

LRP5와 골량 획득의 새로운 지평

경북대학교 의학전문대학원 생화학-세포생물학교실

최 제 용*

= Abstract =

New Avenues in the LRP5-mediated Bone Mass Acquisition

Je-Yong Choi*

Department of Biochemistry and Cell Biology, Skeletal Diseases Genome Research Center,
School of Medicine, Kyungpook National University, Daegu, Korea

Lipoprotein receptor-related protein (LRP5) signaling is well correlated with the bone mass in both human and mice. Loss-of-function mutations of LRP5 result in osteopenia or osteoporosis. In contrast, gain-of-function mutations show high bone mass phenotype. To elucidate the molecular mechanism of the LRP5-mediated bone mass acquisition, several groups have genetically dissected the Wingless and Int-1 (Wnt) β -catenin signaling pathway using osteoblast-lineage specific Cre mice. Key players for LRP5-mediated bone mass acquisition turn out to be different molecules with respect to the expressing tissue and action mode of these molecules. One is serotonin, a tryptophan metabolite that originates from duodenum, which acts as a negative regulator for bone formation. LRP5 suppresses serotonin biosynthesis by inhibiting the expression of tryptophan hydroxylase 1 in the gut. The other is sclerostin, an osteocyte-producing antagonist for LRP5 signaling. Here is a summary of recent findings about these two molecules, providing a chance to speculate new avenues in the LRP5-mediated bone mass acquisition.

[Korean Journal of Bone Metabolism, 19(1): 1-9, 2012]

Key Words: Bone mass, LRP5, Sclerostin, Serotonin, Wnt signaling

서 론

골량이 부족하여 골절이 잘 생기는 골다공증은 일반적으로 여성호르몬 부족으로 발생한다. 성인의 골량은 골흡수와 골형성이 잘 균형을 이루어 골재형성이 유지되는데, 여러 가지 원인으로 여성호르몬이 부족하게 되면 파골세포의 골

흡수에 대한 뼈모세포의 골형성이 부족하여 골량이 감소하게 된다.¹ 포유류는 골재형성을 조화롭게 조절하여 골량을 유지하는데, 이 조절에는 특정 유전자들이 관여하고 있으며, 이들 중 암과 같은 특별한 질병을 야기시키지 않고 뼈 강도만 올릴 수 있는 유전자는 골다공증 치료제 개발에 이상적인 타깃이 될 수 있다. 지금까지 밝혀진 유전자 가운데 이상적

Received: May 1, 2012, Revised: May 2, 2012, Accepted: May 4, 2012

*Address for Correspondence: Je-Yong Choi, Department of Biochemistry and Cell Biology, Skeletal Diseases Genome Research Center, School of Medicine, Kyungpook National University, Daegu 700-721, Korea.

Tel: +82-53-420-4823, Fax: +82-53-422-1466, e-mail: jechoi@knu.ac.kr

**This study was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (A010252) and WCU program through the National Research Foundation of Korea funded by the Ministry of Education, Science and Technology (R32-10064).

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

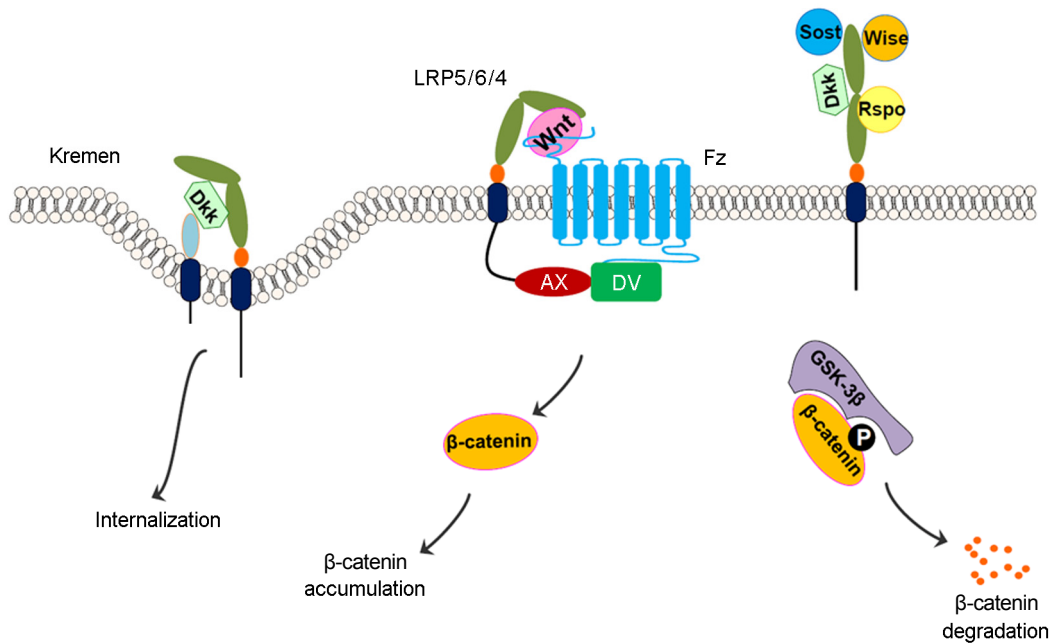


Fig. 1. Lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) and Wingless and Int-1 (Wnt) signaling pathway. Wnt signaling pathway consists of β -catenin-dependent canonical and noncanonical pathways (not shown). Binding of Wnt to its receptor (Fz) and coreceptor (LRP) allows recruiting of Dishevelled (DV) and Axin (AX) to Fz and LRP5/6/4, respectively, and results in stabilization of β -catenin. Extracellular portion of LRP5/6 can bind to various proteins like Sclerostin (Sost), Wise, R-spondin (Rspo) and Dickkopf (Dkk). Complex formation of Dkk with Kremen and LRP5/6 allow to internalization of complex into cells.

