대 한 골 절 학 회 지　제16권, 제3호, 2003년 7월
The Journal of the Korean Society of Fractures
Vol. 16, No. 3, July, 2003

성장호르몬의 골모세포 및 신생골형성에 대한 효과

송해룡[1] · 강영진[2] · 장기철[2] · 연성찬[3] · 구자민[3] · 김현희[3]

경상대학교 의과대학 정형외과학교실[1], 약리학교실[2],
건강과학 연구원[2], 수의과대학 외과학교실[3]

[국문 초록]

목　적: 성장호르몬이 신생골형성 및 골모세포에 미치는 영향을 분석하고자 한다.

대상 및 방법: 실험쥐 37마리에서 경골의 결손을 만든 다음 외고정기구를 장착시키고 성장호르몬을 8주간 근육주사한 군 25마리, 증류수액을 주사한 대조군 12마리를 이용하여 신생골형성을 관찰하였고 신생골부위의 골밀도를 측정하였다. 쥐의 골육종에서 추출된 골아세포에 성장호르몬을 투여하여 골아세포의 증식기간, alkaline phosphatase의 활성도, osteocalcin의 생성유무 등을 관찰하였다.

결　과: 성장호르몬을 투여한 군에서 골결손부위의 신생골의 골밀도가 높은 것으로 나타났으며 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 외고정기구를 장착한 경골의 근위부보다는 원위부에서 성장호르몬을 투여한 실험군에서 골밀도가 대조군보다 높았으며 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 성장호르몬을 투여한 실험군에서 대조군과 비교할시 배양 5일에 골모세포수의 감소가 지연되었으며 alkaline phosphatase의 활성 및 osteocalcin mRNA의 발현이 증가되었다.

결　론: 성장호르몬의 투여는 골모세포의 증식 및 신생골형성 촉진 효소의 발생을 유도함으로써 골절로 인한 골결손부위의 골유합기간을 단축시킬 수 있으며 골절 후 체중부하의 지연으로 발생하는 골다공증을 예방할 수 있다고 사료된다.

색인단어: 성장호르몬, 골결손, 골모세포, 신생골

※통신저자: 송 해 룡
660-702, 경남 진주시 칠암동 90번지
경상대학교 병원 정형외과
전화: 82-55-761-6063, Fax: 82-55-750-8102
e-mail: songhae@nongae.gsnu.ac.kr

*This work was supported by the Korea Research Foundation Grant (KRF-2001-041-F00202).

서 론

정형외과영역에서 성장호르몬은 골절이나 골신연술에 골유합기간의 단축을 위하여 임상 및 동물실험 시 많이 사용되고 있다. 여러 저자들은 성장호르몬은 간에서 IGF (Insulin-like Growth Factor)로 전환되어 성장판의 연골세포를 증식시켜 골의 길이성장을 촉진시키고 골절이나 골신연술시 골모세포에도 영향을 미쳐 신생골에서 형성되는 osteocalcin, IFG, TGF (Tumor Growth Factor) 등 골형성 촉진성분을 증가시킨다는 결과들을 보고하였다[1~3,5,6].

임상적으로는 골결손 환자 및 골조송증이 동반된 골절, 지연유합 등에서 성장호르몬을 투여시 골유합을 단축시킬 수 있으며 골조송증 및 재골절을 예방할 수 있다는 보고들이 있어 왔다[10,18,19].

동물실험에서 여러 저자들은 돼지, 쥐 등을 이용하여 골절 및 골신연술을 시행한 후 성장호르몬의 투여가 신생골형성을 촉진시키고 신생골의 골밀도 및 골강도를 높인다는 연구결과들[13,14]을 보고하고 있으나 다른 저자들은 가토 및 쥐를 이용한 골절실험에서 성장호르몬의 투여가 신생골의 골유합기간 및 골강도에 별다른 영향을 미치지 못한다는 상반된 연구결과들[4,12]을 보고하고 있다.

