

골다공증 및 혈관석회화: OPG-KO mice에서의 연구

전남대학교 의과대학 약리학교실

김 낙 성

Osteoporosis and Vascular Calcification: Lesson from OPG KO Mice

Nacksung Kim

Medical Research Center for Gene Regulation, Chonnam National University Medical School

I. 서론

세포의 기질 (extracellular matrix)의 석회화 (calcification)는 골격계, 치아, 성장판 연골 같은 조직의 분화 및 형성에 있어서 필수적인 과정이나 정상적인 상태에서는 무기질침착 (mineralization)이 발생하지 않는 조직에서 발생하는 석회화는 여러 질병을 유발한다. 대동맥 부위에서 발생하는 혈관석회화는 노화, 죽상경화증, 당뇨병, 신장 질환 및 유전적인 질병에 있어서 자주 유발된다[1~3]. 혈관에서의 석회화는 물리적인 손상, 감염 및 염증반응에 의해 유발되며 혈관석회화의 초기 단계에 대식세포 (macrophage), 비만세포 (mast cell), 평활근세포 (smooth muscle cell)들이 관여함이 밝혀졌다[3~5]. 비록 오랫동안 혈관석회화의 조절인자들에 의한 신호전달 및 작용기전에 대한 연구가 진행되어 왔으나 아직 명확히 밝혀진 바 없다. 이와 더불어 혈관석회화는 골다공증성 골손실과 연관이 있음이 제시되어 왔으나 그 원인 또한 아직 명확치 않다. Osteoprotegerin (OPG) 결손 생쥐가 심한 골다공증과 더불어 혈관석회화가 유발된 점은 OPG가 혈관과 골대사를 연결하는 중요한 물질임을 제시하여 주었다. 최근의 연구 결과들은 OPG가 혈관석회화에 있어서 중요한 autocrine 또는 paracrine 조절자임을 암시하여 주었으며, 혈관석회화를 동반한 질병을 갖는 환자의 혈장 내 OPG 양이 증가되어 있음은 OPG가 혈관석회화의 하나의 지표로서 이용될 수 있음을 제시하여 주었다. 그러나 아직도 OPG의 혈관석회화에 있어서의 작용기전은 명확히 밝혀진 바 없다. 이에 본 논문에서는 OPG의 혈관석회화에서의 역할과 병리학적인 관점에서의 접근을 해보고자 한다.

II. 본론

II-1. RANKL

Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)는 tumor

necrosis factor (TNF) 계열의 일원으로서 M-CSF와 함께 파골세포 분화에 필수적인 사이토카인이며, 파골세포의 골파괴활성화 및 파골세포와 수상돌기세포의 생존력을 증대시켜 준다[6~9]. RANKL은 tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine (TRANCE), osteoprotegerin ligand (OPGL), osteoclast differentiation factor (ODF), TNFSF11로도 불린다[7,10~13]. RANKL은 일반적으로 316개의 아미노산으로 구성된 막단백질로서 존재하며 TNF- α convertase (TACE)에 의한 절단으로 수용성 단백질로 분비되기도 하나, 이 두 형태의 생리학적 특성은 보고된 바 없다[14].

RANKL은 주로 T 세포와 조골세포(또는 간질세포)에서 많이 발현되나, 배아 발생시의 뇌, 심장, 신장, 골격근, 피부 등에서 발현된다[10,11,13]. RANKL의 발현은 glucocorticoid, 에스트로겐, 비타민 D (1,25[OH]₂D₃), interleukin-1 (IL-1), TNF- α 등의 osteotropic 인자들에 의해 조절된다 (Table 1). RANKL 결손 쥐에서는 림프절 형성의 결함과 파골세포 분화의 결함에 따른 심한 골화석증을 동반한다[15,16]. 한편 림프구에서 인위적으로 RANKL을 과발현시킨 쥐와의 교배는 RANKL 결손 쥐에서의 파골세포 분화를 촉진하며 부분적으로 골화석증을 완화시킴을 보여주었는데, 이는 RANKL이 생체 내에서 파골세포 분화에 있어서 매우 중요한 물질임을 암시해 주고 있다[17]. 또한 RANKL은 NF- κ B를 통한 AKT/protein kinase B (PKB)의 신호전달계를 활성화함으로써 유방상피세포의 고사를 억제하는데, RANKL 결손 쥐에서는 임신시 젖샘 형성이 되지 않는다[18].

II-2. RANK

Receptor activator of NF- κ B (RANK)는 CD40와 높은 상동성을 보이는 막상 수용체로서 RANKL과 결합 시에 trimer를 형성하며 세포 내로 신호를 전달한다[7,11]. RANKL/RANK의 결합은 RANK에 TRAF1,2,3,5,6 등의 adaptor들의 결합을

Table 1. Regulators of RANKL, RANK, and OPG expression

| Cell Type | Molecule | Stimulated by | Inhibited by |
|------------------------------|----------|---|--|
| OB/Stromal Cells | OPG | IL-1[32, 33], TNF- α [32,33], Vitamin D ₃ [13, 34], IL-4[35], IL-13[35,36], BMP2[34], Emdogain[37], TGF- β [36,38], Testosterone[39], Estrogen[40], T3[41], Menaquinone-7[42], PGD ₂ [43], IL-6[44], IL-11[45], Vasoactive intestinal peptide[46], Raloxifene[47], NO-donor[48], IL-18[49], Calcium[50], Oncostatin M[44], Leukemia inhibitory factor[44], LPS[51], IFN- γ [36], Bisphosphonates[52] | PTH[13,38,53], PGE ₂ [13,38,54], Vitamin A[55], TIEG1[56], IL-1[36,38,57], Glucocorticoid[58,59], IGF-1[60], Retinoids[61], Runx2[62], IL-6[36], IL-17[36], TNF- α [36], Cyclosporin A[63], Rapamycin[63], FK506[63] |
| | RANKL | Vitamin D ₃ [13, 34], PTH[13,53], PGE ₂ [13, 54], IL-1[32,36], TNF- α [32,36], IL-6[44], IL-11[13,36,45], IL-17[36], Calcium[50], Menaquinone-7[42], ROS[64], TIEG1[56], Histamine[65], Vitamin A[55], FGF2[66], Hyaluronan[67], Annexin II[68], Rolipram[69], Leukemia inhibitory factor[44], Oncostatin M[44], Glucocorticoid[58,59], Runx2[62], Cyclosporin A[63], Rapamycin[63], FK506[63], Adenosine triphosphate[70] | Vasoactive intestinal peptide[46], IL-13[35], IFN- γ [36], PGD ₂ [43], Estrogen[40], Vitamin K[71], IL-4[35], TGF- β [36,38], 3-Methylcholanthrene[72] |
| | RANK | Menaquinone-7[42] | IL-4[35], IL-13[35], IL-6[44] |
| | OPG | Leptin[73] | M-CSF[74] |
| Monocytes/ Macrophages | RANKL | CCR1 Chemokines[75] | ND |
| Osteoclasts | RANK | TGF- β [76], Vitamin D ₃ [77], TPA[77], RANKL[78] | Ascorbic acid[79], Heme-Oxygenase 1[80], TGF- β [81], IL-4[35], IL-13[35], OPG[82] |
| Endothelial Cells | OPG | IL-1[83,84], TNF- α [83,84], OPN/ $\alpha_v\beta_3$ [85,86] | TGF- β [87] |
| | RANKL | IL-1[83,84], TNF- α [83,84], TGF- β [87], Indian hedgehog[88] | ND |
| | RANK | VEGF[89] | Osteostat/TNFSF18[90] |
| Vascular Smooth Muscle Cells | OPG | PDGF[91], bFGF[91], Angiotensin II[91], TNF- α [91], IL-1[91] | PPAR- γ Ligand[92], Cyclosporin A[63], Insulin[93] |
| | RANKL | ND | ND |
| | RANK | ND | ND |

유도하는데, 이 중 TRAF6와의 결합이 RANKL/ RANK의 신호전달에 매우 중요한 것으로 알려져 있다[19~21]. TRAF6는 RANKL/RANK에 의한 파골세포의 분화 및 활성화에 있어서 주된 역할을 담당하나, 최근에 TGF- β 의 도움이 있을 경우 TNF- α 에 의해 TRAF6를 경유하지 않는 새로운 신호전달 경로가 존재함이 밝혀졌다[22]. RANK를 통한 신호는 NF- κ B, c-Jun N-terminal kinase (JNK), p38, AKT, extra-cellular signal-regulated kinase (ERK) 등을 활성화하며, 이들은 파골세포 분화에 있어서 중요한 전사인자로 알려진 c-fos, Mitf, PU.1, NFATc1 등의 유전자의 발현 증가와 활성화를 통하여 파

골세포 분화를 유도한다[23,24]. RANK는 파골세포의 전구체, 파골세포, 수상돌기세포에 발현되며, 신장, 허파, 뇌, 근골격, 신장, 간, 피부 등의 다양한 조직에서 발현된다[11,25]. RANK는 RANKL과 OPG와는 달리 osteotropic 인자들에 의해 많은 영향을 받지 않는다 (Table 1). RANK 결손 쥐에서도 RANKL 결손 쥐와 유사한 형질의 결핍을 보여주는데 이는 RANK가 RANKL의 주된 수용체임을 암시하여 준다[26].