이라 여겨지는 것 중 하나는 Wingless and Int-1 (Wnt) 신호계의 공동 수용체인 lipoprotein receptor-related protein (LRP)5이다. LRP5는 기능이 증가되면 높은 골량을 나타내고, 기능이 소실되면 낮은 골량을 보여 골감소증이나 골다공증이 된다.²

LRP5 유전자에 나타나는 돌연변이의 위치에 따라 골량이 현저히 차이나는 점은 매우 흥미로운 현상이다. LRP5와 골량의 상관관계 기전을 자세히 규명하면 새로운 골량 조절 방식을 알고 또 골다공증을 치료할 수 있는 신약 개발에 좋은 목표가 될 수 있을 것이다. 여기서는 LRP5 신호가 골량 조절과 어떤 연관성이 있는지 그 동안의 연구를 요약해 보고자 한다.

Wnt/Frizzled (Fz)/LRP5 신호계

2000년 이후 골생물학 분야의 커다란 발전 중 하나는 bone morphogenetic protein (BMP) 신호 못지 않게 Wnt 신호계가 뼈 형성에 중요하다는 사실을 규명한 점이다. 현재까지 Wnt 신호계는 19가지 리간드가 있고, 11개의 Fz 수용체와 LRP4/5/6 공동 수용체로 구성되어 있다 (Fig. 1).^{3,4} 많

은 Wnt 신호는 Fz와 LRP4/5/6 공동 수용체를 활성화시켜 β -catenin의 안정화를 유도하는 Wnt/ β -catenin 신호 또는 canonical Wnt 신호경로를 통하여 일어난다. 그러나 일부 Wnt는 다른 수용체와 결합하여 신호를 전달하는데 이를 noncanonical Wnt 신호경로라 한다. 예로서 Wnt5a가 receptor tyrosine kinase-like orphan receptor (Ror)2 수용체 및 Fz와 함께 결합하여 오히려 Wnt/ β -catenin 신호를 억제하기도 한다.⁵ LRP5는 Wnt 뿐 아니라 다른 여러 단백질과 결합하여 Wnt 신호를 조절하는데, 골량과 밀접한 관계가 있는 결합단백질로 Sclerostin (SOST)과 Dickkopf (Dkk)1 등이 잘 알려져 있다.³

여기서는 Wnt 리간드나 Fz 그리고 noncanonical Wnt 신호계 수용체 등은 제외하고 LRP5를 중심으로 살펴보고자 한다. LRP5는 염색체 11번에 위치하고, 1,615개 아미노산으로 구성된 단백질로 대부분 세포 외 부위, 하나의 막통과 부위, 그리고 세포 내 부위로 구성된 low density lipoprotein receptor (LDLR) 패밀리의 한 군에 속한다 (Fig. 2). 세포 외 부위는 4개의 베타 프로펠러와 epidermal growth factor (EGF)-like repeat가 존재한다.⁶ LRP5의 세포질 부위는 207개의 아미노산으로 구성되어 있고 독특한 모티프는 Pro-Pro-

