

뼈의 재형성 및 무기질화

서울대학교 의과대학 내과학교실

신찬수 · 조화영

Bone Remodeling and Mineralization

Chan Soo Shin, Hwa Young Cho

Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine,
Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

서 론

뼈는 매우 역동적인 조직중의 하나로 물리적인 지지기능과 중요 장기의 보호기능 뿐만이 아니라 무기물의 항상성 조절에 중요한 역할을 담당하고 있다. 뼈는 다른 결체 조직과는 다르게 무기질화(mineralization) 과정을 거치게 되고, 일생에 걸쳐 끊임없이 재형성(remodeling) 과정을 거치게 된다. 이러한 무기질화와 재형성 과정에 대한 기전에 대해서는 많은 연구들이 진행되고 있으며 아직 풀리지 않은 의문점들도 많다. 이러한 기전에 대한 연구는 골다공증을 비롯한 골대사 질환의 병태생리와 치료에 있어 큰 진전을 이루게 할 것이다. 본 논문에서는 뼈의 무기질화와 재형성에 대한 개념을 이해하고 중요성을 살펴보고자 한다.

1. 뼈의 무기질화 (Bone Mineralization)

1) 세포외 기질 (Extracellular matrix)

뼈의 형성은 간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)로부터 분화단계를 거쳐 형성된 조골세포(osteoblast)로부터 시작된다. 이러한 분화과정에서 osteoblastic lineage cell은 골기질을 이루는 수많은 골 기질 단백질들의 영향을 받게 되고, 이러한 골 기질 단백질들은 분화과정의 단계마다 특이적으로 발현이 된다. 이러한 단백질과 이를 형성하는 유전자에 대한 이해는 뼈의 형성과정을 이해하는데 있어 큰 역할을 할 것이다. 먼저 골기질을 이루는 근간이 되는 세포의 기질을 구성하는 단백질들에 대해 알아보도록 하겠다.

가. 콜라겐 (Collagen)

골 기질 단백질에 있어 가장 근간이 되는 단백질은 제1형 콜라겐(type I collagen)으로 전체 골기질의 90%를 이루고 있다(Table 1). 제1형 콜라겐은 triple-helical molecule로서 2개의 α

Table 1. Characteristics of Collagen-Related Genes and Proteins found in Bone matrix (from ref. 42)

protein/gene	Function	Disease/animal model
Type I-17q21.23, 7q21.3-22 [$\alpha 1(I)2\alpha 2(I)$] [$\alpha 1(I)3$]	Most abundant protein in bone matrix(90% of organic matrix), serve as scaffolding, binds and orients other proteins that nucleate hydroxyapatite deposition	osteogenesis imperfecta (m); oim mouse (m); mov 14 mouse (m); knock-in mouse; bones mechanically weak; mineral crystals small; some mineral outside collagen
Type X-6q21-22.3 [$\alpha 1(I)3$]	Present in hypertrophic cartilage but does not appear to regulate matrix mineralization	Human mutation - Schmid metaphyseal chondrodysplasia knockout mouse-no apparent skeletal phenotype
Type III-2q24.3-31 [$\alpha 1(III)3$]	Present in bone in trace amounts, may regulate collagen fibril diameter, their paucity in bone may explain the large diameter size of bone collagen fibrils	Human mutation-different forms of Ehlers-Danlos syndrome
Type V-9q34.2-34.3; 2q24.3-31, 9q34.2-34.3 [$\alpha 1(V)2\alpha 2(I)$] [$\alpha 1(V)2\alpha 2(V)\alpha 3(V)$]		

Table 2. Gene and Proteins Characteristics of Serum proteins found in Bone matrix (from ref. 42)

<i>protein/gene</i>	<i>function</i>	<i>Disease/animal model</i>
Albumin-2q11-13 69-kDa, non-glycosylated, one sulfhydryl, 17 disulfide bonds, high affinity hydrophobic binding pocket	Inhibits hydroxyapatite crystal growth	
α 2-HS glycoprotein-3q27-29 precursor protein of, cleaved to form A and B chains that are disulfide linked, Ala -Ala and Pro-Pro repeat sequences, N-linked oligosaccharides, cystatin-like domains	Promotes endocytosis, has opsonic properties, chemoattractant for monocytic cells, bovine analog (fetuin) is a growth factor	Knockout mouse-adult ectopic calcification

Table 3. Gene and Proteins Characteristics of Glycoproteins in bone matrix (from ref. 42)

<i>Glycoproteins</i>	<i>Function</i>	<i>Disease/animal models</i>
Alkaline phosphatase (bone-liver-kidney isozyme) -1p34-36.1 two identical subunits of ~80kDa, disulfide bonded, tissue specific post translational modification	potential Ca^{++} carrier, hydrolyzes inhibitors of mineral deposition such as pyrophosphates	Hypophosphatasia (decreased activity), TNAP knockout mouse-growth impaired; decreased mineralization
Osteonectin-5q31-33 ~35-45kDa, intramolecular disulfide bonds, α helical amino terminus with multiple low affinity Ca^{++} binding site. Ovomucoid homology, glycosylated, phosphorylated, tissue specific modifications	May mediate deposition of hydroxyapatite, binds to growth factors, may influence cell cycle, positive regulator of bone formation	knockout mouse-decreased trabecular connectivity; decreased mineral content; increased crystal size
Tetranectin-3p22-p21.3 21kDa protein composed of four identical subunits of 5.8 kDa, sequence homologies with asialoprotein receptor and G3 domain of aggrecan	Binds to plasminogen, may regulate matrix mineralization	Knockout mouse-no long bone phenotype, spinal deformity, increased mineralization in implant model
Tenascin-C-9q33 Hexameric structure, six identical chains of 320kDa, Cys rich, EGF-like repeats, FN type III repeats	interferes with cell-FN interactions	Knockout mouse-no apparent skeletal phenotype

1(I) chain과 1개의 α 2(I) chain으로 이루어져 있으며 뼈 뿐 만 아니라 인대, 상아질 (dentin), 눈의 공막 (sclera), 각막 (cornea), 폐, 피부조직에서도 발견이 되며, 이들은 모두 동일하지 않고 posttranslational modification 정도에 차이를 보이게 된다. 콜라겐 α chain은 Gly-X-Y 반복 형태를 띠는데, 여기서 X는 대개 proline이고 Y는 대개 hydroxyproline이다. 뼈에서 가장 두드러진 glycosylation 형태는 galactosyl-hydroxylysine이며 반면에 다른 연부조직에서는 glucosyl-galactosyl hydroxylysine 이다[1,2]. 또한 뼈에서 보이는 cross-linking 형태 또한 연부조직과는 다르다. 뼈에서의 cross-linking은 hydroxyllysine pathway을 통해 lysyl-pyridinoline cross-link를 형성하게 되고, 이에 반해 연부조직에서는 allysine pathway를 통해 hydroxyllysyl-pyridinoline을 형성하게 된다. 뼈에서 유래된 제1형 콜라겐 cross-links를 소변에서 측정하는 것은 골흡수 (bone resorption)의 좋은 지표로 알려져 있다[3]. 골 기질과 관련된 콜라겐과 이에 관련된 유전자를 Table 1에 간략히 정리하였다.