II-3. OPG

OPG는 401개의 아미노산으로 이루어진 TNF 수용체의 일

원으로서 막관통부위 (transmembrane domain)가 없어 세포 밖으로 분비된다[9,27]. OPG는 헤파린 결합 단백질로서 아미노산 서열은 RANK와 유사하지는 않으나 OPG는 RANKL과 결합할 수 있다[28]. 이러한 결합은 RANKL/RANK의 결합에 의한 신호전달을 막아 파골세포의 분화 및 활성화를 억제한다[9,27]. TNF 계열의 일원인 TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)은 TRAIL 수용체에 결합함으로써 세포의 고사를 유도하는데 OPG는 TRAIL에 결합하여 TRAIL에 의해 유도되는 세포고사를 막아준다[29]. OPG는 골모/간질세포에서 발현되며, 간, 허파, 심장, 신장, 위, 장, 피부, 머리덮개뼈 (calvaria) 등의 많은 조직에서 발현된다[27,30]. OPG의 발현은 1,25(OH)₂D₃, parathyroid hormone (PTH), IL-11 등에 의해 조절을 받는다 (Table 1). OPG 과발현 쥐는 심한 골화성증을 보여주나, OPG 결손 쥐는 파골세포의 활성화에 기인한 과도한 골교체가 발생하며 심한 골다공증을 유발한다[27,31].

II-4. Osteoimmunology: Bone metabolism and Immune system

면역계와 골격계 (skeletal system)는 사이토카인, 신호전달 물질, 전사인자 등의 많은 물질들을 공유하며, 줄기세포를 포함한 여러 면역세포들은 골수에서 형성 및 유지되면서 골과 밀접한 관계를 유지하고 있다. 이러한 생리학적인 상호작용뿐만 아니라 병리학적으로도 서로 영향을 주는데, 감염을 동반하는 류마티스 관절염, 치주염, 자가면역질환 등에서 면역계는 골대사에 있어서 크게 영향을 미친다.

T 림프구에서 RANKL의 발현은 T 세포 수용체 (TCR)의 반응에 의해 유도되고, Ca²⁺ 이동에 의존한다[10,11,94]. 활성화된 T 림프구 또는 활성화된 T 림프구의 배양 상등액은 in vitro에서 파골세포 분화를 유도한다[95]. Cytotoxic T lymphocyte antigen (CTLA) 4가 결손된 쥐의 T 림프구는 항상 활성화 상태를 유지하는데, CTLA4 결손 쥐에서 파골세포의 증가를 동반한 골다공증 표현형이 나타난다[95]. RAG2 결손 쥐에 CTLA가 결손된 T 림프구를 주입하면 시간이 지나면서 골밀도가 감소하게 된다[95]. 또한 T 림프구와 B 림프구에서만 과발현되는 RANKL 형질전환 (transgenic) 쥐와의 교배는 RANKL 결손 쥐에서 관찰되는 골화성증의 표현형을 정상처럼 되돌려 놓을 수 있다[17]. 이러한 연구 결과들은 생체 내에서 면역을 담당하는 림프구에 의해 골 항상성이 조절될 수 있음을 보여주고 있다.

대부분의 면역 반응은 파골세포의 활성화에 영향을 주지 않으나, 어떤 자가면역 조건에서는 파골세포의 활성화를 통한 골 감소가 유발된다[96]. 관절염에서의 윤활관절 (synovial joint)의 염증은 심각한 통증을 동반하는 골과 연골의 파괴를 가져온다[96]. Lewis rats에서 면역보강제 (adjuvant)를 이용하여 유발된 관절염에 OPG의 주입은 염증에는 별다른 영향이 없으나, 골손실과 연골의 파괴를 억제하였다[95]. K/BxN 형질전환 쥐로

부터 얻은 혈청의 주입으로 유발되는 관절염 모델은 T 세포의 활성화가 필요하지 않는데, K/BxN 혈청의 RANKL 결손 쥐로의 주입시 유발되는 관절염에서, 염증과 연골파괴는 대조군과 동일하게 나타나나 골손실은 현저하게 감소하였다[97]. 이러한 결과들은 T 림프구가 자가면역 관절염의 동물 모델에서 파골세포에 의한 골 파괴의 유도를 매개한다는 것을 다시 한번 입증하고 있다. 실제로 관절염 환자의 윤활관절에서 관찰되는 모든 T 임파구들은 RANKL을 발현하고 있다[95].

활성화된 T 세포들은 IL-1, IL-11, TNF- α 같은 염증성 사이토카인들을 분비하는데, 이들은 조골세포에 작용하여 RANKL의 발현을 증대시켜 파골세포의 분화 및 활성화를 촉진한다[32]. 한편 T 세포는 IFN- γ , IL-12, IL-18, TGF- β , IFN- β 같은 싸이토카인들을 분비하는데, 이들은 RANKL에 의해 유도되는 파골세포 분화 및 활성화를 억제할 수 있다[98]. 특히 IFN- γ 는 RANKL에 의해 유발되는 신호를 억제함이 밝혀졌는데 이러한 면역세포와 골세포 사이의 조절은 새로운 학문의 분야인 "Osteoimmunology"라는 신조어를 낳게 되었다[99,100]. 또한 RANKL/RANK의 신호전달에는 Fc γ R와 DAP12 같은 ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)을 갖는 보조촉진인자 (costimulatory factor)들을 통한 신호전달이 필수적임이 밝혀졌는데, 최근에 osteoclast-associated receptor (OSCAR)와 TREM2 등이 보조촉진인자들에 결합함으로써 신호를 전달함이 밝혀졌다[101~104]. 앞으로 더욱 많은 Osteoimmunology 분야에서의 연구는 병리학적인 측면에서의 이해와 골과 면역계에 관여되는 질병의 치료에 있어서 중요한 단서들을 제공하리라 여겨진다[7,99,105].

II-5. OPG knockout mice of vascular calcification

OPG가 혈관석회화에 연관되어 있다는 첫 번째 증거로서 OPG 결손 쥐에서 골다공증과 함께 신장동맥과 대동맥 부위에서 혈관석회화가 유발됨이 관찰되었다[31,106]. 이러한 결과로부터 OPG는 정상적인 상태의 생체 내에서 중요한 혈관 방어기능을 하며, 혈관석회화와 골다공증을 연결하는 인자로서 작용할 것이라 제안되었다[31,107,108]. 조직학적으로 볼 때 석회화는 2주령의 OPG 결손 쥐에서부터 확인되었으며 주로 대동맥의 중막 (media) 부위와 신장의 대동맥에 칼슘 침착 (deposit) 부위가 관찰되었으나, 소혈관에서의 석회화는 관찰되지 않았다[31]. 흥미롭게도 RANKL과 RANK는 정상 쥐의 동맥에서는 발현되지 않았으나 OPG 결손 쥐의 석회화된 동맥에서는 발현되고 있으며, RANKL을 발현하는 세포들 근처에 커다란 다핵 RANK⁺ OC-like 세포들이 관찰되었다[106]. 이러한 점들은 사람의 죽상경화증 부위에서도 발견된 바 있으나[109,110], OPG 결손 쥐는 대동맥과 신장 동맥에 죽상경화증에 나타나는 플라크 (plaque) 들을 가지고 있지 않다[31]. 또한 OPG 결손 쥐의 경우와는 달리 사람에게 있어서 OPG의 결손은 Paget 질병을

유발하나 혈관의 비정상화를 유발하지는 않음이 보고된 바 있다[111].