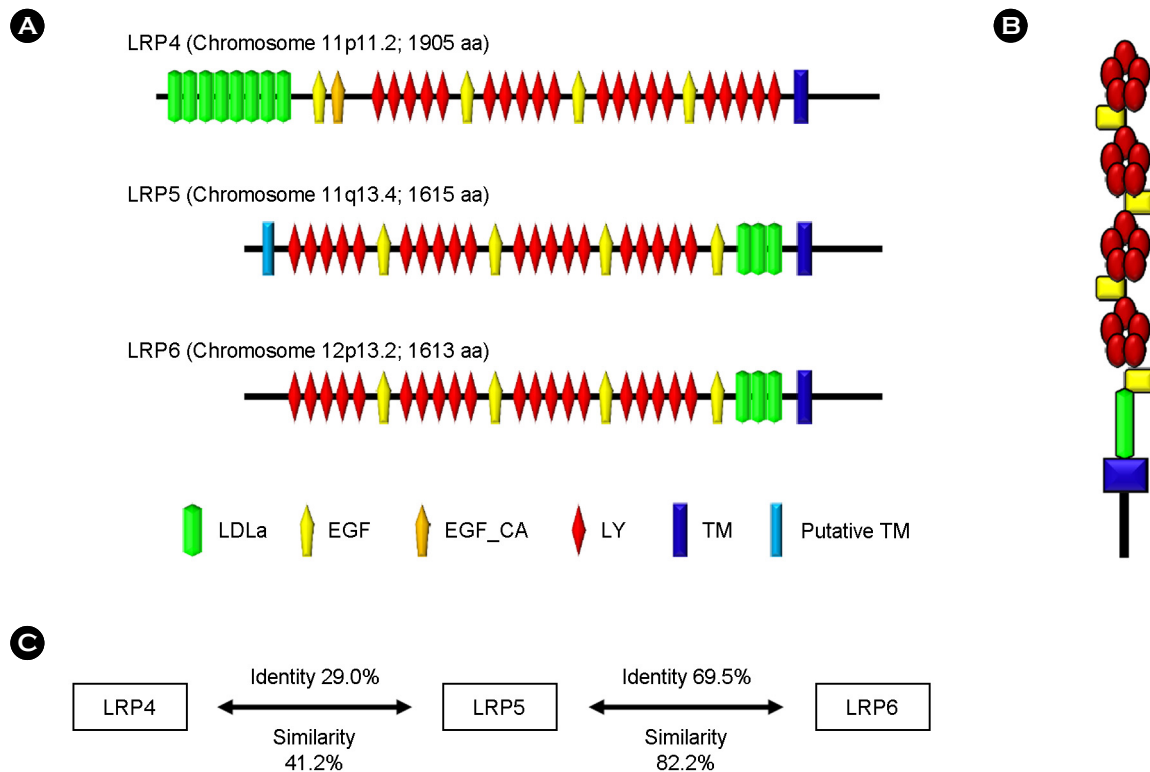


Fig. 2. Comparison of Lipoprotein receptor-related protein (LRP)4/5/6 amino acid sequences. LRP5 has a putative transmembrane sequence as signal peptide by search program (see in the text), which was not revealed in LRP4 and LRP6 (A). LRP5/6/4 show similar structure with 4 propellers in extracellular portion (B). Analyses of amino acid sequences of LRP5/6/4 show a high identity and similarity between LRP5 and LRP6 (C). LRP5, LRP6 and LRP4 belong to low density lipoprotein receptor (LDLR). Although LRP5/6/4 show similar structure and function, knockout of each gene reveals different phenotypes, which indicates that there is no compensatory function among them.

Pro-Ser/Thr-Pro (PPPS/TP)로 Wnt나 parathyroid hormone (PTH) 같은 외부자극에 의하여 인산화된다. Canonical Wnt 신호계를 Wnt3a로 자극하면 PPPS/TP 부위가 인산화 되고 Axin이 결합하여 ras-related C3 botulinum toxin substrate (Rac)1, c-Jun N-terminal kinase (JNK)2 등을 통해 그 다음 일련의 과정들이 일어나 결국 β -catenin이 파괴되지 않고 핵으로 들어가 잘 작용하도록 한다.^{7,8} 반면에 Wnt5a로 noncanonical Wnt 신호를 자극하면 LRP5는 관여하지 않고 Ror2나 Fz 자체가 G-protein을 경유해서 활성화 된다. 최근 Wnt5a로 자극하면 간엽줄기세포가 뼈모세포로 잘 전환되는데, 이것은 peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ)의 발현이 억제되어 일어난다.⁹ 또한 동물모델에서 뼈모세포에서 발현되는 Wnt5a가 파골전구세포의 Ror2에 작용하면 파골세포 분화 증가로 골량이 감소된다.¹⁰

LRP5의 세포 외 부위에는 여러 가지 단백질들이 결합할 수 있다. 먼저 Dkk로 척추동물에서 4종류가 있고 그 중

3가지 (Dkk1, 2, 4)만 LRP5에 결합하는 것으로 알려져 있다.¹¹ Dkk는 β -프로펠러 모티프에 결합하여 Wnt 리간드가 붙지 못하게 방해하거나 Dkks, LRP5, Kremens 등이 복합체를 이루어 쉽게 세포 내로 들어가 세포막에 존재하는 LRP5의 수를 감소시켜 Wnt 신호전달을 방해하기도 한다.¹¹ 다른 결합 단백질로는 분비 단백질인 R-spondin, Wise, (SOST) 등이 있다. 아직 각각에 대하여 정확한 작용 기전은 잘 알려져 있지 않지만, 그 중에서도 SOST이 가장 활발히 연구되고 있다.

LRP5의 돌연변이와 골량

LRP5가 뼈 분야에서 지대한 관심을 받게 된 것은 Osteoporosis-pseudoglioma (OPPG) syndrome의 원인 유전자이기 때문인데, OPPG는 근육이 급격히 줄고, 점차 실명되며, 뼈도 잘 부러지는 질환이다.¹² OPPG는 LRP5가 기능이

소실되어 일어나는 현상으로 상염색체 열성으로 유전되고 이종접합 (heterozygous)인 경우에도 골절에 취약하다.¹² 반대로 높은 골량을 보이는 경우는 상염색체 우성으로 같은 LRP5 유전자이지만 돌연변이 위치만 다른 곳이다.¹³⁻¹⁵ 즉, LRP5에 일어나는 돌연변이 위치에 따라 골량이 반대로 나타나는데 LRP5 기능이 높아지면 골량 증가, 낮아지면 골량 감소를 보인다. 이것은 LRP5의 기능 조절을 통하여 뼈의 골량을 제어할 수 있다는 점을 시사한다. 또 다른 중요한 점은 LRP5가 비교적 널리 발현되는 유전자임에도 불구하고 기능-증가 돌연변이는 골조직에 골량을 증가시키는 것 외엔 별다른 증상이 없다. Wnt 신호가 증가하면 암이 생긴다는 것은 비교적 잘 규명된 상황인데도 LRP5 돌연변이에서는 암이 보고되지 않았다.¹⁶ 이런 사실들은 LRP5 신호를 적절히 조절한다면 새로운 골량 제어 기전을 이해하게 되고, 좋은 골다공증 치료제 개발도 가능할 수 있음을 시사한다.