나. 비콜라겐 단백질 (Noncollagenous Proteins, NCPs)

NCPs는 뼈 단백질의 10-15%를 차지하고 있으며 이들의 1/4은 외부로부터 유입된다[4]. 이중 많은 부분을 차지하고 있는 것이 혈장에서 유래된 단백질로서 α 2-HS-glycoprotein과 albumin이다. 이들은 산성 (acidic)을 띄고 있으며 hydroxyapatite에 대한 친화력이 있어 골기질에 붙게 된다. 이들은 뼈의 무기질화에 관여하며, 특히 α 2-HS-glycoprotein은 뼈세포의 분화의 조절에 관여한다고 알려져 있다[2]. 이에 대한 간략한 내용은 Table 2에 정리하였다.

골형성 세포들은 많은 물질들을 분비하고 이는 일반적으로 4개의 그룹으로 분류할 수 있다. (1) Proteoglycans, (2) Glycoproteins, (3) Glycoproteins with potential cell-attachment activities, (4) γ -carboxylated (gla) proteins. 이들의 정확한 역할은 아직 잘 알려져 있지 않지만, 무기질 침착과 조골세포, 파골세포의 대사에 영향을 미칠 것으로 생각 된다. 이에 대하여 Table 3-Table 7에 정리하였다.

Table 4. Gene and Proteins Characteristics of Glycosaminoglycan-Containing Molecules, Leucine Rich Repeat Proteins(LRRs) and Hyaluronan (from ref. 42)

<i>Protein/gene</i>	<i>Function</i>	<i>Disease/animal model</i>
Aggrecan-15q26.1 ~2.5 × 10 ⁶ intact protein, ~180-370,000 core ~100 CS chains of 25 kDa, and some KS chains of similar size, G1 G2 and G3 globular domains with hyaluronan binding sites, EGF and CRP-like sequences	Matrix organization, retention of water and ions, resilience to mechanical forces	Brachymorphic mouse (mutation), Accelerated growth plate calcification, nanomelic chick (mutation) - abnormal bone shape
Versican (PG-100) - 5112-14 ~1 × 10 ⁶ intact protein, ~360 kDa core, ~12 CS chains of 45kDa, G1 and G3 globular domains with hyaluronan binding sites, EGF and CRP-like sequences	May “capture” space that is destined to become bone	
Decorin (Class 1 LRR)-12q21-23 ~130 kDa intact protein, ~38-45 kDa core with 10 leucine rich repeat sequences, 1 CS chain of 40 kDa	Binds to collagen and may regulate fibril diameter, binds to TGF-β and may modulate activity, inhibits cell attachment to fibronectin	Knockout-no apparent skeletal phenotype, DCN/BGN double knockout-progeroid form of Ehler’s-Danlos syndrome
Biglycan (Class 1 LRR)-Xq27 ~270 kDa intact protein, ~38-45 kDa core with 12 leucine rich repeat sequences, 2 CS chain of 40 kDa	May bind to collagen, may bind to TGF-β, peri-cellular environment, a genetic determinant of peak bone mass	Knockout mouse, Turner’s syndrome- osteopenia; thin bones, decreased mineral content, increased crystal size; short stature, thin bones; Klinefelter’s disease-excessive height
Asporin (Class 1 LRR)-9q22 67 kDa, most likely not GAG chains		
Fibromodulin (Class 2 LRR)-1q32 59 kDa intact protein, 42 kDa core protein, one N-linked KS chain	Binds to collagen, may regulate fibril formation, binds to TGF-β	Fibromodulin/biglycan double knockout-joint laxity and formation of supernumery sesmoid bones
Osteoadherin (Class 2 LRR) 85 kDa intact protein, 47 kDa core protein, RGD sequence	May mediate cell attachment	
Lumican (Class 2 LRR)-12q21.3-q22 70-80kDa intact protein, 37kDa core protein	Binds to collagen, may regulate fibril formation	Lumican/fibromodulin double knockout mouse-ectopic calcification
Osteoglycin/Mimecan (Class 3 LRR)-9q22 299 aa precursor, 105 aa mature protein, no GAG in bone, keratin sulfate in other tissues	Binds to TGF-β	
Hyaluronan-multi-gene complex Multiple proteins associated outside of the cell, structure unknown	May work with versican molecule to capture space destined to become bone	

Table 5. Gene and Proteins Characteristics of SIBLINGs (Small Integrin-Binding Ligands, N-Glycosylated Proteins) (from ref. 42)

<i>Protein/gene</i>	<i>Function</i>	<i>Disease/animal models</i>
Osteopontin-4q21 ~44-75 kDa, polyaspartyl stretches, no disulfide bonds, glycosylated, phosphorylated, RGD located 2/3 from the N-terminal	Binds to cells, may regulate mineralization, may regulate proliferation, inhibits nitric oxide synthase, may regulate resistance to viral infection	Knockout mouse-decreased crystal size; increased mineral content; not subject to osteoclast remodeling
Bone Sialoprotein-4q21 ~46-75kDa, polyglutamyl stretches, no disulfide bonds, 50% carbohydrate, tyrosine-sulfated, RGD near the C terminus	Binds to cells, may initiate mineralization	Knockout mouse-no published data on phenotype
DMP-1 - 4q21 513 aminoacids predicted; acidic, RGD 2/3 from N-terminus	Possible cell attachment protein	Knockout mouse-craniofacial and growth plate abnormalities
Other SIBLINGs at 4q21-enamelin, MEPE, Dentin Sialophosphoprotein	Possible cell attachment proteins	MEPE-a candidate “phosphatonin” Involved in tumor-induced osteomalacia

2. 뼈의 무기질화 기전

뼈의 무기질화는 세포 혹은 세포의 기질에 칼슘, 무기질이 침착되는 현상을 말한다. 콜라겐 섬유 (fiber)가 구성하는 망상 구조에 칼슘과 인이 침착하고 물과 혼합되어 hydroxyapatite [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂]라는 단단한 무기물질을 형성하게 된다. Geologic hydroxyapatite crystal과는 다르게 bone mineral

crystal은 매우 작고 (최대 직경 200 Å) 많은 불순물 (carbonate, magnesium, acid phosphate)을 포함하고 있다. 이는 보다 가용성 (soluble)이 높으며 뼈가 칼슘, 인, 마그네슘의 저장소로서의 역할을 수행하도록 한다[5]. 조골세포의 무기질화 기전은 여러 가지 in vitro 및 in vivo 실험 모델을 통한 많은 연구에도 불구하고 잘 알려져 있지 않다.