OPG의 결손 쥐에 OPG를 과량 발현하는 형질전환 생쥐와 교배하여 얻은 쥐에서는 골다공증과 혈관석회화가 발생되지 않으나, 출생 직후의 OPG 결손 쥐에 일시적인 OPG 주입은 골다공증을 감소시키나 혈관석회화에는 별다른 영향을 미치지 않는다[106]. OPG의 혈관석회화 억제 기전은 골재형성시에 파골세포 분화에 작용하는 것처럼 OPG가 RANKL과 결합함으로써 RANKL/RANK의 결합을 억제함으로써 이루어 질 것으로 추측이 되는데, 실제로 OPG 결손 쥐의 혈관석회화 부위에 RANK를 발현하고 있는 OC-like 세포와 RANKL을 발현하고 있는 세포들이 그 주변에 존재하고 있음이 밝혀졌다[106,112]. 이러한 결과는 생체 내에 존재하는 OPG가 혈관내의 무기질 침착을 억제하나 골격에서의 무기질 침착은 향상시킨다는 이론을 뒷받침하고 있다. 따라서 OPG를 이용한 치료법은 파골세포에 의해 일어나는 골손실을 억제시킬 수 있으나, OPG의 결손에 의해 유발된 동맥에서의 과대한 무기질침착을 감소시킬 수 없으리라 예상된다.

II-6. Other animal model of vascular calcification

이제까지 혈관석회화를 유발하는 동물모델로는 OPG 외에 또 matrix Gla protein (MGP), SMAD6, carbonic anhydrase isoenzyme II, fibrillin-1, klotho 유전자 결손된 동물들이 밝혀졌다[113~117]. 또한 hyperlipidemia, 비타민 D, nicotine, warfarin 등에 의해 혈관석회화가 동물에서 유발됨이 밝혀졌다[118~123].

MGP는 γ -카르복실기를 함유하는 무기질 결합 단백질로서 혈관 평활근세포 (vascular smooth muscle cell, VSMC)와 연골 외부기질의 연골세포에 의해 만들어지며, bone morphogenetic protein (BMP)-2와 결합함으로써 무기질 침착을 저해하는 것으로 밝혀져 있다. MGP의 결손 쥐는 광범위한 혈관석회화를 유발한다[1~4,124~126]. 또한 warfarin 처리에 의한 MGP의 탈카르복실화는 동물모델에서 광범위한 혈관석회화를 유발함이 밝혀졌다[1,2,4,125,126]. OPG 결손 쥐에서 일어나는 혈관석회화와 비교했을 때, MGP 결손 쥐는 모든 동맥과 연골에서 폭 넓고 심각한 석회화가 나타난다[1~4, 124~126]. 혈관 무기질침착을 동시에 조절하는 MGP와 OPG와의 연관성이 있는지는 알려져 있지 않다. BMP 신호전달체계의 중요 저해물질인 SMAD6의 결손 쥐에서도 대동맥과 소혈관에 발생하는 석회화가 보고되었다[2,3,126]. Carbonic anhydrase isoenzyme II 결손 쥐의 혈관석회화의 정도는 연령과 성에 따라 달리 나타난다[117]. Microfibril의 주된 요소인 fibrillin 결손 쥐는 혈관석회화와 더불어 Marfan 증후군의 특징을 갖는다[116]. 한편 glucosidase와 유사한 막단백질인 klotho의 돌연변이 형질 쥐는 혈관석회화, 골밀도 감소, 혈청 내 OPG와 Pi의 양 증가와 더

불어 복잡한 조기노화 표현형을 나타내고 있다[127~130]. 세포 내 klotho 단백질은 다른 요소들에 의해 만들어진 산화질소를 이용하여 심장혈관을 방어하는 기능을 수행함으로써 내피세포의 기능장애를 예방한다[129]. 사람의 혈관석회화와 혈청 내 OPG 양이 증가하는 것과 관련이 있는 병으로 알려진 급성고혈압, 당뇨병, 급성신부전증 등을 쥐에 유발시키면, 정상적인 경우 klotho가 발현되는 장소인 신장에서의 발현이 저해되며, klotho가 OPG의 발현을 저해할 수 있다고 보고된 바 있다[127,128]. 이러한 klotho 결손 쥐는 고령의 인간에서 보여지는 골다공증의 특징-혈관석회화, 골 손실, 그리고 혈청내 OPG 양의 증가-들을 보여주고 있다[127~130].

현재까지 많은 동물모델에서 골다공증 또는 혈관석회화를 보여 주었지만 오직 두 동물모델인 OPG와 klotho 결손 쥐에서만 혈관석회화와 골다공증을 동시에 갖는 이른바“Calcification Paradox”를 보여 주고 있다. 이러한 현상은 고령의 환자들에서 빈번히 발생하는데 산화된 지질이 골과 혈관 조직에서 각기 다른 영향을 미칠 수도 있다는 가설도 제시된 바 있다[131,132].

II-7. OPG expression in vascular cells

OPG는 염증성 사이토카인인 IL-1과 TNF- α 의 자극에 의해 endothelial cell (EC)과 VSMC에서 발현된다 (Table 1). 간질 세포와는 다르게 EC에서의 OPG 발현은 비타민 D와 PTH에 의해 조절되지 않는다[83]. 비타민 D는 혈관 내측의 석회화에 관련되어 있는데, OPG는 비타민 D에 의해 유도되는 혈관석회화를 억제한다. PTH는 혈관석회화를 억제하며 무기질형성의 억제제로 역할을 하는 osteopontin (OPN)의 양을 증대시키는데, OPN은 EC에서 OPG 발현을 증대시키는 것으로 알려져 있다. 또한 에스트로겐, BMP2, 칼슘 등에 의한 OPG 발현 조절 여부는 명확하지 않지만 이에 대한 연구는 계속되고 있는 중이다[7,133~135].

IL-1과 TNF- α 외에도, 세 가지의 중요한 혈관 관련 발병기전을 조절하는 인자가 있는데, OPG의 발현은 basic fibroblast growth factor (bFGF) 또는 angiotensin II에 의해 VSMC에서 증가되고, platelet-derived growth factor (PDGF)에 의해서도 강력하게 증가된다[91]. 특히 PDGF는 VSMC의 증식과 이동, 내피하층에서 VSMC와 단핵세포(monocyte)의 흡착 및 유지, EC의 맥관형성 (angiogenesis), matrix metalloproteinase (MMP)-3의 합성, 탄력층의 파괴, VSMC에서 peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR)- γ 의 발현 증대 등을 통하여 동맥경화증을 촉진시킨다[91,136~139]. 또한 OPG 발현은 EC에서 TGF- β 에 의해, VSMC에서 면역억제제, PPAR- γ 리간드, 항염증제, 항동맥경화증제 등에 의해 감소된다[63,87,92] (Table 1). 비록 TGF- β 가 항염증제처럼 작용하여 중요한 플라크 안정화 요소로서의 역할을 할지라도, 일반적으로 TGF- β 의 작용이 복잡하고 각각의 조직에 대한 역할이 다른

것처럼, TGF- β 는 혈관세포의 골화와 석회화 및 혈관세포의 증식과 이동 등을 촉진한다[5,110,140~142]. TGF- β 와 PPAR- γ 리간드는 혈관질환에서 중요한 기능을 하고 VSMC에서 상호 조절하는 feedback loop을 형성하고 있다[143]. PPAR- γ 는 EC, VSMC, 단핵/대식세포 같은 혈관세포들에서 발현되는데, 심혈관계에서 유익한 효과를 발휘하며, 특히 동맥경화증으로의 진행을 조절하고, 혈관계 질환과 석회화에 관련이 있는 비만, 고혈압, 당뇨병에 있어서 기능적으로 연결되어 있다[92,143,144]. 사람의 VSMC에서 OPG의 발현을 유도하는 많은 신호(PDGF, bFGF, angiotensin II, TNF- α , IL-1)들은 동시에 PPAR- γ 의 발현을 자극하는데, 이는 아마도 PPAR- γ 리간드에 의해 OPG 발현 양을 조절할 수 있는 negative feedback route를 제공하는 것으로 보여진다[145]. 이러한 메커니즘은 OPG의 발현이 혈관석회화된 부위의 골화된 VSMC에서 감소된다는 보고와 일치한다[146]. PPAR- γ 는 OPG와 더불어 혈관계와 골격계에서 각각 다른 조절기작을 통하여 석회화에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다. 골조직에서 PPAR- γ 는 단핵/대식세포에서는 발현이 되나 조골세포에서는 발현이 되지 않는다. 비록 PPAR- γ 리간드는 단핵/대식세포 전구체로부터 파골세포로 분화하는 것을 저해하나 조골세포에서의 OPG 발현에는 영향을 주지 않는다[92,147]. 골조직에서의 이러한 작용들은 높은 농도의 OPG 양과 높은 골밀도를 유지할 수 있도록 하고 있다. 이와 달리 혈관계 조직에서의 PPAR- γ 리간드는 VSMC에서 OPG의 발현, VSMC의 성장과 생존 및 혈관의 무기질화를 저해하도록 조절하고 있다[92]. 이러한 결과들은 OPG가 골격계와 혈관계에서 PPAR- γ 리간드와 어떻게 작용하여 무기질화를 조절하는 지에 대한 연구의 필요성을 제시하고 있다.

