

대퇴골두 무혈성 괴사증에서 지질대사 및 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 유전자 발현의 의의

장재석* · 박종훈 · 박상원 · 한승범 · 경봉수

울산대학교 의과대학 서울아산병원 정형외과학교실*, 고려대학교 의과대학 안암병원 정형외과학교실

목적: 지질대사의 변화 및 PPAR γ mRNA의 발현이 대퇴골두 무혈성 괴사에 미치는 영향에 대하여 조사하고자 한다

대상 및 방법: 130명의 대퇴골두 무혈성 괴사 환자 및 30명의 대조군에서 lipid profile을 조사하였다. 17명의 고관절 치환술 환자의 수술 시 얻은 골수세포를 이용하여 RT-PCRs 방법으로 PPAR γ mRNA의 발현을 보았다.

결과: 유리 지방산은 스테로이드군이 666.5 ± 163.4 mg/dl, 알코올군이 676.9 ± 264.7 mg/dl로서, 468.5 ± 194.1 mg/dl인 특발성군과 453.5 ± 169.3 mg/dl인 대조군에 비하여 유의하게 높았다. 중성지방은 스테로이드군이 183.6 ± 58.4 mg/dl, 알코올군이 223.7 ± 70.9 mg/dl로서, 130.9 ± 63.1 mg/dl인 특발성군과 93.1 ± 79.0 mg/dl인 대조군에 비하여 유의하게 높았다. PPAR γ mRNA의 발현은 대퇴골두 무혈성 괴사 환자군이 다른 군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다.

결론: 대퇴골두 무혈성 괴사에서 고지혈증은 위험인자로서 인식되며 의미있게 증가된 PPAR γ 와의 관계는 향후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

색인단어: 대퇴골두 무혈성괴사, 지질대사, PPAR γ

서론

비 외상성 대퇴골두 무혈성괴사의 원인으로는 특별한 원인을 규명하기 힘든 특발성으로부터 과다한 알코올 섭취¹³⁾, 장기간의 스테로이드의 사용²⁰⁾ 겸상적혈구증, 통풍 등이 있다. 정확한 기전은 불명확하다는 것이 정설이지만 주목 받는 가설들 중의 하나로 지질대사의 이상이 있으며 일부에서는 대퇴골두 무혈성 괴사와 고지혈증의 상관 관계를 이미 정설로 받아들이고 있다^{4,15)}. 장기간의 부신피질 호르몬의 사용이나 알코올의 섭취가 지방대사를 활성화 하면서 대퇴골두로의 혈류 장애를 야기하는 것은 분명한 듯^{12,15)}하나 사용된 스테로이드와 섭취된 알코올의 농도와 기간에 비하여 무혈성 괴사가 발생하는 빈도가 균등하지 않다는 것으로 미루어 보아 개인 간의 민감도 차이가 병인에 주요한 인자일 것으로 생각된다¹⁷⁾.

Peroxisome은 진핵세포내에 공포모양으로 존재하는 미세기관으로서 지방산의 산화에 관여하며 Peroxisome

proliferator 수용체는 1990년대 이후 클로닝되어 Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs)로 총칭되며, 서로 다른 유전자에 의해서 생성되는 PPAR α , PPAR δ 그리고 PPAR γ 의 세 군이 있다. 이 가운데 PPAR γ 는 in vitro 실험에서 지방전구세포로부터 지방세포로의 분화과정 시에 발현이 상당히 증가하고, 심지어 섬유세포에서 발현을 강화 시키는 경우 지방세포로의 분화과정으로 변화되는 등 지방세포의 분화 과정에 중요한 역할을 함과 동시에 지방대사 과정에서도 지대한 작용을 하는 것으로 밝혀졌다^{1,2,19)}. 지방세포에서 특징적으로 발현되는 것으로 알려진 PPAR γ mRNA는 지방세포 뿐 아니라 MG63, SaOS-2 와 같은 골모세포주에서도 발현이 확인되었으며, 나아가 PPAR γ 의 활성화 인자들에 의해서 발현이 자극되는 경우 골모세포 계열로부터 지방세포 계열로의 변환이 이루어 진다^{3,16)}. 이러한 보고들은 동일한 기원을 갖는 골모세포와 지방세포가 내인성, 외인성의 여러 인자들에 의해서 분화 과정에서 각기 다른 방향으로 발전될 수 있다는 기존의 학설들을 뒷받침 함과 동시에 그러한 인자들 가운데 하나로서 PPAR γ 유전자를 주목하고 있다 하겠다. 본 연구에서는 대퇴골두 무혈성 괴사에서 자주 관찰되는 고지혈증이 PPAR γ 2와 관련이 있을 것이라는 가설을 내리고 대퇴골두 무혈성 괴사 환자에서 고지혈증 정도를 확인하고, PPAR γ 2의 발현과의 관계를 조사하였다.