콜라겐이 대부분을 차지하는 뼈의 기질 단백질들은 뼈의

Table 6. Gene and Proteins Characteristics of Other RGD-Containing Glycoproteins (from ref. 42)

<i>Protein/gene</i>	<i>Function</i>	<i>Disease/animal models</i>
Thrombospondins(1-4, COMP)-15Q-1, 6q27, 1q21-24,5q13,19p13.1 ~450 kDa molecule, three identical disulfide linked subunits of ~150-180kDa, Homologies to fibrinogen, properdin, EGF, collagen, von Willebrand, P. falciparum and calmodulin, RGD at the C terminal globular domain	Cell attachment (but usually not spreading), binds to heparin, platelets, types I and V collagens, thrombin, fibrinogen, laminin, plasminogen and plasminogen activator inhibitor, histamine rich glycoprotein	TSP-2 knockout mouse-large collagen fibrils, thickened bones, spinal deformities
Fibronectin-2q34 ~400kDa with 2 non-identical subunits of ~200kDa, composed of type I, II, and III repeats, RGD in the 11 th type III repeat 2/3 from N termi	Binds to cells, fibrin heparin, gelatin, collagen	Knockout mouse-lethal prior to skeletal development
Vitronectin-17q11 ~70 kDa, RGD close to N terminus, homology to somatomedin B, rich in cysteines, sulfated, phosphorylated	Cell attachment protein, binds to collagen, plasminogen and plasminogen activator inhibitor, and to heparin	
Fibrillin 1 and 2-15q21.1, 5q23-q31 350 kDa, EGFlike domains, RGD, cysteine motifs	May regulate elastic fiber formation	Fibrillin 1 mutations-Marfan's syndrome, Fibrillin 2 mutations-congenital contractural arachnodactyly

Table 7. Gene and Proteins Characteristics of Gamma-Carboxy Glutamic Acid-Containing Proteins in Bone Matrix (from ref. 42)

<i>Protein/gene</i>	<i>Function</i>	<i>Disease/animal model</i>
Matrix Gla protein-12p ~15 kDa, five gla residues, one disulfide bridge, phosphoserine residues	May function in cartilage metabolism, a negative regulator of mineralization	Knockout mouse-excessive cartilage calcification, tiptoe walking Yoshimura mouse (mutation)- osteochondral lesions
Osteocalcin-1q25-31 ~5kDa, one disulfide bridge gla residues located in a helical region	May regulate activity of osteoclasts and their precursors, may mark the turning point between bone formation and resorption	Knockout mouse, osteopetrotic mouse(mutation)-thickened bones, decreased crystal size, increased mineral content
Protein S-3p11-q11.2 ~72kDa	Primarily a liver product, but may be made by osteogenic cells	Deficiency in human-osteopenia

탄성과 유연성을 유지시키며 다른 한편으로 구조적으로 지지 역할을 한다. 콜라겐 단백질과 이와 연결되어 있는 비콜라겐 단백질들은 무기질화 과정과 골의 재형성에 모두 영향을 미치게 된다. 골의 형성, 수복 (repair), 재형성에 관여하는 세포들 역시 호르몬, 기계적 자극 및 기타 외부 신호에 반응하여 고유의 역할을 수행한다. 이러한 세포들의 세포막에 존재하는 지질 (lipid)은 이온의 소동을 조절할 뿐만 아니라 무기질화에 직접적으로 관여한다. 세포내와 세포외 간질에 존재하는 수분은 조직 특성 및 영양 상태의 유지에 중요하다.

Anderson 등은 골의 무기질화가 “extra-cellular matrix vesicle”이라는 특수한 기질소포에서 시작된다고 주장하였다 [6]. 이 vesicle은 연골세포와 조골세포의 세포막에 연결된 membrane-bound extracellular bodies로서 이 부위에 칼슘과 인을 고농도로 축적하게 된다. 뿐만 아니라 이 vesicle 내에는 무기질화를 억제하는 것으로 알려진 인자들 (ATP, pyrophos-

phate, proteoglycan)을 제거하는 효소들을 함유하고 있다. 또한 이 내부에는 단백질, 산성 인지질 (acidic phospholipid), 칼슘, 무기인 등으로 이루어진 소위 “nucleational core”를 지니고 있어서 apatite 형성을 촉진하게 된다[2]. 그러나 이 vesicle은 콜라겐 섬유와 직접 연결되어 있지는 않기 때문에 어떻게 mineral crystal이 이 vesicle로부터 콜라겐 기질 사이로 이동하는지에 대해서는 알려져 있지 않다.

골 간질을 구성하고 있는 콜라겐 섬유 사이에 mineral crystal이 침착되어 무기질화가 일어나기 시작하는 곳을 “hole zone”이라고 한다[5]. 이 부위는 콜라겐 분자가 섬유를 이룰 때 서로 어긋나게 배치되면서 생기는 분자사이의 hole에 칼슘과 인이 최초로 침착하게 된다는 것이다. 전술한 바와 같이 “extracellular matrix vesicle”과 이 “hole zone”에서 각각 무기질화가 시작되는 지, 아니면 extracellular matrix vesicle”에서 형성된 mineral crystal이 “hole zone”으로 이동하는 지는 확실치 않은 상태이다.

Table 8. Effects of Bone Matrix Proteins on Mineralization in VITRO (from ref. 42)

Promote or support apatite formation	Inhibits mineralization	Dual function (nucleate and inhibit)	No known effect on mineralization
Type I collagen Proteolipid(matrix vesicle nucleational core)	Aggrecan α2-HS glycoprotein Matrix gla protein(MGP) Osteopontin Osteocalcin	Biglycan Osteonectin Fibronectin Bone sialoprotein	Decorin BAG-75 Lumican Tetranectin Osteoherin Thrombospondin

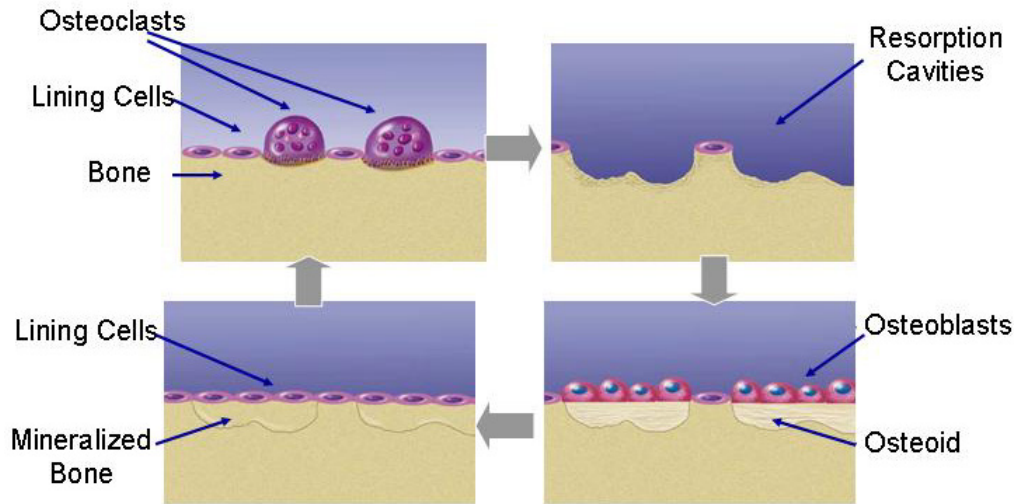


Fig. 1. Bone remodeling is accomplished by cycles involving the resorption of old bone by osteoclasts and the subsequent formation of new bone by osteoblasts.

최초의 crystal이 형성된 후 이온들이 부착하면서 첫 번째 안정화된 결정 (critical nucleus)을 형성하게 되는데, 이 과정이 결정화 과정에 있어 가장 에너지가 많이 요구되는 과정이다. 이후 이온들이 더 부착하면서 결정은 성장하게 된다. 크리스탈의 크기가 증가하는 것은 크리스탈에 새로운 이온이 더 침착한 결과일 수도 있고 (crystal growth) 크리스탈의 응집에 의해서 생길 수도 있다. 이러한 과정에 있어 골 기질에 존재하는 비콜라겐 단백질들이 결정표면에 부착하여 결정의 크기와 모양을 조절하게 된다.