최근에 OPG는 혈청이 제거된 EC에 integrin의 신호를 전달하여 생존을 유도할 수 있음이 밝혀졌다. 이것은 OPG가 파골세포의 전구체를 사멸하도록 유도하는 작용과 반대이다[85, 86, 148]. EC 표면에 존재하는 $\alpha_v\beta_3$ 수용체에 OPN의 결합은 NF- κ B의 신호전달을 통한 OPG의 발현을 유도한다. OPG의 발현은 EC에서 OPN에 의해 야기된 NF- κ B 활성화에 따른 항사멸 작용에 있어서 필수적이며, 이에 RANKL/RANK가 전혀 관여하지 않는다[85]. OPG에 의해 촉진되는 EC의 생존력 증가는 세포 사멸을 유도하는 TRAIL에 직접적으로 결합함으로써 TRAIL이 EC의 표면에 있는 TRAIL 수용체와의 결합을 저해함으로써 유발된다[86]. OPN, $\alpha_v\beta_3$, OPG, TRAIL 등의 물질들은 동맥경화증이나 석회화된 혈관에서 발현되기 때문에, OPG에 의해 매개되어 발생하는 항사멸 기전은 실제로 혈관석회화 부위에서 작용할 수 있음을 시사하고 있다. Hydroxyapatite의 형성과 혈관석회화 저해제로 알려져 있는 OPN은 VSMC와 무기질화된 혈관 부위의 동맥내막에 분포하고 있는 대식세포에서 많이 발현되고 염증과 골화유도 자극에 의해 발현이 증가된다[1,3,124,126]. 혈관생성에 있어서 중요한 integrin $\alpha_v\beta_3$ 의 발현은 EC 표면에 bFGF와 동맥경화증 부위

에 풍부하게 존재하는 염증성 사이토카인의 자극에 의해 증가한다[85,148]. OPG의 발현은 염증성 사이토카인에 의해 직접 또는 OPN/integrin $\alpha_v\beta_3$ 를 매개하는 간접적인 방법으로 증가되어 혈관석회화 질환에서는 혈청 내의 OPG 양이 매우 증가하게 된다. EC에서 분비된 OPG는 integrin에 의해 유도되는 NF- κ B의 신호전달계를 도와주거나 VSMC로부터 분비되는 TRAIL에 의한 사멸기작을 중화시켜 EC의 생존을 높여줌으로써 혈관석회화와 혈관에 상처를 주는 효과를 방어할 수 있는 중요한 autocrine/paracrine 인자로 작용하리라 여겨진다[86,91, 148,149]. OPG의 항동맥경화 및 혈관방어에 대한 역할은 OPG가 쥐에서 warfarin과 비타민 D로 유도한 석회화를 억제시키거나, OPG promoter의 다형성이 관상동맥질환 또는 동맥경화증에서 발생하는 혈관 변화에 밀접한 관계가 있다는 보고들에 의해서 뒷받침되고 있다[31,106,112,150,151]. 또한 OPG가 EC의 생존 유도에 관여한다는 증거는 고사율이 서로 다른 EC에서의 microarray를 이용한 실험에 의해 밝혀졌는데, 고사가 덜 되는 EC에서 vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF 수용체, OPG 등이 더욱 많이 발현되었다[152]. 흥미롭게도 VEGF는 EC에서 $\alpha_v\beta_3$ 와 OPN 발현을 유도하고, VEGF 수용체 2는 $\alpha_v\beta_3$ 와 직접 결합할 수 있음이 밝혀졌다[153,154]. 한편 OPG가 VSMC에 어떤 영향을 주는지에 대해 아직 많은 연구가 되어있지 않다.

II-8. RANKL/RANK expression in vascular cells

RANKL도 OPG처럼 EC에서 발현되며 염증성 사이토카인에 의해서 발현이 유도된다 (Table 1). IL-1과 TNF- α 는 EC에서 RANKL과 OPG의 발현을 동시에 유도하나 RANKL의 발현은 OPG의 발현에 비해 늦게 시작되며 더 오래 지속된다[83]. EC의 표면에 발현되는 RANKL은 단핵세포 전구체로부터 파골세포로의 분화를 유도할 수 있다[83,155]. 일반적으로 RANKL은 파골세포의 분화뿐만 아니라 생존 및 골 파괴 기능들을 촉진시키기 때문에, 염증반응에 의해 활성화된 EC에서 RANKL이 발현되고 있다는 사실은 EC에서 발현하고 있는 RANKL이 혈관 벽에 형성된 골의 재형성에 있어서 중요한 역할을 하리라 여겨진다[12,106,107,110,140,146,156~162]. 또한 EC에서 발현되는 RANKL은 단핵/대식세포의 침윤 (infiltration)과 보충 (recruitment)을 향상시키며, 동맥경화증에서 VSMC의 무기질화를 촉진시키고, 동맥경화성 플라크의 성장과 세포의 침윤을 지지하는 MMP-9가 단핵세포에서 발현되도록 유도한다[156,158,161~167].

RANKL은 염증성 사이토카인 외에도 CD44와 TGF- β 에 의해 EC에서 발현이 유도된다. 전이성 골수종 세포에서 발현되는 CD44는 EC의 CD44 수용체와 결합하여 EC에서 RANKL의 발현을 촉진한다. 이를 통하여 파골세포 분화를 유도하며 생체 내에서 골용해 부위의 형성을 유발한다. CD44는 대동맥 내측

의 calcifying vascular cell (CVC)에서 발현되고, VSMC에서 IL-1에 의해 발현이 유도되며, 혈관석회화 부위에서 발현이 증가되나, CD44가 석회화된 혈관 부위의 EC에서도 RANKL의 발현 유도여부는 아직 밝혀지지 않았다[155,168~170]. TGF- β 는 human umbilical vein endothelial cell (HUVEC)과 골 부위의 EC에서 OPG의 발현을 감소시키나 RANKL의 발현은 증가시킨다[87]. TGF- β 는 혈관계와 골격계에서 상반되게 RANKL과 OPG의 발현을 조절하는데, EC에서는 RANKL의 증가와 OPG의 감소를 유발하나 조골/간질세포에서는 RANKL의 감소와 OPG의 증가를 유도한다[7,87,159]. 그러나 TGF- β 는 궁극적으로 양쪽 조직에서 무기질화를 촉진하는데 관련되어 있다. 결과적으로 골조직에서 TGF- β 에 의해 유도된 RANKL/OPG 비율의 감소는 파골세포에 의한 골흡수를 저해함으로써 골격의 무기질화를 돕게 되나, 혈관계에서 TGF- β 에 의해 RANKL/OPG 비율이 증가하면 혈관의 골화와 석회화, 세포의 증식과 이동, 그리고 기질의 재형성 등을 유도한다[110,171]. 이러한 결과는 RANKL이 혈관세포의 골화와 석회화 과정을 직접적으로 촉진한다는 증거를 뒷받침하고 있다[172~174]. 혈관석회화 과정에서 골화가 일어나는 부위의 VSMC에서 RANKL의 발현은 증가되나 OPG의 발현은 감소된다[84,92,106,109,146]. 그러나 이와는 반대로 동맥경화질환의 신내막과 Monckeberg sclerosis의 동맥 내측에서 약한 RANKL과 강한 OPG의 발현이 보고된 바 있다[149].