저자들은 가토의 골결손에서 골막을 보존하고 외고정기구로 골결손부위의 안정성이 유지된다면 골막에서 신생골형성을 유발되어 골결손이 치유될 수 있다는 연구결과[17]를 보고한 바 있다. 이러한 연구결과를 바탕으로 쥐의 경골에서 골결손을 인위적으로 만들어서 외고정기구로 고정한 후 성장호르몬을 투여하여 골결손부위에 형성된 신생골의 골밀도를 측정하여 성장호르몬이 신생골형성에 미치는 영향을 분석하고 성장호르몬이 골모세포에 미치는 영향을 밝혀내고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 동물실험

실험동물은 3개월령의 쥐 Sprague-Dawley rat 37두 (male)를 사용하였으며 수술 하루 전부터 절식시켰다. Ketamin (40~80 mg/kg)과 Xylazine (5~10 mg/kg)을 혼합, 복강내 주사하여 전신마취를 실시한 후 골결손의 범위을 결정하기 위하여 수술 전 방사선 사진 촬영을 하여 경골의 전체 길이를 측정하였다. 오른쪽 경골부위의 털을 깨끗이 제거하고 내측에서 경골을 따라 피부와 근막을 절개하여 경골이 완전히 노출되도록 한 다음 경골을 싸고 있는 골막을 종방향으로 절개하여 골막을 좌우로 견인하여 최대한도로 골막을 보호하면서 외고정기구의 크램프에 맞게 골결손부위의 근위부와 원위부에 각각 2개씩의 직경이 1.1 mm의 K-wire을 삽입하고 쥐의 경골에 맞게 제작된 외고정기구를 장착시켜 고정하였다 (Fig. 1).

골결손을 만들 경골간의 골편부위의 골막을 손상시키지 않고 전체 경골길이의 20% (4~6 mm)에 해당되는 범위의 골결손을 공기톱 (air saw)를 이용하여 만들었다. 골막과 근육을 단단히 봉합한 후 피부를 봉합하고 3일간 genatamycin을 근육주사하였다.

실험군 25두는 Growth Hormone (recombinant human Growth Hormone, LG 화학) 150 microgram per kg을 (4 I.U = 25 mg) 증류수 1 mm에 녹여서 매일 8주간 근육주사하였고 대조군 12두는 어떠한 처치를 하지 않았다. 수술 후 8주에 방사선촬영을 통하여 신생골형성을 관찰하였다.

실험군과 대조군에서 골결손부위, 골결손부위의 근위부 및 원위부의 경골의 골밀도를 측정하기 위하여 수술 후 8주에 37두의 쥐를 희생시켜 경골을 채취하였

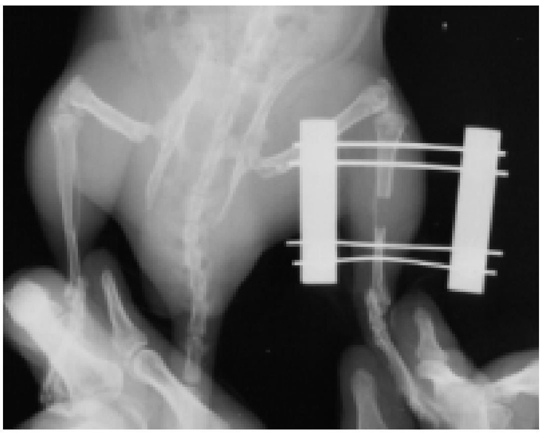

Fig. 1. Bone defect at the midshaft of the tibia was made and fixed with external fixator

다. 골결손의 근위부 및 원위부는 K-wire가 삽입된 근위부 및 원위부에서 1 mm의 범위를 선택하였고 골결손부위는 3 mm의 범위를 선택하여 골밀도를 측정하였다. 골밀도 (Bone mineral density:BMD)는 정량적 전산화 컴퓨터 단층촬영 (Somastom Plus-S, Simens, Germany)을 이용하여 측정하였다.

통계처리는 각 항목마다 평균과 표준편차를 구하고 Student's t-test를 이용하여 실험군과 대조군간의 골밀도의 차이를 분석하였으며 유의수준 $p<0.05$에서 유의차 검정을 실시하였다.

2. 골모세포실험

성장호르몬은 한국의 LGCI의 유트로핀 (Eutropin)을 공급받아 실험에 사용하였다. 어린소 혈청 (FBS)과 세포배지인 DMEM은 Gibco-BRL이라는 회사의 것을 구입하였고, RT-PCR 시약은 모두 Perkin-Elmer로부터 구입하였다. 그 이외 모든 시약은 Sigma사의 것을 구입하여 사용하였다.

