

## Osteoprotegerin 유전자 다형성이 한국인 주폐경기 여성의 골대사에 미치는 영향

한림대학교 의과대학 내과학교실, 방사선과학교실<sup>1</sup>, 성균관대학교 의과대학 내과학교실<sup>2</sup>,  
가톨릭대학교 의과대학 내과학교실<sup>3</sup>

오기원 · 윤은주<sup>1</sup> · 이은정<sup>2</sup> · 이원영<sup>2</sup> · 백기현<sup>3</sup>  
강무일<sup>3</sup> · 박철영 · 임성희 · 최문기 · 유형준 · 박성우

### The Effects of Osteoprotegerin Polymorphism on Bone Mineral Metabolism in Korean Women with Perimenopause

Ki Won Oh, Eun Joo Yun<sup>1</sup>, Eun Jung Rhee<sup>2</sup>, Won Young Lee<sup>2</sup>, Ki Hyun Baek<sup>3</sup>, Moo Il Kang<sup>3</sup>,  
Cheol Young Park, Sung Hee Ihm, Moon Gi Choi, Hyung Joon Yoo and Sung Woo Park

*Department of Internal Medicine and Radiology<sup>1</sup>, College of Medicine, Hallym University, Chuncheon, Korea,*  
*Department of Internal Medicine<sup>2</sup>, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea,*  
*Department of Internal Medicine<sup>3</sup>, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul, Korea*

### ABSTRACT

**Background:** Osteoprotegerin (OPG) is a recently identified cytokine, which acts as a decoy receptor for the receptor activator of the NF- $\kappa$ B ligand (RANKL), and has also been shown to be an important inhibitor of osteoclastogenesis in animal models. However, the relationship between OPG gene polymorphism and female bone status in human populations is unclear. In this study, the relationship between OPG gene polymorphisms and bone mineral metabolism in healthy Korean women was investigated.

**Methods:** We observed 251 healthy women (mean age,  $51.3 \pm 6.9$  yr). The serum OPG concentrations were determined using ELISA, and the biochemical markers of bone turnover and FSH measured using standard methods. The bone mineral densities at the lumbar spine and femoral neck were measured by dual energy x-ray absorptiometry. The A163G, G209A, T245G and T950C polymorphisms of the OPG gene were analyzed by allelic discrimination using the 5 nuclease polymerase chain reaction assay.

**Results:** The lumbar spine BMD of premenopausal women was marginally decreased in the variant allele group compared to the wild type group (A163G,  $0.98 \pm 0.14$  g/cm<sup>2</sup> [GG + GA] vs.  $1.05 \pm 0.15$  g/cm<sup>2</sup> [AA],  $P = 0.070$ ; T245G,  $0.97 \pm 0.13$  g/cm<sup>2</sup> [GG + GT] vs.  $1.04 \pm 0.15$  g/cm<sup>2</sup> [TT],  $P = 0.056$ ). In the linkage of polymorphisms A163G and T245G, the lumbar spine BMD of premenopausal women was marginally decreased in the variant allele group compared to the wild type group ([AATT] vs. [AGTG + AGGG + GGTG + GGGG]:  $1.04 \pm 0.15$  vs.  $0.97 \pm 0.13$ ;  $P = 0.072$ ). However, there were no differences in the serum OPG levels and bone turnover markers among the different genotypes.

**Conclusion:** The A163G and T245G polymorphisms of the OPG gene were observed to be marginally associated with the lumbar spine BMD in healthy premenopausal Korean women, but further studies will be needed to clarify this relationship (J Kor Soc Endocrinol 20:204~215, 2005).

**Key Words:** Osteoprotegerin, Polymorphism, Bone mineral density

접수일자: 2005년 2월 18일

통과일자: 2005년 3월 16일

책임저자: 오기원, 한림대학교 성심병원 내과

\* 본 논문은 2004년도 대한내분비학회의 내분비 연구비의 보조에 의하여 연구되었음.

\* 본 논문의 요지는 2004년 대한내분비학회 추계학술대회에서 발표된 바 있음.

## 서 론

골다공증이란 낮은 골량과 골의 미세구조의 이상으로 가벼운 충격에도 골이 쉽게 부서지게 되어 골절의 위험도가 증가되는 전신적인 골대사질환이다. 미국의 골다공증 유병률은 National Health & Nutritional Examination Survey (NHANES III, 1988-1994)에서 50세 이상의 여성 중 골다공증은 13~18%이며 골감소증은 37~50%로 미국여성 중 골다공증 환자수가 약 오백만 명으로 예측되고 있다[1]. 또한 미국의 한 지역사회 인구집단을 이용한 자료에 의하면 백인 여성에서 평생동안 골다공증으로 인한 골절의 가능성은 약 40%로 추측되고있다[2]. 골다공증으로 인한 대퇴골 및 척추골 골절은 직접 사망의 원인이 되기도 하며 심각한 장애가 동반되고 많은 의료비가 소모되는 합병증이 흔히 병발되어 현재 전 세계적인 보건문제로 관심이 높아지고 있다. 우리나라에서도 평균 수명 및 노인 인구의 증가에 따라 골다공증 및 골다공증으로 인한 골절이 급격히 증가되고 이에 따라 의학적, 사회적, 그리고 경제적 차원에서 심각한 보건 문제가 될 것으로 전망된다.

골량의 결정과 골다공증의 발생은 선천적인 유전적 인자와 후천적인 환경 인자에 의해 영향을 받지만 골량의 결정에 가장 많은 영향을 미치는 인자는 유전적 인자로 알려져 있다. 아직까지 골량의 결정과 골다공증의 발생에 영향을 미치는 유전적 인자가 모두 밝혀져 있지는 않지만, 현재까지 보고된 서구의 대표적인 연구로는 비타민 D 수용체 유전자 다형성[3]과 에스트로겐 수용체 유전자(estrogen receptor gene) 다형성[4] 및 교원질 1형 알파 유전자(collagen type I alpha 1 gene) 다형성[5] 등이 있다. 그러나 기존의 서구에서 보고된 골량의 결정과 골다공증의 발생에 영향을 미치는 유전적 인자가 우리나라에서는 다른 결과가 보고되고 있다. 우리나라에서 폐경 후 골다공증 여성을 대상으로 비타민 D 수용체 유전자 다형성을 조사한 결과는 골다공증 환자와 연관성이 없어 골다공증 발생의 고위험 환자의 조기 발견에 도움이 되지 않았다[6]. 또한 에스트로겐 수용체 유전자 다형성도 폐경 후 여성에서 골밀도 및 생화학적 골교체 표지자의 변화와 에스트로겐 대체요법의 반응에 연관성이 없었으며[7], 1형 교원질 유전자 다형성은 우리나라 폐경 후 여성에서 관찰되지 않았다[8]. 따라서 우리나라 여성에서 골량 형성과 골다공증 및 골절 발병에 영향을 미치는 유전적 인자의 탐색이 시급한 실정이다.

