

정상 한국인과 단순골조송증이 의심되는 환자에서 방사면역학적 방법을 이용한 Osteocalcin 치의 비교 연구

경희대학교 의과대학 정형외과학교실

유명철 · 정덕환 · 차승균 · 금세진

= Abstract =

A Comparative Study of Osteocalcin Measured by Radioimmunoassay in Normal Young Korean Adults and Suspicious Disuse-Osteoporotic Patients

Myung Chul Yoo, M.D., Duke Whan Chung, M.D., Seung Gyun Cha, M.D. and Se Jin Kum, M.D.

Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Osteocalcin is the major noncollagenous protein of the bone matrix and has been described as a sensitive marker reflecting bone turn-over rate. It's believed to play a role in the process of mineralization. The level of osteocalcin is considered to be influenced by other calcium regulating hormones. To obtain the normal value of osteocalcin in Korean young adults and to clarify the usefulness of osteocalcin as a marker reflecting bone turn-over in suspicious disuse-osteoporotic patient, author measured the level of osteocalcin by radioimmunoassay.

The results are;

1. The mean circulation osteocalcin level in healthy young adults was $4.43 \pm 1.09 \text{ ng/ml}$.
2. In normal Korean male, the serum osteocalcin level was $4.38 \pm 1.16 \text{ ng/ml}$ and in normal Korean female, $4.48 \pm 1.02 \text{ ng/ml}$. There was no significant difference in both sexes, but the serum osteocalcin level in female reveals some tendency of elevation when compared with male.
3. In suspicious disuse-osteoporotic patients, the mean serum osteocalcin level was $4.21 \pm 1.30 \text{ ng/ml}$ and this result shows no difference from that of normal young adults.
4. The level of osteocalcin measured in the normal young Korean adults shows no difference from the prerecorded INC level measured in the Western people.
5. In conclusion, the normal value of osteocalcin in normal young Korean adults is similar that of western people, and the measurement of osteocalcin in suspicious disuse-osteoporotic patients could not be used as a sensitive marker reflecting bone turn-over.

Key Words: Osteocalcin, Disuse-osteoporosis.

서 론

정형외과 영역에서는 많은 질환이 골의 대사(metabolism)와 연관이 있으므로 이러한 골대사의 변화를 측정하는 것이 질병의 정확한 진단이나, 예후 등의 판정과 치료의 적합성 여부를 아는 데 매우 중요한 요건이 된다^{6, 7, 20, 21}.

* 본 논문은 제 265 차 대한정형외과학회 월례집담회에서 구연되었음.

이러한 골대사의 turnover를 측정하는 데는 혈중 alkaline phosphatase 나, 뇨중의 hydroxyproline 등이 사용되었으나^{7, 15, 24}, 이는 민감도가 낮아 특별한 도움을 주지 못하는 형편이었다. 최근 들어서는 이러한 골대사의 turnover를 나타내는 좋은 지표로서 bone γ -carboxyglutamic acid protein(이하 BGP) 일명 osteocalcin이 주목되어지고 있다. Hauska¹³ 등에 의하면 osteocalcin은 무기질화된 조직(mineralized tissue)에서 비교 원성단백질(noncollagenous protein)가장 많은 단백질이며, 3개의 γ -carboxy-

glutamic acid residue를 가지고 칼슘과 결합하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 그 생성은 골아세포내의 microsome에서 일어나는 것으로, 골 특유의 단백질로 되어 있다¹⁶⁾. 역할을 무기질화 과정(mineralization process)에 관여하며, 비타민 K의존성단백질이고, 칼슘조절ホルモン인 calcitonin, parathyroid hormone, 비타민D의 대사등에 의해 영향을 받는다고 한다^{14, 15, 19)}.

이러한 osteocalcin의 혈중농도는 골의 turnover와 매우 밀접한 관계를 가지므로 이의 혈중농도 변화는 골대사의 양상을 비교적 정확히 반영한다고 할 수 있다.

본 저자는 이러한 점에 착안하여, 현재까지 문헌에서 거의 보고가 되지 않은 정상 한국인의 osteocalcin 혈중농도를 방사면역학적 방법(RIA)을 이용하여 남녀 각각 20명 도합 40명에서 측정하여 정상치를 제시하고, 전신적인 질환으로써가 아닌 단순히 장기간 석고고정으로 방사선 사진상 단순골조종증이 의심되는 33명에서 같은 방법으로 osteocalcin치를 측정한 후, 이 osteocalcin치를 정상인의 측정치와 비교, 관찰하고 이러한 단순골조종증의 환자에서 osteocalcin이 골대사의 변화관찰에 지표가 될 수 있는지의 가능성 여부를 조사하였다. 아울러 정상 한국인에서 osteocalcin치를 서양인과 비교하였으며, Immuno Nuclear Corporation(INC)에 의한 osteocalcin 측정의 간편성도 조사하였다.