1) 세포배양

쥐의 골모세포주인 ROS (Rat Osteosarcoma) 17/2.8을 American Type Culture Collection (ATTC, Rockville, MD, USA)라는 회사로부터 공급받아 사용하였다. 이 세포주는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco, Eggenstein, Germany) 세포배양액으로 배양하였다. 이러한 배양액은 10% heat-inactivated fetal calf serum (Gibco, Eggenstein, Germany), 100 U/ml의 penicillin, 100 mg/ml의 streptomycin이 함유된 배양액으로 제조하여 사용하였다. 골모세포는 100 mm^2 플라스틱 세포배양기에 7,500/cm^2개의 세포를 분주하여 실험을 시작하고 이러한 세포는 5% CO_2와 37℃가 유지되는 CO_2 배양기기에서 배양하였다. 배양액은 48시간 마다 새로운 배양액으로 교체하였다.

2) 세포 생존능 측정

세포의 생존능은 MTT 시약이 포마잔으로 전환되면서 미토콘드리아에 착색되는 것을 이용하여 측정하였다. ROS 17/2.8 골아세포는 30 mm^2 세포배양 용기에 10^4 cells/ml개의 세포를 분주하여 5%의 어린소 혈청으로 교체하여 7일 동안 배양하였다. 각각의 세포에 성장호르몬을 1, 2.5, 5 IU/ml을 처리한 그룹과 처리하지 않은 그룹으로 나누어 배양한 다음 1일, 3일, 5일, 7일, 9일째를 각각 세포배양하였다. 세포배양액은 48시간마다 교체하였다. 자극이 끝난 세포에 1 mg/ml의 MTT 시약을 처리하여 세시간 반동안 배양하였다. 배양액을 버리고 DMSO를 사용하여 세포를 분해하여 570 nm의 흡광도를 이용하여 측정하였다 (Bio-Rad Model 550).

3) Alkaline phosphatase 활성도 측정

ROS 17/2.8 골아세포에서 성장호르몬에 의한 alkaline phosphatase activity를 측정하기 위하여 100 mm^2 세포배양 용기에 10^4 cells/ml개의 세포를 분주하여 5%의 어린소 혈청으로 교체하였다. 각각의 세포에 성장호르몬을 1, 2.5, 5 IU/ml을 처리한 그룹과 처리하지 않은 그룹으로 나누어 배양한 다음 alkaline phosphatase 활성도가 감소되는 시간인 5일 동안 세포배양하였다. 배양이 끝난 후 세포를 PBS로 세척한 후 0.1% nonidet NP40이 함유된 Tris buffer (pH 7.6)에서 세포를 분해한 다음 원심분리하여 상층액을 얻어서 total alkaline phosphatase activity를 측정하는데 사용하였다. Alkaline phosphatase activity의 측정은 p-nitrophenyl phosphate가 p-nitrophenyl로 전환되는 능력으로서 측정되어지고 이 값은 405 nm의 흡광도를 이용하여 측정하였다.

4) RNA 분리와 RT-PCR

ROS 17/2.8 골모세포에서 성장호르몬에 의한 osteocalcin의 mRNA 발현을 확인하기 100 mm^2 세포배양 용기에 10^4 cells/ml개의 세포를 분주하여 5%의 어린소 혈청으로 교체하였다. 각각의 세포에 성장호르몬을 1, 2.5, 5 IU/ml을 처리한 그룹과 처리하지 않은 그룹으로 나누어 배양한 다음 osteocalcin mRNA의 발현이 감소되는 시간인 5일 동안 세포배양하였다. 배양이 끝난 후 Guanidinium isothiocyanate방법으로 total RNA를 추출하여 사용하였다. 먼저 역전사를 시키기 위하여, 40 μl의 반응액을 만드는데 여기에는 1 μg의 total RNA, 6.25 μM의 oligo dT primers 그리고 500 μM의 각각의 dNTP, 50 μg의 BSA, 10 mM의 DTT, 0.5 U의 RNAsin (Perkin-Elmer)를 첨가하여 조제하였다. 65℃에서 5분 동안 반응시킨 다음 200 U의 Superscript II RNase H를 첨가한 후 다시 42℃에서 5분 동안 반응시켰다. 그런 다음 42℃에서 55분 동안 반응시킨 다음 4 U의 RNase H를 첨가하여 37℃에서 30분 동안 반응하여 반응을 종결시켰다. 그런 다음 PCR 증폭을 하기 위하여 50 μl의 반응액을 조제하였다. 1 μl의 RT aliquot, 10 μl의 각

