

조혈모세포 이식 후 혈청 RANKL와 OPG의 농도 변화가 골대사 및 골밀도에 미치는 영향

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실, 조혈모세포이식센터⁴, 미즈메디 병원¹,
한림의과대학 내과학교실², 성균관 의과대학 내과학교실³

태현정 · 백기현 · 오은숙¹ · 오기원² · 이원영³ · 김혜수
한제호 · 차봉연 · 이광우 · 손호영 · 강성구 · 김춘추⁴ · 강무일

The Changes in the Serum RANKL and OPG levels after Bone Marrow Transplantation: Association with Bone Mineral Metabolism

Hyun-Jung Tae, Ki-Hyun Baek, Eun-Sook Oh¹, Ki-Won Oh², Won-Young Lee³,
Hye-Soo Kim, Je-Ho Han, Bong-Yun Cha, Kwang-Woo Lee,
Ho-Young Son, Sung-Koo Kang, Choon-Choo Kim⁴, Moo-Il Kang

*Department of Internal Medicine and Hemopoietic Stem Cell Transplantation Center⁴,
The Catholic University of Korea, College of Medicine, Department of Internal Medicine,
The Hallym University of Korea, College of Medicine²,
and Sungkyunkwon University School of Medicine³, Mizmedi Hospital¹, Seoul, Korea*

ABSTRACT

Background: The loss of bone mass is usually detected after bone marrow transplantation (BMT), particularly during the early post-transplant period. We recently reported that enhanced bone resorption following BMT was related to both the steroid dose and increase in IL-6. It was also suggested damage of the marrow microenvironment due to myeloablation and changes in bone growth factors contribute to post-BMT bone loss. Recently, the interactions of OPG and RANKL have been reported to be crucial in osteoclastogenesis and therefore in bone homeostasis. There are few data on the changes in RANKL/OPG status during the post-BMT period. This study investigated the changes in the levels of RANKL and OPG during the post-BMT period, and also assessed whether the changes in these cytokine levels actually influenced bone turnover and post-BMT bone loss.

Methods: We prospectively investigated 110 patients undergoing allogenic BMT and analyzed 36 (32.4±1.3 years, 17 men and 19 women) where DEXA was performed before and 1 year after the BMT. The serum bone turnover marker levels were measured before and 1, 2, 3, 4 and 12 wks,

접수일자: 2004년 7월 23일

통과일자: 2005년 1월 26일

책임저자: 강무일, 가톨릭대학교 의과대학 성모병원 내과

6 Ms, and 1 yr after the BMT. The serum sRANKL and OPG levels were measured in all patients before and 1, 3 and 12 wks after the BMT.

Results: The mean bone losses in the lumbar spine and total proximal femur, which were calculated as the percent change from the baseline to 1 yr, were 5.2 ($P<0.01$) and 11.6% ($P<0.01$), respectively. The mean serum ICTP, a bone resorption marker, increased progressively until 3 and 6 months after the BMT, but decreased gradually thereafter, reaching the basal values after 1 year. The serum osteocalcin levels decreased progressively until 3 wks after the BMT, then increased transiently at 3 and 6 Ms, but returned to the basal level by 1 yr. The serum sRANKL and OPG levels had increased significantly by weeks 1 and 3 compared with the baseline ($P<0.01$), but decreased at 3 months. The sRANKL/OPG ratio increased progressively until 3 weeks, but then decreased to the basal values. During the observation period, the percent changes from the baseline in the serum RANKL levels and RANKL/OPG ratio showed positive correlations with the percent changes from the baseline serum ICTP levels. Patients with higher RANKL levels and RANKL/OPG ratio during the early post-BMT period lost more bone mass at the lumbar spine.

Conclusion: In conclusion, dynamic changes in the sRANKL and OPG levels were observed during the immediate post-BMT period, which were related to a decrease in bone formation and loss of L-spine BMD during the year following the BMT. Taken together, these results suggest that increased sRANKL levels and sRANKL/OPG ratios could be involved in a negative balance in bone metabolism following BMT (J Kor Soc Endocrinol 20:40~51, 2005).

Key Words: OPG, sRANKL, Bone marrow transplantation, Osteoporosis, Bone mineral density

서 론

골재형성 과정은 파골세포의 활성화로부터 시작되며, 조혈모세포로부터 파골세포로의 분화 및 활성화는 골수기질세포에서 분비되는 여러 가지 국소성 인자들에 의해 조절되어진다. 최근 종양괴사인자 수용체(tumor necrosis factor receptor)의 일종인 osteoprotegerin (OPG)과 이의 ligand인 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)이 규명되었고 이들이 파골세포 분화 과정을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다[1]. 골수기질세포에서 분비되는 OPG는 파골세포의 증식 및 활성화를 억제하는 사이토카인으로 RANKL/OPG 농도비가 골량을 적절하게 유지하고 골재형성의 균형을 조절하는 역할을 하며[2~5] 이 균형이 깨질 경우 골다공증 및 골경화증 등과 같은 대사성 골질환이

초래될 수 있다[6].