β-catenin을 통한 canonical Wnt pathway와 골량과의 관계

LRP5의 기능-증가 돌연변이로 높은 골량을 보였다면 canonical Wnt 신호계가 관여되었을 것이고, 이 canonical Wnt 신호계가 실제 골량 조절과 어떻게 연관되는지 먼저 잘 살펴볼 필요가 있다. Canonical Wnt 신호전달계에서 리간드, 수용체, 공동 수용체의 유전자들이 많아 분석하기가 쉽지 않다. 하지만 확실하게 관여 여부를 알 수 있는 방법은 단일 유전자로 존재하는 β-catenin이 골량 조절에 어떻게 작용하는지 판정하는 것이다.

먼저 canonical Wnt 신호가 뼈 발생 초기에 어떤 작용이 있는지 알아보기 위하여 초기 미분화 간엽전구세포 (mesenchymal progenitor cells)에서 발현이 강한 *Prx1-Cre*나 *Dermo-Cre* 또는 연골세포에 특이적인 *α1(II) collagen-Cre*로 β-catenin을 제거하여 확인한 결과 β-catenin은 간엽전구세포에서 뼈모세포로 전환되기 위해서는 필수적으로 존재해야 하는 것으로 밝혀졌다.¹⁷⁻¹⁹ β-catenin이 없으면 간엽세포로부터 뼈모세포가 생기지 않고 모두 연골세포로 존재하게 된다. 반대로 β-catenin을 증가시키면 빨리 뼈가 생성되어 오히려 생쥐가 죽게 된다.^{17,20,21} 이는 간엽전구세포에서 뼈모세포가 되기 위해서는 β-catenin을 통한 적절한 canonical Wnt 신호가 있어야 한다는 것을 의미한다.

그러나 β-catenin의 활성을 2.3 kb *α1(I) collagen-Cre* 생쥐를 이용하여 뼈모세포에서 높이면 뼈는 높은 골량을 보이고

치아는 붕출이 되지 않는다. 이것은 뼈모세포에서 발현되는 Osteoprotegerin (OPG)이 증가되어 파골세포 수와 기능이 감소되어 나타난 결과이다.²⁰ 반대로 β-catenin을 뼈모세포 특이적으로 제거하면 낮은 골량을 보이는데, 이는 뼈모세포의 수와 기능에는 차이 없으나 OPG가 감소되어 파골세포의 수와 기능이 증가했기 때문이다.²⁰ 좀 더 성숙한 뼈모세포와 초기 뼈세포에 발현되는 *Osteocalcin-Cre* (OC-Cre)로 β-catenin을 제거하면 쥐가 5주에 죽고 해면골과 막골 모두에서 골량이 감소된다.²² 또한 성숙 뼈모세포에서 제거했을 때와 비슷하게 파골세포 수가 증가된다. 뼈세포에서 β-catenin을 *Dmpl-Cre*로 제거하면 마찬가지로 일찍 죽고 골량도 적어진다.²³ 즉, canonical Wnt 신호는 간엽줄기세포로부터 초기 뼈모세포 분화에 중요하고, 뼈모세포의 수나 기능에는 큰 영향 없이, 성숙 뼈모세포가 OPG 생성 조절을 통하여 파골세포의 수와 기능을 조절한다. 최근 noncanonical Wnt 신호계에서도 흥미로운 점은 뼈모세포에서 발현되는 Wnt5a가 파골전구세포의 Ror2와 작용하여 RANK 발현이 증가되고 파골세포 분화가 촉진된다는 것이다.¹⁰

LRP5 knockout (KO)된 생쥐는 OPPG 증상처럼 골량이 감소된다.^{24,25} LRP5KO 생쥐의 골량 감소는 뼈모세포의 사멸이나 파골세포에는 관련 없이 뼈모세포의 증식과 골형성 속도가 감소되어 일어난 현상이다.²⁴ 또한 흥미롭게도 LRP5가 없어도 Wnt와 lymphoid enhancer factor (Lef)1 매개 신호는 여전히 일부 존재하는 것으로 알려져 있다. 아마 뼈모세포에 LRP4나 LRP6가 존재하기 때문일 것이다. 최근 LRP4의 hypomorphic한 경우나 LRP6 KO heterozygous 생쥐를 조사한 결과 모두 골량이 감소되었다.^{26,27} 그러나 LRP4, LRP5, LRP6 KO 결과가 모두 다르고 서로 보완되지 않는 점은 흥미로운 사실이다. 이 부분에 대해서는 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

종합하면 canonical pathway를 담당하는 β-catenin을 뼈모세포계에 제거하면 주로 OPG 발현의 감소로 파골세포 수와 기능이 강화되어 골흡수가 진행되고 LRP5 공동 수용체를 제거하거나 기능을 변화시키면 주로 뼈모세포의 수나 기능에 영향을 미친다. 즉, LRP5와 β-catenin은 같은 canonical Wnt 신호전달계를 담당하지만 실제 골조직에서 작용하는 기전은 다르게 나타나 좀 더 다양한 시각에서 골량 조절 기전을 살펴봐야 된다는 사실을 암시한다.