기능적으로 RANKL은 EC의 혈관생성과 생존을 유도하고 VSMC의 골분화와 석회화를 유도하는데 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 증식하지 않는 HUVEC에서의 혈청 결핍 또는 TNF- α 나 LPS 처리 시에 RANKL은 PI3K/Akt 신호를 자극함으로써 부분적으로 상피세포의 사멸을 막는다[84]. 또한 RANKL은 EC의 증식, 화학적 주성에 의한 이동, in vitro에서 모세혈관의 생성 등을 촉진시키며, 동물 모델에서 신혈관 생성을 자극한다고 알려져 있다[173]. RANKL은 EC 표면의 RANK에 결합함으로써 Src/phospholipase C/Ca²⁺의 신호를 유발하며 VEGF 같은 초기 혈관생성에 관여하는 신호전달 물질의 도움이 없어도 EC 혈관생성을 촉진시킨다[173]. 흥미롭게도 VEGF는 EC에서 Flk-1을 통하여 RANK의 발현을 증가시켜, RANKL에 의해 유발되는 EC의 모세혈관 형성을 더욱 유도할 수 있도록 한다[174]. 이러한 발견들은 Flk-1 (VEGFR-2)와 VEGF의 발현이 동맥경화증을 갖는 환자와 apoE 결손 쥐의 혈관세포 및 혈관벽에서 증가되어 있고, VEGF의 발현이 산화된 지질에 의해서 대식세포에서 증가되며, 혈관생성을 억제하는 약물들이 플라크의 성장과 동시에 새로운 혈관 생성을 감소시키며, RANKL과 RANK의 발현이 석회화된 죽종성 질환에서 증가한다는 결과들과 연관성을 보여주고 있다[83,146,149,172,175,176]. 위의 결과들을 종합하여 볼 때 RANKL의 발현은 혈관생성 과정을 시작할 수 있도록 도와주며 이를 지속적으로 가능하게 함으로써 혈관의 염증과 석회화를 악화시킬 수 있

으리라 여겨진다. 또한 혈관생성에 있어서 매우 중요한 경로인 VEGF/Flk-1의 신호는 신생혈관 생성을 자극함으로써 동맥경화증으로의 진행에 있어서 중요한 역할을 하고 있음을 암시하고 있다[177,178].

또한 RANKL은 직접적으로 내측의 외막세포에서의 골 표현형을 촉진한다[172]. 특히 분리된 인간 대동맥 혈관의 근섬유 모세포를 무기질화를 일으키는 조건 하에서 배양하면 외부에서 첨가해주는 RANKL에 반응해서 그들의 골 특이성 alkaline phosphatase 활성, osteocalcin 발현, cbfa-1/DNA 결합, 기질의 석회화, 그리고 소결절(nodule) 형성 등이 증가된다[172]. 또한 정상인의 대동맥에 비해 석회화된 대동맥에서 RANKL의 발현이 증가되며 OPG의 발현이 감소되어 있음이 관찰되었다[172]. 이상의 결과들은 RANKL이 혈관의 석회화를 촉진하는데 관여하며 OPG는 혈관계에 방어기작을 제공할 수 있음을 시사하고 있다[31,106,172~174]. 만약에 그렇다면, RANKL이 다른 강력한 신호전달 체계와 협동해서 석회화되는 혈관계질환의 기본적인 성질의 기초가 되는 혈관생성과 골생성 모두를 촉진시킨다고 볼 수 있다. OPG는 EC와 VSMC에서의 RANKL에 의해 매개되는 활성 중에 어느 것을 중화시키는 지는 현재 알려져 있지 않은데, 혈관계 질환에서 순환하는 OPG양이 증가해서 잠재적인 방어기작을 가진다 해도 질환 효과들을 완전히 중화시키기에는 충분하지 않을 수 있다.

III. 임상과의 관련성

III-1. Relationship between vascular calcification and osteoporosis

골다공증과 혈관석회화는 노화, 염증성 질병, glucocorticoid, 급성신부전증, 또는 에스트로겐 결핍 같은 요인들에 의해 빈번하게 발생한다[106,108,132,157,159,163,179]. 골다공증 환자들은 높은 빈도로 혈관석회화가 발생하며, 환자의 요추 측면 방사선 촬영시 골다공증성 척추골의 근처에 자리 잡고 있는 대동맥에 짙은 칼슘 침착이 흔히 보인다[106,108,132,163,179]. 또한 역학 조사에 의하면 동맥경화증, 혈관석회화, 또는 심혈관질환의 환자들에서 높은 비율로 골다공증이 발생하는 것을 알 수 있다. 실제로 폐경후의 여자들은 뼈의 손실과 더불어 동맥경화증에서의 혈관석회화가 동시에 진행되어 골격 내에서의 골밀도는 감소하지만 혈관 내에서는 골 형성이 촉진됨을 보여준다[108,131]. Bisphosphonates, OPG, 또는 osteoclast vacuolar H⁺ ATPase inhibitors 같은 약물들은 파골세포에 의한 골 흡수를 억제하여 골 손실의 감소를 막아주는데 이들은 또한 동물에서 혈관석회화를 저해할 수 있음이 보고된 바 있다[112]. 따라서 생체 내 칼슘의 불균형은 혈관과 골 사이의 중요한 요소로 알려진 OPG를 이용하는 메커니즘을 통하여 뼈로부터 혈관 벽으로의 칼슘이동이 발생할 수 있다고 제안된 바 있다

[107,108].

III-2. Regulation of RANKL/RANK/OPG expression in vasculature

OPG는 심장, 동맥, 그리고 정맥을 포함하는 심혈관 계통의 여러 조직에서 발현된다. EC와 VSMC는 지속적으로 OPG를 발현하는데, 특히 대동맥과 신장동맥에서 많이 만들어진다[12, 31,63,106,159,160,172]. 이와 달리, 비록 쥐 피부의 대동맥 병변, 작은 모세혈관, 그리고 소장맥 또는 쥐 골의 혈관에서 적은 양의 RANKL 발현이 보여지나, 정상적인 혈관과 석회화 되지 않은 동맥 및 판막에서는 RANKL과 RANK는 검출되지 않는다[12,83,106,109,149,160,172].

반면에 동맥경화증, 석회화된 혈관, 또는 판막에서는 OPG가 발현되나 적은 반면에, RANKL과 RANK의 발현은 증가되어 있다[106,109,146,149,159,172]. 동맥경화증에서와 비슷하게 염증성 질환에서도 OPG의 발현은 감소하나, 치주질환 및 관절부위의 염증조직에 존재하는 세포와 EC에서의 RANKL 발현이 증가되어 RANKL/OPG 비율은 증가되어 있다[180, 181]. RANKL과 OPG는 사람의 죽상경화증 부위에서 검출되는데, OPG는 무기질화된 층판(lamella)의 골과 유사한 구조의 가장 자리에서 발현되며, RANKL은 인접하는 기질에, RANK⁺ OC-like 세포들은 RANKL을 발현하는 세포의 주위에서 발현된다[109,149]. 아마도 OB-like 세포들에 의한 RANKL과 OPG의 발현은 죽종부위(atherogenic lesion)에서의 파골세포 형성을 조절하는 것으로 여겨진다. 또한 RANKL은 chemokine의 분비, MMP-9의 활성도, 단핵/대식세포들의 이동 등을 촉진시킬 수 있기 때문에, RANKL은 죽종부위의 세포 이동을 촉진하는 중요한 역할을 할 수 있음이 제시된 바 있다[156, 158,161,167]. 동맥경화증처럼 석회화된 대동맥판 협착증은 활성화된 대식세포와 T 세포들에 의해 염증이 유도되며 활발한 골 형성이 유발되는데, 석회화된 지역에서 RANKL 발현 세포들의 증가가 관찰된다[172]. 그러나 동맥 내측의 석회화에서는 RANKL은 거의 검출되지 않는 반면, OPG는 석회화된 지역의 주위에서 발현됨이 보고된 바 있다[149]. 사람의 동맥 및 판막에서의 석회화와 그리고 OPG 결손 쥐에서 결과를 종합하여 보면, 일반적으로 OPG의 발현은 거의 변화되지 않으나 RANKL의 발현은 증가함을 보여주고 있는데, 이는 RANKL 발현의 증가가 혈관석회화의 진행에 관여한다고 제안할 수 있는 근거가 된다[106,109,172]. 그러나 혈중 OPG 양이 혈관석회화를 동반한 질병에서 증가되어 있음이 빈번히 보고된 바 있는데, 혈중 OPG 양이 직접적으로 혈관석회화를 촉진하는지는 명확하지 않다. 한 가지 가능성은 혈관에서의 과도한 무기질화의 과정은 이를 줄이기 위한 혈관방어 기작으로 작동하여 OPG의 양을 증가시키는 생물학적인 반응의 결과일 수도 있다 [106, 108,109,124,128,149,159,160,182].