※ 통신저자 : 박 종 훈

서울특별시 성북구 안암동 5가 126-1
고려대학교 안암병원 정형외과
TEL: 82-2-920-6643
FAX: 82-2-924-2471
E-mail: pjh1964@hanmail.net

대상 및 방법

1. 대퇴골두 무혈성 괴사증 환자에서 지질대사의 이상 유무 확인

1) 연구 대상

130명의 대퇴골두 무혈성 괴사 환자와 30명의 건강한 성인을 대조군으로 하였으며 평균 나이는 32.9세였다. 특발성군은 68례로 남녀 각 44명과 24명 이었으며, 평균연령은 46.4세였고, 스테로이드군은 32례로 남녀는 각 10명과 22명으로 평균 연령은 39.7세였다. 알코올군은 30례로 남녀는 각 28명과 2명이었고, 평균 연령은 52.4세였다.

2) 연구 방법

환자군 및 대조군에서 지질대사 이상을 보기 위하여 혈액을 채취 하였으며 TBA-200FR (Toshiba, Tokyo, Japan) 을 이용하여 wet bath 방식으로 총 콜레스테롤, HDL, TG (Triglyceride) 그리고 FFA (Free Fatty Acid) 를 측정하였다.

2. 역전사 중합 효소 연쇄 반응을 이용한 PPAR γ 2 mRNA 의 측정

1) 연구 대상

6례의 대퇴골두 무혈성 괴사 환자(남녀 각 3명)와 5례의 퇴행성 관절염 환자 (남녀, 각 1명, 4명) 그리고 6례의 대퇴 경부 골절 환자(남녀 각 1명, 5명)를 대상으로 하였다. 평균 연령은 무혈성 괴사 환자는 53.3 세, 퇴행성 관절염 환자는 61.4세 그리고 대퇴경부 골절 환자는 66.7세였다.

2) 연구 방법

(1) 골수액의 채취

PPAR γ mRNA의 발현을 보기 위한 골수액은 대퇴골두 무혈성 괴사 환자 및 대퇴경부 골절 환자 그리고 골관절염 환자의 인공관절 치환술 시 대퇴 삽입물을 넣기 위하여 대퇴 골수강을 처리할 때 헤파린을 묻힌 50 ml 주사기로 대퇴 골수액을 채취하였다. 채취한 10 ml의 골수액을 0.1 ml의 헤파린이 들어있는 50 ml conical tube에 담아 바로 세포 배양실로 옮겼다. 이 때 골수강을 확공하면서 처음 나오는 골수액을 채취하여 말초 혈액의 유입을 피하도록 노력하였다. 배양에 필요한 HBSS용액, FBS 및 α -MEM은 GibcoBRL (Grand Island, NY, U.S.A) 에서 구입하였으며, DNase digestion에 사용된 RNase-free DNase, RNase inhibitor는 Promega Co (Madison, WI, U.S.A) 에서 구입하였고, First Strand cDNA는 SuperScript Preamplification Kit (GibcoBRL, Grand Island, NY, U.S.A) 를 이용하여 합성하였다.

(2) 세포 배양

수술실에서 얻은 골수액을 무균 조작 하에 Ficoll Hypaque용액 위에 1:3으로 올려 놓고, 400 g에서 30분간 원심 분리 하였다. 중간층의 단핵 세포들을 모아 HBSS 용액 15 ml과 섞어 250 g에서 10분간 원심 분리하여 Hypaque용액을 씻어 주었다. Pellet을 HBSS용액으로 재부유 시킨 후, 위와 동일한 조건에서 다시 한번 원심 분리하고, 10 % FBS가 포함된 α -MEM 배양액 15 ml로 세포를 잘 풀어준 뒤 75 cm 2배지에 분주하였다. 세포들이 균일하게 단층으로 자라 배지를 채울 때까지 3일 마다 배양액을 교환하였고, 모든 군에서 세포들은 성장이 매우 잘 되어 2주에 배지에 꽉 차게 자랐으며 이때 RNA 분리를 실시하였다.