다양한 혈액질환의 확립된 치료법으로 인정되고 있는 조혈모세포이식술은 고형장기 이식과는 달리 환자의 연령이 젊고 진단 후 비교적 짧은 기간 내에 이식을 시행한다는 특성이 있다. 그럼에도 불구하고 이식 초기에 골형성의 급격한 감소와 골흡수의 증가로 인해 단기간에 골소실이 발생하는 특성이 있으며 따라서 골대사를 연구하는데 적합한 모델의 하나이다. 이식 후 골소실의 중요한 원인으로는 기저질환의 영향, 성선기능저하증, 면역억제제와 함께 전신방사선조사나 고용량의 항암치료로 인한 조골세포 및 조골전구세포의 손상이 관련되어 있는 것으로 알려졌다[7~10]. 이외에도 이식 후 초기에 나타나는 인터루킨-6의 증가와 FGF-2 및 IGF-1의 감소가 이식 후 발생하는 골량소실과 관련이 있음이 확인되었다[11,12]. 그러나 이식 후 골수

기질세포에서 분비되는 RANKL와 OPG의 농도 변화와 이것이 이식 후 골소실의 병인적 역할을 담당하는지에 대한 연구는 없는 실정이다.

본 연구에서는 조혈모세포이식술을 시행한 환자를 대상으로 조혈모세포이식 전 및 이식 후의 말초혈액으로부터 RANKL와 OPG 및 RANKL/OPG 농도비를 측정하여 같은 시기의 혈청에서 측정된 골 교체 표지자와의 상관관계를 관찰하여 RANKL와 OPG가 조혈모세포이식술 후 골대사에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 또한 이 환자들을 대상으로 이식 전 및 이식 1년 후에 골밀도를 각각 측정하여 이식 후 혈청 RANKL와 OPG의 농도변화가 이식 후 1년 동안의 골소실에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

다양한 혈액질환으로 동종 조혈모세포이식을 시행 받은 110명의 환자를 전향적으로 연구하였다. 사망, 재발, 전원 및 검사를 거부한 환자를 제외하고 이식 전과 이식 후 1년째의 골밀도를 측정할 수 있었던 36명(남자 17명, 여자 19명)을 대상으로 하였다. 대상군의 평균 연령은 32.4 ± 1.3 세이었으며 평균 체중과 신장은 각각 63.4 ± 10.1 kg과 164.8 ± 9.8 cm이었으며 연구에 참여한 여자는 모두 폐경전이었다. 기저 혈액 질환은 각각 백혈병 33명, 중증재생불량성빈혈 2명, 골수이형성 증후군 1명이었다.

이식 전처치로 전신방사선조사를 시행한 환자는 20명(56%)이었으며 분할방사선조사방법으로 3~4일간 총 1000~1320 cGy를 조사하였고, 29명(80.6%)은 전처치로서 이식전 고용량의 cyclophosphamide (60 mg/kg/day)를 2일에서 4일간 투여받았다. 모든 환자들에서 거부반응 및 이식편대숙주질환을 예방하기 위하여 골수이식 전날 5 mg/kg의 cyclosporine A를 주사하였고 골수이식 당일부터 이식 후 20일까지 3 mg/kg로 주사하다가 이후부터는 경구로 바꾸어 6개월에서 1년간 투여하였다. 또한 이식편대숙주반응을 예방하기 위하여 methotrexate를 이식 후 4일간(제1일, 3일, 6일 및 11일)에 $10 \text{ mg/m}^2/\text{일}$ 의 용량으로 투여하였다. 대부

분의 환자들은 혈소판 감소로 인한 출혈을 예방하기 위하여 비정기적으로 혈소판을 수혈 받았으며 이때 부작용을 예방하기 위하여 부신피질호르몬을 투여하였고 이식편대숙주질환, BOOP (bronchiolitis obliterans organizing pneumonia), 거대세포바이러스 감염증, 주폐포자충폐렴 등이 동반된 경우에는 고용량의 부신피질호르몬을 투여 받았다. 모든 환자에서 이식 후 생착까지의 백혈구 감소 기간동안 G-CSF $5 \mu\text{g/kg/일}$ 을 투여하였고 말초혈액의 절대 중성구 수치가 $1 \times 10^9/\text{L}$ 이상으로 증가하면 투여를 중단하였다. 이식 후 3주에 생착 여부를 확인하기 위해 실시한 골수천자 및 생검에서 대상 환자 모두 생착이 성공하였고 거부반응이 없었던 증례는 없었다.

2. 방법

36명의 환자에서 조혈모세포이식 전 및 이식 후 1주, 2주, 3주, 4주, 3개월, 6개월 및 1년에 각각 말초혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 영하 20°C 이하에 보관한다. 보관된 혈청으로부터 RANKL, OPG, osteocalcin, ICTP 및 creatinine 농도를 측정하였다.

골형성 표지자인 osteocalcin(N-tact[®] osteo SP, Incstar, USA)과 골흡수 표지자인 ICTP (Telopeptide ICTP, Orion Diagnostica, Finland)는 기간별로 채혈한 후 영하 20°C 이하에서 저장 보관하였던 혈청에서 방사면역 방법을 이용하여 측정하였으며, interassay 및 intraassay 변이계수(coefficients of variation)는 각각 7.7% 및 5.4%, 10.7% 및 3.6%이었다.

혈청 OPG는 ELISA 방법으로 측정하였다. 인체 OPG에 대한 단클론항체를 96-well plate에 결합시키고 혈청을 분주시켜 배양하고 이 위에 OPG와 결합하는 peroxidase가 표지된 단클론항체와 tetramethylbenzidine (TMB) 기질을 분주한다. 450 nm에서 흡수되는 파장을 microplate reader (Nippon InterMed, Tokyo, Japan)에서 정량 측정하였으며 sensitivity는 30 pg/mL 이고 interassay 및 intraassay 변이계수(coefficients of variation)는 각각 9.0% 및 6.9%이었다.