LRP5 높은 골량 돌연변이와 Serotonin 연관성

뼈모세포 및 뼈세포 특이적으로 제거한 β -catenin의 결과와 LRP5KO, *Dermo-Cre*, 또는 2.3 kb *al(I) collagen-Cre*로 제거한 결과가 다르기 때문에 Karsenty 그룹은 LRP5의 기능-증가 돌연변이에 의한 골량 증가는 Wnt가 리간드인 전형적인 Wnt/ β -catenin 신호전달계가 아닌 새로운 LRP5 리간드가 있을 것으로 추정하였다.²⁸ 이 그룹은 다음과 같은 이유를 들어 LRP5가 단순히 canonical Wnt 신호계로 골량을 조절하는 것이 아니라고 주장한다.²⁹ 1) LRP5는 매우 복잡한 단백질로 여러 가지 리간드가 있을 가능성이 있다. 2) LRP5KO 생쥐나 OPPG 또는 LRP5 골량 증가 돌연변이 환자에는 태어난 후 뼈 패턴의 이상은 없다. 이것은 모든 Wnt 신호계 관련 유전자들이 발생기에 중요한 역할이 있다는 기존 결과와 상반된다. 3) LRP5의 기능-증가 돌연변이 환자에서 암이 발생되지 않았는데, Wnt 신호계가 증가되면 암이 잘 생긴다는 사실과 상반된다. 4) 뼈모세포에서 β -catenin으로 canonical Wnt 신호전달을 제거하면 태어난 후 뼈 형성에는 문제없고 뼈모세포에 의존하여 뼈 흡수가 증가될 뿐이다. LRP5KO 쥐는 OPPG 환자처럼 골량이 감소되는데, 세포 증식 관련 유전자들 (Cyclin D1, D2, E1)이 감소된다. 뼈모세포 분화에 관련된 전사인자들 (runt-related transcription factor [RUNX]2, osterix [OSX], activating transcription factor [ATF]4)과 파골세포 분화에 중요한 OPG, receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 발현에는 변화가 없다. 흥미로운 것은 LRP5KO 유래 뼈모세포가 *in vivo*에서는 그 수가 감소되었지만 *in vitro*에서는 정상군과 차이가 없어 뼈모세포 자체의 문제라기보다 뼈모세포 외 다른 세포에 의해 뼈 형성이 조절된다는 점이다. 심지어 *Dermol-Cre*로 LRP5를 제거해도 뼈모세포의 수, 뼈 형성 속도, 골량에는 큰 차이가 없다.³⁰ 따라서 LRP5 기능-증가 돌연변이에서 보이는 골량 증가는 Wnt 신호계가 아닐 가능성이 높고 또한 뼈모세포 외 다른 세포에 의하여 일어난 현상이라고 할 수 있다.

LRP5와 Serotonin의 연결고리는 LRP5KO 생쥐 유래 뼈의 DNA microarray 분석에서 찾은 흥미로운 유전자 때문이다. 정상과 비교했을 때 LRP5KO 생쥐의 뼈에서 현저히 높은 값으로 나온 유전자는 Serotonin 합성과 연관있는 tryptophan hydroxylase (TPH)1이었다. TPH1은 십이지장에서 Serotonin 합성에 관여하는 중요한 효소인데 LRP5KO 생쥐의 십이지장에서 3배 증가하였다. LRP5 유전자를 *al(I) collagen-Cre*

와 *Villin-Cre*로 각각 제거하는 Conditional KO (CKO) 생쥐와 (LRP5-G171V)와 같은 LRP5 Conditional Knock-in (CKI) 생쥐를 제작하여 여러 가지 *Cre* 생쥐로 조직별로 조사하였는데, 이 CKO나 CKI 생쥐에서 *Dermol-Cre*나 *al(I) collagen-Cre*로 제거해도 골량이나 뼈모세포 수, 골형성 속도에는 차이가 없었다.²⁹ 심지어 *Dmp1-Cre*로 LRP5를 제거하여도 변화가 없었다. 그러나 LRP5를 *Villin-Cre* 생쥐로 제거 시 골량, 골형성 속도, 뼈모세포 수가 감소되었고, LRP5-G171V CKI 생쥐를 *Villin-Cre* 생쥐로 활성화 하면 반대로 골량과 골형성이 증가되어, LRP5로 인한 골량은 장에서만 들어지는 Serotonin과 역 상관관계가 있다고 보고하였다.²⁹ 또한 OPPG 환자에서 Serotonin 농도가 높고, 높은 골량을 보이는 LRP5 기능-증가 돌연변이 경우는 낮고,³¹ 실제 여성에서 혈중 Serotonin 농도는 골량과 역 상관관계를 보였다.³² 즉, LRP5 기능-증가 돌연변이에 의한 골량 증가는 뼈모세포 자체가 아닌 장관세포에서 만드는 Serotonin이 혈류를 타고 뼈조직에 작용하여 일어난 현상임을 나타낸다.