(3) total RNA 분리

배지에서 균일하게 단층으로 자란 세포를 HBSS로 씻어 주고 TRIzol 1 ml을 넣고 scraper로 긁어 떼어 낸 후, 1.5 ml tube에 담아 세포들이 완전히 용해되도록 상온에서 5분간 방치해 두었다. 0.2 ml의 chloroform을 첨가하고 흔들어서 섞어준 후 상온에 3분간 두었다가 4°C 12,000 g에서 15분간 원심 분리하여 층을 분리하였다. 상층액만을 취하여 새 tube에 옮겨 담아 0.5 ml 의 isopropyl alcohol 을 넣고 혼합하여 -20°C에서 하루 동안 보관한 후 이를 12,000 g에서 10분간 원심 분리하여 침전물을 얻었다. 여기에 75 % ethanol을 1 ml 넣고 다시 원심 분리하여 RNA 내의 염을 제거하였다. 상온에서 ethanol을 완전히 제거하고 nuclease-free water 50 μ l에 녹였다.

(4) DNase digestion

분리한 RNA 50 μ l를 20 mM MgCl₂, 2 mM DTT, 1 unit of RNase-free DNase, 4 unit of RNase inhibitor 가 포함된 cocktail solution 50 μ l와 혼합한 후 37°C에서 15분간 반응하였다. DNase stop mixture (50 mM EDTA, 1.5 M Sodium Acetate, pH 5.0, 1 % SDS) 25 μ l를 넣어 반응을 멈추고 phenol ; chloroform; isoamyl alcohol 혼합 용액으로 추출하여 단백질을 제거한 후 ethanol 325 μ l를 넣고, 4°C에서 30분간 원심 분리하여 RNA를 침전 시켰다. 이를 70 % ethanol에서 씻고, 공기 중에서 건조 시킨 후, nuclease-free water에 녹이고 정량하였다.

(5) First Strand cDNA 합성

First Strand cDNA는 SuperScript Preamplification Kit를 이용하여 합성하였는데, 멸균한 0.5 ml tube에 5 μ g의 total RNA와 50 ng 의 random hexamer를 넣은 후, 70°C에서 10분간 가열하고, 얼음에 1분간 방치하여 denaturation 시켰다. 여기에 10 x PCR buffer, MgCl₂, dATP, dGTP, dTTP, DTT를 넣고, 25°C에서 5분간 반응하여 primer를 annealing 하였다. SuperScript II reverse transcriptase를 넣고 42°C에서 50분간 반응하여 상보적

인 DNA 의 합성을 유도하였다. 70°C에서 15분간 가열하여 반응을 멈춘 후 RNase를 넣고 37°C에서 20분간 반응하여 RNA를 제거하였다.

(6) PCR

총 20 μ l의 부피에 cDNA 1 μ l, 10X PCR buffer (+MgCl₂) 2 μ l, 1 mM dNTP mix 1 μ l, 10 pmole 각 primer 1 μ l와 Taq DNA polymerase를 0.2 μ l (1 unit) 넣은 후 thermal cycler (Perkin Elmer 9600)에서 PPAR γ 2 의 primer에 대하여 PCR 을 시행하였다. PPAR γ 2는 3 분 40초 동안 94°C에서 변성 시킨 후, 94°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 1분 30초로 30 cycle을 실시하고 마지막으로 72°C에서 5분간 반응시켰다(예비 실험에서 적절한 조건으로 30 cycle을 결정하였음). 이렇게 생성된 산물을 ethidium-bromide가 함유된 1.5% agarose gel에서 전기 영동 한 후, ethidium으로 염색된 band 의 정도를 Molecular Analyst (GS-670 Imaging Densitometer,