연구대상 및 실험방법

1. 연구대상

본원서 근무하는 건강한 20~35세의 남녀 각각 20명, 도합 40명을 정상군으로 측정하고, 본원 정형외과에 입원하여 치료중인 환자중에서 골대사의 이상이나 부갑상선 기능항진증등의 내분비이상

없이 장기간 석고붕대 고정이나 침상생활로 인한 대퇴골, 골반골, 경골등의 단순골조종증(disuse-osteoporosis)이 의심되는 환자중, 수부, 척추골 및 전측부의 방사선소견상 전신성 골조종증이 아닌 33명을 질병군으로 조사하였다. 질병군은 남녀 구별을 하지 않았으며, 연령분포는 19~79세이었다.

2. 실험방법

방사면역학적 측정방법은 Immuno Nuclear Corporation(이하 INC)의 방법과 시약을 이용하였다. 혈액의 추출 및 보관은 정상인과 골조종증이 의심되는 환자의 정맥혈 10cc를 아침 8시 공복상태에서 추출하여 상온인 15~25°C에서 응고되도록 방치 후, 15분간 760×g*로 원심분리하여 hemolysis-free sera를 얻어낸다. 이때 사용되는 g*는 다음 공식에 의거 하였다¹⁰⁾.

$$g = (1,118 \times 10^{-8})(\text{radius in cm})(\text{rpm})^2$$

$$760 = (1,118 \times 10^{-8})(\text{radius in cm})(\text{rpm})^2$$

$$\text{RPM} = \sqrt{\frac{760}{(1,118 \times 10^{-8})(\text{radius in cm})}}$$

이때 첨가물이나 preservative 등은 필요치 않으며, 사용되는 실험용 유리튜브는 무균적 상태에서 조작한다. 이렇게 모아진 혈청(serum)은 영하 15°C에서 냉동, 보관시키게 된다. 이때 혈청은 재냉동되거나 녹여져서는 안된다.

준비물로는 첫째 O standard, bovine osteocalcin standard(25ng/ml), rabbit anti-bovine osteocalcin (1st antibody), ¹²⁵I bovine osteocalcin과 goat anti-rabbit precipitating complex(2nd antibody)등을 시제로 사용하였으며, 이는 모두 INC의 Kit내에 내장되어 있다. 실험용기로는 일회용 유리튜브 12×75mm짜리를 사용하였으며, 이는 용기의 정확성을 기하여 정확한 결과를 얻기 위해서였다. 그외에도

Table 1. 본 실험에 사용된 시약의 구성성분

| | |
|---|----------------|
| 1. O standard | Each vial |
| 1% BSA-borate buffer, lyophilized | contains 20ml |
| 2. Standards | Each vial |
| 25ng/ml bovine osteocalcin lyophilized | contains 1.0ml |
| 3. Osteocalcin antibody | Each vial |
| Rabbit anti-bovine osteocalcin, lyophilized | contains 14ml |
| 4. Iodine-labeled | Each vial |
| Bovine osteocalcin | contains 14ml |
| Bovine osteocalcin labeled with ¹²⁵ I, lyophilized | |
| 5. Precipitating complex | Each vial |
| Goat anti-rabbit precipitating complex(GAR-PPT), consisting of pre-precipitated normal rabbit serum, goat anti-rabbit serum, and polyethylene glycol, lyophilized | contains 35ml |

Table 2. 실험방법 및 순서

| | Total count | NSB | Standard(ng/ml) | | | | | | | Unknowns | | | |
|-------------------------------------|-------------|-----|--|------|------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|------|
| | | | 0 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 12.5 | 25 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Tube number | 1~2 | 3~4 | 5~6 | 7~8 | 9~10 | 11~12 | 13~14 | 15~16 | 17~18 | 19~20 | 21~22 | 23~24 | Etc. |
| O standard | | 50 | 50 | | | | | | | | | | |
| Standards | | | | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | | | | |
| Unknown samples | | | | | | | | | | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Rabbit anti-bovine osteocalcin | | | ← 200μl → | | | | | | | | | | |
| ¹²⁵ I bovine osteocalcin | | | ← 200μl → | | | | | | | | | | |
| | | | 와류후, 2~8°C에서 16~24시간 잠복 | | | | | | | | | | |
| | | | ← 500μl → | | | | | | | | | | |
| | | | 와류후, 2~8°C에서 2시간 잠복 | | | | | | | | | | |
| | | | 760×g으로 20분간 원심분리후, 부유물 버린후 각각 Tube내의 침전물을 고정하여 측정 | | | | | | | | | | |

¹²⁵I를 측정할 수 있는 Gamma counter(Bechman 5500 USA) votex, pipette device를 사용하였다.