혈청 total sRANKL의 측정도 ELISA 방법으로 시행하였는데 인체 RANKL에 대한 단클론항체가 결합되어 있는 96-well plate에 혈청과 OPG를 함께 분주

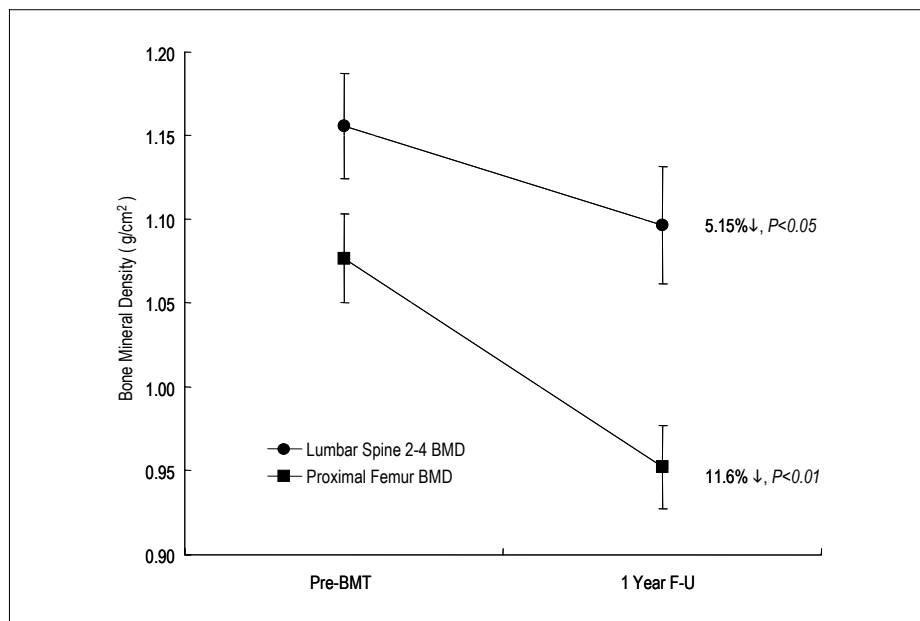


Fig. 1. The changes in BMD before and after BMT. The mean bone loss in the lumbar spine and proximal femur calculated as the percent change from the baseline to the level at 12 months after BMT was 5.2% ($P<0.05$) and 11.6% ($P<0.01$) respectively.

시켜 배양하여 유리 sRANKL에 OPG가 결합된 상태로 plate의 항체에 결합되도록 한 다음 이 위에 OPG와 결합하는 peroxidase가 표지된 단클론항체와 tetramethylbenzidine (TMB) 기질을 분주한 후 microplate reader에서 정량 측정하였다. sensitivity는 1.5 pg/mL 이고 interassay 및 intraassay 변이계수 (coefficients of variation)는 각각 10% 및 3.0%이었다.

골밀도는 이식 전 및 이식 1년 후에 각각 이중 에너지 X선 흡수 계측기인 Lunar Expert (Lunar, Madison, USA)를 이용하여 2번째에서 4번째까지의 요추부와 근위 대퇴골 (total proximal femur)에서 측정하였다. 골밀도 측정기의 정밀도 오차는 요추 및 대퇴골 부위에서 각각 1%이었다.

3. 통계학적 분석

모든 자료는 평균±표준오차로 표시하였고, 통계학적 분석은 paired t-test 방법을 사용하였으며 p value가 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의하다고 판정하였다. RANKL과 OPG의 변화와 골교체 표지자 및

골밀도 변화 사이의 상관 관계를 확인하기 위해서 이 변량 상관 분석을 하였다. 모든 통계 분석은 SPSS for window를 이용하여 시행하였다.

결 과

1. 골밀도의 변화

대상환자 36명 중 모두에서 조혈모세포이식 전과 1년 후의 골밀도를 측정하였다. 평균 요추부 골밀도는 이식 전 $1.156 \pm 0.031 \text{ g/cm}^2$ 에서 이식 1년 후 $1.097 \pm 0.035 \text{ g/cm}^2$ 으로 5.2% 감소하였으며 ($P<0.05$), 평균 근위 대퇴골 골밀도는 $1.077 \pm 0.027 \text{ g/cm}^2$ 에서 $0.952 \pm 0.025 \text{ g/cm}^2$ 으로 11.6% 감소하였다 ($P<0.01$) (Fig. 1).

2. 골교체 표지자의 변화

골흡수 표지자인 ICTP는 이식 후 6개월까지 증가하다가 이식 후 1년에는 이식 전 수준으로 회복하였다. 골형성 표지자인 osteocalcin은 이식 후 3주까지 감소하다가 이후 6개월까지 유의하게 증가하였으며