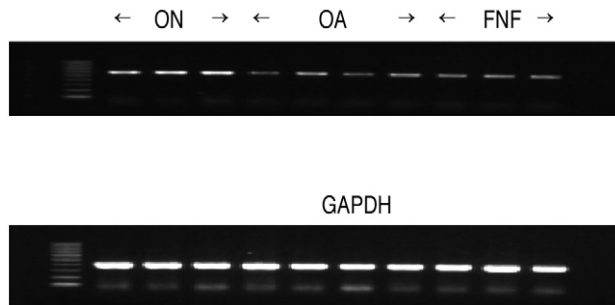


Fig. 1. Expression of PPAR γ 2 mRNA in ON, OA and FNF patients

ON: Osteonecrosis of femoral head, OA : Osteoarthritis
FNF: Femur neck fracture

Bio-Rad) 로 정량 분석하였다(Fig. 1). 이때 GAPDH (glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase) 의 정량치로 PPAR γ mRNA의 양을 보정하였다. PCR에 이용한 PPAR γ 2의 amino (sense) terminal primer 의 염기서열은 5' -CCGTGGATCTCTCCGTAATG-3' 이고, carboxyl (antisense) terminal primer 의 염기서열은 5' -ACTCTGGATTGAGCTGGTCG-3' 으로 반응물의 크기는 567 bp였다.

(7) 통계

통계처리는 SPSS 12.0 program을 사용하였고, 각 군간의 비교는 Kruskal-Wallis 검사와 Mann-Whitney 검사를 사용하여 비교하였다.

결 과

1. 대퇴골두 무혈성 괴사증 환자 및 대조군에서의 지질대사 유리 지방산 (Free fatty acid)은 스테로이드군(n=32)이 666.5 \pm 163.4 mg/dl, 알코올군(n=30)이 676.9 \pm 264.7 mg/dl로서, 468.5 \pm 194.1 mg/dl인 특발성군(n=68)과 453.5 \pm 169.3 mg/dl인 대조군(n=30)에 비하여 통계적(P <0.05)으로 유의하게 높았으며 스테로이드군과 알코올군간의 차이는 없었다. 중성지방은 스테로이드군이 183.6 \pm 58.4 mg/dl, 알코올군이 223.7 \pm 70.9 mg/dl로서, 130.9 \pm 63.1 mg/dl인 특발성군과 93.1 \pm 79.0 mg/dl인 대조군에 비하여 통계적(P <0.05)으로 유의하게 높았으며, 스테로이드군과 알코올군간의 차이는 없었다(Fig 2). 총 콜레스테롤은 대조군이 197.8 \pm 30.8 mg/dl, 특발성군은 195.5 \pm 3 mg/dl, 스테로이드군은 231.3 \pm 4 mg/dl 알코올군은 230.4 \pm 3 mg/dl로서 스테로이드군과

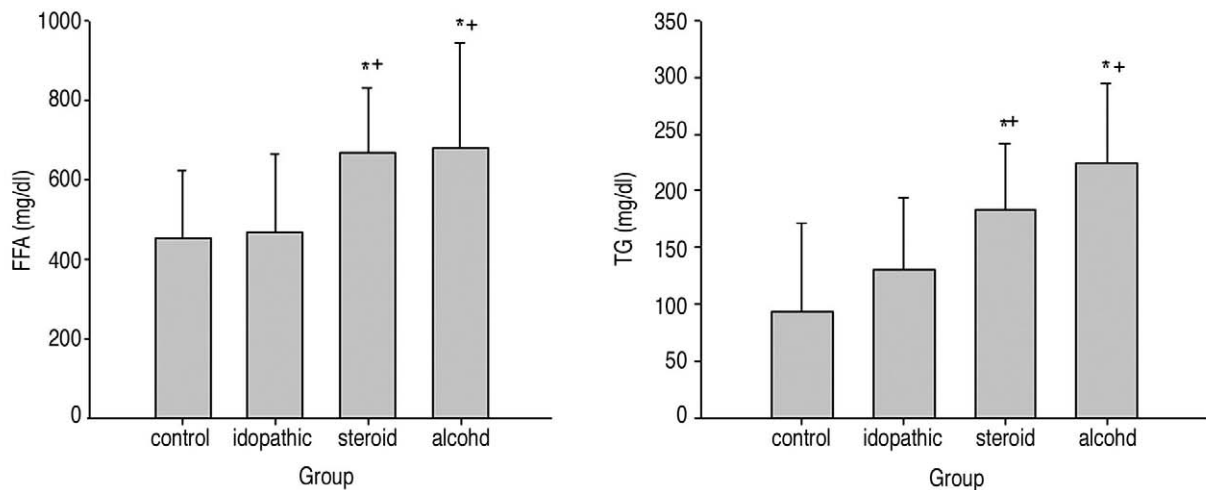


Fig. 2. Serum level of free fatty acid and triglyceride were increased in steroid and alcohol induced ON patients.