III-3. Relation between vascular calcification and serum level of RANKL/OPG

EC와 VSMC에 의하여 지속적으로 발현되는 OPG는 상대적으로 많은 양이며 신체 내의 내피세포는 많기 때문에 혈관세포는 혈청 내에서 순환하는 OPG의 양에 대해 중요하게 관여하고 있다. 염증은 동맥경화증에서 기본적인 원인이며 내측에 생기는 석회화에 관여하는 중요한 요소이기 때문에, 혈청 내의 변화되는 OPG 양은 혈관 내에서 발생하는 병의 상태와 진전을 알아보는 척도가 될 수 있다[1~5,124~126,139,141,163,165, 166,178,183]. 최근 발표에 의하면 혈관석회화 및 심혈관계 질환에서 혈중 OPG 양이 증가한다고 한다[159,160,184,185]. 또한 혈중 OPG 양은 중증 골다공증과 골교체율이 매우 증가된 폐경기후 여성에게서 증가 하였다[159,160,185]. 혈청 내 OPG 양은 골 손실 지표, 혈청 내의 칼슘과 PTH 양 등과는 상관관계를 보이나 골 형성 지표인 osteocalcin 양과는 상반되는 결과를 보인다[159,160,184]. 그러나 혈청 내 OPG 양과 이들 매개체들 사이에 관련이 없거나 반대되는 결과 또한 보고 된 바 있다 [159]. 혈청 내의 증가된 OPG 양은 노화, 당뇨병, 고혈압, 심혈관질환, 중증 관상동맥질환, 그리고 급성신부전증과 서로 상관관계를 보인다[159,160,184~187]. 또한 혈청 내의 OPG 양은 glucocorticoid 주입 또는 면역억제요법을 시행하는 환자에서 감소함이 보고 되었다[188~190]. 혈청 내 OPG 양과 성호르몬의 양 사이에 연관이 제시되었는데, 혈청 내 OPG 양이 남자보다 여자에게 더 많고, 폐경기후 여성에게서 감소하며, 에스트로겐 대체 요법 및 경구용 피임제에 의해 증가함 등의 결과가 밝혀졌다[107,159,160,191,192]. 일반적으로 혈청 내의 RANKL 양은 별다른 변화가 없으며 혈청 내의 OPG 양과 관련이 없다[111,149,159]. 전체적으로 볼 때, 이러한 연구 결과들은 혈청 내의 OPG 양은 심각한 동맥경화증, 혈관석회화, 또는 혈관의 기능장애 같은 병적인 상태에서 증가하고, 혈관석회화의 원인과 진행과정에 있어서 중요한 기능을 한다고 말할 수 있다 [149,159]. 흥미롭게도, OPG promoter 부위에서의 변화로 인한 유전적 다형성은 경동맥의 내막이 두꺼워지거나 백인 남성에서 높은 관상동맥질환 발생률을 보여주며, 이 중 일부는 혈청 내의 OPG 양과 서로 상관관계가 있음이 보고 되었다[150,151, 193,194].

OPG가 결손된 쥐에서 혈관석회화가 유발되는 초기 연구결과에도 불구하고, 노화된 정상 쥐에서 혈관석회화와 더불어 혈청 내의 OPG 양이 증가됨을 보이며, 또한 klotho 돌연변이 쥐에서 빠른 노화와 골다공증이 발생한다[31,128,195]. 따라서 혈관계 및 혈관석회화를 관장하는 병리학적인 메커니즘에 있어서 순환성 OPG의 기능에 있어서 사람과 동물 사이에 어떤 유사한 연관성을 찾을 수 있을지도 모른다. 또한 늙은 쥐의 혈청 내의 OPG 양은 증가하는 반면에, 골 내의 OPG 양은 감소하며 조골세포의 감소와 파골세포의 증가를 동시에 유발한다. 이러한 결

관들은 OPG가 골격의 감소와 혈관의 석회화 사이의 연관을 제 공하는 가능성을 보여주고 있다[195].

IV. 결론

TNF 계열의 일원인 RANKL과 OPG는 골대사와 면역작용 에 있어서 중요한 매개체로서의 역할을 하는데 이는 류마티스 관절염 등과 같은 골대사와 면역작용에 의해 유발되는 질병에 있어서 깊은 관계가 있음이 밝혀졌다. 혈관계에 있어서 OPG는 평활근세포와 내피세포에 의해서 분비가 되며 내피세포의 생존 인자로서 작용한다. 정상인의 혈관 벽이나 초기 단계의 죽상경 화증 부위에서는 RANKL과 OPG의 면역반응도가 관찰되었으 나 진전된 석회화 부위의 칼슘 침전물 주위를 둘러싸고 있는 세 포의 기질에는 RANKL만이 발현되고 있음이 밝혀졌다[109]. 설치류에서의 OPG의 투여는 비타민 D에 의해 유발되는 혈관 석회화를 예방할 수 있음이 밝혀졌다. 최근의 임상 결과 폐경기 여성에서 OPG의 투여는 안전하며 골교체 표지자들을 줄여줄 수 있는 효과적인 치료법으로 제시된 바 있다[196]. 결론적으로 현재까지의 연구 결과를 종합해 보면, RANKL은 혈관석회화 를 촉진하는데 관여하며 OPG는 혈관계에 방어기작을 제공하고 있음을 시사하고 있다. 이와 더불어 OPG는 골의 보호인자로 서의 역할 뿐만이 아니라 혈관계의 보호인자로서 역할 또한 제 시되고 있다. 앞으로 RANKL과 OPG의 심혈관 질환에 있어서 의 기여도 및 생화학적인 지표로서의 역할에 대한 연구가 지속 되어야 할 것이며 또한 OPG의 “Osteoprotegerin” 으로서의 역 할뿐만이 아니라 심혈관 질환에서 “Vasculo- protegerin” 으로 서의 새로운 역할에 대한 연구가 계속되어야 할 것이다.