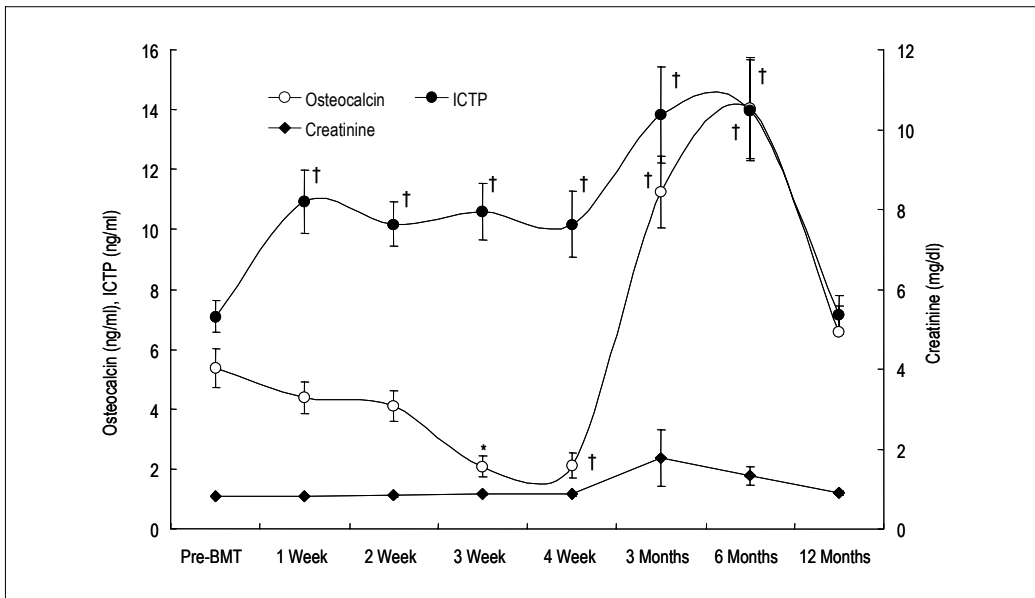


Fig. 2. The changes of serum bone turnover markers, before and after BMT. Data are given as mean value \pm SEM. Immediately after BMT, ICTP was progressively increased, reaching its peak at 6 months. Thereafter it declined to the baseline at 12 months. Osteocalcin was progressively decreased, reaching its nadir at 3 weeks. Thereafter, it recovered back to the baseline level by 12 months. Serum creatinine levels were within the normal range throughout the entire observation period.

*, $P<0.05$; †, $P<0.01$ against the basal value.

Table 1. The Correlations Between the Percentage Changes from the Baseline to 1 year in the BMD at the Lumbar Spine and Proximal Femur and the Percentage Changes in OPG

	sRANKL(%)			OPG(%)			sRANKL/OPG(%)		
	1wk	3wk	3Ms	1wk	3wk	3Ms	1wk	3wk	3Ms
L2-4 (%)	-0.36*	-0.21	-0.17	-0.12	-0.08	-0.08	-0.37*	-0.25	-0.08
Femur (%)	-0.15	0.06	-0.03	0.01	0.10	-0.05	-0.14	-0.01	-0.02

L2-4 (%): the percentage changes from the baseline to 1 yr in the BMD at the lumbar spine (lumbar vertebrae L2-L4)
 femur (%): the percentage changes from the baseline to 1 yr in the BMD at the proximal femur.

sRANKL (%): the percentage changes from baseline in the sRANKL

OPG (%): the percentage changes from baseline in the OPG

sRANKL/OPG (%): the percentage changes from baseline in the sRANKL/OPG * , $P<0.05$

이식 후 1년에는 거의 이식 전 수준으로 회복되었다 (Fig. 2).

3. 말초혈액의 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG의 변화

혈청 RANKL와 OPG는 이식 후 점점 증가하여 이

식 후 3주에 최고치를 형성하였고 이후 감소하였다. 이식 후 3개월에 혈청 RANKL는 거의 이식 전 수준으로 회복되었으며 혈청 OPG는 여전히 이식 전보다 높은 수준을 유지하였다. 혈청 RANKL/OPG는 이식 후 3주에 최고치를 형성하였다 (Fig. 3).