* : statistically higher than control group (P <0.05)

+ : statistically higher than idiopathic group (P <0.05)

알코올군이 대조군에 비하여 다소 높기는 하나 통계적 유의성은 없었다. HDL은 대조군이 59.5 ± 1 mg/dl, 특발성군이 46.3 ± 2 mg/dl, 스테로이드군이 50.9 ± 2 mg/dl, 알코올군 44.3 ± 1 mg/dl 이었다. LDL은 대조군이 119.8 ± 3 mg/dl, 특발성군이 122.4 ± 3 mg/dl, 스테로이드군이 143.3 ± 3 mg/dl, 알코올군이 141.4 ± 4 mg/dl로서 군간에 통계적으로 유의한 차이점을 발견할 수 없었다

2. 역 전사 중합 효소 연쇄반응을 이용한 PPAR γ 2 mRNA의 측정

전기 영동에 의해 얻은 각각의 밴드의 값은 GAPDH 값을 기준으로 하여 보정한 후 PPAR γ 2의 상대적인 농도를 구하는데 이렇게 구한 PPAR γ 2/GAPDH의 수치는 대퇴골두 무혈성 괴사 환자군 (n=6)이 2.20 ± 0.5 를 보여 1.12 ± 0.22 인 퇴행성 관절염 환자군 (n=5)과 1.35 ± 0.3 인 대퇴 경부 골절 환자군 (n=6)에 비하여 유의하게 증가 (P < 0.05)되어 있었다. 퇴행성 관절염 환자 군과 대퇴 경부 골절 환자군 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 1, Fig. 3).

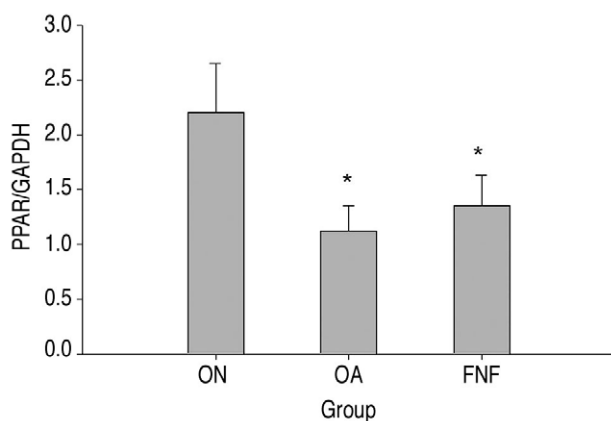


Fig. 3. PPAR γ 2/GAPDH expression in three patient groups

* : significantly lower than ON group (P < 0.05)