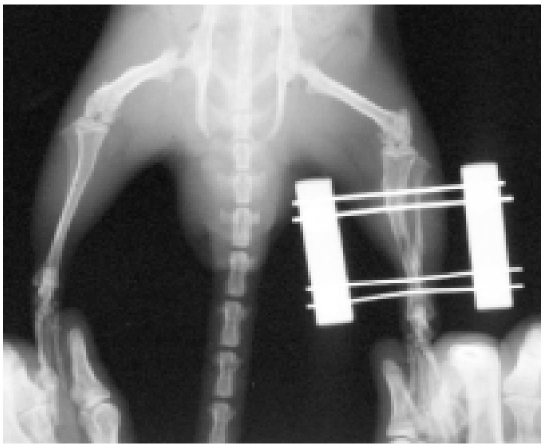

Fig. 2. Anteroposterior view of radiograph showing abundant callus formation at the medial and lateral cortices of the tibia and hypertrophy of the midfibula 8 weeks after surgery in group treated with growth hormone

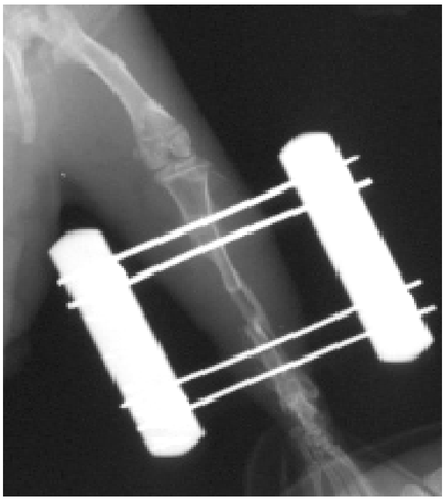

Fig. 3. Anteroposterior view of radiograph showing scanty callus formation only at the medial cortex of the tibia and no hypertrophy of the fibula 8 weeks after surgery in control group

각의 dNTP, 0.8 μM의 각각의 primer, 1.5 mM의 $MgCl_2$ 그리고 2.5 units의 AmpliTaq DNA polymerase를 함유하는 반응액을 조제한 다음 95°C에서 5분 반응하고, 35 cycle을 증폭하였다. 94°C: 45초, 52°C: 30초, 72°C: 1분 그리고 72°C에서 1분 동안 extension하였다. PCR 결과물은 1.4% agarose 젤에서 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 촬영하였다.

통계학적 처리방법은 One way analysis of variance (ANOVA) 및 Dunnett's test를 사용하였으며 유의수준 $p<0.05$에서 유의차 검정을 실시하였다.

결 과

1. 동물실험

수술 후 8주의 방사선 사진에서 골결손부위의 신생골형성은 대조군과 비교하여 볼 때 성장호르몬 투여군에서 보다 많이 형성되었다. 성장호르몬 투여군 25예 중 2예에서 골결손부위의 완전 골유합이 일어났으며 (Fig. 2) 나머지 23례에서는 신생골형성은 있었으나 완전 골유합은 일어나지 않았다. 대조군 12례, 전례에서는 신생골형성은 있었으나 완전 골유합은 일어나지 않았다 (Fig. 3). 전후면 방사선 사진에서 신생골형성이 골결손부위의 내측 및 외측에서 피질골화형성 (corticalization)이 나타날 때 완전 골유합으로 규정하였다.

수술 후 8주의 골밀도 측정결과에서 골결손부위의 골밀도는 성장호르몬 투여군에서 평균 362 g/mm^{2}이었으며 대조군에서는 259g/mm^{2}로 통계학적으로 유의한 차이가 있었다 (p value=0.023). 골결손부위의 근위부 경골의 골밀도는 성장호르몬 투여군에서 평균 333 g/mm^{2}이었으며 대조군에서는 337 g/mm^{2}로 통계학적으로 유의한 차이가 없었다 (p value=0.46). 골결손부위의 원위부 경골의 골밀도는 성장호르몬 투여군에서 평균 613 g/mm^{2}이었으며 대조군에서는 487 g/mm^{2}로 통계학적으로 유의한 차이가 있었다 (p value=0.002) (Table 1).

2. 세포실험

골모세포의 생존능은 배양 27시간에 배양초기에 비하여 2배 정도로 높았으며 대조군에서는 배양 72시간에 생존능은 감소하기 시작하여 배양 5일에는 세포수의 급속한 감소를 보이면서 배양 7일에 전체적으로 세포의 괴사를 보였다. 그러나 성장호르몬을 투여한 실험군에서는 배양 7일까지 생존능은 증가되면서 배양 9일에 전체적으로 세포의 괴사를 보였다 (Fig. 4).