사용된 시약은 아래의(Table 1)과 같으며, 이때 시약은 영하 15°C이하에서 보관하며, 환원후에도 영하 15°C이하에서 보관하게 된다. 시약의 준비는 첫째 O standard는 20ml의 증류수로 환원하여 완전 환원시까지 15~20분간을 방치한다. ml당 25ng이 들어있는 bovine osteocalcin standard는 1.0ml의 증류수로 환원한 후 완전환원시까지 10~15분간 방치한다. 다음 표준곡선을 얻기 위해 단계적 희석을 시행케되는데 처음에는 250μl의 25ng/ml standard을 250μl의 O standard에 혼합하여 12.5mg/ml을 만들고, 여기에 다시 250μl의 O standard을 혼합하여 6.25ng/ml을, 다시 혼합하는 방법으로 3.12ng/ml, 1.56ng/ml, 0.78ng/ml의 희석치를 만든다. Rabbit antibovine osteocalcin은 14ml 증류수로 환원한 후 다시 15~20분간 방치하여 완전 환원시킨다. Goat anti-rabbit precipitating complex는 35ml의 증류수로 환원하여 부유물(suspension)이 균등해질 때까지 섞은 후 상온에서 30분간 방치한다.

분석의 순서는 동결되거나 환원되어진 시약, 시제등을 상온 20~25°C로 녹인후 Table 2에서 나타난 바와 같이 12×75ml의 유리튜브 용기에 나열한다. 각각의 튜브에 시약을 순서대로 total count tube (200μl의 ¹²⁵I bovine osteocalcin), nonspecific binding(NSB)로써 50μl의 O standard, 250μl의 bovine osteocalcin standard와 200μl의 rabbit anti-bovine osteocalcin으로 된 bovine osteocalcin standard

및, 50μl의 혈청과 200μl의 rabbit anti-bovine osteocalcin으로 된 미지의 sample을 넣는다. 그후 각각의 튜브에 200μl의 ¹²⁵I bovine osteocalcin을 첨가후 거품이 생기지 않도록 와류시킨 후 2~8°C에서 16~24시간 잠복케 한다. 다시 모든 튜브에 500μl의 goat anti-rabbit precipitating complex을 넣은 후 다시 와류시켜 2~8°C에서 2시간 잠복케 한다.

이것을 20~25°C에서 760×g*로 20분간 원심분리 후 부유물을 제거하고 튜브를 뒤집어 흡수종이나 blot에 놓는다. 이것을 Gamma counter로 각각의 침전물을 측정하며, 이때 total count tube는 60초이상 측정한다.

결과의 계산은 아래 공식에 의거하여 standard, control, sample의 평균 CPM을 계산하고 모든 계산서 NSB의 평균 CPM을 뺀후 O standard의 고정원 CPM으로 나누워 %을 정한다¹⁰⁾.

$$B/Bo(\%) = \frac{\text{CPM of standard or unknown sample} - \text{CPM of NSB}}{\text{CPM of O standard} - \text{CPM of NSB}} \times 100$$

3 cycle log-logit나 semi-log도표를 이용하여 평행측상으로는 농도를 수직축으로는 bovine osteocalcin standard에 대한 B/Bo%를 구성한다. 각각의 점에 가장 잘맞는 선을 그린 후, 이 표준곡선을 기선으로 삼아 각각의 sample에서 나타난 B/Bo를 이 표준곡선에 대입하여 미지 sample의 osteocalcin