Osteoprotegerin (OPG)은 수용성의 새로운 종양괴사인자 수용체(tumor necrosis factor [TNF] receptor) 상과에 속한 당단백이며 여러 연구자들에 의하여 비슷한 시기에 독립적으로 발견되어 보고되었다[9~11]. OPG는 파골세포 분화의 핵심 조절인자인 receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL)의 decoy receptor로서 파골세포 표면의 RANKL에

receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK) 대신 결합하여 파골세포 분화를 억제하는 것으로 알려져 있다[12,13]. OPG 유전자를 과발현시키거나 OPGL 유전자를 결손 시킨 쥐에서는 전형적인 골화석증과 골수협착이 나타나며[9,14], OPG 유전자를 결손 시킨 쥐에서는 파골세포 형성이 증가되어 심한 골다공증이 발병된다[15,16]. 동물 실험에서 유전자 재조합 OPG를 주사한 경우에는 골량을 증가시키고[9,17], OPG 유전자를 결손시킨 뒤 유전자 재조합 OPG를 정맥주사하거나 OPG를 유전적으로 과발현시키면 골다공증을 예방할 수 있다[18]. 시험관 실험에서도 OPG는 전구파골세포의 분화, 생존 및 융합을 억제하며, 성숙파골세포로의 활성화를 차단하고, 파골세포의 세포자멸사를 유도하는 것으로 보고되고 있다[19~25]. 서구인의 연구에서 혈중 OPG 농도는 골밀도 및 생화학적 골교체 표지자와 연관성이 관찰되었으며[26~28], 한국인 주폐경기 여성과[29] 중년 남성에서도[30] 혈중 OPG와 RANKL 농도가 골대사와 연관된 인자로 관찰되어, 인간에서도 OPG-RANKL 계가 골대사에 관련된 역할을 가질 것으로 생각된다.

최근까지 보고된 OPG 유전자 다형성은 12부위가 있으나 이중 기능이 탐색된 부위는 A163G (promotor), G209A (promotor), T245G (promotor), T950C (promotor), G118-1C (exon 1), C1217T (intron 1), A6890C (intron 4) 등이 있다. 가장 많은 OPG 유전자 다형성 부위를 조사한 Langdahl 등의 268명의 Denmark 골다공증 환자에서의 연구에서는 A163G 부위는 G allele이 골절환자에서 많았고 T245G 부위는 G allele이 골다공증 환자에서 많았다[31]. Jorgensen 등의 107명의 또 다른 Denmark 골절 환자에서의 연구에서도 A163G 부위의 G allele이 골밀도와 연관되어 있었으며 골절환자에서 더 많이 관찰되었다[32]. 또한 Arko 등의 103명의 Slovenia 폐경후 골다공증 환자를 대상으로 조사한 결과에서는 G209A와 T245G 부위의 유전자 다형성이 골밀도와 연관되어 있었다[33]. 동양에서는 Yamada 등의 2,000여명의 일본인 연구에서 T245G와 T950C 부위의 유전자 다형성의 동종접합체 돌연변이 군에서 골밀도가 더 낮게 관찰되었다[34]. 이상의 외국의 보고된 결과에서 A163G, G209A, T245G, T950C 부위 등이 골밀도 및 골다공증으로 인한 골절과 연관되어 OPG 유전자가 인간에서 골대사의 병인에 관련된 유전자 중의 하나로 기대되나, 기존의 연구 결과들이 일치하지 않고 한국인에서의 연구가 매우 드문 상황이다. 따라서 본 연구에서는 건강한 한국인 주폐경기 여성을 대상으로 기존에 외국에서 골대사와의 연관성이 검증된 A163G, G209A, T245G, T950C 부위의 유전자 다형성과 혈청 OPG 농도, 생화학적 골교체 표지자 및 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도와의 상호관계를 분석하여, 건강한 한국인 주폐경기 여성에서 골대사에 대한 OPG 유전자 다형성의 역할을 규명하고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

연구대상은 2002년 1월 1일부터 2002년 12월 31일까지 12개월간 건강진단을 목적으로 내원한 주폐경기 여성 중 검사에 동의한 사람을 대상으로 하였다. 대상군중 과거력 상 갑상선질환, 부갑상선질환, 뇌하수체질환, 부신질환, 당뇨병, 만성신장질환, 만성간질환, 알코올 중독, 악성종양 등의 골대사에 영향을 미치는 질환자와 고지혈증치료제, 부신피질 호르몬, 갑상선호르몬, 여성호르몬, 이노제, 비스포스포네이트, 칼시토닌, 항간질성 약물, 헤파린 등 골대사에 영향을 미치는 약물 복용자를 제외한 251명 (평균 연령,  $51.3 \pm 6.9$  세; 연령 범위, 37~73세)을 최종 연구대상으로 하였다. 연구 대상은 133명의 폐경 후 여성 (평균 연령  $55.0 \pm 6.7$  세)과 118명의 폐경 전 여성 (평균 연령  $46.8 \pm 3.8$  세)으로 구성되었다. 자연적 폐경의 정의는 마지막 생리일로부터 12개월 이상 월경이 없고, 혈청 난포자극호르몬 (follicle stimulating hormone, FSH, chemiluminescent sandwich immunoassay, ADVIA Centaur Estradiol Assay, Bayer Corp., USA) 농도가 40 mIU/mL 이상인 경우로 하였다. 혈청 FSH 농도측정의 정밀도는 intra-assay 변동계수 (coefficient of variation) 는 2.0~2.9%, interassay 변동계수는 0.3~2.7%이었다.