Alkaline phosphatase 활성도는 신생골형성과 골모세포의 활성도와 연관이 있으며 배양 7일간 측정한 결과

Table 1. Data of Bone Mineral Density

No.	골결손근위부위 B.M.D. (g/mm^2)		골결손부위 B.M.D.		골결손원위부위 B.M.D.	
	Control	G.H	Control	G.H	Control	G.H
1	296.4	411.2	182.4	208.6	435.1	699.3
2	173.1	338.8	345.8	532.1	444.2	699.7
3	484.5	276.3	138.3	421.26	552.2	605.4
4	172.1	361.7	421.8	177.7	588.7	587.7
5	320.4	342.4	160.2	412.6	512.3	662.1
6	455.6	331.5	105.7	363.8	239.5	557.8
7	274.8	294.1	143.6	556.1	587.2	537.1
8	503.7	270.9	219.2	353.1	557.9	539.7
9	302.6	368.7	301.7	219.4	343.5	827.5
10	563.1	431.1	354.4	210.2	609.8	617.5
11	261.9	500.3	342	174	547.2	623.6
12	241.7	232.3	402.5	328	430.8	407
13		438.6		108.7		487.5
14		320.5		413.7		525.9
15		283		296.2		460.2
16		215.9		241		870.3
17		207.8		634.8		603.7
18		293.1		101.3		465.1
19		294.1		463.3		619
20		271.8		460.8		567.8
21		316.4		607.8		591.1
22		217.1		407.6		760.9
23		287.7		474.3		536.4
24		466.9		522		619.2
25		573.1		368.8		865.4
Mean	337.49	333.81	259.80	362.29	487.37	613.48
SD	131.59	92.66	113.23	152.63	112.22	120.71

B.M.D.: Bone mineral density, G.H; Growth hormone, S.D: Standard deviation

배양 5일에 대조군에서는 활성도가 급격히 감소한 반면 성장호르몬을 투여한 실험군에서는 배양 5일에 활성도가 증가하였으며 성장호르몬을 많이 투여한 군에서 활성도가 더 높았다 (Fig. 5).

Osteocalcin의 mRNA의 발현은 배양 5일에 대조군에서는 급격한 감소를 보인 반면 성장호르몬을 투여한 실험군에서는 계속 유지되는 소견을 보였다 (Fig. 6).

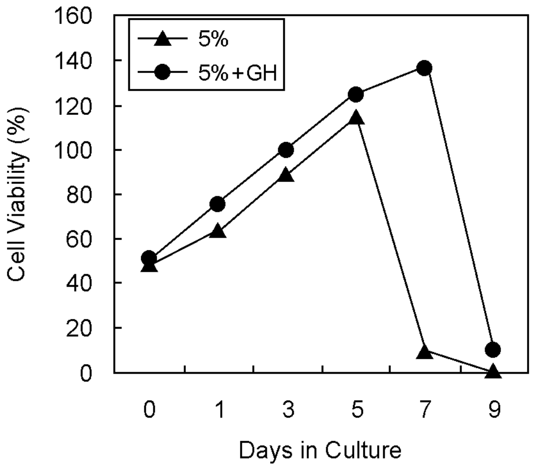

Fig. 4. Cell viability of ROS 17/2.8 cells during 9-day culture period. Cell viability was determined in duplicate by MTT-test of the adherent cell fraction of with/without GH at every other day intervals. Data are expressed as the absorbance measurement mean±standard error of the mean of three independent experiments.

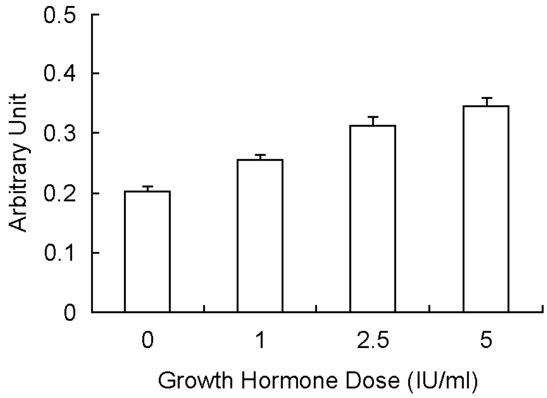

Fig. 5. After 5 days cell culture incubation with GH is able to increase alkaline phosphatase activity in ROS 17/2.8 cells. Values are the mean of 3 different experiments and are expressed as ratio of protein. p<0.01 a paired ANOVA statistical analysis was performed, followed by Dunnett's test.