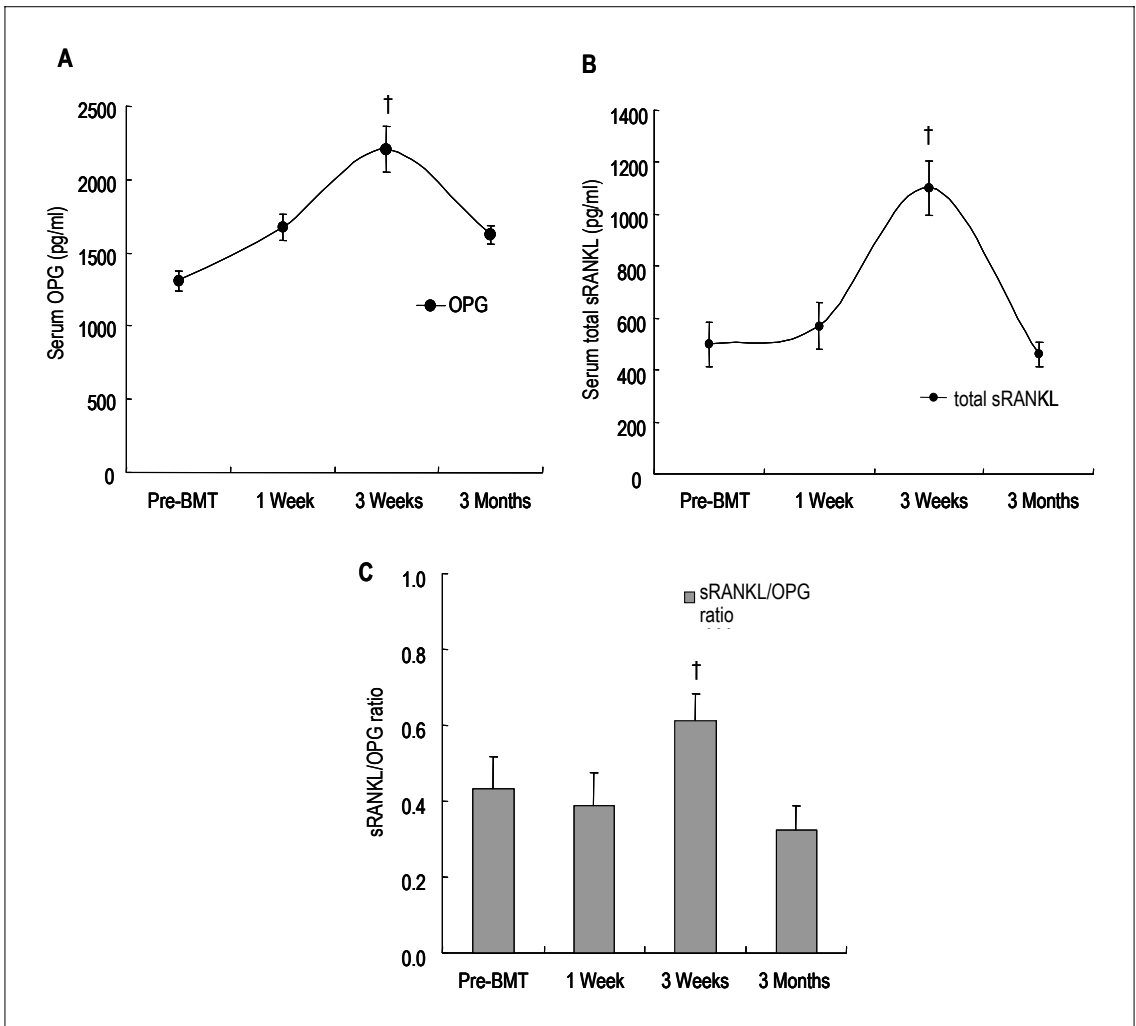


Fig. 3. The changes in the OPG, sRANKL levels and sRANKL/OPG ratio in the peripheral blood before and after BMT. The data are reported as a mean value \pm SEM. A&B, After BMT, the serum OPG and sRANKL levels was progressively increased, reaching a peak at 3 week, which declined thereafter. C, The serum sRANKL/OPG ratio was highest at post-BMT 3 weeks. [†], $p < 0.01$ against the basal value.

4. 말초혈액 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG와 골밀도와의 관계

이식 전 및 이식 후 1주, 3주, 3개월의 각 시기별로 혈청 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG의 기저치에 대한 변화율과 이식 전후 요추부 및 근위 대퇴골 골밀도 변화율간의 상관관계를 관찰하였다. 이식 후 1주에 혈청 RANKL 및 RANKL/OPG와 요추부 골밀도 변화

율 간에 통계학적으로 유의한 음의 상관관계가 관찰되었다 (Table 1).

5. 말초혈액 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG와 골교체 표지자와의 관계

이식 전 및 이식 후 1주, 3주, 3개월의 각 시기별로 혈청 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG와 혈청 osteocalcin 및 ICTP 사이의 상관관계를 관찰한 결과, 이식

Table 2. The Correlations Between Serum OPG and Bone Turnover Markers Following BMT. Serum Levels of OPG and sRANKL were Determined Before BMT, and at 1 and 3 wk and 3 Months after BMT. Correlation Coefficients were Calculated from Matched time point. n=36. OC, Serum Osteocalcin; ICTP, Serum Collagen I Carboxy-Terminal Telopeptide

	OC				ICTP			
	pre	1wk	3wk	3Ms	pre	1wk	3wk	3Ms
OPG	-0.05	-0.07	0.11	0.13	0.20	0.23	0.24	0.19
sRANKL	0.10	0.06	0.14	-0.23	-0.02	0.03	0.05	0.01
sRANKL/OPG	0.07	0.01	0.01	-0.19	-0.07	0.06	0.27	-0.05

Table 3. The Correlations Between the Percentage Changes in sRANKL and sRANKL/OPG and the Percentage Changes in ICTP Following BMT. Serum Levels of OPG and sRANKL were Determined Before BMT, and at 1 and 3 wk and 3 months after BMT. Correlation Coefficients were Calculated from Matched time Point

	ICTP (%)		
	1wk	3wk	3Ms
sRANKL (%)	0.06	0.24	0.37*
sRANKL/OPG (%)	-0.11	0.34*	0.20

ICTP(%): the percentage changes from baseline in the serum collagen I carboxy-terminal telopeptide.

sRANKL (%): the percentage changes from baseline in the sRANKL

sRANKL/OPG (%): the percentage changes from baseline in the sRANKL/OPG

*, $P < 0.05$ Against the Basal Value.

후 혈청 OPG와 ICTP사이의 양의 상관관계가 관찰되나 통계학적으로 유의하지는 않았다 (Table 2). 그러나 각 시기별로 혈청 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG의 기저치에 대한 변화율과 혈청 osteocalcin 및 ICTP의 기저치에 대한 변화율사이의 상관관계를 관찰한 결과 ICTP의 변화율에 대하여 이식 후 3주에는 RANKL/OPG의 변화율과, 이식 후 3개월에는 RANKL의 변화율과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 관찰할 수 있었다 (Table 3).

고 찰

치명적인 만성 질환의 치료 방법으로 장기이식이 시행됨에 따라 이식후 수명은 연장되었으나 이로 인한 합병증이 문제가 되고 있는 실정이다. 다양한 조혈모세포질환의 확립된 치료로 이용되고 있는 조혈모세포

이식술 후에도 성선기능저하증, 갑상선기능이상, 뇌하수체기능이상, 당뇨병 등과 같은 내분비학적 합병증이 발생할 수 있으며, 골다공증 또한 이식 후 흔히 발생할 수 있는 합병증이다. 최근 저자 등은 조혈모세포이식 후 처음 1년동안에 급격한 골소실이 유발되어 5~10%의 척추 및 대퇴부 골밀도 감소가 발생한다고 보고한 바 있으며[12] Canastaneda 등도 골수 이식 후 평균 33.6개월이 경과된 환자들의 33%에서 골감소증과 18%에서 골다공증을 관찰할 수 있었다고 보고하였다 [13].