콜라겐은 bone mineral nucleator로 알려져 있고, 이후의 연구들에서 bone matrix에서 비콜라겐 단백질을 제거한 경우에도 결정형성에 장애가 발생하는 것이 알려졌다[7]. 여러 연구에서 알려진 무기질화에 영향을 미치는 bone matrix protein에 대하여는 앞서 Table 1-Table 7에 언급하였다. 무기질화가 되지 않은 뼈에서 phosphate protein을 제거하는 경우 그 정도에 비례하여 핵화 (nucleational) 능력이 감소됨이 발견되었고, 이는 bone mineral nucleators의 하나가 phosphoprotein이라는 점을 시사한다. 뼈에 존재하는 phosphoprotein에는 콜라겐뿐만 아니라 소위 SIBLING (osteopontin, bone sialoprotein [BSP], matrix extracellular phosphoglycoprotein [MEPE], dentin matrix protein-1 [DMP-1], osteonectin, bone acidic glycoprotein-75 [BAG-75])이라고 불리는 일련의 단백질이 있

으나 (Table 1-Table 7)[2], 현재까지 solution 상태에서 apatite nucleator로서 작용하는 것으로 밝혀진 것은 BSP뿐이며[8], DMP-1의 경우 세포배양시 과발현시켰을 경우 무기질화를 가속화시키는 바 있다[8,9]. Cell-free solution 또는 세포 배양을 통해 알려진 무기질화에 관여하는 골 기질 단백질에 대하여 Table 8에 언급하였다.

2. 뼈의 재형성 (Bone Remodeling)

뼈는 지속적인 재형성 과정을 거치면서 유지된다. 파골세포에 의해 뼈가 흡수, 제거되고 이후 조골세포에 의해 연속적으로 새로운 뼈가 형성되는데, 이런 두 가지의 연속적으로 밀접한 현상을 coupling event라 한다 (Fig. 1). 이러한 골재형성 과정은 뼈 전체에 걸쳐 산재된 basic multicellular unit (BMU)를 기본으로 일어나며, 이 골재형성 단위들은 PTH와 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 등의 전신적 호르몬에 의한 영향뿐만 아니라 주변 골의 미세환경에 의해 국소적인 조절을 받게 되며, 골재형성이 독립된 단위를 기본으로 이루어진다는 점에서 볼 때, 국소적으로 분비되는 호르몬과 사이토카인들이 재형성 과정에 있어 중요한 역할을 할 것으로 생각된다[10]. 뼈 미세환경에서 골재형성 과정에 관여하는 사이토카인들에 대한 연구결과들이 축적되고 있으며, 어떤 사이토카인 생성이 적거나 많아질 때 뼈의 형성에 중요한 영향을 미친다는 결과들이 보고되고 있다 (Table 9).

Table 9. Cytokines produced in bone microenvironment with major effects on Osteoblasts and Osteoclasts(from ref. 42)

Osteoclastogenic cytokines
RANK ligand
Osteoprotegrin
Macrophage-colony stimulating factor
Interleukin-1
Tumor necrosis factor
Interleukin-8
Vascular endothelial growth factor
Interleukin-15, -16 and -17
Prostaglandins and leukotrienes
Osteoblastogenic cytokines
Transforming growth factor- β
Bone morphogenic proteins

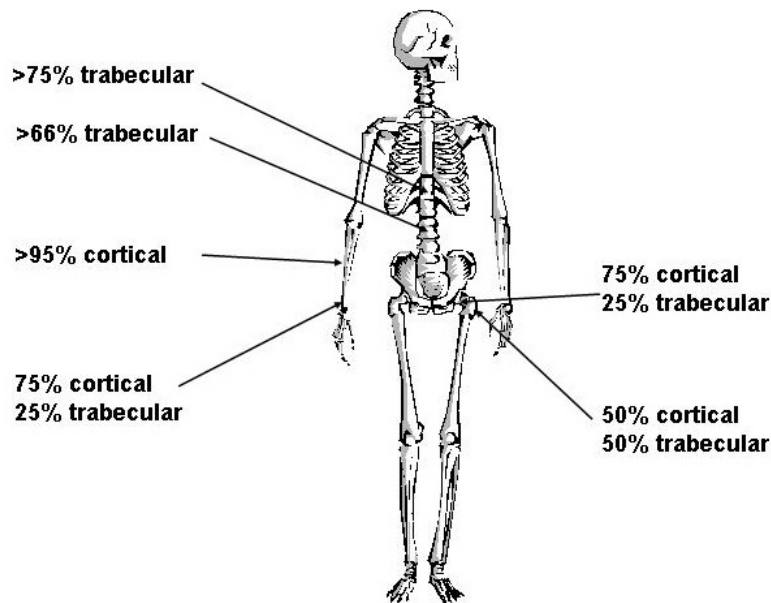


Fig. 2. Relative proportions of cortical (compact) and trabecular (cancellous) bone in different parts of the skeleton.

1) 뼈의 재형성 과정

사람의 골격계 구성 골조직은 피질골 (cortical bone)과 소주골 (trabecular bone)로 구성되어 있다. 피질골은 치밀골 (compact bone), 박층골 (lamellar bone)이라고도 불린다. 피질골의 기본단위는 골원 (osteon)이라는 형식으로 되어있고, 이 각각의 골원들은 세로로 잘 배열되어 단단한 조개껍질 같은 막구조를 형성한다. 두 번째 타입의 골 조직은 소주골로 격자모양을 가졌다고 하여 망상골 (cancellous bone)이라 명명한다. 대부분의 골은 치밀골과 소주골 조직 두 가지 모두를 가지며, 치밀골은 단단한 바깥 덮개를 형성하고 소주골은 내부 구조를 형성한다. 그러나 이러한 두 가지 조직의 비율은 골마다 다르다.

골다공증 관련 골절 부위로 가장 흔한 곳 중 하나인 요추골 (lumbar spine)의 경우 소주골이 66% 이상을 차지하고 있으며,

대퇴 전자간 부위는 50%의 소주골과 50%의 피질골로 이루어져 있다. 반면에 요골의 경우 95% 이상이 피질골로 이루어져 있다. 이렇듯 부위별로 골의 구조에 있어 차이가 있고 더불어 미세 환경에도 차이가 있게 된다 (Fig. 2). 골수와 근접하게 존재하는 소주골의 경우 골수의 여러 세포들이 분비하는 사이토카인 등의 국소인자에 의한 조절을 보다 강하게 받게 되고 반면에 골수로부터 멀리 떨어져 있는 치밀골의 경우 국소 조절보다는 PTH나 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 와 같은 전신작용을 하는 호르몬의 조절을 더 많이 받게 된다.

가. 피질골에서의 재형성

피질골은 인체 골격계의 85%를 차지하고 있다. 골내막 (endosteal)에서와 Haversian system 내에서 흡수가 발생하고

이는 피질골의 porosity를 증가시키게 된다. 더불어 골외막(peristeal)에서는 골형성이 일어나 피질골의 직경은 커지게 된다. 피질골 소실은 40대 들면서 시작되고 특히 폐경이후 첫 5-10년간 빠른 속도로 골소실이 발생하게 되다가, 이후 소실속도가 완만하게 된다. 피질골 소실은 골반, 손목골절의 주요 위험인자이고, 특히 일차성 부갑상선 기능항진증이 있는 경우 골흡수가 더욱 증가하게 된다.