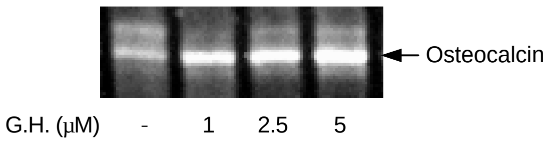

Fig. 6. After 5 days cell culture incubation with GH is able to increase osteocalcin mRNA expression in ROS 17/2.8 cells. Data represent the mean±SEM of the densitometric quantification from duplicate experiments. p<0.01 a paired ANOVA statistical analysis was performed, followed by Dunnett's test.

고 찰

동물 및 인체에서 추출된 골모세포 및 일차성 세포에 대한 성장호르몬의 효과는 여러 저자들에 의해 보고되어 왔다[7,11,15,16]. 성장호르몬은 골모세포의 증식을 유발하고 골모세포의 여러 가지 기능을 나타내는 발현인자들, 교원섬유 1형, alkaline phosphatase, osteocalcin 등을 촉진시키는 역할을 한다고 알려져 있다[8,9]. 그리고 성장호르몬은 IGF-1의 유전자를 자극시켜 IGF-1의 국소생산을 증가시켜 골의 종적 성장에 기여한다는 것을 여러 저자들은 보고하고 있다[15,16]. 그러나 많은 연구들이 성장호르몬이 골의 재형성에 관여하고 있다는 보고를 하고 있으나 성장호르몬이 어떤 일정한 세포(target cell)에 어떠한 영향을 미치는 가에 대하여서는 정확하게 밝혀진 바가 없다.

본 연구에서는, 골모세포를 낮은 농도의 영양배지를 투여한 상황에서 세포배양을 실시하여 염증반응시나 골관절과 같은 상황을 세포수준에서 조건을 확립하였다. 일반적으로 본 연구에 사용된 골모세포인 쥐의 골육종세포, ROS 17/2.8 세포는 매우 안정된 세포로서 여러 번의 분화 배양시에도 alkaline phosphatase의 활성도나 osteocalcin의 발현 등이 감소되지 않는 좋은 세포모델이라 할 수 있다. 이러한 골모세포에서 빠른 시간 안에 분화를 하여 세포의 사멸을 촉진하는 조건에서 성장호르몬을 투여하였을 때 골모세포의 증식을 유발하였고 어느 정도는 세포의 생존능의 소멸을 지연시키는데 작용하였다.

이는 여러 다른 논문에서 발표하였듯이 성장호르몬은 세포에서 Insulin-like growth factor와 Vitamine D 유도체들을 형성하여 이들 물질이 직접 골모세포의 분화를 조절한다고 하는 결과를 뒷받침하는 좋은 참고 자료가 될 것이다.

성장호르몬이 골모세포에 미치는 영향에 관한 분자생물학적 연구결과는 긍정적인데 반하여 성장호르몬이

골조직에 미치는 영향에 대하여서는 상반된 연구결과들이 보고되고 있다. Carpenter 등[4]은 가토의 경골을 절골한 후 외고정기구를 장착시키고 성장호르몬을 투여한 실험군과 대조군을 비교하였는데 실험군에서 혈중 IGF-1의 농도 (33%)가 대조군 (10%)보다 높았지만 통계학적으로 유의한 차이가 없었다고 하였고 골파괴 실험에서도 골강도가 유의한 차이가 없었다는 연구결과를 보고하였다. Northmore-Ball[12] 등은 쥐의 대퇴골 골절을 유발시킨 후 골강도 및 골절유합기간을 측정한 결과 성장호르몬을 투여한 실험군과 대조군에서 유의한 차이가 없었다고 보고하였다. 그러나 다른 저자들은 골절 및 골연장술을 시행한 동물실험에서 성장호르몬을 투여한 실험군에서 신생골형성을 촉진시키고 골강도를 증가시키고 골밀도가 높아졌다고 보고하고 있다. Raschke 등[13,14]은 30마리의 micropig를 이용하여 경골신연술을 하면서 성장호르몬을 투여한 결과 성장호르몬을 투여하지 않은 대조군에 비하여 신생골부위의 회전파괴부하력 (torsional failure load)가 131% 증가하였으며 최대회전강도 (ultimate torsional stiffness)는 231% 증가하였다고 보고하였다. 혈중내의 IGF-1도 440%가 증가하였다고 보고하였다.