조혈모세포이식 후 발생하는 골소실에는 다양한 원인이요소가 관여하는데 환자의 기저질환 자체의 영향, 성선기능저하증, 이식편대숙주질환의 예방 및 치료를 위해 사용하는 스테로이드나 cyclosporine 등의 면역억제제의 사용이 중요한 원인으로 알려져 있으며[7,8]. 이외에도 저자들은 이식 후 전신방사선조사 및 고용량

의 화학요법에 의해 골수기질세포 및 조골세포가 손상을 받아 골형성이 감소하고[9,10] 이식 후 인터루킨-6 및 종양괴사인자- α 와 같은 사이토카인의 증가와 FGF-2와 IGF-I과 같은 골성장인자의 감소가 이식 후 골밀도 감소에도 영향을 미치는 것을 관찰하였다[11,12]. 신장이나 심장과 같은 고형장이식 후에도 조혈모세포이식 후와 마찬가지로 이식 초기에 급격한 골밀도 감소가 나타나며 이식 후 사용되는 스테로이드와 cyclosporin 등과 같은 면역억제제가 중요한 원인으로 알려져 있다[14,15].

폐경 후 골다공증 및 전신적 질환과 관련된 골다공증 발생에 있어서 골수 기질 세포에서 분비되는 여러 가지 사이토카인이 조혈모세포로부터 파골세포로의 분화 및 활성화를 조절하여 병인적 역할을 담당한다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 최근에는 TNF receptor superfamily에 속하는 glycoprotein인 osteoprotegerin (OPG)와 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)이 파골세포의 분화 과정을 조절하는 것으로 밝혀졌다[16,17]. RANKL는 세포막에 위치할 뿐만 아니라 유리형(soluble form of RANKL, sRANKL)으로도 존재하며 파골세포 전구체에 존재하는 RANK에 결합하여 파골세포의 형성 및 활성을 증가시킨다. RANKL를 투여하면 생쥐에서 과골흡혈증 및 골다공증이 유발됨이 보고되고 있다[1,18,19]. 이러한 RANKL의 골 흡수 활성은 OPG에 의해 조절되는데 이는 RANKL와 결합하여 RANKL와 RANK간의 상호작용을 방해하는 역할을 하므로 파골세포의 형성이 억제된다[20,21]. 기존의 동물 실험 결과를 살펴보면 OPG knock-out mice에서 극심한 골다공증이 초기에 발현되었고 척추 골절을 포함한 다발성 골절로 인해 치명율이 증가하였고[22,23] 4주 연령의 쥐에 일주일 동안 매일 재조합 OPG를 피하주사한 결과 해면골의 골량이 3배 증가하는 것으로 관찰되었다[24]. RANKL와 OPG에 대한 인체에서의 연구는 부족한 상태이며, 최근 정상 성인에서 혈중 OPG 농도를 측정하여 골밀도 및 골대사와의 상관성에 대해 보고된 바 있으나[25,26] 이식 직후 골소실이 뚜렷이 발생하는 조혈모세포이식 후의 RANKL와 OPG 변화 및 그 임상적 의의에 대해서는 알려진 바가 없다. 이에 저자들은 본 연구를 통하여 조혈

모세포이식 후 RANKL와 OPG의 변화가 이식후 골밀도 변화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

기존의 보고에 의하면 심장이식 후 3개월과 6개월에 측정한 혈청 OPG 수치는 이식 전에 비하여 각각 41%, 47%의 감소를 보이며 이식 후 혈청 OPG의 감소는 대퇴경부의 골밀도 감소와 관련성이 있음이 관찰되었다[27]. 만성신부전이 있는 경우 혈청 OPG의 배설이 제대로 이루어지지 않기 때문에 정상인에 비해 혈청 OPG가 상승되어있는데 신장이식을 시행할 경우 크레아티닌 제거율이 상승함에 따라 혈청 OPG의 신장을 통한 배설 증가로 현저히 감소하지만 크레아티닌 제거율이 안정화된 이후에도 지속적으로 혈청 OPG 수치가 감소한다고 보고된 바 있다[28]. 이러한 고형장이식 후 혈청 OPG의 감소는 모두 이식 후 사용되었던 스테로이드와 cyclosporin 등의 면역억제제가 원인이라고 설명하고 있으며 이것은 스테로이드와 cyclosporin이 조골세포에서의 OPG 생성을 감소시킨다는 실험 연구 결과와도 일치되는 것이다[29~31]. 그러나 본 연구에서는 기존의 고형장이식에서와는 달리 조혈모세포이식 후에 혈청 OPG가 점점 증가하여 이식 후 3주에 최고치를 형성하고 이후 감소하는 추세를 보이나 이식 후 3개월에도 여전히 이식 전보다 높은 수준을 유지하는 것을 관찰할 수 있었다. 조혈모세포이식 후 혈청 OPG가 상승하는 것은 그 정확한 기전을 명확히 설명하기는 어렵다. 본 연구에서 고형장이식 후 혈청 OPG 감소의 원인으로 알려진 스테로이드의 효과를 살펴보면 먼저 스테로이드의 경우 본 연구에 참여한 환자들이 복용한 스테로이드의 양은 하루 평균 11.1mg으로 고형장이식에서보다 훨씬 적은 양이었으며 복용한 스테로이드의 양과 혈청 OPG 수치 사이의 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다. 이식 후 혈청 OPG 감소에 영향을 줄 수 있는 또 다른 인자인 cyclosporin의 경우 조혈모세포이식 후 일률적으로 정해진 용량이 투여되었으므로 cyclosporin이 이식 후 혈청 OPG 수치에 미치는 영향을 감별하기 어려웠다. 또한 이식 전 전신 방사선 조사 유무도 이식 후 혈청 OPG 수치에 영향을 미치지 않았다. 혈청 OPG 수치의 상승과 함께 본 연구에서는 조혈모세포이식 후 RANKL와 RANKL/OPG가 상승하고 이것이 이식 후