V. 참고문헌

1. Mody N, Tintut Y, Radcliff K, Demer LL: *Vascular calcification and its relation to bone calcification: possible underlying mechanisms. J Nucl Cardiol* 10:177-183, 2003
2. Rutsch F, Terkeltaub R: *Parallels between arterial and cartilage calcification: what understanding artery calcification can teach us about chondrocalcinosis. Curr Opin Rheumatol* 15:302-310, 2003
3. Vattikuti R, Towler DA: *Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E686-696, 2004
4. Demer LL, Tintut Y, Parhami F: *Novel mechanisms in accelerated vascular calcification in renal disease patients. Curr Opin Nephrol Hypertens* 11:437-443, 2002
5. Mohler ER, 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS: *Bone formation and inflammation in cardiac valves. Circulation* 103:1522-1528, 2001
6. 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
7. Walsh MC, Choi Y: *Biology of the TRANCE axis. Cytokine Growth Factor Rev* 14:251-263, 2003
8. Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li HL, Steinman RM, Choi Y: *TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. J Exp Med* 186:2075-2080, 1997
9. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ: *Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. Endocr Rev* 20:345-357, 1999
10. Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett FS, 3rd, Frankel WN, Lee SY, Choi Y: *TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. J Biol Chem* 272:25190-25194, 1997
11. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L: *A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. Nature* 390:175-179, 1997
12. 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
13. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T: *Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/ osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci U S A* 95:3597-3602, 1998
14. 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
15. 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
16. Kim D, Mebius RE, MacMicking JD, Jung S, Cupedo T, Castellanos Y, Rho J, Wong BR, Josien R, Kim N, Rennert PD, Choi Y: *Regulation of peripheral lymph node genesis by the tumor necrosis factor family member TRANCE. J Exp Med* 192:1467-1478, 2000
17. Kim N, Odgren PR, Kim DK, Marks SC, Jr., Choi Y: *Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. Proc Natl Acad Sci U S A* 97:10905-10910, 2000
18. Fata JE, Kong YY, Li J, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Moorehead RA, Elliott R, Scully S, Voura EB, Lacey DL, Boyle WJ, Khokha R, Penninger JM: *The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. Cell* 103:41-50, 2000
19. Darnay BG, Haridas V, Ni J, Moore PA, Aggarwal BB: *Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NF-kappaB (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF-kappaB and c-Jun N-terminal kinase. J Biol Chem* 273:20551-20555, 1998
20. Galibert L, Tometsko ME, Anderson DM, Cosman D, Dougall WC: *The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factors in the signaling mechanisms of receptor activator of NF-kappaB, a member of the TNFR superfamily. J Biol Chem* 273:34120-34127, 1998
21. Ye H, Arron JR, Lamothe B, Cirilli M, Kobayashi T, Shevde NK, Segal D, Dziveno OK, Vologodskaya M, Yim M, Du K, Singh S, Pike JW, Darnay BG, Choi Y, Wu H: *Distinct molecular mechanism for initiating TRAF6 signalling. Nature* 418:443-447, 2002
22. Kim N, Kadono Y, Takami M, Lee J, Lee SH, Okada F, Kim JH, Kobayashi T, Odgren PR, Nakano H, Yeh WC, Lee SK, Lorenzo JA, Choi Y: *Osteoclast differentiation independent of the TRANCE-RANK-TRAF6 axis. J Exp Med* 202:589-595, 2005
23. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL: *Osteoclast differentiation and activation. Nature* 423:337-342, 2003
24. Lee ZH, Kim HH: *Signal transduction by receptor activator of nuclear factor kappa B in osteoclasts. Biochem Biophys Res Commun* 305:211-214, 2003
25. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ: *Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3540-3545, 1999
26. 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
27. 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
28. Yamaguchi K, Kinosaki M, Goto M, Kobayashi F, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K: *Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. J Biol Chem* 273:5117-5123, 1998
29. 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
30. 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

31. 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
32. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S: *Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. Bone* 25:255-259, 1999
33. Pantouli E, Boehm MM, Koka S: *Inflammatory cytokines activate p38 MAPK to induce osteoprotegerin synthesis by MG-63 cells. Biochem Biophys Res Commun* 329:224-229, 2005
34. Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S: *Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. Biochem Biophys Res Commun* 250:776-781, 1998
35. Palmqvist P, Lundberg P, Persson E, Johansson A, Lundgren I, Lie A, Conaway HH, Lerner UH: *Inhibition of hormone and cytokine stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased OPG and decreased RANKL and RANK in a STAT6 dependent pathway. J Biol Chem* 2005
36. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, Sakai H: *Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. Biochem Biophys Res Commun* 275:768-775, 2000
37. He J, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q: *Endogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97:239-245, 2004
38. Murakami T, Yamamoto M, Ono K, Nishikawa M, Nagata N, Motoyoshi K, Akatsu T: *Transforming growth factor-beta1 increases mRNA levels of osteoclastogenesis inhibitory factor in osteoblastic/stromal cells and inhibits the survival of murine osteoclast-like cells. Biochem Biophys Res Commun* 252:747-752, 1998
39. Chen Q, Kaji H, Sugimoto T, Chihara K: *Testosterone inhibits osteoclast formation stimulated by parathyroid hormone through androgen receptor. FEBS Lett* 491: 91-93, 2001
40. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL: *Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. Endocrinology* 140:4367-4370, 1999
41. Varga F, Spitzer S, Klaushofer K: *Triiodothyronine (T3) and 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25D3) inversely regulate OPG gene expression in dependence of the osteoblastic phenotype. Calcif Tissue Int* 74:382-387, 2004
42. Katsuyama H, Otsuki T, Tomita M, Fukunaga M, Fukunaga T, Suzuki N, Saijoh K, Fushimi S, Sunami S: *Menaquinone-7 regulates the expressions of osteocalcin, OPG, RANKL and RANK in osteoblastic MC3T3E1 cells. Int J Mol Med* 15:231-236, 2005
43. Gallant MA, Samadfam R, Hackett JA, Antoniou J, Parent JL, de Brum-Fernandes AJ: *Production of prostaglandin D(2) by human osteoblasts and modulation of osteoprotegerin, RANKL, and cellular migration by DP and CRTH2 receptors. J Bone Miner Res* 20:672-681, 2005
44. Palmqvist P, Persson E, Conaway HH, Lerner UH: *IL-6, leukemia inhibitory factor, and oncostatin M stimulate bone resorption and regulate the expression of receptor activator of NF-kappa B ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappa B in mouse calvariae. J Immunol* 169:3353-3362, 2002
45. Ahlen J, Andersson S, Mukohyama H, Roth C, Backman A, Conaway HH, Lerner UH: *Characterization of the bone-resorptive effect of interleukin-11 in cultured mouse calvarial bones. Bone* 31:242-251, 2002
46. Mukohyama H, Ransjo M, Taniguchi H, Ohyama T, Lerner UH: *The inhibitory effects of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on osteoclast formation are associated with upregulation of osteoprotegerin and downregulation of RANKL and RANK. Biochem Biophys Res Commun* 271:158-163, 2000
47. Viereck V, Grundker C, Blaschke S, Niederkleine B, Siggelkow H, Frosch KH, Raddatz D, Emons G, Hofbauer LC: *Raloxifene concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits interleukin-6 production by human trabecular osteoblasts. J Clin Endocrinol Metab* 88:4206-4213, 2003
48. Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, Huang YT, Huang HC, Chang PR, Sun YC, Yang KD: *Nitric oxide donor increases osteoprotegerin production and osteoclastogenesis inhibitory activity in bone marrow stromal cells*

- from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145:2148-2156, 2004
49. Makiishi-Shimobayashi C, Tsujimura T, Iwasaki T, Yamada N, Sugihara A, Okamura H, Hayashi S, Terada N: *Interleukin-18 up-regulates osteoprotegerin expression in stromal/osteoblastic cells. Biochem Biophys Res Commun* 281:361-366, 2001
 50. Takami M, Takahashi N, Udagawa N, Miyaura C, Suda K, Woo JT, Martin TJ, Nagai K, Suda T: *Intracellular calcium and protein kinase C mediate expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in osteoblasts. Endocrinology* 141:4711-4719, 2000
 51. Nagasawa T, Kobayashi H, Kiji M, Aramaki M, Mahanonda R, Kojima T, Murakami Y, Saito M, Morotome Y, Ishikawa I: *LPS-stimulated human gingival fibroblasts inhibit the differentiation of monocytes into osteoclasts through the production of osteoprotegerin. Clin Exp Immunol* 130:338-344, 2002
 52. Viereck V, Emons G, Lauck V, Frosch KH, Blaschke S, Grundker C, Hofbauer LC: *Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. Biochem Biophys Res Commun* 291:680-686, 2002
 53. Lee SK, Lorenzo JA: *Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. Endocrinology* 140:3552-3561, 1999
 54. Brandstrom H, Jonsson KB, Ohlsson C, Vidal O, Ljunghall S, Ljunggren O: *Regulation of osteoprotegerin mRNA levels by prostaglandin E2 in human bone marrow stroma cells. Biochem Biophys Res Commun* 247:338-341, 1998
 55. Jacobson A, Johansson S, Branting M, Melhus H: *Vitamin A differentially regulates RANKL and OPG expression in human osteoblasts. Biochem Biophys Res Commun* 322:162-167, 2004
 56. Subramaniam M, Gorny G, Johnsen SA, Monroe DG, Evans GL, Fraser DG, Rickard DJ, Rasmussen K, van Deursen JM, Turner RT, Oursler MJ, Spelsberg TC: *TIEG1 null mouse-derived osteoblasts are defective in mineralization and in support of osteoclast differentiation in vitro. Mol Cell Biol* 25:1191-1199, 2005
 57. Tanabe N, Maeno M, Suzuki N, Fujisaki K, Tanaka H, Ogiso B, Ito K: *IL-1 alpha stimulates the formation of osteoclast-like cells by increasing M-CSF and PGE2 production and decreasing OPG production by osteoblasts. Life Sci* 77:615-626, 2005
 58. Gao YH, Shinki T, Yuasa T, Kataoka-Enomoto H, Komori T, Suda T, Yamaguchi A: *Potential role of cbfa1, an essential transcriptional factor for osteoblast differentiation, in osteoclastogenesis: regulation of mRNA expression of osteoclast differentiation factor (ODF). Biochem Biophys Res Commun* 252:697-702, 1998
 59. 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
 60. Rubin J, Ackert-Bicknell CL, Zhu L, Fan X, Murphy TC, Nanes MS, Marcus R, Holloway L, Beamer WG, Rosen CJ: *IGF-I regulates osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in vitro and OPG in vivo. J Clin Endocrinol Metab* 87:4273-4279, 2002
 61. Wang X, Wu J, Shidoji Y, Muto Y, Ohishi N, Yagi K, Ikegami S, Shinki T, Udagawa N, Suda T, Ishimi Y: *Effects of geranylgeranoic acid in bone: induction of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation. J Bone Miner Res* 17:91-100, 2002
 62. 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-kappa B ligand (RANKL) and osteoprotegerin regulation and partial rescue of osteoclastogenesis in Runx2-/- mice by RANKL transgene. J Biol Chem* 278:23971-23977, 2003
 63. Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL, Dunstan CR, Spelsberg TC, O'Brien T, Khosla S: *Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-kappaB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun* 280:334-339, 2001
 64. Bai XC, Lu D, Liu AL, Zhang ZM, Li XM, Zou ZP, Zeng WS, Cheng BL, Luo SQ: *Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF-kappaB ligand expression in osteoblast. J Biol Chem* 280:17497-17506, 2005
 65. Deyama Y, Kikuri T, Ohnishi G, Feng YG, Takeyama S,