ON : Osteonecrosis of femoral head group

OA : Osteoarthritis group

FNF : Femur neck fracture group

고 찰

대퇴골두 무혈성 괴사증의 원인은 아직 명확하게 밝혀진 것이 없으나 과거에는 대부분 원인을 찾을 수 없는 특발성이라고 생각하였다. 그러나 많은 연구들에 의해 원인적 인자들이 밝혀짐에 따라, 원인적 인자를 전혀 찾을 수 없는 진정한 특발성 무혈성 괴사는 전체의 10~20% 정도이다. 원인으로 생각되는 것들 가운데 대퇴경부 골절과 관절의 탈구에 의한 합병증으로 인한 발병을 외상성으로 분류하며, 비외상성 대퇴골두 무혈성 괴사증은 여러 가지 원인에 의해서 발생하는 것으로 알려져 있는데, 과도한 알코올 섭취¹³⁾ 장기간의 스테로이드의 사용²⁰⁾ 겸상적혈구증, 통풍 등이 있다. 아직까지는 기전이 불명확 하다는 것이 정설이지만, 주목 받는 이론으로는 지질대사의 이상과 연계하여 장기간의 스테로이드의 사용이나 과도한 음주가 지방 색전 (fat embolism)을 야기한다는 주장과 겸상적혈구증이나 통풍과 같은 대사성 질환에 의해서 혈전의 발생이 용이하거나, 후천적인 원인에 의해 섬유소 용해 작용의 저하가 혈전을 형성하여 대퇴골 정맥의 폐쇄를 야기한다는 것들이 있다^{7,8)}. Kazuo 등¹⁰⁾은 동물 실험에서 과량의 부신피질 호르몬을 투여한 결과 대퇴골두의 골모세포에 다량의 지방이 침착 한다는 보고를 한 바 있다. Wang 등²¹⁾의 동물 실험에 의하면 사용한 기간과 용량에 비례하여 알코올은 대퇴골두의 골수에서 지질대사 생성을 촉진하며 골 형성을 억제하고, 많은 골모세포들이 지방의 침착으로 인해 사망한다는 결론을 보여주고 있다. 이렇듯 과정은 다르지만 많은 대퇴골두 무혈성 괴사에서 고지혈증과의 상관 관계는 이미 정설로 받아들여 지고 있다¹³⁾. 장기간의 스테로이드의 사용이나 알코올의 섭취가 지방대사를 활성화하면서 대퇴골두로의 혈행 장애를 야기하는 것은 분명하나^{12,14)} 스테로이드 또는 알코올을 과량 복용하거나 장기간 사용한 사람 모두에서 대퇴골두 무혈성 괴사가 발생하는 것은 아니다. 이 점은 개인간의 민감도 차이를 관찰하는 어떤 요인들이 병인에 중요한 역할을 하는 것으로 생각한다¹⁷⁾. 본 연구를 통해 알코올군과 스테로이드군에서 특발성군 및 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 수준으로 유리 지방산 및 중성지방이 증가함을 확인할 수 있었다. 단, 알코올 및 스테로이드군에서 지방간의 발생이 아

Table 1. Expression of PPAR γ 2 mRNA in ON, OA and FNF patients

Disease Group	mean PPAR γ 2/GAPDH	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ON	2.20	0.45	1.64	2.97
OA	1.12	0.24	0.84	1.41
FNF	1.35	0.28	1.06	1.72

기되고 이로 인해 유리 지방산 및 중성 지방의 증가가 발생함은 주지의 사실이나 총콜레스테롤 및 LDL, HDL의 증가가 유의하지 않은 이유에 대해서는 또 다른 연구가 필요할 것이다.

Peroxisome은 진핵세포내에 공포모양으로 존재하는 미세기관으로서 지방산의 산화에 관여한다. Peroxisome proliferator 수용체는 1990년에 Isselman 등과 Green 등⁹⁾에 의해 처음으로 보고 되었으며 Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs)로 총칭되고있다. PPAR은 핵 내에 위치하는 핵내 수용체(nuclear hormone receptor superfamily)의 일종으로 리간드에 의해 활성화되는 전사인자이며, 서로 다른 유전자에 의해서 생성되는 PPAR α , PPAR δ 그리고 PPAR γ 의 세 군이 있다. 이 가운데 PPAR γ 는 지방세포의 전구세포로부터 지방세포로의 분화 과정 시에 발현이 상당히 증가한다. 심지어 섬유세포에서 발현을 강화 시키는 경우 지방세포로의 분화과정으로 변화되는 등 지방세포의 분화 과정에 중요한 역할을 함과 동시에 지방대사 과정에서도 지대한 작용을 하는 것으로 밝혀졌다^{1,2,19)}.

PPAR γ 는 세 개의 isoform을 갖는데 교차적인 전사 프로모터(alternative promoters)와 동일 유전자에서의 다른 스플라이싱(differential splicing)에 의해서 만들어지는 PPAR γ 1 과 PPAR γ 2 그리고 최근에 발견된 PPAR γ 3가 있다⁶⁾. PPAR γ 2는 PPAR γ 1과 비교하여 단백질 말단에 28개의 부가적인 아미노산을 보유하며 지방세포에서만 발현되는 반면에 PPAR γ 1은 심장, 근육 및 간 등의 여러 조직에서 발현이 된다.