나. 소주골에서의 재형성

소주골은 인체 골격계의 15%를 차지 하고 있다. 소주골 소실은 피질골 소실보다 더 이른 시기부터 발생하며, 폐경 후 골소실의 가속도 정도는 피질골에서 만큼 뚜렷하지는 않다[11,12]. 소주골의 소실은 단순히 bone plate가 얇아지는 것으로 인한 것이기 보다는 골소주의 천공(perforation) 혹은 분열(fragmentation)으로 인한 것인데, 이는 피질골과는 달리 골수와 접촉되어 형성된 미세환경에 의한 파골세포의 국소 조절의 영향으로 인한 것이라 생각된다.

골재형성의 시작은 파골세포 활성화로부터 시작된다. 시작 기전에 대해서는 아직 정확히 알려져 있지는 않다. 한 가지 가설은 뼈 표면의 변화를 주변의 면역세포나 뼈세포들이 인지하여 파골세포에게 신호를 전달하여 활성화 시킨다는 것인데, 이 또한 처음 면역세포 등이 인지하는 기전에 대해서는 알려진 것이 없다.

다. Coupling

골재형성 과정 중 첫 번째 과정인 골흡수 과정은 10일 정도가 소요되며, 이후 조골세포가 이동하여 부착하고 증식, 분화하여 뼈를 형성하는 과정은 약 3개월 정도가 소요된다. 골흡수에 이어 골형성이 발생하는 coupling event의 세포학적 기전이나

호르몬에 의한 조절 기능 등은 역시 잘 알려지지 않았으며 연구 중에 있다. 국소적으로는 골 흡수과정에서 분비되는 여러 사이토카인(IGF-I/II, TGF- β)이 매개가 되어 조골세포 활성화를 유발한다는 결과들[13~15]과 Runx2/Cbfa1 전사인자와 신호전달과의 관련성[16], 또 최근에는 leptin-hypothalamus로 매개되는 교감신경계 활성화가 매개하는 기전에 대한 연구 결과들[17,18]이 축적되고 있다.

이러한 골재형성 기전에 대한 세포수준에서의 기전 연구는 골다공증을 비롯한 여러 골대사 질환을 이해하는 데 있어 중요한 열쇠가 될 것이다.

2) 골흡수에 관여하는 인자들

가. Osteoprotegerin (OPG)/RANKL/RANK

OPG는 TNF receptor superfamily에 속하며, 대부분의 TNFR superfamily와는 달리 transmembrane domain이 없는 soluble receptor이다[19]. 쥐에서 recombinant OPG를 주입한 경우 병적인 상태 뿐 아니라 생리적 골 흡수도 억제하였고 심한 골석회화증(osteopetrosis)이 유발되는 것이 관찰되었다[20]. 이와는 반대로 OPG-deficient mice의 경우 심한 골다공증이 유발되었다[21,22]. 또한 thyroparathyroidectomized mice에서 PTH주입 후 상승된 혈청 칼슘 농도가 OPG주입 후 급격하게 감소한 결과에서 OPG가 osteoclastogenesis뿐만 아니라 성숙한 파골세포의 기능에도 영향을 미친다는 점이 알려졌다[23]. 이후 여러 연구결과 OPG는 RANKL에 대한 nonsignaling decoy receptor로 osteoclastogenesis를 억제할 뿐만 아니라 성숙 파골세포에도 영향을 끼쳐 osteoclastmediated bone resorption의 주요한 조절 단백질임이 알려졌다.

TNF ligand family에 속하는 RANKL은 파골세포의 골흡수 과정에 있어 중요한 조절인자로 알려진 RANK와 OPG의

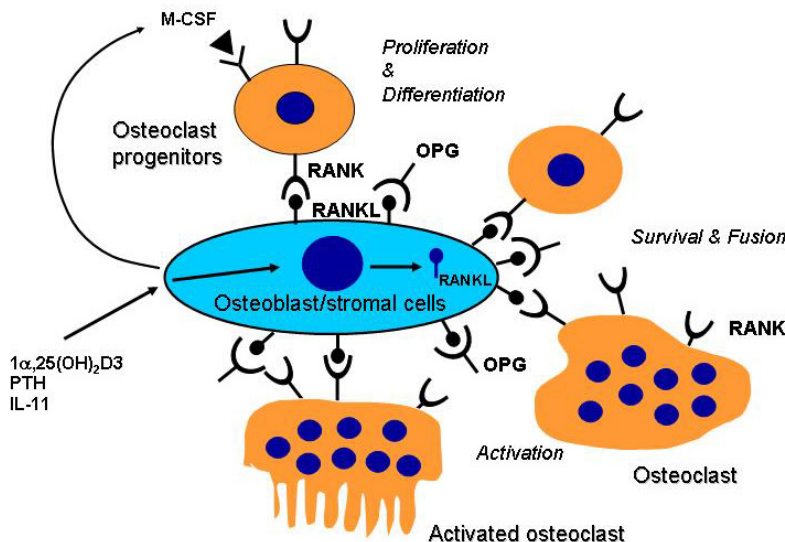


Fig. 3. Osteoblast/stromal cell and osteoclast coupling mediated through RANKL/RANK interactions.

ligand로 membrane-bound form과 soluble form 모두가 존재한다[24-26]. 골재형성에 있어서의 RANKL의 기능 역시 knockout mice에서 잘 알려져 있으며, RANKL knockout mice에서는 성숙한 파골세포의 형성이 안 되어 심한 골석화증이 유발됨이 알려지면서 RANKL이 파골세포 분화에 절대적인 인자임이 알려지게 되었다[27,28]. TNFR superfamily에 속하는 RANK는 유일하게 알려진 RANKL의 signaling receptor로 [29], RANK null mutant mice에서 치아발육이 전혀 이루어지지 않음이 보여졌고, RANKL KO mice에서와 마찬가지로 심한 골석화증이 유발되었다[30]. 이와 같은 연구결과들로 RANK/RANKL pathway가 성숙한 파골세포의 활성화와 파골세포의 분화에 필수적인 신호전달을 매개하는 가장 중요한 신호전달 체계임이 증명되었다 (Fig. 3).

나. TGF- β

TGF- β 는 면역세포에서 뿐만 아니라 조골세포와 골 기질의 골간질 세포에서 분비가 되며, 이는 조골세포와 파골세포 모두에 작용하는 골재형성에 있어 중요한 조절 인자 중의 하나이다. In vivo 및 in vitro 연구에서 TGF- β 의 뼈에 대한 역할은 논란의 여지가 있긴 하지만, 일반적인 견해는 active TGF- β 는 골형성을 자극하고[31] 골흡수를 억제하면서 골흡수에 이어 발생하는 골형성의 coupling과정에 중요한 역할을 담당하는 조절인자라는 점이다.

예를 들어 골조직의 미세환경에 있어 낮은 농도의 TGF- β 는 파골세포의 분화와 활성을 자극하지만 골흡수 과정동안 골기질에서 지속적으로 분비되어 고농도로 축적되게 되면 이는 파골세포의 활성의 억제인자로서 작용을 하게 되고, 동시에 다

른 골형성 인자들과 상호작용을 통해 조골세포 활성을 자극하여 골형성을 촉진하는 역할을 하게 된다[32].