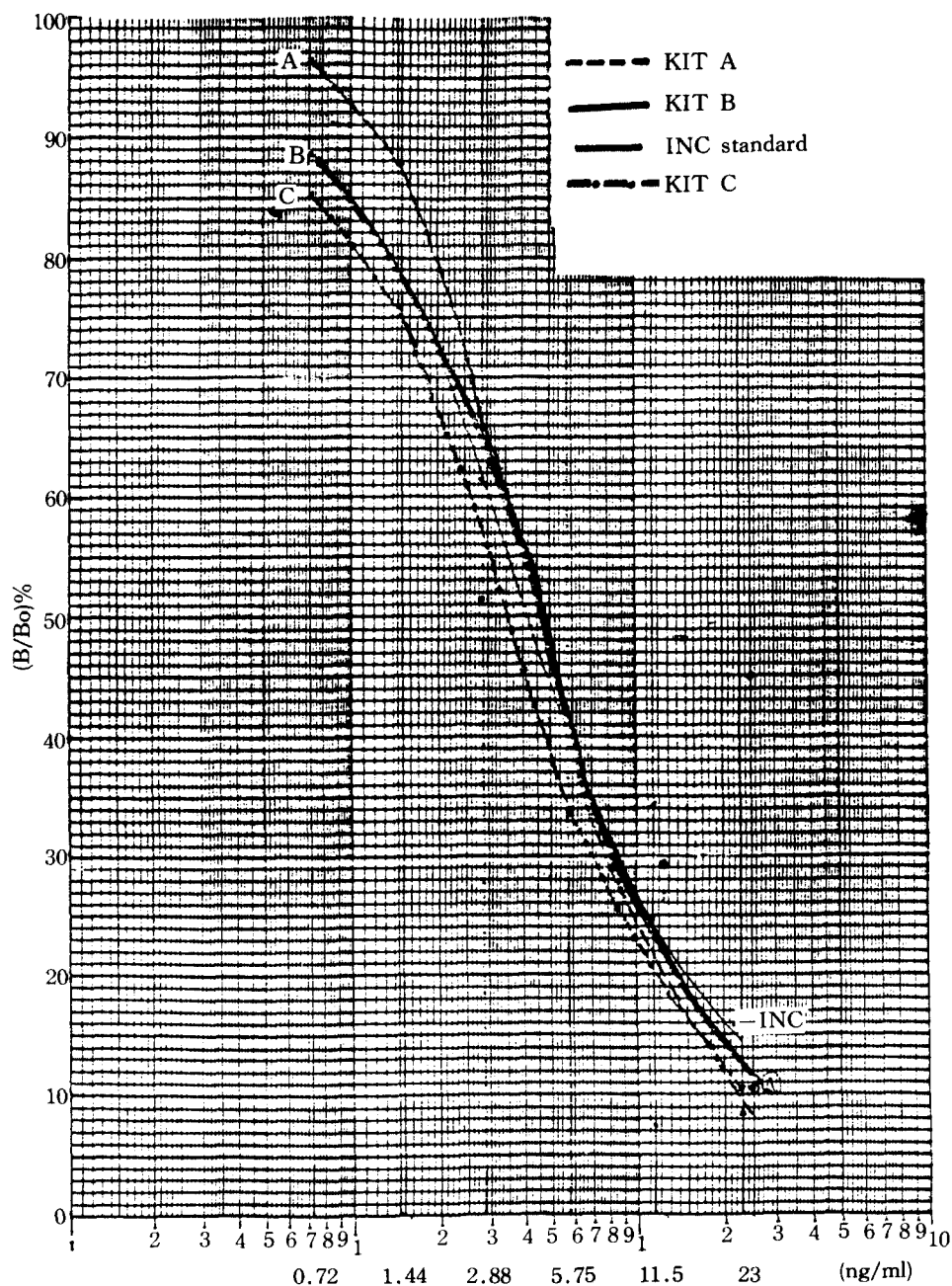


Fig. 1. 각 KIT 별 osteocalcin 치의 표준곡선(B/B₀)% : 튜브내 침전물의 CPM%.

농도를 찾아낸다¹⁰⁾.

결 과

상기 기술한 방법으로 표준곡선을 얻었는 바 Fig. 1에서 보이는 점은 실선은 INC의 표준곡선이고 A, B, C는 각각의 Kit에서 얻은 실험결과의 표준곡선

이다. 이 표준곡선에서 상기 기술한 방법으로 농도를 측정한 결과 정상 한국인에서의 osteocalcin의 평균치는 $4.43 \pm 1.09 \text{ ng/ml}$ 이었으며(Fig. 2), 남자 정상군에서는 $4.38 \pm 1.16 \text{ ng/ml}$ 이었고, 여자 정상군에서는 $4.48 \pm 1.02 \text{ ng/ml}$ 로써(Fig. 3) 여자에게 약간 높게 나타났다.

한편 단순골조영증이 의심되는 대조군의 연령분

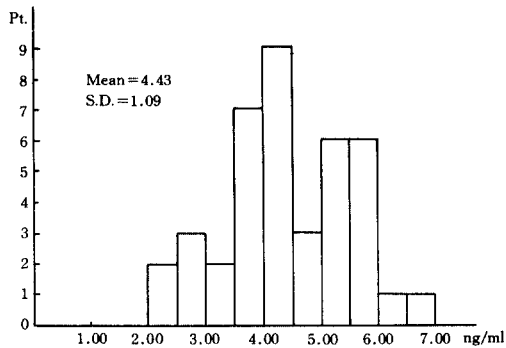


Fig. 2. Osteocalcin level in serum of Normal Koreans.

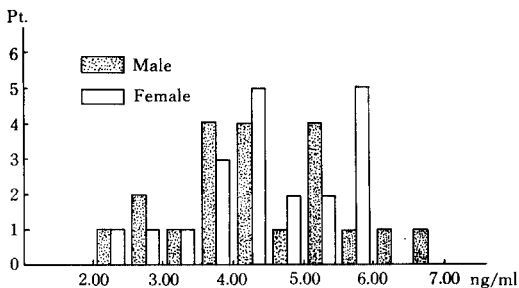


Fig. 3. Osteocalcin level of Normal Males and Females.

또는 19세부터 79세로 다양하였으며, 평균 osteocalcin치는 $4.21 \pm 1.30 \text{ ng/ml}$ 로 정상인의 측정치보다 약간 낮게 나타났다(Fig. 4).

정상군의 남녀간의 차이가 통계학상으로 유의한 차이인가를 보기 위하여 두개의 소표본상의 평균치 사이에 차이를 판정키 위한 T-검정을 시행한 결과 $df=38$, $t=0.29$ 로써 유의한 차이가 없었다($df=n_1+n_2-2$).

정상군과 골조송증이 의심되는 환자사이의 T-검정결과는 $df=71$, $t=0.77$ 로써 역시 유의한 차이가 없었다.