PPAR γ 의 endogenous ligand는 지방산과 프로스타글란딘 부산물들로 알려져 있다¹¹⁾. 지방세포와 골모세포는 섬유세포와 함께 marrow stromal cell이라는 동일한 기원을 갖는 데¹⁸⁾ 지방세포에서의 발현이 특징적인 PPAR γ 2는 지방세포뿐 아니라 MG63, SaOS-2와 같은 골모세포주에서도 발현이 확인되었다. 그리고 PPAR γ 2의 활성화 인자들에 의해서 자극되는 경우 골모세포 계열로부터 지방세포 계열로의 변환이 이루어 지면서 mRNA의 발현이 급격하게 증가하는 것이 보고된 바 있다³⁾. 이러한 보고들은 동일한 기원을 갖는 골모세포와 지방세포가 내인성, 외인성의 여러 인자들에 의해서 분화 과정에서 각각 다른 방향으로 발전될 수 있다는 기존의 학설들을 뒷받침 함과 동시에 그러한 인자들 가운데 하나로서 PPAR γ 2 유전자를 주목하고 있다 하겠다. 본 연구에서 정상 골수 조직이 지방세포 조직으로 치환되는 것이 중요한 병인으로 인정되는 대퇴골두 무혈성 괴사 환자의 골수에서 대조군에 비해서 PPAR γ 2 mRNA의 발현이 높음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 골수내의 다양한 기원세포들로부터 분화되는 여러 세포들 가운데 골모세포로의 분화 보다는 지방세포로의 분화를 강화시키는 방향으로의 분화를 야기하

는 인자로서 PPAR γ 2 유전자를 의심하게 한다.

결론

스테로이드 및 알코올에 의한 대퇴골 두 무혈성 괴사 증 환자에서 대조군 및 특발성 대퇴골두 무혈성 괴사증 환자에 비하여 유리지방산 및 중성지방이 통계적으로 유의한 수준으로 높음을 알 수 있었다. 이는 기존의 가설인 고지혈증과 대퇴골두 무혈성 괴사증과의 관계를 확인하여 주는 결과였다. RT-PCR을 이용하여 지질대사에 관여하는 PPAR γ 2 유전자의 mRNA의 발현이 대퇴골 두 무혈성 괴사증 환자의 골수에서 퇴행성 관절염 및 대퇴 경부 골절 환자에서 보다 통계적으로 유의한 수준으로 높음을 확인할 수 있었으며, 이는 고지혈증이 원인인 대퇴골두 무혈성 괴사의 병인에 PPAR γ 2 유전자가 관여 함을 추론할 수 있게 하였다.

REFERENCES

- 1) Auwerx J, Martin G, Guerre-Millo M, Staels B.: *Transcription, adipocyte differentiation, and obesity*. *J Mol Med*, 74:347-352, 1996.
- 2) Braissant O, Fufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W.: *Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat*. *Endocrinol*, 137:354-366, 1996.
- 3) Diascro DD Jr, Vogel RL, Johnson TE, Witherup KM, Pitzenberger SM, Rutledge SJ, et al.: *High fatty acid content in rabbit serum is responsible for the differentiation of osteoblasts into adipocyte-like cells*. *J Bone Miner Res*, 13:96-106, 1998.
- 4) Dobiasova M, Frohlich J.: *Understanding the mechanism of LCAT reaction may help to explain the high predictive value of LDL/HDL cholesterol ratio*. *Physiol Res*, 47:387-397, 1998.
- 5) Elbrecht A, Chen Y, Cullinan CA, Hayes N, Leibowitz M, Moller DE, et al.: *Molecular cloning, expression and characterization of human peroxisome proliferator activated receptors gamma 1 and gamma 2*. *Biochem Biophys Res Commun*, 224:431-437, 1996.
- 6) Fajas L, Debril MB, Auwerx J. *PPAR gamma: an essential role in metabolic control*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 11:64-69, 2001.
- 7) Glueck CJ, Crawford A, Roy D, Freiberg R, Glueck H, Stroop D.: *Association of antithrombotic factor deficiencies and hypofibrinolysis with Legg-Perthes disease*. *J Bone Joint Surg Am*, 78(1):3-13, 1996.
- 8) Glueck CJ, Freiberg R, Glueck HI, Henderson C, Welch M, Tracy T, et al.: *Hypofibrinolysis: a common, major cause of osteonecrosis*. *Am J Hematol*, 45(2):156-166, 1994.