본 연구에서도 골결손부위의 신생골의 골밀도가 성장호르몬을 투여한 군에서 대조군보다 높았으며 이러한 결과는 성장호르몬의 투여가 골결손부위에서 골막으로부터 형성되는 신생골형성과 골수강내 혈관으로 형성되는 신생골형성을 촉진시킬 수 있다는 것을 밝혀낼 수 있었다. 외고정기구를 장착하게 되면 핀이 삽입된 부위의 통증으로 인하여 체중부하가 되지 않고 체중부하가 되지 않으면 근육을 사용하지 않게 되고 근육을 사용하지 않으면 골다공증이 빠르게 진행하게 된다. 그러나 성장호르몬의 투여가 외고정기구를 장착한 원위부 경골부위에서 골다공증을 예방할 수 있다는 결론을 얻었다. 경골의 골결손부위의 근위부경골에서의 골다공증은 성장호르몬을 투여한 군과 대조군과의 차이가 없었다. 이것은 근위부경골에서는 피질골이 얇고 해면질골이 풍부하기 때문에 골다공증이 해면질골보다는 피질골이 많은 경골원위부보다 더 빨리 진행하기 때문에 성장호르몬을 투여한다고 하더라도 골다공증의 진행을 막을 수 없었다고 사료된다. 이와 같은 결과를 보면 성장호르몬의 투여효과는 해면질골보다는 피질골에서 보다 많이 얻을 수 있다는 추정을 할 수 있다. 위와 같은 동물실험에서 성장호르몬의 투여가 신생골형성을 촉진시킬 수 있다는 결과를 얻었으므로 정형외과영역에서 임상적으로 골절, 골수염, 외상으로 인한 골결손의 환자에게 성장호르몬의 투여는 신생골형성을 촉진시켜 골유합기간을 단축시킬 수 있다는 가능성이 있다고 추정할 수 있다.

정형외과영역에서 성장호르몬의 효과에 대한 임상적인 연구결과들이 여러 저자들에 의하여 발표되어 왔다. Van der Ley 등[18]은 나이 많은 환자의 고관절골절에서 성장호르몬을 투여한 결과 수술 후 일상생활로의 회복이 성장호르몬을 투여하지 않은 군보다 더 빨랐다고 보고하였다. Koskinen 등[10]은 지연유합이나 불유합소견을 보인 경골골절 환자 17명, 대퇴골골절 환자 2명, 상완골골절 환자 1명 등, 총 20명의 환자를 대상으로 매주 16 I.U의 성장호르몬을 5주간 투여한 결과 60%에서 8주 이내에 골유합소견을 보였으며 85%에서 12주내에 골유합소견을 보여 성장호르몬투여가 골절유합기간을 단축시킬 수 있다고 하였다.

정형외과 영역에서 성장호르몬을 임상적으로 적용할 수 있는 범위는 매우 광범위하다. 골절, 지연유합, 불유합, 내부골이동술, 골연장술시 성장호르몬의 투여는 골유합의 기간을 단축시키고 신생골의 강도를 높임으로써 재골절을 예방할 수 있으며 골다공증 환자에게도 사용할 수 있다고 사료된다. 이러한 적용범위를 넓히기 위하여서는 앞으로 보다 많은 임상연구가 선행되어야 한다고 생각한다.

REFERENCES

1) **Bail HJ, Kolbeck S, Krummrey G, Schmidmaier G, Haas NP and Raschke MJ:** Systemic application of growth hormone for enhancement of secondary and intramembranous fracture healing. Horm Res, 58 Suppl 3: 39-42, 2002.
2) **Bail HJ, Raschke MJ and Kolbeck S, et al:** Recombinant species-specific growth hormone increases hard callus formation in distraction osteogenesis. Bone, 30: 117-124, 2002.
3) **Barnard R, Ng KW, Martin TJ and Waters MJ:**

Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. Endocrinology, 128: 1459-1464, 1991.

4) **Carpenter JE, Hipp JA, Gerhart TN, Rudman CG, Hayes WC and Tripper SB:** Failure of growth hormone to alter the biomechanics of fracture-healing in a rabbit model. J Bone Joint Surg, 74-A: 359-367, 1992.

5) **Ernst M and Rodan GA:** Increased activity of insulin-like growth factor (IGF) in osteoblastic cells in the presence of growth hormone (GH): positive correlation with the presence of the GH-induced IGF-binding protein BP-3. Endocrinology, 127: 807-814, 1990.

6) **Hao Y, Dai K, Guo L, Wang Y and Tang T:** Effects of recombinant human growth hormone (r-hGH) on experimental osteoporotic fracture healing. Chin J Traumatol, 4(2): 102-105, 2001.

7) **Isaksson OG, Jansson JO and Gause IA:** Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. Science, 216: 1237-1239, 1982.