고 찰

골내의 비교원성단백질(noncollagenous protein) 중에 가장 풍부한 단백질종의 하나인²⁵⁾ osteocalcin은 비타민K의 의존성 단백질이며, 총단백질의 약 3% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다^{11, 16, 18}.

이러한 osteocalcin은 γ -carboxyglutamic acid (Gla)를 함유하는 단백질로써 bone γ -carboxyglutamic acid protein 즉 BGP, 일명 osteocalcin으로 지칭되어 왔다^{11, 18}. 역사적으로는 Hauska¹³⁾ 등에 의해서는 닭뼈에서 Price²⁰⁾ 등에 의해서는 소와 황새

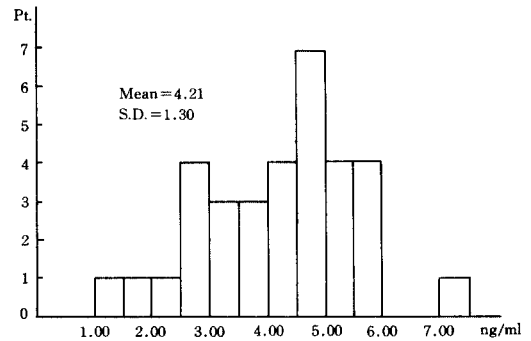


Fig. 4. Osteocalcin level of suggestive Osteoporotic Patients.

치에서 Poser, Peterson¹⁸⁾ 등에서는 인간에서 각기 측정되어졌다.

Peterson¹⁸⁾에 의하면 osteocalcin은 서로 다른 동물의 종사이에 교차반응(cross activity)이 있다고 하였고, 이들의 교차반응을 이용한 면역학적 검사방법 등이 개발되어져 왔다. 그에 의하면 소의 항체는 인간, 말, 고양이의 osteocalcin과 교차반응을 하는 반면, rat는 개와 mouse와만 교차반응이 있다고 하였다.

이러한 osteocalcin의 생성은 Lian¹⁵⁾ 등에 의해 밝혀진 바로는, 태생기의 닭뼈에서 실험을 통하여 microsome 내에 비타민K의존성 carboxylating system이 있으며, 이는 peptide에서 glutamic acid를 γ -carboxyglutamic acid로 변화시키는 것을 증명하여, 이 microsome이 생성장소라 하였다. 또 Nishimoto¹⁶⁾는 쥐의 골육아종(osteogenic sarcoma)에서 비타민K 의존성 단백질이 생성된다고 증명하였다. 그에 의하면 4개의 쥐의 골육아종에서 유리된 clonal cell에서 osteocalcin을 분비할 수 있는가에 대해 실험을 하여, 골육아종 세포내에서 2개의 immunoreactive component가 있어 이것이 세포내 전구물질이라고 하였다. 이중 하나는 쥐뼈의 osteocalcin과 분자량 및 전기영동학적 양상이 같고, 다른 하나는 보다 큰 분자량을 가지며, 골의 osteocalcin보다는 절반정도의 전기영동학적 양상을 가지는 성분으로 이 후자의 것이 세포내 전구물질이라고 주장하였다. 이와 같이 osteocalcin은 골내의 생성물이지만 어떤 다른 조직이나, 혈장내에서 이송되어진 물질이 아니라고 하였다.

Osteocalcin의 특징은 Price²⁰⁾ 등에 의하면 3개의 γ -carboxyglutamic acid를 함유하는 단백질로써 분자량이 6,800이고, pH 3.7에서 isoelectric point가 있으며, hydroxyapatite와 강하게 부착하나, amorphous calcium phosphate와는 부착치 않고, 칼슘

이나 인이 있는 과포화 용액에서는 hydroxyapatite에 대해 강한 억제역할이 있다고 주장하였다. 이는 비타민K 의존성 단백질이며, 칼슘을 조절하는 홀몬의 영향을 받는다고 하였다. Price¹¹⁾는 인간 혈청내의 농도가 4.5ng/ml 정도이며, 소에서는 태아시 200ng/ml에서 성숙한 소가 되었을 때, 26ng/ml 정도를 보인다고 하였으며, 이는 저자들의 수치와 유사하였다.

Grundberg¹²⁾는 이러한 osteocalcin의 측정방법상의 차이로써, 그 자신의 것과, 본 저자가 사용한 INC 및 Seragen의 Kit을 비교 연구하여 INC가 약 40%, Seragen이 약 10%정도 낮게 측정되었으나, $\gamma > 0.9$ 이상으로 비교적 유사하다고 하였다. 또 Grundberg¹⁰⁾는 osteocalcin이 circadian rhythm이 있다고 하였다. 20~30대의 정상 남자 6명, 여자 4명을, 30~60분 간격으로 채취하여 24시간 동안의 변화를 측정한 결과, 아침때 저하하고, 오후나 초저녁때 상승하였다가 밤중에 최고도에 달하였으며, 이온화된 칼슘이나 총 칼슘, 이온화된 인과는 무관하다고 하였다.

Price¹³⁾는 이 osteocalcin이 골흡수시에 생기는 골기질내 단백질의 유리보다는 새로운 세포합성에 의해 나타난다고 주장하였다. 이러한 현상은 정상 쥐에 wafarin을 주입시, 3시간 이내 혈중 osteocalcin의 화학적 양상이 γ -carboxyglutamic acid를 가진 형태에서 다른 형태로 변화하며, 8시간 후에는 유리된 osteocalcin이 모두 γ -carboxylated 되므로 비정상적인 osteocalcin은 골기질의 흡수로 인한 것이 아니라고 하였다. 한편 골내합성이라는 증거는 장기간 wafarin 치료를 받은 쥐에 비타민K를 투여하면 15시간 이내에 혈중의 γ -carboxylated osteocalcin이 정상으로 돌아오는 것에 의해 증명된다고 하였다. 체외 배출은 주로 신장에 의한다고 하였으며, 이것의 증거로는 ¹²⁵I osteocalcin을 주사후 신장내 ¹²⁵I가 침착되며, 신장절제술을 시행받았을 시는 4시간내 혈중농도가 8배정도 상승된다고 하였다. 일부는 골내에서도 배출이 되나 신장의 7% 정도라고 하였다. 그는 osteocalcin내의 γ -carboxyglutamic acid의 역할을 hydroxyapatite에 강력히 부착하여 골내 침착케 한다고 하였다.

나이에 따른 변화로는 Delmas¹⁴⁾ 등이 주장한 바와 같이 나이에 따른 골흡수의 증가 때문인지, 골형성의 저하인지, 혹은 이들의 복합적 작용인지가 불분명하다. Delmas는 30~94세까지의 174명의 여자를 측정하여, 나이에 따라 30대에서는 4.4 ± 0.4 ng/ml에서, 90대의 8.9 ± 0.9 ng/ml로 증가한다고 보고하였다. 이는 본 저자의 관찰결과인 4.48 ± 1.02 ng/ml

와 유사하였다(20~30대의 비교상).

이러한 나이에 따른 변화는, 골의 무기물농도의 저하에 비례하며, 골흡수의 지표가 되는 노중 hydroxyproline의 증가 및 골형성의 지표가 되는 alkaline phosphatase의 저하와도 비례한다고 하였다. 골흡수나 생성시의 골소주의 양적변화는 osteocalcin의 농도에 변화를 주게되며, Nordin¹⁵⁾은 폐경기후의 골조송증환자에서 골소주의 양적저하의 원인이 골형성 면적의 저하보다는 골흡수의 증가에 의한다고 하였다.

한편 Delmas¹⁶⁾는 62명의 폐경기후 골조송증에서 9.7%만이 증가한다고 하였다. 또한 Brown¹⁷⁾ 등은 26명의 폐경기후 골조송증에서 7.0 ± 3.3 ng/ml로 정상범위내였으나, 유골의 용적, 표면, 골생성속도와는 관계가 있어 유골용적이 너무 많거나, 적은 9례에서는 비정상적으로 나타나 변화가 있다고 하였다.

Epstein¹⁸⁾도 나이와 성별에 따른 차이가 있다고 하였으며, 30~90세 사이의 116명의 건강한 남녀를 측정하여 나이가 증가할수록 증가하고, 여자에서 남자보다 높다고 보고했다.

본 저자의 결과에서도 여자에서 얻은 측정치가 남자의 측정치보다 약간 높게 나타나 비슷한 양상을 보였으나, 통계학적으로는 유의한 차이가 없었다.

Delmas¹⁹⁾는 신기능에 따른 osteocalcin치의 변화를 측정하였다. 62명의 신부전증 환자에서 측정된 결과 체표면적 총 1.73m^2 시에 사구체 여과율이 20 ml/min 이하이거나, 150 ml/min 이상시에만 변화가 생긴다고 하였으며, 경도 혹은 중등도의 신부전시에 나타나는 osteocalcin의 증가는 신배설의 저하에 따른 결과가 아니라 골대사의 증가때문이라고 주장하였다.

임상적으로는 골질환의 치료중 변화에 대해 여러 저자들이 보고를 하고 있다. Defetos²⁰⁾ 등은 58명의 골질환환자에서 혈중농도의 변화를 측정하였다. 이중 paget 질환이 8례, 일차성 부갑상선 기능항진증이 25례, renal osteodystrophy가 25례, 암의 골전이 환자가 5례로써 모든 질환군에서 혈중농도가 증가하나 Paget 환자에서 salmon calcitonin 투여후에는 감소한다고 하였다. 일차성 부갑상선 기능항진증 환자에 있어서는 여자 환자에서 남자보다 높았으며, 부갑상선 절제술후에는 감소되었다. Renal osteodystrophy 시는 투석후에도 즉각적인 변화는 없었다.

