pauculo MW, Thomson JR, Phillips 3rd JA, Loyd JE, Nichols WC, Trembath RC: *Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF- β receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. The International PPH Consortium. Nat Genet* 26:81-84, 2000
20. Galvin KM, Donovan MJ, Lynch CA, Meyer RI, Paul RJ, Lorenz JN, Fairchild-Huntress V, Dixon KL, Dunmore JH, Gimborne MA Jr, Falb D, Huszar D: *Role for Smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system. Nat Genet* 24:171-174, 2002
21. Kopan, R: *Notch: a membrane-bound transcription factor. J Cell Sci* 115:1095-1097, 2002
22. Villa N, Walker L, Lindsell CE, Gasson J, Iruela-Arispe ML, Weinmaster G: *Vascular expression of Notch pathway receptors and ligands is restricted to arterial vessels. Mech Dev* 108:161-164, 2001
23. Steitz SA, Speer MY, Curinga G, Yang HY, Haynes P, Aebbersold R, Schinke T, Karsenty G, Giachelli CM: *Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. Circ Res* 89:1147-1154, 2001
24. Rajamannan NM, Subramaniam M, Springett M, Sebo TC, Niekrasz M, McConnell JP, Singh RJ, Stone NJ, Bonow RO, Spelsberg TC: *Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced cellular proliferation and bone matrix production in the rabbit aortic valve. Circulation* 105:2660-2665, 2002
25. McLaren KW, Lo R, Grbavec D, Thirunavukkarasu K, Karsenty G, Stifani S: *The mammalian basic helix*

- loop helix protein HES-1 binds to and modulates the transactivating function of the runt-related factor Cbfa1. J Biol Chem* 275:530-538, 2000
26. Zamurovic N, Cappellen D, Rohner D, and Susa M: *Coordinated activation of Notch, wnt, and transforming growth factor- β signaling pathways in bone morphogenic protein 2-induced osteogenesis. J Biol Chem* 279:37704-37715, 2004
27. Li L, Krantz ID, Deng Y, Genin A, Banta AB, Collins CC, Qi M, Trast BJ, Kuo WL, Cochran J, Costa T, Pierpont ME, Rand EB, Piccoli DA, Hood L, Spinner NB: *Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1. Nat Genet* 16:243-251, 1997
28. Szweras M, Liu d, Partridge EA, Pawling J, Sukhu B, Clokie C, Jahnen-Dechent W, Tenenbaum HC, Swallow CJ, Grynpas MD, Dennis JW: *α 2-Hs glycoprotein/fetuin, a transforming growth factor-b/bone morphogenetic protein antagonist, regulates postnatal bone growth and remodeling. J Biol Chem* 277:19991-19997, 2002
29. Price PA, Thomas GR, Pardini AW, Figueira WF, Caputo JM, Williamson MK: *Discovery of a high molecular weight complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix γ -carboxyglutamic acid protein in the serum of etidronate-treated rats. J Biol Chem* 277:3926-3934, 2002
30. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grotzinger J, Yamamoto K, Renne T, Jahnen-Dechnet W: *Structural basis of calcification inhibition by α 2-HS glycoprotein/Fetuin-A. J Biol Chem* 278:13333-13341, 2003
31. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G: *Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. Nature* 386:78-81, 1997
32. El-Maadawy S, Kaartinen MT, Schinke T, Murshed M, Karsenty G, McKee MD: *Cartilage formation and calcification in arteries of mice lacking matrix Gla protein. Conn Tissue Res* 44(suppl.):272-278, 2003
33. Price PA, Faus SA, Williamson MK: *Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:1400-1407, 1998
34. Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, VanMaldergem L, Ziереisen F, Yuksel B, Gardiner RM, Chung E: *Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. Nat Genet* 21:142-144, 1999
35. Zebboudj AF, Imura M, Bostrom K: *Matrix Gla protein and BMP-2 regulate osteoinduction in calcifying vascular cells. J Cell Biochem* 90:757-765, 2003
36. Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karsenty G: *Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. Nature* 382:448-452, 1996
37. Delany AM, Amling M, Priemel M, Howe C, Baron R, Canalis E: *Osteopenia and decreased bone formation in osteonectin-deficient mice. J Clin Invest* 105:915-923, 2000
38. Steitz SA, Speer MY, McKee MD, Liaw L, Almeida M, Yang H, Giachelli CM: *Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. Am J Pathol* 161:2035-2046, 2002
39. Stefan C, Jansen S, Bollen M: *NPP-type ectophosphodiesterases: unity in diversity. Trend Biochem Sci* 30:542-550, 2005
40. Okawa A, Nakamura I, Goto S, Moriya H, Nakamura Y, Ikegawa S: *Mutation in Npps in a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. Nat Genet* 19:271-273, 1998
41. Johnson K, Polewski M, van Etten D, Terkeltaub R: *Chondrogenesis mediated by PPI depletion promotes spontaneous aortic calcification in NPP1-/- mice. Arterioscler Throm Vasc Biol* 25:686-691, 2005
42. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Jume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI: *Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature* 390:45-51, 1997
43. Suga T, Kurabayashi M, Sando Y, Ohyama Y, Maeno T, Maeno Y, Aizawa H, Matsumura Y, Kuwaki T, Kuro-O M, Nabeshima Y, Nagai R: *Disruption of the klotho gene causes pulmonary emphysema in mice. Defect in maintenance of pulmonary integrity during postnatal life. Am J Respir Cell Mol Biol.* 22:26-33, 2000
44. Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, Fujuda K, Nabeshima Y: *Klotho, a gene related to a syndrome*

- resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. *Mol Endocrinol* 17:2393-2403, 2003
45. Chang Q, Hoefs S, van der Kemp AW, Topala CN, Bindels RJ, Hoenderop JG: *The beta-glucuronidase klotho hydrolyzes and activates the TRPV5 channel. Science* 310:490-493, 2005
 46. Whyte MP: *Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. Endo Rev* 15:439-461, 1994
 47. Henthorn PS, Raducha M, Fedde KN, Lafferty MA, Whyte MP: *Different missense mutations at the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene locus in autosomal recessively inherited forms of mild and severe hypophosphatasia. Proc Natl Acad Sci* 89:9924-9928, 1992
 48. Waymire, KG, Mahuren JD, Jaje JM, Guilarte TR, Coburn Sp, MacGregor GR: *Mice lacking tissue non-specific alkaline phosphatase die from seizures due to defective metabolism of vitamin B-6. Nat Genet* 11:45-51, 1995
 49. Fedde, KN, Blair L, Silverstein J, Coburn SP, Ryan LM, Weinstein RS, Waymire K, Narisawa S, Millan JL, MacGregor GR, Whyte MP: *Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia. J Bone Miner Res* 14:2015-2026, 1999
 50. Shioi A, Nishizawa Y, Jono S, Koyama H, Hosoi M, Morii H: *Beta-glycerophosphate accelerates calcification in cultured bovine vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:2003-2009, 1995
 51. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H: *Parathyroid hormone-related peptide as a local regulator of vascular calcification. Its inhibitory action on in vitro calcification by bovine vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:1135-1142, 1997
 52. Kizu A, Shioi A, Jono S, Koyama H, Okuno Y, Nishizawa Y: *Statins inhibit in vitro calcification of human vascular smooth muscle cells induced by inflammatory mediators. J Cell Biochem* 93:1011-1019, 2004
 53. Shioi A, Katagi M, Okuno Y, Mori K, Jono S, Koyama H, Nishizawa Y: *Induction of bone-type alkaline phosphatase in human vascular smooth muscle cells. Roles of tumor necrosis factor- α and oncostatin M derived from macrophages. Circ Res* 91:9-16, 2002
 54. Parhami F, Tintut Y, Ballard A, Fogelman AM, Demer LL: *Leptin enhances the calcification of vascular cells: artery wall as a target of leptin. Circ Res* 88:954-960, 2001
 55. Spicer SS, Lewis SE, Tashian RE, Schulte BA: *Mice carrying a CAR-2 null allele lack carbonic anhydrase II immunohistochemically and show vascular calcification. Am J Pathol* 134:947-954, 1989
 56. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM: *Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. Science* 289:265-270, 2000
 57. Reichenberger E, Tiziani V, Watanabe S, Park L, Ueki Y, Santanna C, Baur ST, Shiang R, Grange DK, Beighton P, Gardner J, Hamersma H, Sellars S, Ramesar R, Lidral AC, Sommer A, Raposo do Amaral CM, Gorlin RJ, Mulliken JB, Olsen BR: *Autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia is caused by mutations in the transmembrane protein ANK. Am J Hum Genet* 68:1321-1326, 2001
 58. Pendleton A, Johnson MD, Hughes A, Gurley KA, Ho AM, Doherty M, Dixey J, Gillet P, Loeuille D, McGrath R, Reginato A, Shiang R, Wright G, Netter P, Williams C, Kingsley DM: *Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. Am J Hum Genet* 71:933-940, 2002
 59. Rutsch F, and Terkeltaub R: *Deficiencies of physiologic calcification inhibitors and low-grade inflammation in arterial calcification: lessons for cartilage calcification. Joint Bone Spine* 72:110-118, 2005
 60. Milner DJ, Weitzer G, Tran D, Bradley A, Capetanaki Y: *Disruption of muscle architecture and myocardial degeneration in mice lacking desmin. J Cell Biol* 134:1255-1270, 1996
 61. Mavroidis M, Capetanaki Y: *Extensive induction of important mediators of fibrosis and dystrophic calcification in desmin-deficient cardiomyopathy. Am J Pathol* 160:943-952, 2002
 62. Pereira L, Lee SY, Gayraud B, Andrikopoulos K, Shapiro SD, Bunton T, Biery NJ, Dietz HC, Sakai LY, Ramirez F: *Pathogenetic sequence for aneurysm revealed in mice underexpressing fibrillin-1. Proc Natl Acad Sci* 96:3819-3823, 1999
 63. Sugitani H, Wachi H, Mecham RP, Seyama Y: *Accelerated calcification represses the expression of*

- elastic fiber components and lysyl oxidase in cultured bovine aortic smooth muscle cells. J Atheroscler Thromb* 9:292-298, 2002
64. Murshed M, Harmey D, Millan JL, McKee MD, Karsenty G: *Unique coexpression in osteoblasts of broadly expressed genes accounts for the spatial restriction of ECM mineralization to bone. Gene Dev* 19:1093-1104, 2005