Serotonin이 골량이 미치는 영향

십이지장 유래 Serotonin은 골량을 줄이고 뇌 유래 Serotonin은 골량을 증가시킨다. 같은 화학물질인데 왜 골량이 상반되게 조절되는가? 이는 Serotonin의 작용 장소가 어디냐에 따라 뼈에 미치는 영향이 다르다고 한다. 장 유래 Serotonin은 뼈모세포에 발현되는 human serotonin receptor (Htr)1b 수용체와 작용하여 cyclic adenosine monophosphate (cAMP) responsive element-binding protein (CREB)의 인산화를 감소시키고 Cyclin D1의 발현을 억제하여 뼈모세포의 수를 줄인다. 뼈 흡수에 대해서는 별 작용이 없는 것으로 밝혀졌다. *TPH2 KO* 생쥐 경우 낮은 골량을 보여 뇌에서만 들어지는 Serotonin은 뼈 형성과 흡수 모두에 영향을 주어 골량을 증가시킨다.³³ 흥미롭게도 *TPH1/TPH2 double KO* 하면 골량이 감소된다. 이는 5% 정도 되는 뇌-Serotonin이 95%나 되는 장-Serotonin의 기능을 넘어 작용함을 알 수 있다. 장-Serotonin 신호계 억제제가 골다공증 치료가 가능한지 난소절제 동물모델을 이용하여 검증하였는데, TPH1에 대한 경구용 Serotonin 합성 억제제는 뼈 흡수에 대해서는 큰 작용없이 뼈모세포 증식과 뼈 형성의 활성화로 골량을 증가시킨다.³⁴ 이것은 장-Serotonin 신호계 억제제가 새로운 골다공증 치료제 개발의 작용점이 될 수 있음을 보여준다.

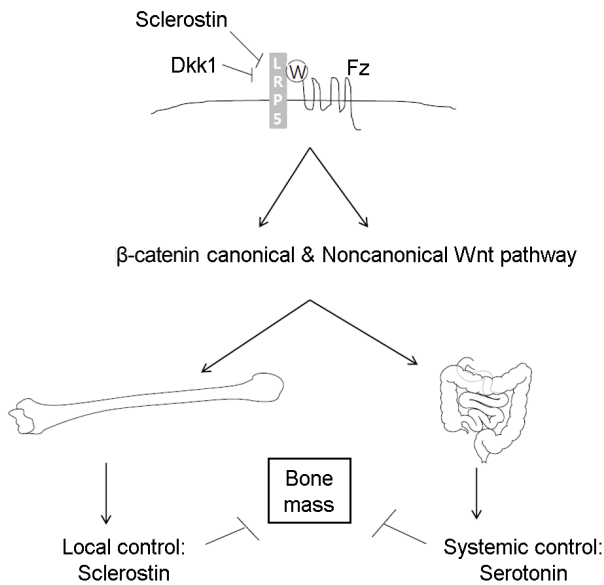


Fig. 3. Bone mass regulation in Lipoprotein receptor-related protein (LRP)5 signaling pathway via Serotonin and Sclerostin
Regulation of bone mass by LRP5 mutations is not directly correlated with the involvement of β -catenin mediated canonical Wnt pathway. High bone mass phenotypes of LRP5 gain-of-function mutations were explained by two different ways. One is local regulatory role of Sclerostin and Dickkopf (Dkk1) which are produced in bone cells and play as strong inhibitors for bone formation. They cannot bind to LRP5 with high bone mass mutations (left panel). Another explanation is systemic regulatory role of Serotonin which is produced in intestine and also play as strong inhibitor for bone formation. LRP5 gain-of-function mutations decreases blood Serotonin level by inhibition of tryptophan hydroxylase 1 expression in enterochromaffin cells. Serotonin decreases osteoblast number and function through Serotonin receptor (Htr1b) in osteoblasts (right panel).

LRP5 돌연변이와 Sclerostin 연관성

Sclerosteosis (SCL; OMIM 269500)는 Van Buchem disease (VBD; OMIM 239100)와 매우 유사하나 임상적으로 약간 다르다. SCL은 점진적으로 뼈의 과성장과 두께가 증가하는데 특히 두개골, 하악, 그리고 장골에서 뚜렷하게 관찰된다. 환자들은 키가 크고 하악과 이마가 커지는 바람에 얼굴에 변형과 대뇌 신경이 눌려 안면 마비, 청각 소실, 후각 소실 등이 오며, 뇌압이 증가하여 두통이나 갑자기 사망할 수도 있다. 또한 많은 경우 손에 syndactyly가 있다. 이러한 특징들은 VBD에서는 나타나지 않아 임상적으로 다른 상태로 분류된다. 그러나 두 질환의 경우 모두 SOST이 부족하여 골량 증가가 되었다. SOST은 213개 아미노산으로 구성된