### 2. 혈청 OPG 농도 측정

연구대상에서 혈청 OPG (enzyme-linked immunosorbent assay, Oscotec, Korea) 농도는 8시간 이상 금식 후 공복 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 섭씨 영하 80℃에 보관 후 일괄적으로 측정하였으며 2회 반복측정하여 평균농도를 구하였다. 혈청 OPG의 intra-assay 변동계수는 6.9~9.0%, inter-assay 변동계수는 6.0~9.0%이었다.

### 3. 골밀도 및 골교체 표지자 검사

전체 연구대상자에서 골밀도는 요추골과 대퇴골 경부에 서 이중에너지 방사선흡수계측기 (dual energy X-ray absorptiometer, DXA, XR-series, Norland, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. 골밀도 측정의 정밀도는 요추골의 경우, 1.0% 변동계수이었으며 대퇴골 경부의 경우, 1.2% 변동계수이었다. 생화학적 골교체 표지자는 골형성 표지자로 혈청 알칼리성인산분해효소 (alkaline phosphatase, multiple point rate colorimetric, Vitros 750 XRC, Johnson & Johnson, USA)와 골흡수 표지자로 요 deoxypyridinoline (chemiluminescence immunoassay, ACS-180, CIBA-corning, USA) 농도를 측정하였으며, 24시간 요 칼슘 배설량과 혈청 칼슘 (colorimetric, Vitros, Ortho-Clinical Diagnostics, U.S.A.)을 측정하였다. 요 deoxypyridinoline의 정밀도는 intra-assay 변동계수 1.1~3.7%, inter-assay 변동계수는 4.0~10.0%

이었다.

### 4. OPG 유전자 다형성의 유전자형 분석

연구대상의 정맥혈액에서 연층막 (buffy coat)을 분리하여 섭씨 영하 80℃에 보관한 후 DNA purification kit를 이용하여 genomic DNA를 추출하여 OPG 유전자다형성의 유전자형을 분석하였다. TaqMan probe를 이용한 allelic discrimination assay는 PCR 반응 도중이나 후에 발생하는 형광 reporter signal을 검출하기 위하여 Taq 중합효소의 5' nuclease 활성도를 이용하였다. 단일염기 유전자다형성 (single nucleotide polymorphism, SNP)의 유전자형 분석 반응에는 한 쌍의 TaqMan probe와 한 쌍의 PCR primer를 사용하였다. 한 쌍의 TaqMan probe는 각각 다형성 부위를 포함하게 하며, 각각의 유전형에 따라 상보적으로 일치하는 서열을 갖도록 한다. 이 각각의 TaqMan probe의 5'말단에는 reporter dye가, 3'말단에는 quencher dye가 공유 결합되어 있어, TaqMan probe는 온전한 경우에는 reporter와 quencher dye가 가까이 존재하기 때문에 형광이 quench되어 검출되지 않는다. PCR의 annealing 단계에서 유전체 DNA와 상보적으로 일치하는 TaqMan probe가 각각 다형성 부위에 결합되고, extension 단계에서 Taq 중합효소의 5' nuclease 활성도에 의하여 5'말단부가 분해된다. 이때 reporter dye가 quencher dye로부터 분리되기 때문에 각 reporter dye에 고유한 형광을 내게 된다. 각각의 TaqMan probe에 각각 서로 다른 reporter dye를 결합시키면, 서로 다른 reporter dye의 형광 강도를 각각 측정하여 SNP의 유전자형을 분석한다 (Fig. 1).

#### 1) A163G

downstream primer, 5' CTG GAG ACA TAT AAC TTG AAC A 3'

upstream primer, 5' CCA TCA TCA AAG GGC TAT TGG T 3'

#### 2) G209A

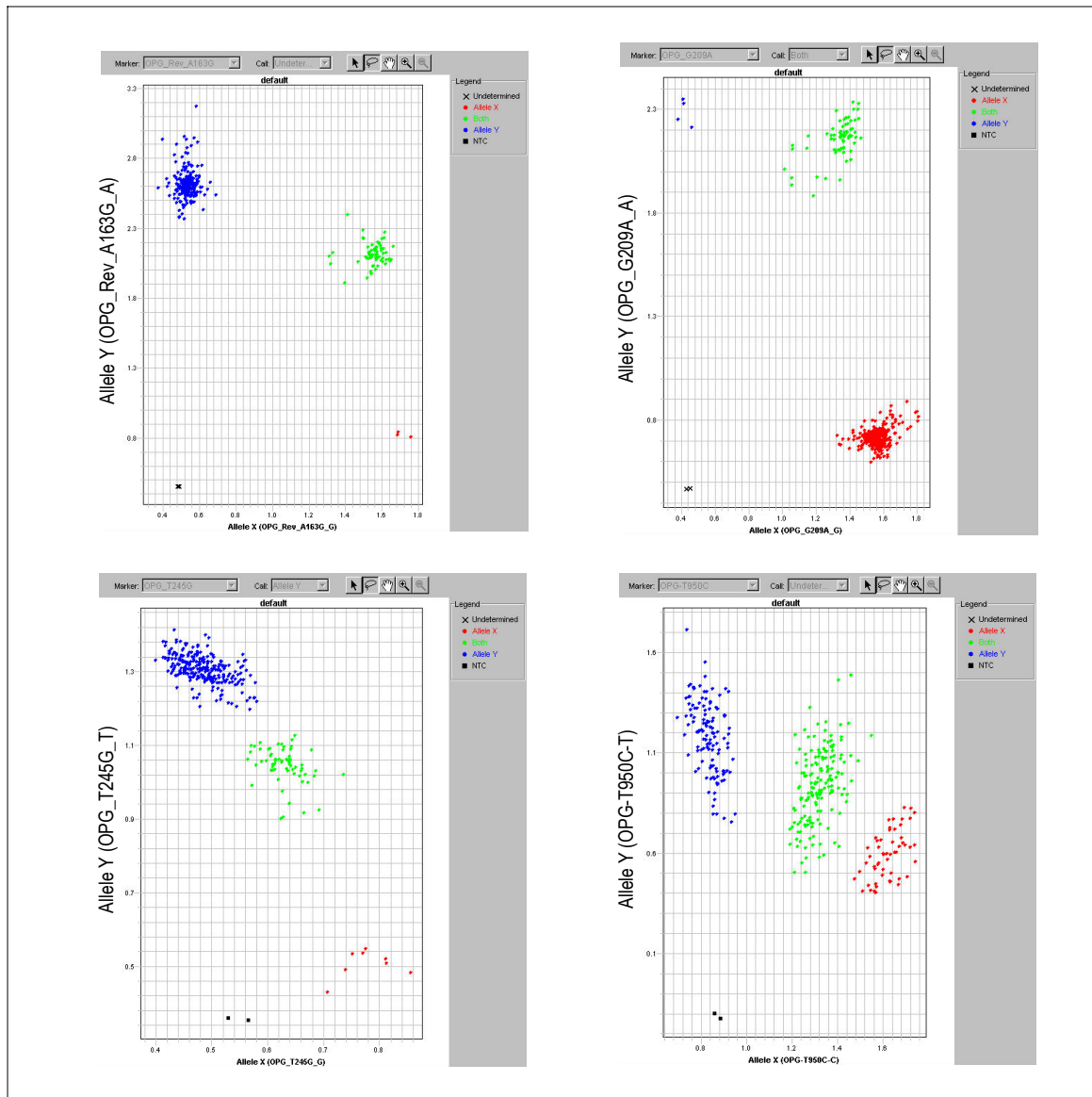
downstream primer, 5' CTG GAG ACA TAT AAC TTG AAC A 3'

upstream primer, 5' CCA TCA TCA AAG GGC TAT TGG T 3'

#### 3) T245G

downstream primer, 5' CTG GAG ACA TAT AAC TTG AAC A 3'

upstream primer, 5' CCA TCA TCA AAG GGC TAT TGG T 3'



**Fig. 1.** Allelic discrimination using the 5 nuclease polymerase chain reaction assay

#### 4) T950C

downstream primer, 5' GTT CCT CAG CCC GGT GGC TTT T 3'

upstream primer, 5' TGT GGT CCC CGG AAA CCT CAG G 3'

#### 5. 통계분석

OPG 유전자 다형성 유전자형에 따른 혈청 OPG 농도, 생화학적 골교체 표지자 및 골밀도는 평균과 표준편차로 표시하며 OPG 유전자형 사이의 각 인자의 차이는 t-검정을 이용하여 비교하고, 또한 OPG 유전자형 분포의 적합성은 Hardy-Weinberg equilibrium을 이용하여 검증한다.

## 결 과

### 1. 일반적 특성

평균 연령은  $51.3 \pm 6.9$ 세이며 연령 범위는 37~73세이었고 평균 체질량지수는  $24.0 \pm 2.9 \text{ kg/m}^2$ 이었으며 평균 허리 엉덩이둘레비는  $0.85 \pm 0.06$ 이었다. 평균 혈청 칼슘 농도는  $9.00 \pm 0.34 \text{ mg/dL}$ 이었고 평균 혈청 알칼리성인산분해효소 농도는  $59.7 \pm 18.5 \text{ U/L}$ 이었으며 평균 요 deoxypyridinoline 농도는  $7.08 \pm 2.06 \text{ nMol/mMol}$ 이었고 평균 요 칼슘 배설량(urine calcium to creatinine ratio)은  $0.22 \pm 0.12$ 이었다. 요추골 2번에서 4번 사이의 평균 골량은  $0.96 \pm 0.17 \text{ g/cm}^2$ 이고, 대퇴골 경부의 평균 골량은  $0.80 \pm 0.12 \text{ g/cm}^2$ 이었다. 평균 혈청 크레아티닌 농도는  $0.70 \pm 0.09 \text{ mg/dL}$ 이었고 평균 혈청 갑상선자극호르몬 농도는  $1.93 \pm 1.24$

**Table 1.** General Characteristics of the Subjects

	<i>n</i> =251	Means $\pm$ SDs
Age (years)		51.3 $\pm$ 6.9
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )		24.0 $\pm$ 2.9
Waist to Hip Ratio		0.85 $\pm$ 0.06
Serum Osteoprotegerin Levels (pg/mL)		1293.9 $\pm$ 401.3
Serum Creatinine Levels (mg/dL)		0.70 $\pm$ 0.09
Serum Calcium Levels (mg/dL)		9.00 $\pm$ 0.34
Serum Alkaline Phosphatase Levels (mg/dL)		59.7 $\pm$ 18.5
Urine Deoxypyridinoline Levels (nMol/mMol)		7.08 $\pm$ 2.06
24-Hour Urine Calcium to Creatinine Ratio		0.22 $\pm$ 0.12
Follicle Stimulating Hormone (mIU/mL)		40.0 $\pm$ 31.5
Thyroid Stimulating Hormone (mIU/L)		1.93 $\pm$ 1.24
Lumbar Spine Bone Mineral Density (g/cm <sup>2</sup> )		0.96 $\pm$ 0.17
Femoral Neck Bone Mineral Density (g/cm <sup>2</sup> )		0.80 $\pm$ 0.12

Data are given as mean values $\pm$ SDs.

**Table 2.** Genotype Frequency of OPG Polymorphism

OPG Site	Genotype	Observed	%	Expected	%	p-value
A163G	AA	196	78.4	196	78.5	0.988
	AG	51	20.4	51	20.2	
	GG	3	1.2	3	1.3	
G209A	GG	199	79.9	199	79.8	0.993
	GA	47	18.9	47	19.0	
	AA	3	1.2	3	1.1	
T245G	TT	194	78.9	194	78.9	0.999
	TG	49	19.9	49	19.9	
	GG	3	1.2	3	1.2	
T950C	TT	82	33.1	84	33.7	0.915
	TC	124	50.0	121	48.7	
	CC	42	16.9	44	17.6	

Hardy-Weinberg equilibrium analyzed by chi-square test.

mIU/L이었으며 평균 혈청 난포자극호르몬 농도는 40.0 $\pm$ 31.5 mIU/mL이었다(이상 요약, Table 1).

## 2. OPG 유전자 다형성 유전자형 분포

A163G OPG 유전자 다형성의 유전자형 빈도는 정상유전자 군(wild type, AA) 78.5%, 이종접합체(heterozygote, AG) 20.2%, 동종접합체(homozygote, GG) 1.3%이었고, G209A OPG 유전자 다형성의 유전자형 빈도는 정상유전자 군(GG) 79.8%, 이종접합체(GA) 19.0%, 동종접합체(AA) 1.1%이었으며, T245G OPG 유전자 다형성의 유전자형은 정상유전자 군(TT) 78.9 %, 이종접합체(TG) 19.9%, 동종

접합체(GG) 1.2%이었고, T950C OPG 유전자 다형성의 유전자형은 정상유전자 군(TT) 33.7%, 이종접합체(TC) 48.7%, 동종접합체(CC) 17.6%로 모두 Hardy-Weinberg 식에 합당하였다(Table 2).

A163G OPG 유전자 다형성의 대립유전자(allele) 빈도는 A 대립유전자는 88.6%, G 대립유전자는 11.4 %이었고, G209A OPG 유전자 다형성의 G 대립유전자는 89.4%, A 대립유전자는 10.6%이었으며, T245G OPG 유전자 다형성의 T 대립유전자는 88.8%, G 대립유전자는 11.2%이었고, T950C OPG 유전자 다형성의 T 대립유전자는 58.1%, C 대립유전자는 41.9%이었다.

**Table 3.** Biochemical Marker of Bone Turnover according to A163G OPG Polymorphism

Genotype	AA (n=196)	AG+GG (n=54)	P
Serum Osteoprotegerin (pg/mL)	1292.1 ± 402.4	1321.9 ± 403.4	0.632
Serum Calcium (mg/dL)	9.00 ± 0.34	9.04 ± 0.38	0.353
Serum Alkaline Phosphatase (U/L)	60.2 ± 17.5	56.5 ± 18.1	0.174
Urine Doxypyridinoline (nMol/mMol)	7.04 ± 2.01	7.29 ± 2.13	0.418
Urine Calcium to Creatinine Ratio	0.23 ± 0.12	0.21 ± 0.13	0.338

**Table 4.** Biochemical Marker of Bone Turnover according to G209A OPG Polymorphism

Genotype	GG (n=199)	GA+AA (n=50)	P
Serum Osteoprotegerin (pg/mL)	1298.2 ± 404.4	1314.0 ± 385.8	0.804
Serum Calcium (mg/dL)	8.99 ± 0.34	9.04 ± 0.38	0.353
Serum Alkaline Phosphatase (U/L)	60.2 ± 17.5	56.5 ± 18.1	0.338
Urine Doxypyridinoline (nMol/mMol)	7.04 ± 2.00	7.42 ± 2.16	0.240
Urine Calcium to Creatinine Ratio	0.23 ± 0.12	0.20 ± 0.10	0.174

**Table 5.** Biochemical Marker of Bone Turnover according to T245G OPG Polymorphism

Genotype	TT (n=194)	TG+GG (n=52)	P
Serum Osteoprotegerin (pg/mL)	1298.9 ± 407.6	1309.5 ± 383.3	0.866
Serum Calcium (mg/dL)	9.00 ± 0.34	9.06 ± 0.39	0.214
Serum Alkaline Phosphatase (U/L)	60.2 ± 17.5	57.3 ± 18.3	0.285
Urine Doxypyridinoline (nMol/mMol)	7.03 ± 2.01	7.45 ± 2.15	0.186
Urine Calcium to Creatinine Ratio	0.23 ± 0.12	0.21 ± 0.13	0.375

### 3. OPG 유전자 다형성 유전자형에 따른 혈청 OPG 농도의 차이

OPG A163G 유전자 다형성의 유전자형에 따른 평균 혈청 OPG 농도는 AA 유전자형 (wild type) 군은 1292.1 ± 402.4 pg/mL, AG 유전자형 (이종접합체 돌연변이) 군은 1332.4 ± 411.4 pg/mL, GG 유전자형 (동종접합체 돌연변이) 군은 1143.1 ± 171.5 pg/mL이었으며 각군간에 평균 혈청 OPG 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. OPG G209A 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 평균 혈청 OPG 농도는 GG 유전자형 (wild type) 군은 1298.2 ± 404.4 pg/mL, GA 유전자형 (이종접합체 돌연변이) 군은 1324.9 ± 394.0 pg/mL, AA 유전자형 (동종접합체 돌연변이) 군은 1143.1 ± 171.5 pg/mL이었으며 각 군간에 평균 혈청 OPG 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. OPG T245G 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 평균 혈청 OPG 농도는 TT 유전자형 (wild type) 군은 1298.9 ± 407.6 pg/mL, TG 유전자형 (이종접합체 돌연변이) 군은 1319.7 ± 391.2 pg/mL, GG 유전자형 (동종접합체 돌연변이) 군은 1143.1 ± 171.5 pg/mL이었으며 각 군간에 평균 혈청 OPG 농도의 유의한

차이는 관찰되지 않았다. OPG T950C 유전자 다형성의 유전자형에 따른 평균 혈청 OPG 농도는 TT 유전자형 (wild type) 군은 1317.1 ± 388.9 pg/mL, TC 유전자형 (이종접합체 돌연변이) 군은 1282.9 ± 415.6 pg/mL, CC 유전자형 (동종접합체 돌연변이) 군은 1305.4 ± 400.2 pg/mL이었으며 각 군간에 평균 혈청 OPG 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

### 4. OPG 유전자 다형성 유전자형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 차이

OPG A163G 유전자 다형성의 유전자형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 있는 지표는 관찰되지 않았다 (Table 3).

OPG G209A 유전자 다형성의 유전자형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 있는 지표는 관찰되지 않았다 (Table 4).

OPG T245G 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유

**Table 6.** Biochemical Marker of Bone Turnover according to T950C OPG Polymorphism

Genotype	TT (n=84)	TC+CC (n=166)	P
Serum Osteoprotegerin (pg/mL)	1317.1 ± 388.9	1288.6 ± 410.7	0.604
Serum Calcium (mg/dL)	8.98 ± 0.35	9.02 ± 0.35	0.442
Serum Alkaline Phosphatase (U/L)	58.2 ± 15.7	60.2 ± 18.5	0.414/
Urine Doxypyridinoline (nMol/mMol)	7.36 ± 2.24	6.97 ± 1.90	0.158
Urine Calcium to Creatinine Ratio	0.22 ± 0.12	0.23 ± 0.12	0.741

**Table 7.** Lumbar Spine and Femoral Neck Bone Mineral Density according to A163G OPG Polymorphism

Genotype		AA (n=196)	AG+GG (n=54)	P
Total	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.97 ± 0.17	0.93 ± 0.15	0.173
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.80 ± 0.12	0.79 ± 0.12	0.686
Premenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.05 ± 0.15	0.98 ± 0.14	0.070
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.84 ± 0.10	0.82 ± 0.12	0.410
Postmenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.89 ± 0.16	0.89 ± 0.14	0.864
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.77 ± 0.13	0.77 ± 0.12	0.801

**Table 8.** Lumbar Spine and Femoral Neck Bone Mineral Density according to G209A OPG Polymorphism

Genotype		GG (n=199)	GA+AA (n=50)	P
Total	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.97 ± 0.17	0.93 ± 0.15	0.179
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.80 ± 0.12	0.79 ± 0.12	0.604
Premenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.04 ± 0.15	0.99 ± 0.14	0.128
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.84 ± 0.10	0.82 ± 0.12	0.437
Postmenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.89 ± 0.16	0.88 ± 0.14	0.727
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.77 ± 0.13	0.79 ± 0.11	0.921

전자 군 사이에 유의하게 차이가 있는 지표는 관찰되지 않았다(Table 5).

OPG T950C 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 있는 지표는 관찰되지 않았다(Table 6).

##### 5. OPG 유전자 다형성 유전자형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 차이

OPG A163G 유전자 다형성의 유전자형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 전체 연구대상에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 관찰되지 않았으나, 폐경 전 여성에서는 돌연변이 유전자 군에서 정상유전자 군과 비교하여 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다([AA] vs. [AG+GG]: 1.05 ± 0.15 vs. 0.98 ± 0.14; P = 0.070) (Table 7).

OPG G209A 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 모든 골밀도에서 유의하게 차이가 관찰되지 않았다(Table 8).

OPG T245G 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 전체 연구대상에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 관찰되지 않았으나, 폐경 전 여성에서는 돌연변이 유전자 군에서 정상유전자 군과 비교하여 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다([TT] vs. [TG+GG]: 1.04 ± 0.15 vs. 0.97 ± 0.13; P = 0.056) (Table 9).

OPG T950C 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 모든 골밀도에서 유의하게 차이가 관찰되지 않았다(Table 10).

**Table 9.** Lumbar Spine and Femoral Neck Bone Mineral Density according to T245G OPG Polymorphism

Genotype		TT (n=194)	TG+GG (n=52)	P
Total	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.96 ± 0.17	0.93 ± 0.14	0.156
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.80 ± 0.12	0.79 ± 0.12	0.598
Premenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.04 ± 0.15	0.97 ± 0.13	0.056
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.84 ± 0.10	0.82 ± 0.12	0.306
Postmenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.89 ± 0.16	0.89 ± 0.14	0.998
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.76 ± 0.12	0.77 ± 0.12	0.713

**Table 10.** Lumbar Spine and Femoral Neck Bone Mineral Density according to T950C OPG Polymorphism

Genotype		TT (n=84)	TC+CC (n=166)	P
Total	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.95 ± 0.17	0.96 ± 0.17	0.741
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.81 ± 0.11	0.80 ± 0.12	0.575
Premenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.03 ± 0.15	1.03 ± 0.15	0.994
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.85 ± 0.10	0.83 ± 0.11	0.273
Postmenopause	Lumbar Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.89 ± 0.15	0.90 ± 0.16	0.749
	Femoral Neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.77 ± 0.11	0.77 ± 0.13	0.989

## 6. OPG 유전자의 유전자 다형성 A163G와 T245G의 연관성에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도

OPG 유전자의 유전자 다형성 A163G와 T245G의 연관(linkage)에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 전체 연구대상에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 관찰되지 않았으나, 폐경 전 여성에서는 돌연변이 유전자 군에서 정상유전자 군과 비교하여 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다(AATT vs. AGTG + AGGG + GGTG + GGGG:  $1.04 \pm 0.15$  vs.  $0.97 \pm 0.13$ ;  $P = 0.072$ ).

## 고 찰

본 연구에서 OPG 유전자 다형성의 유전자형에 따른 평균 혈청 OPG 농도는 관찰된 모든 OPG 유전자 다형성에서 정상 유전자 군, 이종접합체 돌연변이 군, 동종접합체 돌연변이 군 사이에 평균 혈청 OPG 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 468명의 관상동맥질환 남성에서 OPG 유전자 다형성 T149C, A163G, G209A, T245G, T950C, G1181C에서 각각의 유전자 다형성 유전자형별로 혈청 OPG 농도를 관찰한 외국의 연구에서 T950C 유전자 다형성의 C 대립유전자를 가진 군에서만 혈청 OPG 농도가 유의하게 높게 관찰되었고 다른 모든 부위의 유전자 다형성에서는 유전

자형별로 혈청 OPG 농도의 유의한 차이가 없었다[35]. OPG 유전자 다형성과 골밀도 및 골질의 연관성이 관찰된 대부분의 연구들에서는 혈청 OPG 농도를 측정하지 않았으며[31,33,34], 혈청 OPG 농도를 측정한 Jorgensen 등의 골절 환자에서의 연구에서도 OPG 유전자 다형성 A163G와의 연관성이 관찰되지 않았다[32]. 본 연구에서는 251명의 한국인 여성에서 OPG 유전자 다형성 A163G, G209A, T245G, T950C에서 모든 부위의 유전자 다형성에서 유전자형 별로 혈청 OPG 농도의 유의한 차이가 없어 각각의 OPG 유전자 다형성은 혈청 OPG 농도에 직접적인 효과가 적다고 생각된다. 다양한 골대사 관련인자가 복합적으로 OPGRANKL 계에 작용하여 각각의 OPG 유전자의 단일염기 유전자 다형성의 직접적인 영향은 매우 적을 것으로 추측되나 이에 대한 보고가 많지 않아 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

본 연구에서 OPG 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 생화학적 골교체 표지자의 비교에서 관찰된 모든 OPG 유전자 다형성에서 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 있는 골교체 표지자는 관찰되지 않았다. Langdahl 등은 생화학적 골교체 표지자인 혈청 osteocalcin과 혈청 cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP)을 측정하였으나 검사한 OPG 유전자 다형성 A163G, T245G, T950C, G1181C, A6890C 모두에서 골교체 표지자와 연관된 부위는 관찰되지 않았다[31]. 한편 OPG 유전자 다형성과 골밀도 및 골질의 연관성이 관찰된



다른 연구들에서는 모두 생화학적 골교체 표지자를 측정하지 않았다[32~34]. 본 연구에서는 생화학적 골교체 표지자로 혈청 알칼리성인산분해효소, 요 deoxypyridinoline 및 요 칼슘 배설량을 측정하였으나 검사한 OPG 유전자 다형성 A163G, G209A, T245G, T950C 모두에서 생화학적 골교체 표지자와의 연관성이 관찰되지 않아, OPG 유전자의 단일염기 유전자 다형성은 생화학적 골교체 표지자에 직접적으로 미치는 영향이 크지 않다고 추측되나 이에 대한 보고도 역시 많지 않아 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

본 연구에서 OPG 유전자 A163G, G209A, T245G, T950C 유전자 다형성의 유전자 형에 따른 요추골 및 대퇴골 경부 골밀도의 비교에서 전체 연구대상에서는 돌연변이 유전자 군과 정상유전자 군 사이에 유의하게 차이가 관찰되지 않았으나, 폐경 전 여성에서는 일부 돌연변이 유전자 군에서 정상유전자 군과 비교하여 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다. 혈청 OPG 농도는 국내외의 연구에서 골밀도 및 생화학적 골교체 표지자와의 연관성이 보고되었으나[26~30], OPG 유전자 다형성은 골대사에 대한 연구결과가 일관되게 관찰되지 않았다. Langdahl 등의 Denmark 골다공증 환자 연구에서 OPG 유전자 다형성 A163G, T245G, T950C, G1181C, A6890C를 검사하여 A163G과 T245G 부위와 척추골 골절환자와 연관성을 관찰하였으나[31], Jorgensen 등의 다른 Denmark 골절 환자 연구에서는 OPG 유전자 다형성 A163G 만을 검사하여 골밀도 및 골절환자와의 연관성을 보고하였으나[32]. Arko 등의 Slovenia 폐경후 골다공증 환자 연구에서 OPG 유전자 다형성 G209A, T245G, C889T, T950C를 검사하여 G209A와 T245G 부위와 골밀도의 연관성을 관찰하였으나[33], Yamada 등은 일본인에서 OPG 유전자 다형성 T245G와 T950C를 검사하여 T245G와 T950C 부위와 골밀도의 연관성을 보고하였으나[34]. 한편 Wynne 등은 아일랜드의 주폐경기 여성에서 OPG 유전자 다형성 T950C와 G1181C를 검사하였으나 골밀도와 관련되지 않음을 보고하였으나[36], Brandstorm 등은 스웨덴 고령 여성에서 OPG 유전자 다형성 T950C와 C1217T를 검사하였으나 역시 골밀도와 관련되지 않음을 보고하였으나[37]. 최근까지 발표된 전체적인 결과에서는 OPG 유전자 다형성 A163G와 T245G는 일관되게 골대사와 관련됨이 보고되고 있으나, G209A와 T950C 부위는 종족에 따라 상반된 결과가 관찰되고있다. 본 연구에서도 검사한 OPG 유전자 다형성 A163G, G209A, T245G, T950C 중 A163G와 T245G 부위만이 폐경 전 여성의 요추골 골밀도와 관련된 경향이 관찰되어 기존의 연구결과와 일치하는 소견으로 생각된다. 본 연구에서 일부 OPG 유전자 다형성이 폐경 전 여성에서만 관련된 경향이 관찰되고 폐경 후에는 그 관련성이 소실되는 원인으로는, 폐경 전의 상대적으로 젊은 여성에서는 골량의 결정에 유전적인 요인이 더 큰 역할을 하고 폐경 후

의 여성에는 여성호르몬 결핍 등의 골흡수를 항진시키는 다양한 인자가 골량에 상당한 영향을 미치어 상대적으로 유전적인 요인의 역할이 작아지기 때문으로 추측된다.

결론적으로 OPG 유전자 다형성 중 외국의 연구에서 유의한 결과가 관찰되었던 A163G와 T245G 부위가 한국인 폐경 전 여성에서도 관련된 경향은 있었으나 통계적인 유의성은 관찰되지않아, OPG 유전자 다형성이 한국인 여성의 골량 결정에 관여하는 인자인지 명확하게 확인하기 위하여는 젊은 연령의 폐경 전 여성을 대상으로 한 대규모의 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

## 요 약

**연구배경:** Osteoprotegerin (OPG)은 receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL)의 decoy receptor로 실험실연구와 동물실험에서 골흡수의 중요한 억제인자로 알려져 있지만, 인간에서 OPG 유전자 다형성과 여성 골대사의 관계는 명확히 알려져 있지않다. 이에 저자들은 건강한 한국인 주폐경기 여성에서 OPG 유전자 다형성과 골대사의 상호관계를 관찰하였다.

**방법:** 건강한 251명의 한국인 여성 (평균 연령,  $51.3 \pm 6.9$ 세)에서 OPG 유전자 A163G, G209A, T245G, T950C 부위의 유전자 다형성과 혈청 OPG 농도, 생화학적 골교체 표지자 및 요추골과 대퇴골 경부 골밀도를 조사하였다.

**결과:** 폐경 전 여성에서 OPG 유전자의 유전자 다형성 A163G와 T245G의 돌연변이 대립유전자 군에서 정상유전자 군보다 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다( $0.98 \pm 0.14 \text{ g/cm}^2$  [GG + GA] vs.  $1.05 \pm 0.15 \text{ g/cm}^2$  [AA],  $P = 0.070$ ;  $0.97 \pm 0.13 \text{ g/cm}^2$  [GG + GT] vs.  $1.04 \pm 0.15 \text{ g/cm}^2$  [TT],  $P = 0.056$ ). OPG 유전자의 유전자 다형성 A163G와 T245G의 연관에 따른 요추골 골밀도의 비교에서 폐경 전 여성에서는 돌연변이 유전자 군에서 정상유전자 군과 비교하여 요추골 골밀도가 낮은 경향이 관찰되었다([AATT] vs. [AGTG + AGGG + GGTG + GGGG]:  $1.04 \pm 0.15$  vs.  $0.97 \pm 0.13$ ;  $P = 0.072$ ).

**결론:** 한국인 폐경 전 여성에서 OPG 유전자 다형성 A163G와 T245G는 요추골 골밀도에 부분적으로 관련되었으나, 그 기전을 명확하게 하기 위하여는 추가적인 연구가 필요하다.

## 참 고 문 헌

1. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC Jr, Lindsay RL, Wahner HW, Dunn WL, Calvo MS, Harris TB, Heyse SP: Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res*

- 12:1761-8, 1997
2. Melton LJ 3rd, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL: *Perspective. How many women have osteoporosis? J Bone Miner Res* 7:1005-10, 1992
3. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA: *Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. Nature* 367:284-287, 1994
4. Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS: *Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. N Engl J Med* 331:1056-1061, 1994
5. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH: *Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. Nat Genet* 14:203-205, 1996
6. Lim SK, Park YS, Park JM, Song YD, Lee EJ, Kim KR, Lee HC, Huh KB: *Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans. J Clin Endocrinol Metab* 80:3677-81, 1995
7. Han K, Choi J, Moon I, Yoon H, Han I, Min H, Kim Y, Choi Y: *Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean pre-, peri-, and postmenopausal women. Osteoporos Int* 9:290-5, 1999
8. Han KO, Moon IG, Hwang CS, Choi JT, Yoon HK, Min HK, Han IK: *Lack of an intronic Sp1 binding-site polymorphism at the collagen type I alpha1 gene in healthy Korean women. Bone* 24:135-7, 1999
9. 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
10. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K: *Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. Biochem Biophys Res Commun* 234:137-142, 1997
11. Kwon BS, Wang S, Udagawa N, Haridas V, Lee ZH, Kim KK, Oh KO, Greene J, Li Y, Su J, Gentz R, Aggarwal BB, Ni J: *TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. FASEB J* 12:845-854, 1998
12. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC: *RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22:549-553, 2002
13. Khosla S: *Minireview: The OPG/RANKL/RANK system. Endocrinology* 142:5050-5055, 2001
14. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM: *OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. Nature* 397:315-323, 1999
15. 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
16. 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
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. Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS: *Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. J Exp Med* 192:463-474, 2000
19. Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C, Dul E, Appelbaum ER, Eichman C,

- DiPrinzio R, Dodds RA, James IE, Rosenberg M, Lee JC, Young PR: *Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. J Biol Chem* 273:14363-14367, 1998
20. Miyamoto A, Kunisada T, Hemmi H, Yamane T, Yasuda H, Miyake K, Yamazaki H, Hayashi SI: *Establishment and characterization of an immortal macrophage-like cell line inducible to differentiate to osteoclasts. Biochem Biophys Res Commun* 242:703-709, 1998
21. Akatsu T, Murakami T, Nishikawa M, Ono K, Shinomiya N, Tsuda E, Mochizuki S, Yamaguchi K, Kinoshita M, Higashio K, Yamamoto M, Motoyoshi K, Nagata N: *Osteoclastogenesis inhibitory factor suppresses osteoclast survival by interfering in the interaction of stromal cells with osteoclast. Biochem Biophys Res Commun* 250:229-234, 1998
22. Hakeda Y, Kobayashi Y, Yamaguchi K, Yasuda H, Tsuda E, Higashio K, Miyata T, Kumegawa M: *Osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) directly inhibits bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts. Biochem Biophys Res Commun* 251:796-801, 1998
23. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, Kelley M, Hsu H, Boyle WJ, Dunstan CR, Hu S, Lacey DL: *The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. J Cell Biol* 145:527-538, 1999
24. Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, Nishihara T, Takahashi N, Suda T: *Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. J Immunol* 163:434-442 1999
25. 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
26. 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
27. Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, Roth S, Delmas PD: *Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. J Clin Endocrinol Metab* 86:3162- 3165, 2001
28. Rogers A, Saleh G, Hannon RA, Greenfield D, Eastell R: *Circulating estradiol and osteoprotegerin as determinants of bone turnover and bone density in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab* 87:4470-4475, 2002
29. Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Oh ES, Baek KH, Kang MI, Choi MG, Yoo HJ, Park SW: *The relationship between circulating osteoprotegerin levels and bone mineral metabolism in healthy women. Clin Endocrinol* 61:244-249, 2004
30. Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Baek KH, Kang MI, Yun EJ, Park CY, Ihm SH, Choi MG, Yoo HJ, Park SW: *Circulating osteoprotegerin and receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand system are associated with bone metabolism in middle-aged males. Clin Endocrinol* 62:92-98, 2005
31. Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF: *Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. J Bone Miner Res* 17:1245-1255, 2002
32. Jorgensen HL, Kusk P, Madsen B, Fenger M, Lauritzen JB: *Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the OPG promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios. J Bone Miner Metab* 22:132-138, 2004
33. Arko B, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A, Hudler P, Marc J: *Sequence variations in the osteoprotegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab* 87:4080-4084, 2002
34. Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: *Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men. Mol Genet Metab* 80:344- 349, 2003
35. Soufi M, Schoppet M, Sattler AM, Herzum M, Maisch B, Hofbauer LC, Schaefer JR: *Osteoprotegerin gene polymorphisms in men with coronary artery disease. J Clin Endocrinol Metab* 89: 3764-3768, 2004
36. Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, Daly M, Shanahan F, Molloy MG, Quane KA: *Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (FokI), and COL1A1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. Calcif Tissue Int* 71:26-35, 2002

37. Brandstrom H, Gerdhem P, Stiger F, Obrant KJ, Melhus H, Ljunggren O, Kindmark A, Akesson K: *Single nucleotide polymorphisms in the human gene for osteoprotegerin are not related to bone mineral density or fracture in elderly women. Calcif Tissue Int* 74:18-24, 2004