- 9) **Isseman I, Green S.:** Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 347:645-650, 1990.
- 10) **Kawai K, Tamaki A, Hirohata K.:** Steroid-induced accumulation of lipid in the osteocytes of the rabbit femoral head. A histochemical and electron microscopic study. *J Bone Joint Surg Am*, 67:755-763, 1985.
- 11) **Kliwer SA, Lenhard JM, Willson TM, Patel I, Morris DC, Lehmann JM.:** A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor gamma and promotes adipocyte differentiation. *Cell*, 83:813-819, 1995.
- 12) **Mankin HJ.:** Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). *N Engl J Med*, 326:1473-1479, 1992.
- 13) **Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A.:** Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop*, 234:115-123, 1988.
- 14) **Mont MA, Hungerford DS.:** Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg*, 77A:459-474, 1995.
- 15) **Moskal JT, Topping RE, Franklin LL. Hypercholesterolemia:** an association with osteonecrosis of the femoral head. *Am J Orthop*, 26:609-612, 1997.
- 16) **Nuttall ME, Patton AJ, Olivera DL, Nadeau DP, Gowen M.:** Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype: implications for osteopenic disorders. *J Bone Miner Res*, 13:371-382, 1998.
- 17) **Ono K, Tohjima T, Komazawa T.:** risk factors of avascular necrosis of the femoral head in patients with SLE under high-dose corticosteroid therapy. *Clin Orthop*, 277:89-97, 1992.
- 18) **Thomas T, Gori F, Khosla S, Jensen MD, Burguera B, Riggs BL.:** Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinol*, 140:1630-1638, 1999.
- 19) **Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM.:** Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*, 79:1147-1156, 1994.
- 20) **Wang G, Rawles G, Hubbard S, Stamp W.:** Steroid-induced femoral head pressure changes and their response to lipid-clearing agents. *Clin Orthop*, 174:298-302, 1983.
- 21) **Wang Y, Li Y, Mao K, Li J, Cui Q, Wang GJ.:** Alcohol-induced adipogenesis in bone and marrow: a possible mechanism for osteonecrosis. *Clin Orthop*, 410:213-224, 2003.

ABSTRACT

Significance of Lipid Profiles and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Expression in Osteonecrosis of Femoral Head

**Jae-Suk Chang, M.D.*, Jong-Hoon Park, M.D., Sang-Won Park, M.D.,
Seung-Bum Han, M.D., Bong-Soo Kyung, M.D.**

Department of Orthopedic Surgery, Asan Medical Center, Ulsan University,
Department of Orthopedic Surgery, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea*

Purpose: To analyze the possible involvement of a change in the lipid metabolism and PPAR γ 2 level in the occurrence of ON of the femoral head.

Material and Methods: The lipid profiles (Cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL and Free fatty acid) of 130 patients with ON of the femoral head and 30 control persons were evaluated. The level of PPAR γ 2 mRNA expression was examined by performing, RT-PCR using the bone marrow stromal cells obtained from 17 patients during THA.

Results: Among the 130 patients, the free fatty acid level in the alcohol (676.9 ± 264.7 mg/dl) and steroid (666.0 ± 163.4 mg/dl) induced ON groups was higher than the control (453.5 ± 169.3 mg/dl) and idiopathic (468.5 ± 194.1 mg/dl) groups. The triglyceride level in the alcohol (223.7 ± 70.9 mg/dl) and steroid (183.6 ± 58.4 mg/dl) induced groups was higher than the control (93.1 ± 79.0 mg/dl) and idiopathic groups (130.9 ± 63.1 mg/dl). The level of PPAR γ 2 mRNA expression in the ON patients was significantly higher than the other groups ($P < 0.05$).

Conclusion: These results are significant and suggest hyperlipidemia as a risk factor for ON of the femoral head. Higher expression of PPAR γ 2 mRNA was found in ON. However, functional studies of PPAR γ 2 mRNA in vivo would be needed to reveal the pathogenesis of ON of the femoral head.

Key Words: Osteonecrosis of the femoral head, Lipid metabolism, PPAR γ