단백질로 아미노산 서열이 쥐, 생쥐 각각 사람의 것과 89%, 88% 정도로 높은 유사성을 보인다.^{35,36}

사람에서 높은 골량을 보이는 LRP5-G171V 돌연변이를 *Rat 3.6 kb $\alpha 1(I)$ collagen promoter*로 과발현시킨 형질전환 생쥐는 사람과 같이 높은 골량과 골강도를 보였다.^{37,38} 이러한 LRP5-G171V와 같은 기능-증가 돌연변이는 Dkk1이나 SOST과 결합하지 못할 뿐 아니라 Mesd와도 결합하지 못해 세포막으로 이동이 적어진다.^{15,39,40} 그러나 Karsenty 그룹에서는 높은 골량을 초래하는 LRP5-G171V나 LRP5 과발현 형질전환 동물에서 골량이 증가되지 않는다는 상반된 결과도 보고하였다.²⁸

또 다른 연구에서는 LRP5를 *Dmp1-Cre*로 제거 시 골량과 골강도가 감소되었으나, 장관 특이적인 *Villin1-Cre*로 제거 시 골량이나 Serotonin 혈중 농도는 변화가 없었다.⁴¹ 또한 LRP5-G171V를 *Dmp1-Cre*와 *Prx1-Cre* 생쥐로 활성화 시켰을 때 모두 골량이 증가되었고, *Villin1-Cre* 생쥐로 활성화 시켰을 때는 차이가 없었다. 높은 골량을 나타내는 LRP5-G171V를 같은 생쥐에서 *Prx1-Cre* 생쥐로 실험하여 미치는 차이가 없지만 사지에서만 골량이 증가되어 LRP5에 의한 골량 조절은 뼈조직 자체에서 국소적으로 일어나는 강력한 증거를 제시하였다.⁴¹

요 약

LRP5의 기능-증가 및 기능-소실 돌연변이로 인한 골량의 증감은 골생물학자가 골다공증 치료제 개발을 위한 가장 이상적인 모델이지만 아직 여러 측면에서 명확하지 않는 점이 많다. LRP5의 기능-증가 돌연변이의 주된 이유는 뼈세포에서 발현하는 SOST과 Dkk1이 LRP5에 제대로 결합하지 못해 Wnt 신호가 증가되어 일어난 현상으로 요약된다. LRP5 기능-증가 돌연변이의 Wnt 신호 증가로 인한 높은 골량은 뼈조직이라는 국소부위에서 일어나는 현상이라는 그룹과, 장에서 만들어지는 Serotonin으로 인하여 전신적으로 작용한다는 그룹으로 나누어져 있다. 여성의 혈청에서 SOST과 Serotonin은 모두 골량과 역비례 관계가 있어 현재로서는 양쪽 모두의 주장이 유효하다고 할 수 있다 (Fig. 3).^{32,42} 어느 쪽이 주된 역할을 하는지는 좀 더 자세한 연구가 필요하다.

현재까지 LRP5에 의한 골량 조절에 Serotonin 또는 SOST에 비견을 두는 각 그룹들의 비슷한 전략의 실험들이 왜 다른 결과가 나왔는지 자세한 설명은 없다. 여러 가지 이유 중

하나를 LRP5를 제거하기 위해 사용한 *Cre* 생쥐가 다르기 때문일 수 있다. 이 부분 또한 자세한 규명이 필요하다.

Serotonin/SOST와 LRP5와의 연관성을 임상결과로 증명이 되고 분자 기전이 좀 더 잘 규명된다면 LRP5 기능-증가에 의한 골량 조절 기전이 더욱 명확해질 것이다. 이미 *Dkk1*이나 SOST에 대한 전임상 및 임상시험결과들은 좋은 성적을 내고 있어 머지 않아 좋은 골다공증 치료제로 개발될 수 있을 것이다. 따라서 Wnt 신호계의 자세한 이해는 골다공증 치료를 위한 새로운 신약 개발에 좋은 작용점을 제공할 것이다.

참 고 문 헌

- Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011;377:1276-87.
- Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology* 2007;148:2635-43.
- Zhu D, Kang Q, Huang PY, He TC, Xie P. Neurogenesis-related genes expression profiling of mouse fibroblastic stem cells induced by Wnt signaling. *Neurol Res* 2009;31:200-3.
- Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004;20:781-810.
- Mikels A, Minami Y, Nusse R. Ror2 receptor requires tyrosine kinase activity to mediate Wnt5A signaling. *J Biol Chem* 2009;284:30167-76.
- He X, Semenov M, Tamai K, Zeng X. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way. *Development* 2004;131:1663-77.
- Pan W, Choi SC, Wang H, et al. Wnt3a-mediated formation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate regulates LRP6 phosphorylation. *Science* 2008;321:1350-3.
- Wu X, Tu X, Joeng KS, Hilton MJ, Williams DA, Long F. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell* 2008;133:340-53.
- Takada I, Mihara M, Suzawa M, et al. A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signalling suppresses PPAR-gamma transactivation. *Nat Cell Biol* 2007;9:1273-85.
- Maeda K, Kobayashi Y, Udagawa N, et al. Wnt5a-Ror2 signaling between osteoblast-lineage cells and osteoclast precursors enhances osteoclastogenesis. *Nat Med* 2012;18:405-12.
- Niehrs C. Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene* 2006;25:7469-81.
- Gong Y, Slee RB, Fukai N, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001;107:513-23.
- Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002;70:11-9.
- Johnson ML, Gong G, Kimberling W, Recker SM, Kimmel DB, Recker RB. Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13). *Am J Hum Genet* 1997;60:1326-32.
- Boyden LM, Mao J, Belsky J, et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002;346:1513-21.
- Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004;5:691-701.
- Hill TP, Später D, Taketo MM, Birchmeier W, Hartmann C. Canonical Wnt/beta-catenin signaling prevents osteoblasts from differentiating into chondrocytes. *Dev Cell* 2005;8:727-38.
- Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Dev Cell* 2005;8:739-50.
- Hu H, Hilton MJ, Tu X, Yu K, Ornitz DM, Long F. Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development. *Development* 2005;132:49-60.
- Glass DA, 2nd, Bialek P, Ahn JD, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005;8:751-64.
- Rodda SJ, McMahon AP. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. *Development* 2006;133:3231-44.
- Holmen SL, Zylstra CR, Mukherjee A, et al. Essential role of beta-catenin in postnatal bone acquisition. *J Biol Chem* 2005;280:21162-8.