골흡수 표지자인 ICTP의 상승과 요추부 골밀도의 감소와 통계학적으로 유의한 상관관계를 나타내는 것으로 관찰되었고 이러한 결과를 통하여 조혈모세포이식 후 골소실에는 기존에 알려진 고용량의 화학요법으로 인한 골수기질세포의 손상이나 면역억제제 사용 외에도 이식 후 증가하는 RANKL가 관련이 있음을 확인할 수 있었으며 폐경 후 골다공증에서와 같이 골형성 감소와 골흡수 증가에 대한 보상기전으로 혈청 OPG가 증가하는 것처럼[16] 이식 후에도 RANKL의 상승에 따른 골흡수 증가에 대한 보상작용으로 이식 후 OPG가 상승하는 것으로 추측된다.

본 연구에서는 이식 후 혈청 RANKL 수치와 RANKL/OPG가 근위 대퇴골 골밀도 변화와는 유의한 상관관계를 나타내지 않았다. 이는 이식후 혈청 OPG 수치와 RANKL 수치의 변화가 부위별 골소실에 미치는 영향이 다르기 때문일 것이라고 생각되며 이에 대한 추가 연구가 더 필요하리라 사료된다. 또한 혈청 OPG는 여러 조직에서 생성될 수 있으며[17] 혈청 RANKL와 OPG가 골수 내 미세환경에서의 수치를 반영하는 것이 아니므로 골대사에 미치는 영향을 파악하는데 제한점이 있다. 향후 골수 내에서의 수치와 혈청에서의 수치와의 상관 관계 분석 등을 포함한 추가 연구가 필요하리라 사료된다. 앞으로 이와 같은 연구를 통하여 조혈모세포 이식후 RANKL와 OPG가 상승하는 기전을 설명하고 나아가 이식 후 골다공증의 발생에 있어서의 RANKL와 OPG의 병인적 역할을 이해하는데 도움이 될 것으로 기대된다.

요 약

연구배경: 조혈모세포 이식 후 발생하는 골소실에는 이식 후 초기의 급격한 골흡수 증가 및 골형성 감소가 관여한다. 이러한 골재형성불일치에 최근 파골세포의 분화과정을 조절하는 사이토카인으로 알려진 RANKL와 OPG가 미치는 영향에 대해서는 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 조혈모세포이식 전, 후로 말초혈액에서 RANKL, OPG 및 RANKL/OPG의 변화를 알아보고, 이들이 조혈모세포 이식 후의 골형성과 골흡수에 미치는 영향 및 이식 후 발생하는 골량 소실과

의 연관성을 관찰하였다.

방법: 36명의 환자에서 조혈모세포이식 전 및 이식 후 각각 말초혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 RANKL, OPG, osteocalcin, ICTP 및 creatinine 농도를 측정하였다. 또한 골밀도는 이식 전 및 이식 1년 후에 각각 이중 에너지 X선 흡수 계측기를 이용하여 요추부와 근위 대퇴골에서 측정하였다.

결과: 이식 1년 후 평균 요추부 골밀도는 5.2% 감소하였고 평균 근위 대퇴골 골밀도는 11.6% 감소하였다. 골흡수 표지자인 혈청 ICTP는 이식 전에 비해 이식 후 6개월까지 점차 유의있게 증가하다가 이후 감소하였다. 또한 골형성 표지자인 osteocalcin은 이식 후 3주까지는 점차 감소하다가 이후 증가하여 이식 후 3개월 및 6개월에 기저치보다 통계학적으로 유의하게 증가한 후 감소하였다. 혈청 RANKL와 OPG는 이식 후 점점 증가하여 이식 후 3주에 최고치를 형성하였고 이후 감소하였다. 혈청 RANKL/OPG도 이식 후 3주에 가장 높은 상승을 보였다. 혈청 OPG는 골흡수 표지자인 ICTP와 변화 양상이 유사하였으나 통계학적으로 의미있는 연관성은 관찰할 수 없었다. 그러나 ICTP의 변화율은 이식 후 3주에는 RANKL/OPG의 변화율과, 이식 후 3개월에는 RANKL의 변화율과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 관찰할 수 있었으며 이식 후 1주에 혈청 RANK 및 RANKL/OPG와 요추부 골밀도 변화율 간에 통계학적으로 유의한 음의 상관관계가 관찰되었다.

결론: 이식 후 골형성의 저하와 골흡수의 급격한 증가로 골소실이 발생하게 되고 이러한 골흡수 증가와 골형성 감소에는 기존에 알려진 고용량의 화학요법이나 면역 억제제의 사용 외에 이식 후 상승하는 RANKL가 기여하는 것을 관찰할 수 있었고 RANKL의 상승에 의한 골소실에 대한 보상기전으로 이식 후 OPG가 상승하는 것이라 추측된다.

참 고 문 헌

1. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T,

- Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T: *Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci U S A* 95:3597-3602, 1998
2. Tsukii K, Shima N, Mochizuki S, Yamaguchi K, Kinoshita M, Yano K, Shibata O, Udagawa N, Yasuda H, Suda T, Higashio K: *Osteoclast differentiation factor mediates an essential signal for bone resorption induced by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3, prostaglandin E2, or parathyroid hormone in the microenvironment of bone. Biochem Biophys Res Commun* 246:337-341, 1998
3. Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, Watanabe K, Yamada Y: *Transforming growth factor-beta stimulate the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. J Biol Chem* 273:27091-27096, 1998
4. Lories RJ, Luyten FP. Osteoprotegerin and osteoprotegerin-ligand balance: *a new paradigm in bone metabolism providing new therapeutic targets. Clin Rheumatol* 20:3-9, 2001
5. Aubin JE, Bonnellye E: Osteoprotegerin and its ligand: *a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. Osteoporos Int* 11:905-913, 2000
6. Lazner F, Gowen M, Pavasovic D, Kola I: Osteopetrosis and osteoporosis: *two sides of the same coin. Hum Mol Genet* 8:1839-1846, 1999
7. Ebeling PR, Thomas DM, Erbas B, Hopper JL, Szer J, Grigg AP: *Mechanisms of bone loss following allogeneic and autologous hematopoietic stem cell transplantation. J Bone Miner Res* 14: 342-350, 1999
8. Weibaecker KN: *Mechanisms of osteoporosis after hematopoietic cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant* 6:165-174, 2000
9. Banfi A, Podest M, Fazzuoli L, Sertoli MR, Venturini M, Santini G, Cancedda R, Quatro R: *High-dose chemotherapy shows a dose-dependent toxicity to bone marrow osteoprogenitors. Cancer* 92:2419-2428, 2001
10. Lee WY, Cho SW, Oh ES, Oh KW, Lee JM, Yoon KH, Kang MI, Cha BY, Lee KW, Son HY, Kang SK, Kim CC: *The effect of bone marrow transplantation on the osteoclastic differentiation of human bone marrow stromal cells. J Clin Endocrinol Metab* 87:329-335, 2002
11. Lee WY, Kang MI, Oh ES, Oh KW, Han JH, Cha BY, Lee KW, Son HY, Kang SK, Kim CC: *The role of cytokines in the changes in bone turnover following bone marrow transplantation. Osteoporos Int* 13:62-68, 2002
12. Kang MI, Lee WY, Oh KW, Han JH, Song KH, Cha BY, Lee KW, Son HY, Kang SK, Kim CC: *The short-term changes of bone mineral metabolism after bone marrow transplantation. Bone* 26:275-279, 1999
13. Castaneda S, Carmona L, Carvajal I, Arranz R, Diaz A, Garcia-Vadillo A: *Reduction of bone mass in women after bone marrow transplantation. Calcif Tissue Int* 60:343-347, 1997
14. Heaf J, Tvedegaard E, Kanstrup IL, Fogh-Andersen N: *Bone loss after renal transplantation: role of hyperparathyroidism, acidosis, cyclosporine and systemic disease. Clin Transplant* 14: 457-463, 2000
15. Shane E, Rivas M, McMahon DJ, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Mancini D, Michler RE, Aaronson K, Adesio V, Lo SH: *Bone loss and turnover after cardiac transplantation. J Clin Endocrinol Metab* 82:1497-1506, 1997
16. Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, Ikeda K, Higashio K, Yamada Y: *Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in*

- postmenopausal women with osteoporosis. J Bone Miner Res* 14:518-527, 1999
17. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K: *Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. Endocrinology* 139:1329-1337, 1998
18. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ: *Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell* 93:165-176, 1998
19. Lee SK, Lorenzo JA: *Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. Endocrinology* 140:3552-3561, 1999
20. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL: *The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. J Bone Miner Res* 15: 2-12, 2000
21. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ: *Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. Endocrine Rev* 20:345-357, 1999
22. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, Sato Y, Nakagawa N, Yasuda H, Mochizuki S, Gomibuchi T, Yano K, Shima N, Washida N, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Ozawa H: *Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. Biochem Biophys Res Commun* 247:610-615, 1998
23. 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. Genes Dev* 12:1260-1268, 1998
24. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Boyle WJ, et al: *Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell* 89:309-319, 1997
25. Khosla S, Arrighi HM, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan C, Riggs BL: *Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. Osteoporos Int* 13:394-399, 2002
26. Khosla S, Atkinson EJ, Dunstan CR, O'Fallon WM: *Effect of estrogen versus testosterone on circulating osteoprotegerin and other cytokine levels in normal elderly men. J Clin Endocrinol Metab* 87:1550-1554, 2002
27. Fahrleitner A, Prentner G, Leeb G, Tscheliessnigg KH, Piswanger-Solkner C, Obermayer-Pietsch B, Portugaller HR, Berghold A, Dobnig H: *Serum osteoprotegerin is a major determinant of bone density development and prevalent vertebral fracture status following cardiac transplantation. Bone* 32:96-106, 2003
28. Sato T, Tominaga Y, Iwasaki Y, Kazama JJ, Shigematsu T, Inagaki H, Watanabe I, Katayama A, Haba T, Uchida K, Fukagawa M: *Osteoprotegerin levels before and after renal transplantation. Am*

- J Kidney Dis* 38(4 Suppl. 1):S175-7, 2001
29. Vidal NO, Brandstrom H, Jonsson KB, Ohlsson C: *Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down-regulation by glucocorticoids.* *J Endocrinol* 159:191-195, 1998
 - potential mechanism of post-transplant osteoporosis and vascular disease.* *J Bone Miner Res* 14(Suppl.1):S176, 1999
 31. Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S: *Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis.* *Endocrinology* 140:4382-4389, 1999
 30. Hofbauer LC, Riggs BL, Dunstan CR, O'Brien T, Khosla S: *Cyclosporine A and glucocorticoids inhibit osteoprotegerin production in human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells:*