다. IL-1

IL-1와 β 가 있으며 뼈에 대한 효과는 동일한 수용체를 통해 같은 효과를 보인다. 이들은 활성화된 단핵구세포 뿐만 아니라 조골세포와 종양세포 등에서 분비가 되며 이는 강력한 파골세포의 자극인자로 RANKL을 매개로 파골세포 형성과 활성의 모든 과정에 있어 작용을 하여 골흡수를 증가시켜 골대사 속도를 증가시키게 된다. 이는 일부 종양과 류마티스 관절염 등과 같은 만성 염증성 질환에서 관찰되는 골흡수 증가에 관여하는 것으로 보인다[33,34].

라. Lymphotoxin과 TNF- α

기능적으로 IL-1과 유사한 작용을 하며, IL-1과 synergistic effect가 있다.

마. M-CSF (CSF-1)

CSF-1 null mice인 op/op variant osteopetrosis에서 CSF-1 생성 장애가 관찰되고, 이는 정상적인 파골세포 형성 장애를 유발한다는 점이 관찰되었고, 이 경우 CSF-1 투여로 치료할 수 있다[35]. 파골세포 계열 세포는 CSF-1 receptor (a receptor tyrosine kinase)를 발현하고 있고, 이는 RANKL과 TGF- β 와 함께 작용하여 파골세포의 골흡수 과정에 관여한다.

바. IFN- γ

IFN- γ 는 다른 면역 세포에서 생산되는 사이토카인과는 다

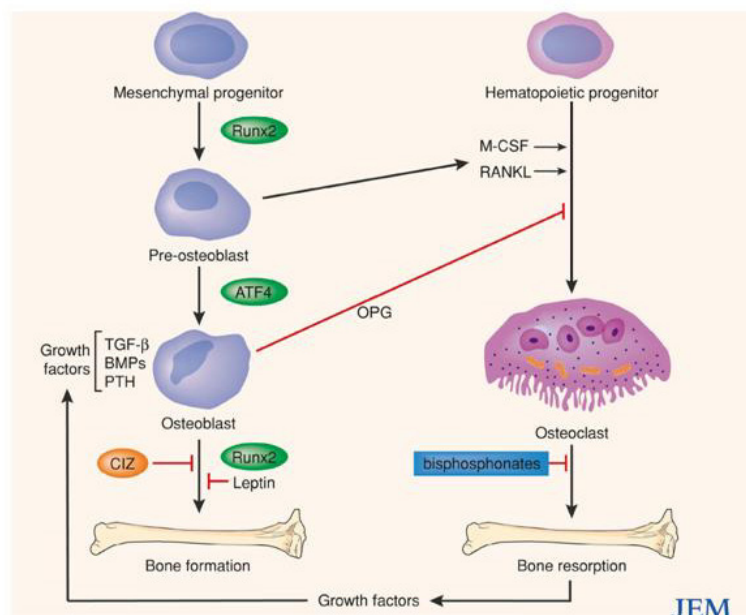


Fig. 4. Factors that modulate the differentiation and function of osteoblast and osteoclast.

르게 파골세포의 골흡수 억제에 관여한다. 이는 파골세포 전구 세포에서 성숙세포 분화과정을 억제할 것으로 보이며, 이는 RANK의 downstream signaling pathway의 TRAF의 분해 유도를 통한 것으로 생각된다.

3) 골형성에 관여하는 인자들

파골세포의 골 흡수 과정 후 파골세포는 세포 피사를 거치게 되고, 이어서 조골세포가 골 흡수 부위로 이동하여 증식, 분화 과정을 거쳐 골 무기질화가 일어나게 되는 과정을 거치게 된다. 조골세포가 골 흡수부위로 이동하는 것은 골 흡수과정에서 생산되어 분비된 active TGF- β 를 비롯한 국소 인자들과 기질 단백질인 제1형 콜라겐, osteocalcin 등에 의해 유도되게 된다 [36]. 이후 조골 세포의 증식 과정을 거치는데 이 과정에 관여할 것으로 추정되는 인자에는 TGF- β superfamily (TGF- β s I or II)와 PDGF, IGFs-I, II, heparin-binding FGFs가 있다[37]. 다음 단계인 성숙 조골 세포로의 분화 단계로 IGF-I과 BMP-2가 관여하는 것으로 보인다[38,39] (Fig. 4).

4) Coupling process에 관여하는 인자들

Coupling event에 관여하는 osteotrophic factor에는 TGF- β , BMPs, IGFs-I,II, PDGF, FGFs가 있다. 이들은 골흡수 과정에서 국소적으로 생산되어 분비되는 인자들로서 골재형성 과정에 있어 골흡수 후 골형성이 발생하는 과정에 관여한다 (Fig. 5). 이중 TGF- β superfamily는 coupling event에서 중요한 역할을 하고 있는 것으로 보이며, rat 등을 이용한 실험에서 periosteum 또는 endosteum에 국소적으로 주입한 경우 주입부위에 국소적으로 골형성이 촉진 되는 것이 관찰되었다. 동시에 골흡수에도 영향을 미치지만 결과적으로 positive balance를 보이게 되는 것이 관찰되었다. BMPs, IGFs-I,II를 주입하여 시행한 실험에서도 결과적으로 bone mass가 증가되는 비슷한 결과를 얻었다.

최근 Wnt 단백질이 골형성에 중요한 역할을 함이 알려지고 있다. 이 Wnt 단백질들은 frizzled 단백질과 LDL-receptor-related protein 5/6(LRP5/6)에 결합하여 신호전달을 하며 LRP5의 활성화 돌연변이는 골량을 증가시키며[40], 반대로 불활성화 돌연변이는 골다공증을 유발함이 보고되었다[41].

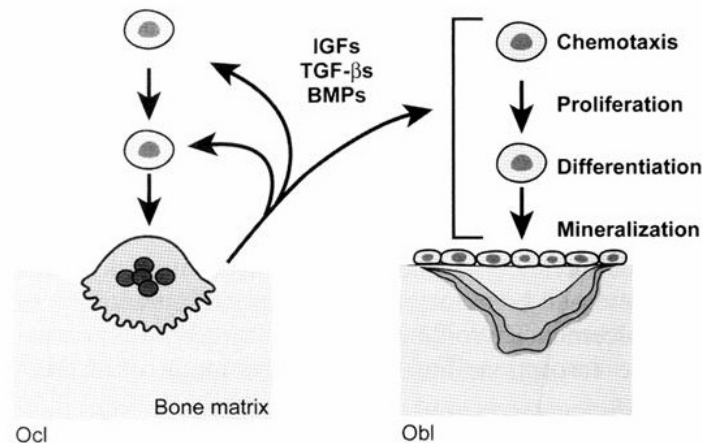


Fig. 5. Growth factor concept of coupling.

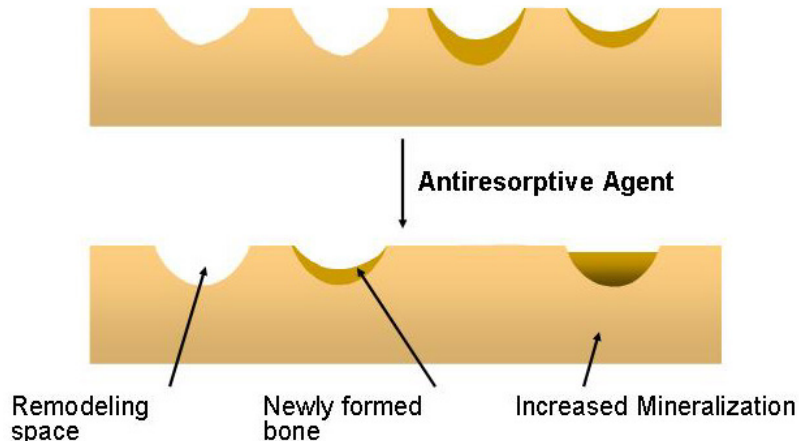


Fig. 6. Effects of antiresorptive agent on remodeling space and mineralization in the basic multicellular units.

또한 지방세포에서 분비되는 호르몬인 leptin이 골량을 조절함을 보고하여 흥미를 끌고 있다. 이 연구자들은 조골세포에는 leptin에 대한 수용체가 없으나, leptin 자체 혹은 leptin수용체의 돌연변이를 지닌 ob/ob mice와 db/db mice에서 골량이 증가함을 보고하며, leptin에 의한 골량의 조절이 시상하부를 거쳐 교감신경계를 통해 이루어진다고 보고하였다[17,18]. 이러한 연구결과는 매우 중요한 발견이나 아직까지 모든 연구자들이 이 가설에 동의하고 있지는 않다.

5) 골재형성의 증가와 골다공증

골재형성은 basic multicellular unit (BMU)라는 단위에서 이루어지며 예를 들어 폐경이후와 같은 조건에서는 이 각각의 BMU에서 골의 흡수가 골의 형성보다 클 때, 이러한 음의 균형이 발생한다. 그러나 매 재형성 과정마다 골표면에서 소실되는 골량은 아주 미세하기 때문에 이러한 양적인 불균형은 골소실의 일부만을 설명할 뿐이며 더 문제가 되는 것은 이러한 재형성의 속도(remodeling rate)이다. 즉, 전신에 걸쳐서 BMU가 빠른 속도로 생기면 소주골이나 피질골이 가늘어지고 소공이 많아지게 되어(porous), 전신적인 골량의 감소로 이어진다는 것이다. 현재 골다공증 치료제로 이용되는 대부분의 골흡수억제제는 바로 이러한 BMU의 생성 속도, 즉 activation frequency를 현저하게 낮추어 골량을 유지시키고 골절을 예방하는 효과를 나타내게 된다(Fig. 6).

6) 1차 및 2차 무기질화

파골세포에 의해 골이 흡수되고 나면 이에 coupling되어 골의 형성단계가 이어지는 데, 먼저 조골세포에 의해 osteoid가 합성이 되고 콜라겐 분자 사이에 작은 mineral crystal이 침착하게 되며 이후 수일에 걸쳐 이러한 crystal이 수분이 차지하고 있

던 공간을 채워가며 뼈의 무기질화를 이루게 된다. 이러한 과정을 1차 무기질화(primary mineralization)라고 하며, 이 과정은 매우 빨리 진행되지만 길게는 2~3개월까지도 지속된다. 이러한 1차 무기질화 이후 침착된 무기질은 그 크기 혹은 수의 증가에 의해 더욱 더 축적되어 이를 2차 무기질화(secondary mineralization)이라고 하나, 이 시기에는 시간에 따른 무기질 침착의 정도가 지수함수적으로 감소하게 된다(Fig. 7). 무기질 침착은 뼈 조직 내에 있는 수분을 제거하면서 일어나기 때문에 침착되는 무기질의 양에는 한계가 있게 된다.

결론

이상 골의 무기질화 및 재형성 과정에 관여하는 인자들과 이들의 작용에 의해 어떻게 이 두 가지 과정이 조절되고 있는 지 알아보았다. 아직까지도 이에 대한 연구가 끊임없이 이어지고 있으며, 특히 최근 들어 인간 및 동물 유전자에 대한 정보가 늘어나고 새로운 분자생물학적 기법의 발달로 괄목할 만한 성장을 이루었으나, 생체 내에서는 골수라는 접근이 어려운 공간에서 이루어진다는 면과 병적인 변화와 생리적 변화와의 경계가 불분명하다는 점에서 연구에 어려운 점이 있다. 그러나 이 두 가지 생리적인 현상에 대한 연구는 골다공증을 비롯한 다양한 골대사질환에 대한 병태생리를 이해하고 치료에 중요한 단서를 제공할 분야로 향후에도 지속적인 발전이 기대되고 있다.

참고문헌

1. Rossert J, Crombrughe B: Type I collagen: *Structure, synthesis and regulation*. In: J. Bilezikian, L. Raisz, and G. Rodan (eds.), *Principles of bone biology 1*. San Diego,

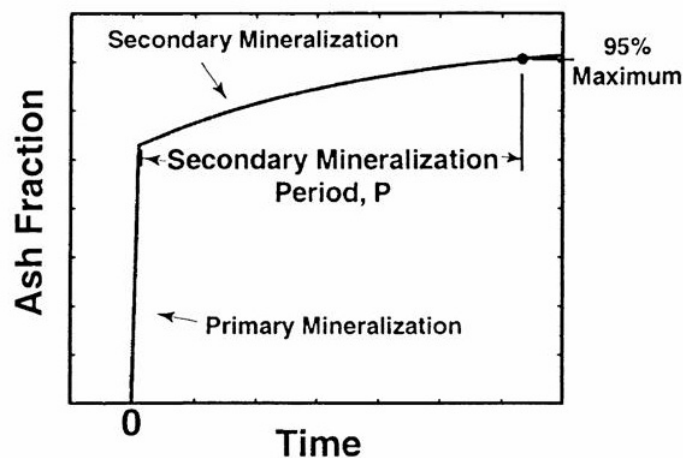


Fig. 7. Primary and secondary mineralization phase. The secondary mineralization period is defined as the time required for bone to mineralize from 70% to 95% of the theoretical maximum ash fraction.

- USA: Academic Press, 2002
2. Gokhale J, Robey P, Boskey A: *The biochemistry of bone.* In: R. Marcus, D. Feldman, and A. Kelsey (eds.), *Osteoporosis 1*, pp107-188, San Diego, USA: Academic Press, 2001
3. Seibel MJ, Woitge HW: *Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects.* *J Clin Densitom* 2:299-321, 1999
4. Gorski JP: *Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms.* *Crit Rev Oral Biol Med* 9:201-223, 1998
5. Glimcher MJ: *Mechanism of calcification: role of collagen fibrils and collagen-phosphoprotein complexes in vitro and in vivo.* *Anat Rec* 224:139-153, 1989
6. Anderson HC: *Mineralization by matrix vesicles.* *Scan Electron Microsc* 953-964, 1984
7. Termine JD, Belcourt AB, Conn KM, Kleinman HK: *Mineral and collagen-binding proteins of fetal calf bone.* *J Biol Chem* 256:10403-10408, 1981
8. Stubbs JT, 3rd, Mintz KP, Eanes ED, Torchia DA, Fisher LW: *Characterization of native and recombinant bone sialoprotein: delineation of the mineral-binding and cell adhesion domains and structural analysis of the RGD domain.* *J Bone Miner Res* 12:1210-1222, 1997
9. Boskey AL: *Osteopontin and related phosphorylated sialoproteins: effects on mineralization.* *Ann N Y Acad Sci* 760:249-256, 1995
10. Frost H. *Dynamics of bone remodeling.* *Bone Biodynamics*, pp315. Boston, MA: Little and Brown, 1964.
11. Riggs BL, Wahner HW, Melton LJ, 3rd, Richelson LS, Judd HL, Offord KP: *Rates of bone loss in the appendicular and axial skeletons of women. Evidence of substantial vertebral bone loss before menopause.* *J Clin Invest* 77:1487-1491, 1986
12. Genant HK, Cann CE, Ettinger B, Gordan GS: *Quantitative computed tomography of vertebral spongiosa: a sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy.* *Ann Intern Med* 97:699-705, 1982
13. Rodan GA, Martin TJ: *Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption--a hypothesis.* *Calcif Tissue Int* 33:349-351, 1981
14. Howard GA, Bottemiller BL, Turner RT, Rader JJ, Baylink DJ: *Parathyroid hormone stimulates bone formation and resorption in organ culture: evidence for a coupling mechanism.* *Proc Natl Acad Sci U S A* 78:3204-3208, 1981
15. Locklin RM, Khosla S, Turner RT, Riggs BL: *Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone.* *J Cell Biochem* 89:180-90, 2003
16. Enomoto H, Shiojiri S, Hoshi K, Furuichi T, Fukuyama R, Yoshida CA, Kanatani N, Nakamura R, Mizuno A, Zanma A, Yano K, Yasuda H, Higashio K, Takada K, Komori T: *Induction of osteoclast differentiation by Runx2 through receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin regulation and partial rescue of osteoclastogenesis in Runx2-/- mice by RANKL transgene.* *J Biol Chem* 278:23971-23977, 2003
17. Fu L, Patel MS, Bradley A, Wagner EF, Karsenty G: *The molecular clock mediates leptin-regulated bone formation.* *Cell* 122:803-815, 2005
18. Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, Starbuck M, Yang X, Liu X, Kondo H, Richards WG, Bannon TW, Noda M, Clement K, Vaisse C, Karsenty G: *Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART.* *Nature* 434:514-520, 2005
19. 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, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ: *Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density.* *Cell* 89:309-319, 1997
20. Akatsu T, Murakami T, Ono K, Nishikawa M, Tsuda E, Mochizuki SI, Fujise N, Higashio K, Motoyoshi K, Yamamoto M, Nagata N: *Osteoclastogenesis inhibitory factor exhibits hypocalcemic effects in normal mice and in hypercalcemic nude mice carrying tumors associated with humoral hypercalcemia of malignancy.* *Bone* 23:495-498, 1998
21. 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

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. Yamamoto M, Murakami T, Nishikawa M, Tsuda E, Mochizuki S, Higashio K, Akatsu T, Motoyoshi K, Nagata N: *Hypocalcemic effect of osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin in the thyroparathyroidectomized rat. Endocrinology* 139:4012-4015, 1998
24. 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
25. Lum L, Wong BR, Josien R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlondorff J, Tempst P, Choi Y, Blobel CP: *Evidence for a role of a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. J Biol Chem* 274:13613-13618, 1999
26. Wong BR, Josien R, Choi Y: *TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. J Leukoc Biol* 65:715-724, 1999
27. Kong YY, Boyle WJ, Penninger JM: *Osteoprotegerin ligand: a common link between osteoclastogenesis, lymph node formation and lymphocyte development. Immunol Cell Biol* 77:188-193, 1999
28. 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
29. Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, Capparelli C, Tan HL, McCabe S, Elliott R, Scully S, Van G, Kaufman S, Juan SC, Sun Y, Tarpley J, Martin L, Christensen K, McCabe J, Kostenuik P, Hsu H, Fletcher F, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ: *RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1566-1571, 2000
30. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, Daro E, Smith J, Tometsko ME, Maliszewski CR, Armstrong A, Shen V, Bain S, Cosman D, Anderson D, Morrissey PJ, Peschon JJ, Schuh J: *RANK is essential for osteoclast and lymph node development. Genes Dev* 13:2412-2424, 1999
31. Noda M, Camilliere JJ: *In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-beta. Endocrinology* 124:2991-2994, 1989
32. Filvaroff E, Erlebacher A, Ye J, Gitelman SE, Lotz J, Heilman M, Derynck R: *Inhibition of TGF-beta receptor signaling in osteoblasts leads to decreased bone remodeling and increased trabecular bone mass. Development* 126:4267-4279, 1999
33. Sabatini M, Boyce B, Aufdemorte T, Bonewald L, Mundy GR: *Infusions of recombinant human interleukins 1 alpha and 1 beta cause hypercalcemia in normal mice. Proc Natl Acad Sci U S A* 85:5235-5239, 1988
34. Pacifici R, Rifas L, McCracken R, Vered I, McMurtry C, Avioli LV, Peck WA: *Ovarian steroid treatment blocks a postmenopausal increase in blood monocyte interleukin 1 release. Proc Natl Acad Sci U S A* 86:2398-2402, 1989
35. Felix R, Cecchini MG, Fleisch H: *Macrophage colony stimulating factor restores in vivo bone resorption in the op/op osteopetrotic mouse. Endocrinology* 127:2592-2594, 1990
36. Pfeilschifter J, Bonewald L, Mundy GR: *Characterization of the latent transforming growth factor beta complex in bone. J Bone Miner Res* 5:49-58, 1990
37. Canalis E, McCarthy T, Centrella M: *Growth factors and the regulation of bone remodeling. J Clin Invest* 81:277-281, 1988
38. Canalis E, Pash J, Gabbitas B, Rydziel S, Varghese S: *Growth factors regulate the synthesis of insulin-like growth factor-I in bone cell cultures. Endocrinology* 133:33-38, 1993
39. Krane SM: *Identifying genes that regulate bone remodeling as potential therapeutic targets. J Exp Med* 201: 841-843, 2005
40. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, Dupuis J, Osborne M, Folz C, Manning SP, Swain PM, Zhao SC, Eustace B, Lappe MM, Spitzer L, Zweier S, Braunschweiger K, Benchekroun Y, Hu X, Adair R, Chee L, FitzGerald MG, Tulig C, Caruso A, Tzellas N, Bawa A, Franklin B,

- McGuire S, Nogues X, Gong G, Allen KM, Anisowicz A, Morales AJ, Lomedico PT, Recker SM, Van Eerdewegh P, Recker RR, Johnson ML: *A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. Am J Hum Genet* 70:11-19, 2002
41. Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakis G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, Batch JA, Beighton P, Black GC, Boles RG, Boon LM, Borrone C, Brunner HG, Carle GF, Dallapiccola B, De Paepe A, Floege B, Halfhide ML, Hall B, Hennekam RC, Hirose T, Jans A, Juppner H, Kim CA, Keppler-Noreuil K, Kohlschuetter A, LaCombe D, Lambert M, Lemyre E, Letteboer T, Peltonen L, Ramesar RS, Romanengo M, Somer H, Steichen-Gersdorf E, Steinmann B, Sullivan B, Superti-Furga A, Swoboda W, van den Boogaard MJ, Van Hul W, Vikkula M, Votruba M, Zabel B, Garcia T, Baron R, Olsen BR, Warman ML: *LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. Cell* 107:513-523, 2001
42. Robey PG, Boskey AL. *Extracellular matrix and biomineralization of bone. In: M. J. Favus (ed.), Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, pp38-46. Washington D.C.: American Society of Bone and Mineral Research, 2003*