23. Kramer I, Halleux C, Keller H, et al. Osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is required for normal bone homeostasis. *Mol Cell Biol* 2010;30:3071-85.
24. Kato M, Patel MS, Levasseur R, et al. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol* 2002;157:303-14.
25. Fujino T, Asaba H, Kang MJ, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:229-34.
26. Choi HY, Dieckmann M, Herz J, Niemeier A. Lrp4, a novel receptor for Dickkopf 1 and sclerostin, is expressed by osteoblasts and regulates bone growth and turnover in vivo. *PLoS One* 2009;4:e7930.
27. Kubota T, Michigami T, Sakaguchi N, et al. Lrp6 hypomorphic mutation affects bone mass through bone resorption in mice and impairs interaction with Mesd. *J Bone Miner Res* 2008;23:1661-71.
28. Glass DA, 2nd, Karsenty G. In vivo analysis of Wnt signaling in bone. *Endocrinology* 2007;148:2630-4.
29. Yadav VK, Ryu JH, Suda N, et al. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell* 2008;135:825-37.
30. Yadav VK, Arantes HP, Barros ER, Lazaretti-Castro M, Ducy P. Genetic analysis of Lrp5 function in osteoblast progenitors. *Calcif Tissue Int* 2010;86:382-8.
31. Frost M, Andersen TE, Yadav V, Brixen K, Karsenty G, Kassem M. Patients with high-bone-mass phenotype owing to Lrp5-T253I mutation have low plasma levels of serotonin. *J Bone Miner Res* 2010;25:673-5.
32. Mödder UI, Achenbach SJ, Amin S, Riggs BL, Melton LJ, 3rd, Khosla S. Relation of serum serotonin levels to bone density and structural parameters in women. *J Bone Miner Res* 2010;25:415-22.
33. Yadav VK, Oury F, Suda N, et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell* 2009;138:976-89.
34. Yadav VK, Balaji S, Suresh PS, et al. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. *Nat Med* 2010;16:308-12.
35. Brunkow ME, Gardner JC, Van Ness J, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. *Am J Hum Genet* 2001;68:577-89.
36. Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet* 2001;10:537-43.
37. Akhter MP, Wells DJ, Short SJ, et al. Bone biomechanical properties in LRP5 mutant mice. *Bone* 2004;35:162-9.
38. Babij P, Zhao W, Small C, et al. High bone mass in mice expressing a mutant LRP5 gene. *J Bone Miner Res* 2003;18:960-74.
39. Ellies DL, Viviano B, McCarthy J, et al. Bone density ligand, Sclerostin, directly interacts with LRP5 but not LRP5G171V to modulate Wnt activity. *J Bone Miner Res* 2006;21:1738-49.
40. Zhang Y, Wang Y, Li X, et al. The LRP5 high-bone-mass G171V mutation disrupts LRP5 interaction with Mesd. *Mol Cell Biol* 2004;24:4677-84.
41. Cui Y, Niziolek PJ, MacDonald BT, et al. Lrp5 functions in bone to regulate bone mass. *Nat Med* 2011;17:684-91.
42. Modder UI, Hoey KA, Amin S, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011;26:373-9.

=국문초록=

LRP5 신호는 사람이나 쥐에서 골량 획득과 잘 일치한다. LRP5의 기능-소실 돌연변이는 골감소나 골다공증을 초래하고 기능-증가 돌연변이는 높은 골량을 나타낸다. LRP5로 인한 골량 조절 기전은 뼈모세포계 특이적으로 β -catenin이나 LRP5를 제거하여 평가한 결과 두 유전자가 중요하게 관여한다고 알려졌다. 하나는 LRP5로 인한 골량은 골조직이 아닌 십이지장에서 발현되는 Serotonin이 호르몬처럼 작용하여 조절된다는 것이고, 다른 하나는 뼈세포에서 발현하는 Sclerostin이 뼈조직에서 국소적으로 작용하여 조절된다는 것이다. 여기서는 이 두 분자에 대한 최근 결과들을 요약하고 LRP5에 의한 골량 획득의 새로운 기전에 대하여 알아보려고 한다.

중심단어: 골량, LRP5, Sclerostin, Serotonin, Wnt signaling