8) **IIsgaard J, Mollar C, Isaksson OG, Nilsson A, Mattews LS and Norstedt G:** Regulation of insuline-like growth factor messenger ribonucleic acid in rat growth plate by growth hormone. Endocrinology, 118: 1843-1848, 1988.

9) **Kassem M, Blum W, Ristelli J, Mosekilde L and Eriksen EF:** Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. Calcif Tissue Int, 52: 222-226, 1993.

10) **Koskinen EVS, Lindholm RV, Nieminen RA and Puranen JP:** Human growth hormone in delayed union and non-union of fracture. Internat Orthop, 1: 317-322, 1978.

11) **Mosekilde L and Bak B:** The effects of growth hormone on fracture healing in rat: histological description. Bone, 14: 19-27, 1993.

12) **Northmore-Ball MD, Wood MR and Meggitt BF:** A biomechanical study of the effects of growth hormone in experimental fracture healing. J Bone Joint Surg, 62-B: 391-396, 1980.

13) **Raschke MJ, Bail H, Windhagen HJ and Kolbeck SF, et al:** Recombinant growth hormone accelerates bone regenerate consolidation in distraction osteogenesis. Bone, 24: 81-88, 1999.

14) **Raschke M, Kolbeck S and Bail H, et al:** Homologous growth hormone accelerates healing of segmental bone defects. Bone, 29(4): 368-373, 2001.

15) **Scheven BA, Hamilton NJ, Fakkeldij TM and Duursma SA:** Effects of recombinant human insulin-like growth factor I and II (IGF-I/-II) and growth hormone (GH) on the growth of normal adult human osteoblast-like cells and human osteogenic sarcoma cells. Growth Regul, 1: 160-167, 1991.

16) **Slootweg MC, van Buul-Offers SC, Herrmann-Erlee MP and Duursma SA:** Direct stimulatory effect of growth hormone on DNA synthesis of fetal chicken osteoblasts in culture. Acta Endocrinol (Copenh), 118: 294-300, 1988.

17) **Song HR, Puri A and Lee JH, et al:** Spontaneous bone regeneration in surgically induced bone defects in young rabbit. J Pediatr Orthop Part B, 11: 343-349, 2002.

18) **Van der Lely AJ, Lamberts SW, Jauch KW and Swierstra BA:** Use of human GH in elderly patients with accidental hip fracture. Eur J Endocrinol, Nov; 143: 585-592, 2000.

19) **Wuster C, Harle U, Rehn U, Muller C, Knauf K and Koppler D:** Benefits of growth hormone treatment on bone metabolism, bone density and bone strength in growth hormone deficiency and osteoporosis. Growth Horm IGF Res, 8[Suppl]A: 87-94, 1998.

Abstract

Effect of Growth Hormone on Osteoblast and New Bone Formation

Hae Ryong Song[1], Young Jin Kang[2], Ki Churl Chang[2], Seong Chang Yeon[3], Ja Min Koo[3], Hyeon Hui Kim[3]

Department of Orthopaedic Surgery[1], Department of Pharmacology[2], College of Medicine and Institute of Health Sciences, Institute of Animal Medicine[3], Gyeongsang National University

Purpose: To evaluate effect of growth hormone on osteoblast and new bone formation.

Materials and Methods: Bone defect of the tibia with preserved periosteum was made and fixed with external fixator. Intramuscular injection of growth hormone for 8 weeks in experimental group and saline in control group was performed. New bone formation at the bone defect in radiograph and bone mineral density (BMD) by quantitative computed tomography were evaluated at 8 weeks after surgery. Rat osteosarcom cells were cultured in both group to evaluate cell viability of osteoblast, alkaline phosphatase activity, and mRNA expression of osteocalcin by RT-PCR.

Results: Experimental group showed more callus formation and higher BMD at the bone defect site and the distal tibia compared to control group and there was significant difference. Proliferation of osteoblast, alkaline phosphatase activity, mRNA of osteocalcin at 5 days after culture were significantly higher in experimental group than those in control group.

Conclusions: Growth hormone has positive effect on osteoblast and callus formation in vivo and vitro studies.

Key Words: Growth hormone, Bone defect, New bone formation, Osteoblast

Address reprint requests to
Hae-Ryong Song
Department of Orthopaedic Surgery, Gyeongsang National University Hospital,
90 Chilam dong, Chinju 660-702, Korea.
Tel : 82-55-750-8102, Fax : 82-55-761-6063
E-mail : songhae@nongae.gsnu.ac.kr