- Hatta M, Yoshimura Y, Suzuki K: *Histamine stimulates production of osteoclast differentiation factor/receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand by osteoblasts. Biochem Biophys Res Commun* 298:240-246, 2002
66. Chikazu D, Katagiri M, Ogasawara T, Ogata N, Shimoaka T, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H: *Regulation of osteoclast differentiation by fibroblast growth factor 2: stimulation of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor expression in osteoblasts and inhibition of macrophage colony-stimulating factor function in osteoclast precursors. J Bone Miner Res* 16:2074-2081, 2001
67. Cao JJ, Singleton PA, Majumdar S, Boudignon B, Burghardt A, Kurimoto P, Wronski TJ, Bourguignon LY, Halloran BP: *Hyaluronan increases RANKL expression in bone marrow stromal cells through CD44. J Bone Miner Res* 20:30-40, 2005
68. Li F, Chung H, Reddy SV, Lu G, Kurihara N, Zhao AZ, Roodman GD: *Annexin II stimulates RANKL expression through MAPK. J Bone Miner Res* 20:1161-1167, 2005
69. Cho ES, Yu JH, Kim MS, Yim M: *Rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor, stimulates osteoclast formation by inducing TRANCE expression in mouse calvarial cells. Arch Pharm Res* 27:1258-1262, 2004
70. Buckley KA, Hipskind RA, Gartland A, Bowler WB, Gallagher JA: *Adenosine triphosphate stimulates human osteoclast activity via upregulation of osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand. Bone* 31:582-590, 2002
71. Koshihara Y, Hoshi K, Okawara R, Ishibashi H, Yamamoto S: *Vitamin K stimulates osteoblastogenesis and inhibits osteoclastogenesis in human bone marrow cell culture. J Endocrinol* 176:339-348, 2003
72. Naruse M, Otsuka E, Ishihara Y, Miyagawa-Tomita S, Hagiwara H: *Inhibition of osteoclast formation by 3-methylcholanthrene, a ligand for arylhydrocarbon receptor: suppression of osteoclast differentiation factor in osteogenic cells. Biochem Pharmacol* 67:119-127, 2004
73. Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, Myers DE, Hodge JM, Malakellis M, Gough TJ, Collier GR, Nicholson GC: *Leptin inhibits osteoclast generation. J Bone Miner Res* 17:200-209, 2002
74. Yamada N, Tsujimura T, Ueda H, Hayashi S, Ohyama H, Okamura H, Terada N: *Down-regulation of osteoprotegerin production in bone marrow macrophages by macrophage colony-stimulating factor. Cytokine* 31:288-297, 2005
75. Yu X, Huang Y, Collin-Osdoby P, Osdoby P: *CCR1 chemokines promote the chemotactic recruitment, RANKL development, and motility of osteoclasts and are induced by inflammatory cytokines in osteoblasts. J Bone Miner Res* 19:2065-2077, 2004
76. Yan T, Riggs BL, Boyle WJ, Khosla S: *Regulation of osteoclastogenesis and RANK expression by TGF-beta1. J Cell Biochem* 83:320-325, 2001
77. Kido S, Inoue D, Hiura K, Javier W, Ito Y, Matsumoto T: *Expression of RANK is dependent upon differentiation into the macrophage/osteoclast lineage: induction by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and TPA in a human myelomonocytic cell line, HL60. Bone* 32:621-629, 2003
78. Myers DE, Collier FM, Minkin C, Wang H, Holloway WR, Malakellis M, Nicholson GC: *Expression of functional RANK on mature rat and human osteoclasts. FEBS Lett* 463:295-300, 1999
79. Xiao XH, Liao EY, Zhou HD, Dai RC, Yuan LQ, Wu XP: *Ascorbic acid inhibits osteoclastogenesis of RAW264.7 cells induced by receptor activated nuclear factor kappaB ligand (RANKL) in vitro. J Endocrinol Invest* 28:253-260, 2005
80. Zwerina J, Tzima S, Hayer S, Redlich K, Hoffmann O, Hanslik-Schnabel B, Smolen JS, Kollias G, Schett G: *Heme oxygenase 1 (HO-1) regulates osteoclastogenesis and bone resorption. FASEB J* 19:2011-2013, 2005
81. Karsdal MA, Hjorth P, Henriksen K, Kirkegaard T, Nielsen KL, Lou H, Delaisse JM, Foged NT: *Transforming growth factor-beta controls human osteoclastogenesis through the p38 MAPK and regulation of RANK expression. J Biol Chem* 278:44975-44987, 2003
82. Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, Dunstan C, Heymann D, Redini F: *Relevance of an in vitro osteoclastogenesis system to study receptor activator of NF-kB ligand and osteoprotegerin biological activities. Exp Cell Res* 293:292-301, 2004
83. Collin-Osdoby P, Rothe L, Anderson F, Nelson M, Maloney W, Osdoby P: *Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. J Biol Chem* 276:20659-20672, 2001
84. Kim HH, Shin HS, Kwak HJ, Ahn KY, Kim JH, Lee HJ, Lee MS, Lee ZH, Koh GY: *RANKL regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/*

- Akt signal transduction pathway. FASEB J* 17:2163-2165, 2003
85. Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM: *Osteoprotegerin is an alpha v beta 3-induced, NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells. J Biol Chem* 275:20959-20962, 2000
 86. Pritzker LB, Scatena M, Giachelli CM: *The role of osteoprotegerin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human microvascular endothelial cell survival. Mol Biol Cell* 15:2834-2841, 2004
 87. Ishida A, Fujita N, Kitazawa R, Tsuruo T: *Transforming growth factor-beta induces expression of receptor activator of NF-kappa B ligand in vascular endothelial cells derived from bone. J Biol Chem* 277:26217-26224, 2002
 88. Akiyama H, Shigeno C, Iyama K, Ito H, Hiraki Y, Konishi J, Nakamura T: *Indian hedgehog in the late-phase differentiation in mouse chondrogenic EC cells, ATDC5: upregulation of type X collagen and osteoprotegerin ligand mRNAs. Biochem Biophys Res Commun* 257:814-820, 1999
 89. Min JK, Kim YM, Kim EC, Gho YS, Kang IJ, Lee SY, Kong YY, Kwon YG: *Vascular endothelial growth factor up-regulates expression of receptor activator of NF-kappa B (RANK) in endothelial cells. Concomitant increase of angiogenic responses to RANK ligand. J Biol Chem* 278:39548-39557, 2003
 90. Nardelli B, Zaritskaya L, McAuliffe W, Ni Y, Lincoln C, Cho YH, