

글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증의 병리학적 기전

경북대학교 의과대학 의학과

김 현 주

Pathological Mechanism of Glucocorticoid-induced Osteoporosis

Hyun-Ju Kim

Skeletal Diseases-Genome Research Center,
Department of Medicine, Kyungpook National University School of Medicine

글루코코르티코이드(glucocorticoid: GC)는 항염증과 면역억제 기능이 있어 자가면역질병, 천식, 피부염, 관절염 등 여러 질병의 치료에 보편적으로 사용되는 약제이다. GC의 장기간 투여는 이러한 질병을 효과적으로 억제하지만, 대부분의 환자에게서 골다공증을 초래하게 된다. 통계적으로 살펴보면, GC를 투여하는 환자의 경우 1년 이내 골밀도의 12%가 급격히 감소되고 그 이후로는 뼈의 손실이 서서히 진행되어 2~5% 정도의 골밀도가 매년 점차적으로 감소됨이 보고된 바 있다[1]. GC에 의해 유도되는 골다공증의 혼한 발생빈도와 심각성에도 불구하고, 이에 대한 치료는 매우 어려운 실정이다. 그러므로 골다공증의 병리학적 기전에 대한 보다 정확한 이해를 통해 이에 대한 예방과 치료방법의 개선이 이루어질 수 있다. 지금까지 GC에 의해 유도되는 골다공증(glucocorticoid-induced osteoporosis: GIO)의 병리학적 기전에 대한 많은 연구들이 이루어져 왔으나, secondary hyperparathyroidism 및 성호르몬에 대한 GC의 영향으로는 GIO의 원인을 충분히 설명할 수 없다. 반면, 골세포에 대한 GC의 직접적인 영향에 대한 연구가 수행되어 GIO의 발병 기전이 밝혀진 바 있다. 이 강좌에서는 파골세포에 대한 GC의 영향[2]과 최근 GC 표적분자로 발굴된 Calpain6의 역할을 중심으로 GIO의 새로운 병리학적 기전을 살펴보고자 한다.

글루코코르티코이드와 조골세포

GC가 조골세포의 수와 기능을 저해함으로써 야기되는 뼈 형성의 감소가 GIO의 원인으로 알려져 왔다. Weinstein 등[3,4]은 *in vivo*에서 GC가 조골세포의 사멸을 유도함으로써 뼈 형성을 억제한다고 보고하였다. 이와 유사하게 *in vitro*에서도 GC는 caspase 3의 활성을 촉진함으로써 조골세포와 osteocyte의 사멸을 유도하며[5] 조골세포 계열의 세포

증식을 억제함으로써 조골세포의 수를 감소시킨다[6]. 또한 GC는 Runx2와 collagen I의 발현 억제를 통해 조골세포의 분화를 저해하며[7~9] 기질 세포가 지방질 세포로 분화되도록 유도한다[8,10~14]. GC가 조골세포의 분화를 억제하는 또 하나의 분자적인 기작은 조골세포화를 촉진하는 주요 경로인 Wnt- β -catenin의 신호전달 과정을 저해함으로써 이루어진다[15,16]. 그러나 *in vitro*에서 조골세포에 대한 GC의 효과는 여전히 명확하지 않은 상태이다. 조골세포의 분화를 억제한다는 보고도 있는 반면 또 다른 한편으로는, 실제로 세포 배양 시 GC가 mineralized nodule 형성을 증가시킨다고 보고된 바 있다[17,18]. 그러므로 *in vivo*에서 그의 억제효과는 GC가 중간 매개 세포를 억제하고 그 중간 매개 세포에 의해 조골세포가 다시 억제될 수 있다는 가능성을 시사해준다.

글루코코르티코이드와 파골세포

파골세포는 monocyte/macrophage 전구체가 증식(proliferation)과 분화과정(differentiation)을 거친 후, 파골세포에만 보이는 특이적인 현상인 세포골격화(cytoskeletal organization: polarization) 과정을 거쳐 마침내 뼈를 흡수하는 기능(resorption)을 수행하게 된다(Fig. 1). 파골세포의 형성에는 RANKL (receptor activator of NF- κ B Ligand)와 M-CSF (macrophage colony stimulating factor)가 필수적인 역할을 한다. M-CSF는 주로 세포의 증식, 생존 및 세포골격화에 중요한 역할을 하며, RANKL는 세포분화와 생존에 중요한 역할을 담당하고 있다. 조골세포는 RANKL를 발현하고 파골세포의 전구체는 그의 수용체인 RANK를 발현한다. 조골세포의 분화를 저해하는 GC는 RANKL[19]와 M-CSF[20]의 발현을 촉진하며 또한 파골세포의 사멸을 억제한다고 보고되었다[3]. 이러한 연구 결과를 토대로 본다면

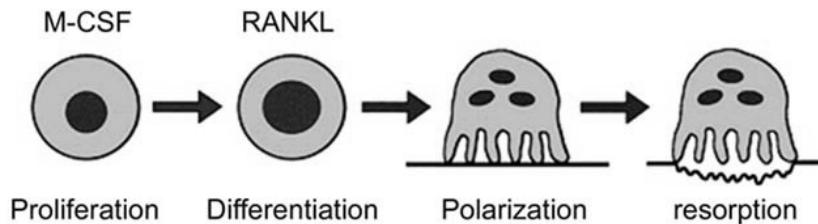


Fig. 1. Regulation of osteoclast formation and function. Osteoclasts are derived from hematopoietic mononuclear precursors of the monocyte/macrophage lineage. The proliferation of osteoclast precursors is dependent on the M-CSF. Activation of RANK by RANKL (RANK-Ligand) commits the cell to the osteoclast fate. The initial event in development of the resorative capacity of the mature osteoclast is its cytoskeletal organization, namely polarization. Once polarized, the osteoclasts resorb the mineralized component of bone.

GC는 파골세포의 뼈 흡수기능을 촉진시킬 것으로 예상할 수 있다. 그러나 증가된 파골세포의 활성이 GIO의 원인이 됨을 보여주는 증거는 매우 미약하며[21], 실제 GIO 환자의 뼈를 조직학적으로 살펴보면, 뼈의 형성뿐 아니라 뼈의 흡수도 억제되어 있음을 알 수 있다[1,22,23]. 이러한 사실은 GC가 파골세포에 직접적으로 영향을 미치고, 뼈의 리모델링(remodeling) 과정에서 다시 파골세포가 조골세포에 영향을 미침으로써 일어날 수 있음을 말해준다. 이에 대해 본인을 포함한 연구진은 파골세포에 대한 GC의 영향을 *in vitro*와 *in vivo*에서 규명함으로써 GIO의 발병기전에 대한 새로운 paradigm을 제시하였다[2].

몸속의 뼈는 일생 동안 흡수되고 다시 형성되는 살아있는 조직이다. 뼈의 리모델링이란 조골세포에 의한 뼈 형성과 파골세포에 의한 뼈 흡수 작용이 반복되는 과정이다. 뼈의 양은 이들 두 세포의 균형에 의해 정상 상태로 유지되는데 이들의 불균형은 골다공증을 비롯한 각종 대사성 뼈 질환의 원인이 된다. 여성의 폐경 이후 수반되는 골다공증의 경우 이러한 뼈의 리모델링 과정 중 이미 뼈가 흡수된 자리를 조골세포가 완전히 채우지 못하여 일어나는 현상이다. 그러므로 파골세포에 의한 뼈 흡수 작용이 뼈가 흡수된 같은 위치에서 조골세포의 뼈 형성을 촉진함을 의미한다. 이와 유사하게, 병리학적으로 혹은 약물 투여에 의해 뼈 흡수가 저해 받게 될 경우 조골세포의 활성이 억제된다[24,25]. 본인 등은 파골세포 계열에만 존재하는 GC 수용체(glucocorticoid receptor: GR)의 유전자를 없앤 conditional knock out (KO) mice를 negative control로 사용하여 GIO의 기전을 규명했다는 점에서 연구의 큰 의미가 있다고 하겠다.

1. 파골세포의 생존 및 분화에 대한 글루코코르티코이드의 영향

GC는 파골세포 전구체인 macrophage의 증식을 억제하며 성숙한 파골세포의 생존을 촉진한다. 파골세포의 생존 촉진 결과는 Weinstein 등[3]의 연구 결과와 일치하는 것이다. 즉, GC는 파골세포 전구체의 증식과 성숙한 파골세포의 사

멸을 억제함으로써 파골세포의 수를 정상적으로 유지하도록 한다. 또한 야생형(wild-type: WT)과 GR이 결손된 쥐의 macrophage로부터 분화된 파골세포 모두에서 파골세포의 분화 표지 유전자의 발현은 변함이 없으며 이러한 사실은 GC가 파골세포의 분화에는 영향을 미치지 않음을 말해 준다.

2. 파골세포의 세포골격화에 대한 글루코코르티코이드의 영향

파골세포는 분화과정을 거친 후, 파골세포에만 나타나는 특이적인 현상인 세포골격화 과정을 수행한다. 파골세포는 뼈에 부착함과 동시에 세포의 공간과 뼈를 흡수하는 공간을 구분하기 위해, 파골세포의 actin이 하나의 큰 ring으로 조직화된다[26]. 파골세포에 있어 actin ring의 형성은 세포가 뼈를 흡수할 수 있는 능력에 대한 중요한 표지가 된다. M-CSF, RANKL, TNF- α , 그리고 IL-1 α 는 파골세포에서의 actin ring 형성을 유도하는 분자로 알려져 있다[27,28]. 합성된 GC인 DEX는 RANKL, TNF- α 혹은 IL1- α 에 의해 유도되는 actin ring 형성을 저해하지는 않으나, 특이하게 M-CSF에 의해 유도되는 actin ring 형성만을 저해한다.

GTPase인 RhoA, Rac, 그리고 cdc42는 대부분의 세포에서 세포골격화에 중요한 역할을 한다[29]. 파골세포 계열의 세포에서 Rac의 부재는 세포의 기능저하로 이어져 뼈의 양이 증가되는 결과를 초래한다. DEX가 존재하지 않을 경우 M-CSF는 Rho와 Rac의 활성을 촉진하나 DEX를 처리한 경우 그 활성이 감소된다. 또한 Vav3는 파골세포에만 특이한 Guanine nucleotide exchange factor (GEF)로 Rac의 활성을 증가시켜 세포골격화를 유도하는 중요한 분자이다. Vav3가 결손된 쥐는 Rac과 Rho의 활성이 저해되고 이로 인해 세포골격화가 억제되어 심각한 골석화증 (osteopetrosis)을 보인다[30]. Rho와 Rac에 대한 DEX의 영향과 유사하게, DEX는 M-CSF에 의해 유도되는 Vav3의 인산화를 억제한다. 즉 GC는 Vav3, RhoA, 그리고 Rac의 활성을 억제함으로써 세포골격화를 저해한다.

3. 파골세포의 뼈흡수 기능에 대한 글루코코르티코이드의 영향

GC에 의한 actin ring 형성 저해는 궁극적으로 파골세포의 뼈 흡수기능 저하를 초래한다. WT과 GR이 결손된 파골세포 모두에서 DEX가 존재하지 않을 경우에는 파골세포의 기능을 나타내는 흡수 구멍(resorption pit)이 많이 형성됨을 볼 수 있다. DEX의 존재 하에서 GR이 결손된 세포는 많은 구멍을 생산하나 WT의 경우 DEX는 세포의 뼈 흡수능을 현저히 억제한다. In vitro와 유사하게, in vivo에서도 일치된 결과를 보여준다. 파골세포의 뼈 흡수를 유도하는 parathyroid hormone (PTH)만 주사한 그룹의 쥐에서는 파골세포가 뼈의 표면에 부착되고 resorptive organelle인 ruffled membrane의 형성이 잘 되나, PTH와 DEX를 같이 주사한 WT 그룹에서는 파골세포가 뼈의 표면에 부착되지 않고 ruffled membrane이 형성되지 않는다. 더욱이 DEX와 PTH를 같이 주사한 WT 그룹의 경우, 파골세포의 활성을 나타내는 혈청 내 TRACP 5b (Tartrate-resistant acid phosphatase 5b)의 수준이 DEX에 의해 저해됨을 알 수 있다. WT과는 대조적으로, GR이 결손된 쥐의 그룹에서는 DEX가 존재할 경우에도 PTH에 의해 유도되는 TRACP 5b의 수준이 저해되지 않는다. 또한 WT과 GR이 결손된 쥐에 있어 이러한 뼈 흡수 정도의 차이는 파골세포의 수에 의한 것이 아니며, 이는 in vivo에서 DEX의 억제 효과가 파골세포의 수에 대한 저해기작이 아니라 세포의 활성에 대한 저해기작에 의함을 나타낸다.

4. 뼈의 리모델링에 대한 글루코코르티코이드의 영향

GC가 in vitro와 in vivo에서 파골세포의 기능을 저해한다는 결과를 바탕으로 뼈의 리모델링에 대한 영향을 조사한 결과 WT 쥐에서 DEX는 조골세포의 기능을 나타내는 지표인 mineral apposition rate를 저해하며, 이와 더불어 bone formation rate도 현저히 저해한다. 이에 반해 DEX는 GR이 결손된 쥐에서는 아무런 영향을 미치지 않는다. 더욱이 DEX는 WT에서 뼈 형성의 생화학적 지표인 osteocalcin과 alkaline phosphatase의 활성을 저해한다. 그러므로 GC는 파골세포의 기능을 저해하고 이는 조골세포의 기능 저해로 이어져 결국 뼈의 형성이 감소하는 결과를 초래한다.

5. Calpain6: 글루코코르티코이드의 표적분자

본 연구진은 파골세포에서 GC에 의해 유도되는 골다공증의 기작을 좀 더 자세히 밝히기 위해 파골세포에 DEX를 처리한 후 microarray를 수행하였으며 GC의 표적인자로 Calpain6를 발굴하였다. 클래식한 calpain인 Capn1 (μ -calpain)과 Capn2 (m-calpain)는 cysteine protease로 세포

의 이동과정에서 integrin에 의해 일어나는 세포골격화에 관여한다고 알려져 있으며[31,32] 파골세포의 이동과 뼈흡수 기능을 조절한다고 알려져 있다[33]. 이러한 클래식한 calpain과는 달리 Capn6는 효소의 활성에 필수적인 cysteine이 없어 protease로서의 기능이 결여된 독특한 calpain이다.

파골세포로의 분화동안 Capn6의 발현은 점차 증가하나, Capn6의 과다발현이나 shRNA에 의한 발현억제를 통한 파골세포의 분화에는 영향을 미치지 않는다. 반면, Capn6는 파골세포의 actin ring에 위치하고 Capn6의 과다발현은 파골세포의 spreading을 유도하고 매우 큰 actin ring 형성을 촉진함으로써 세포의 뼈 흡수기능을 증가시킨다. 또한 Capn6의 발현억제는 세포골격화와 뼈 흡수 기능의 손상을 초래한다[34]. 파골세포에 있어 actin ring 형성은 microtubule의 안정화와 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다[35]. Capn6는 microtubule의 성분인 tubulin과 결합하고 그의 과다발현은 microtubule의 acetylation과 안정화를 촉진하는 반면, 발현억제는 microtubule의 안정화를 저해한다.

파골세포의 골격화에는 β integrin이 중요한 역할을 하며 β integrin이 결핍된 쥐는 세포의 기능저하로 인해 골석화증을 보인다[27,36]. β integrin이 결핍된 쥐의 경우 파골세포로의 분화는 정상적으로 이루어지나 actin ring의 형성이나 뼈 흡수 기능이 저해되어 있다. 이러한 특징적인 현상은 Capn6의 발현억제의 경우와 매우 유사하며, 실제 Capn6의 발현억제 후 β integrin의 단백질 발현은 현저히 감소한다[34].

또한 DEX 처리에 의해 microtubule의 안정화와 acetylation, 그리고 β integrin 단백질의 발현이 저해되며,

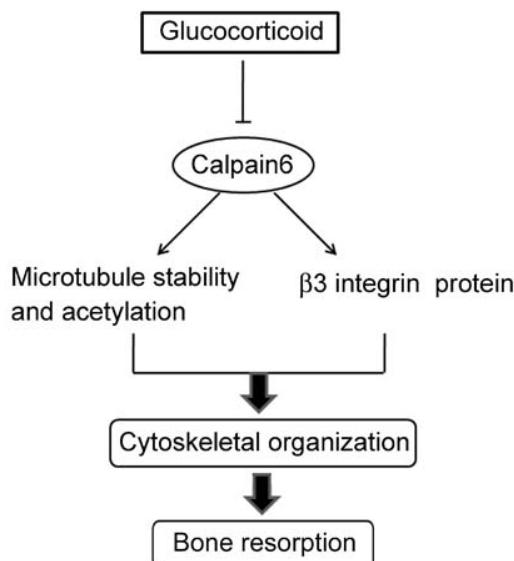


Fig. 2. Capn6 promotes cytoskeletal organization, microtubule stability, and the expression of β integrin protein in osteoclasts and its inhibition may be a means by which glucocorticoids suppress bone remodeling.

이러한 사실은 Capn6가 GC의 표적분자임을 입증해준다[34]. 즉, GC는 파골세포의 골격화와 microtubule의 안정화에 중요한 역할을 하는 Capn6의 발현을 저해함으로써 파골세포의 뼈 흡수기능을 억제한다(Fig. 2).

결 론

앞서 살펴본 연구 결과를 토대로 GC는 뼈 형성에 있어 두 가지 기작으로 작용함을 알 수 있다. 첫째, GC는 조골세포의 기능을 직접적으로 저해한다. 둘째, GC는 파골세포의 기능을 직접적으로 저해하고, 뼈의 리모델링 과정에서, 이는 다시 조골세포의 기능저하를 초래한다. 즉, GC는 파골세포의 분화에는 영향을 미치지 않지만, 성숙한 파골세포의 기능

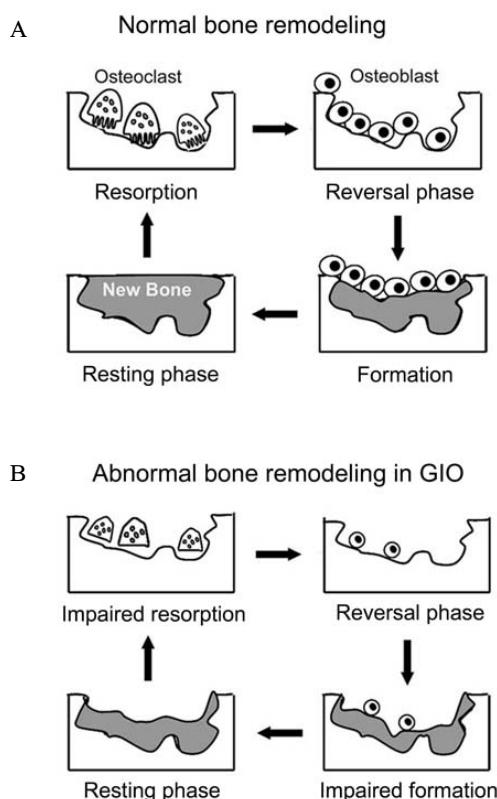


Fig. 3. Comparison of a normal cycle of bone remodeling (A) with an abnormal one caused by glucocorticoid excess (B). Resorptive phase: activated osteoclasts resorb a discrete area of mineralized bone matrix. Reversal phase: subsequently osteoblasts migrate into resorption lacuna, possibly by factors produced by the osteoclast. Formative phase: the osteoblasts deposit new bone matrix, possibly by factors produced by the osteoclast or released from the bone matrix. Resting phase: once embedded, the osteoblasts mature into terminally differentiated osteocytes. Note the impaired recruitment and decreased number of osteoblast as well as the incomplete repair of bone in glucocorticoid-induced osteoporosis (GIO). Newly formed bone is in gray.

에 필수적인 세포골격화를 억제한다. 이는 GC가 세포골격화와 microtubule의 안정화 그리고 β_3 integrin 단백질의 발현에 중요한 역할을 하는 Calpain6를 저해함으로써 일어난다. 기능이 저해된 파골세포로 인해 뼈 흡수가 일어난 같은 자리로 조골세포가 이동하지 못하게 되고, 더 나아가 조골세포의 증식과 기능이 저해됨으로써 뼈의 형성 감소가 일어나게 되며, 결국 골다공증을 일으키게 된다(Fig. 3). GC에 의해 활성이 저해된 파골세포가 다시 조골세포의 활성을 저해하는 기작은 자세히 밝혀진 바가 없으나, 두 가지의 가설이 가능하다. 첫째, 파골세포의 기능이 저해됨으로써 TGF- β 와 같은 조골세포의 성장을 촉진하는 단백질의 생산 혹은 이동이 감소될 것이다. 둘째, 파골세포의 기능 저해로 인해 파골세포 그 자체에 의한 chemotactic cytokine의 생산도 감소할 것이라 추정된다. 이러한 가설에 대한 해답은 GIO의 병리학적 기작을 이해하는데 도움이 될 뿐만 아니라 뼈의 리모델링에 대한 일반적인 기작을 밝히는데도 중요하다.

그러나 이러한 연구 결과는 염증관련 질병으로 인해 GC를 투여하는 환자에게서, 뼈 흡수가 1년 동안 급격히 증가되는 것에 대한 질문은 여전히 남겨 둔다. 이러한 현상은 GC에 의한 영향을 받지 않는 TNF- α 와 RANKL와 같은 단백질들이 계속 존재하기 때문이라고 추정된다. 실제로 RANKL와 TNF- α 모두 파골세포의 cytoskeleton에 대한 DEX의 저해 효과를 막을 수 있음이 본연구진에 의해 확인되었다. 다시 말해, GC는 염증과 관련된 cytokine이 존재하거나 혹은 부재 시에 따라 뼈에 대한 특정한 효과를 나타낸다고 추정되며 이에 대한 정확한 기작은 앞으로 연구되어야 할 과제로 남아 있다.

참 고 문 헌

1. Weinstein RS: Glucocorticoid-induced osteoporosis. Rev Endocr Metab Disord 2:65-73, 2001
2. Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, Bhattacharyya S, Brewer JA, Muglia LJ, Ross FP, Teitelbaum SL: Glucocorticoids suppress bone formation via the osteoclast. J Clin Invest 116:2152-2160, 2006
3. Weinstein RS, Chen JR, Powers CC, Stewart SA, Landes RD, Bellido T, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC: Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids. J Clin Invest 109:1041-1048, 2002
4. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC: Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. J Clin Invest 102:274-282, 1998

5. Liu Y, Porta A, Peng X, Gengaro K, Cunningham EB, Li H, Dominguez LA, Bellido T, Christakos S: Prevention of glucocorticoid-induced apoptosis in osteocytes and osteoblasts by calbindin-D28k. *J Bone Miner Res* 19:479-490, 2004
6. Smith E, Coetze GA, Frenkel B: Glucocorticoids inhibit cell cycle progression in differentiating osteoblasts via glycogen synthase kinase-3beta. *J Biol Chem* 277:18191-18197, 2002
7. Canal E: Clinical review 83: Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3441-3447, 1996
8. Pereira RC, Delany AM, Canal E: Effects of cortisol and bone morphogenetic protein-2 on stromal cell differentiation: correlation with CCAAT-enhancer binding protein expression. *Bone* 30:685-691, 2002
9. Pereira RM, Delany AM, Canal E: Cortisol inhibits the differentiation and apoptosis of osteoblasts in culture. *Bone* 28:484-490, 2001
10. Ito S, Suzuki N, Kato S, Takahashi T, Takagi M: Glucocorticoids induce the differentiation of a mesenchymal progenitor cell line, ROB-C26 into adipocytes and osteoblasts, but fail to induce terminal osteoblast differentiation. *Bone* 40:84-92, 2007
11. Pereira RC, Delany AM, Canal E: CCAAT/enhancer binding protein homologous protein (DDIT3) induces osteoblastic cell differentiation. *Endocrinology* 145:1952-1960, 2004
12. Canal E: Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Curr Osteoporos Rep* 3:98-102, 2005
13. Wu Z, Bucher NL, Farmer SR: Induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes is mediated by C/EBPbeta, C/EBPdelta, and glucocorticoids. *Mol Cell Biol* 16:4128-4136, 1996
14. Wedel A, Ziegler-Heitbrock HW: The C/EBP family of transcription factors. *Immunobiology* 193:171-185, 1995
15. Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 329:177-181, 2005
16. Smith E, Frenkel B: Glucocorticoids inhibit the transcriptional activity of LEF/TCF in differentiating osteoblasts in a glycogen synthase kinase-3beta-dependent and -independent manner. *J Biol Chem* 280:2388-2394, 2005
17. Aubin JE: Osteoprogenitor cell frequency in rat bone marrow stromal populations: role for heterotypic cell-cell interactions in osteoblast differentiation. *J Cell Biochem* 72:396-410, 1999
18. Purpura KA, Aubin JE, Zandstra PW: Sustained in vitro expansion of bone progenitors is cell density dependent. *Stem Cells* 22:39-50, 2004
19. 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
20. Rubin J, Biskobing DM, Jadhav L, Fan D, Nanes MS, Perkins S, Fan X: Dexamethasone promotes expression of membrane-bound macrophage colony-stimulating factor in murine osteoblast-like cells. *Endocrinology* 139:1006-1012, 1998
21. Pearce G, Tabensky DA, Delmas PD, Baker HW, Seeman E: Corticosteroid-induced bone loss in men. *J Clin Endocrinol Metab* 83:801-806, 1998
22. Prummel MF, Wiersinga WM, Lips P, Sanders GT, Sauerwein HP: The course of biochemical parameters of bone turnover during treatment with corticosteroids. *J Clin Endocrinol Metab* 72:382-386, 1991
23. Dempster DW: Bone histomorphometry in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 4:137-141, 1989
24. Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, Palermo L, McGowan JA, Lang TF, Garnero P, Bouxsein ML, Bilezikian JP, Rosen CJ: The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 349:1207-1215, 2003
25. Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, Wyland JJ, Lee H, Neer RM: The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med* 349:1216-1226, 2003
26. Teitelbaum SL: Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am J Pathol* 170:427-435, 2007
27. Faccio R, Novack DV, Zallone A, Ross FP, Teitelbaum SL: Dynamic changes in the osteoclast cytoskeleton in response to growth factors and cell

- attachment are controlled by beta3 integrin. *J Cell Biol* 162:499-509, 2003
28. Nakamura I, Kadono Y, Takayanagi H, Jimi E, Miyazaki T, Oda H, Nakamura K, Tanaka S, Rodan GA, Duong le T: IL-1 regulates cytoskeletal organization in osteoclasts via TNF receptor-associated factor 6/c-Src complex. *J Immunol* 168:5103-5109, 2002
29. Chellaiah MA, Soga N, Swanson S, McAllister S, Alvarez U, Wang D, Dowdy SF, Hruska KA: Rho-A is critical for osteoclast podosome organization, motility, and bone resorption. *J Biol Chem* 275:11993-12002, 2000
30. Faccio R, Teitelbaum SL, Fujikawa K, Chappel J, Zallone A, Tybulewicz VL, Ross FP, Swat W: Vav3 regulates osteoclast function and bone mass. *Nat Med* 11:284-290, 2005
31. Glading A, Lauffenburger DA, Wells A: Cutting to the chase: calpain proteases in cell motility. *Trends Cell Biol* 12:46-54, 2002
32. Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J: The calpain system. *Physiol Rev* 83:731-801, 2003
33. Marzia M, Chiusaroli R, Neff L, Kim NY, Chishti AH, Baron R, Horne WC: Calpain is required for normal osteoclast function and is down-regulated by calcitonin. *J Biol Chem* 281:9745-9754, 2006
34. Kim H-J, Hong J-M, Kim T-H, Ross FP, Teitelbaum SL, Kim S-Y: Calpain 6 regulates osteoclastic bone resorption via cytoskeletal organization and microtubule acetylation. (unpublished)
35. Destaing O, Saltel F, Geminard JC, Jurdic P, Bard F: Podosomes display actin turnover and dynamic self-organization in osteoclasts expressing actin-green fluorescent protein. *Mol Biol Cell* 14:407-416, 2003
36. McHugh KP, Hodivala-Dilke K, Zheng MH, Namba N, Lam J, Novack D, Feng X, Ross FP, Hynes RO, Teitelbaum SL: Mice lacking beta3 integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts. *J Clin Invest* 105:433-440, 2000