Price²¹⁾는 109명의 정상인과 112명의 각종 질환자에서의 혈중농도를 측정하여 정상군에서는 평균 6.78 ± 2.0 ng/ml이며, 남자는 7.89 ± 0.32 ng/ml로 여자 4.85 ± 0.35 보다 높다고 보고하였다. 질환군에

서는 Paget, 골전이, 일차성 부갑상선기능항진증과 renal osteodystrophy 시에는 증가한다고 하였다. 또 혈중의 alkaline phosphatase 와는 비례치 않는다고 하였다.

Slovik²³⁾ 는 250명의 재활치료를 받는 환자에서의 혈중농도를 측정하며, 고관절부 골절후 관혈적 정복술과 내고정술을 받은 환자나, 부갑상선기능항진증환자, Paget 환자, 골전이후 치료치 않은 환자에서는 증가되나, 고관절부 골절후 인공관절 대체술이나 심한 퇴행성 골관절염환자, 골전이후 화학적요법이나, 방사선요법으로 최근 치료한 환자, 골대사와 관계없는 내과적 질환자의 경우에는 정상으로 나타난다고 하였다.

Grundberg⁹⁾ 등은 28례의 단순골조종증환자와 Pa-자에서 혈중농도를 측정하여 비교한 바로는, 골조종증에서는 정상과 유사한 차이가 없었고, Paget 환자에서만 약 3 배정도 증가한다고 하였다. 이상의 여러 저자들의 보고에서와 같이 osteocalcin 은 골대사와 관련있는 질환에서 특이성을 민감한 지표가 된다.

고정(immobilization)에 의한 단순골조종증의 병인론(pathogenesis)에 대해서는 아직 확실히 밝혀지지 않았으나, 세가지의 경우가 의심되고 있다. 첫째 osteoblastic activity는 정상이나, osteoclastic activity가 증가한 경우, 둘째 osteoclastic activity는 정상이나, osteoblastic activity가 감소한 경우, 셋째 둘다 모두 증가하지만 osteoclastic activity가 더 증가하여 골조종증이 나타나는 경우이다. 단순골조종증이 의심되는 환자에서 골아세포에서 생성되는 osteocalcin 을 측정함으로써 보다 상기의 병인론을 정확히 이해하고 정상인과의 차이를 조사하려 하였으나 Brown¹⁾, Grundberg⁹⁾ 의 결과에서와 같이 단순골조종증이 의심되는 환자에서는 정상치와 유의한 차이가 없어 골조종증중 단순골조종증시에는 osteocalcin 이 골대사의 민감한 지표가 되지 못할 것으로 사료된다. 한편 정상 한국인의 혈중농도는 서양인의 결과와 유사하였으며, 여자에서 약간 높게 나타났다.

이번 연구에서는 제외되었으나, 전신적인 골조종증이 있는 환자와 골대사에 영향을 주는 질환등에서의 osteocalcin 치의 연구는 본 대학에서 연구중인 바 추후 지상에 게재할 예정이다.

결 론

정상한국인 남녀, 각각 20명씩 도합 40명과, 장시간 고정으로 인한 단순골조종증(disuse osteopo-

rosis)이 의심되는 환자에서 INC 의 방사면역학적 방법을 이용하여 osteocalcin 을 측정하여, 정상치를 구하고, 또한 정상군과 질병대조군을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 한국인의 평균치는 $4.43 \pm 1.09 \text{ ng/ml}$ 이었다.
2. 정상 남자의 평균치는 $4.38 \pm 1.16 \text{ ng/ml}$ 이고, 여자는 $4.48 \pm 1.02 \text{ ng/ml}$ 로써 여자에게서 약간 높게 나타났으나, 통계학적 유의한 차이는 없었다.
3. 장기간 고정에 의한 단순골조종증이 의심되는 환자에서의 평균치는 $4.21 \pm 1.30 \text{ ng/ml}$ 로써 한국인 정상군의 평균치와 유의한 차이가 없었다.
4. 한국인 정상군의 평균치는 서양인을 대상으로 측정한 INC의 평균치 $4.20 \pm 1.20 \text{ ng/ml}$ 와 유의한 차이가 없었다.
5. 결론적으로 한국인의 osteocalcin 정상치는 서양인의 정상치와 차이가 없고, osteocalcin 치를 단순골조종증이 의심되는 환자의 골대사지표로 사용하는 것은 부적합하다고 사료된다.

REFERENCES

- 1) Brown, J.P., Malaval, L., Chapuy, M.C., Delmas, P.D., Edouard, C. and Meunier, P.J.: Serum bone GLA-protein: A specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet*, 1:1091, 1984.
- 2) Calandruccio, R.A.: *Arthroplasty in Campbell's Operative Orthopedics*. 6th ed., edited by Edmonson, A.S., Crenshaw, A.H. pp. 2306-2307, C.V. Mosby, Saint. Louis. 1980.
- 3) Deftos, L.J., Parthemore, J.G. and Price, P.A.: The measurement by radioimmunoassay in plasma of bone GLA-protein during treatment of bone diseases. *Calcified Tissue International*, 33:307, 1981.
- 4) Mosby, P.D., Stenner, D., Wahner, H.W. and Mann, K.G.: Increase in serum bone and γ -carboxyglutamic acid protein with aging in women. *Journal of Clinical Investigation*, 71: 1316, 1983.
- 5) Delmas, P.D., Wilson, D.M. and Mann, K.G.: Effect of renal function on plasma levels of bone GLA-protein *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 57:1028, 1983.
- 6) Delmas, P.D., Wahner, H.W. and Mann, K.G.: Assessment of bone turn over in postme-

- nopausal osteoporosis by measurement of serum bone GLA-protein. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102:470, 1983.
- 7) Dutie, R.B. and Benfley, G.: *The musculoskeletal system in Mercer's Orthopedic Surgery*. 8th ed. pp. 36-61, Edward Arnold, London. 1983.
 - 8) Epstein, S., Poster, J., McClintock, R., Johnston, C.C., Bryce, G. and Hui, S.: *Differences in serum bone GLA-protein with age and sex*. *Lancet*. 2:307, 1984.
 - 9) Grundberg, C.M., Lian, J.B. and Gallop, P.M., Steinberg, J.J.: *Urinary γ -carboxyglutamic acid and Paget's disease*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 57:1221, 1983.
 - 10) Grundberg, C.M., Wilson, P.S., Gallop, P.M. and Parfitt, A.M.: *The determination of osteocalcin in human serum: A comparison of two kits with a cell characterized research assay*. *Clinical Chemistry*, In Press, 1985.
 - 11) Grundberg, C.M., Markowitz, M.E., Mizurichi, M. and Rosen, J.F.: *Osteocalcin in human serum: A circadian rhythm*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 60:736, 1985.
 - 12) Guyton, A.C., Taylor, A.E. and Brace, R.A.: *A synthesis of interstitial fluid regulation and lymph formation*. *Federation Proceedings*, 35: 1881, 1976.
 - 13) Hauschka, P.V., Lian, J.B. and Gallop, P.M.: *Direct identification of the calcium binding amino acid, γ -carboxyglutamic acid, in mineralized tissue*. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 72, 1975.
 - 14) Heaney, R.P.: *Bone physiology and calcium homeostasis in Text of Medicine*. 14th ed. edited by Beeson, P.B., McBernott, W. pp. 1823-1837, W.B. Saunders Co., 1975.
 - 15) Lian, J.B. and Friedman, P.A.: *The vitamin K-dependent synthesis of γ -carboxy glutamic acid by bone microsomes*. *The Journal of Biological Chemistry*, 253:6623, 1978.
 - 16) Nishimoto, S.K. and Price, P.A.: *Secretion of the vitamin K-dependent protein of bone by rat osteosarcoma cells*. *The Journal of Biological Chemistry*, 255:6579, 1980.
 - 17) Nordin, B.E.C., Aaron, J., Speed, R. and Currey, R.G.: *Bone formation and resorption as the determination of trabecular bone volume in postmenopausal osteoporosis*. *Lancet*, 8:277, 1981.
 - 18) Patterson-Allen, P., Brautigam, C.E., Grindeland, R.E., Asling, C.W. and Callahan, P.X.: *A specific radioimmunoassay for osteocalcin with advantageous species cross-reactivity*. *Analytical Biochemistry*, 120:1, 1982.
 - 19) Price, P.A., Williamson, M.K. and Lothringer, J.W.: *Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone*. *The Journal of Biological Chemistry*, 256:12760, 1981.
 - 20) Price, P.A., Ostaka, A.S., Poster, J.W., Kristaponis, J. and Raman, N.: *Characterization of a γ -carboxyglutamic acidcontaining protein from bone*. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 73:1447, 1976.
 - 21) Price, P.A., Parthemore, J.G. and Deftos, L.J.: *New biochemical marker for bone metabolism*. *Journal of Clinical Investigation*, 66: 878, 1980.
 - 22) Price, P.A. and Nishimoto, S.K.: *Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma*. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 77: 2234, 1980.
 - 23) Slovik, D.M., Grundberg, C.M., Neer, R.M. and Lian, J.B.: *Clinical evaluation of bone turnover by serum osteocalcin measurement in a hospital setting*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 59:228, 1984.
 - 24) Stephen, M.K. and Jonh, T.P.: *Disorders of bone and bone mineral metabolism in Harrison's Principles of Internal Medicine*. 9th ed. edited by Isselbacher, K.J., Kurt, J., Martin, J.D., Wilson, J.D., Braunwald, E., Pettesdorf, R.G., Adams, R.D., pp. 1824-1832, McGraw-Hill, Kogakusha, Tokyo, 1980.
 - 25) Termine, J.D., Belcourt, A.B., Conn, K.M. and Kleinman, H.K.: *Mineral and collagen binding proteins in fetal calf bone*. *Journal of Biological Chemistry*, 256:10403, 1981.
 - 26) Turek, S.L.: *Physiology and mineralization of bone in Orthopedics*. 4th ed. pp. 136-190, J.B. Lippincott, Philadelphia, 1984.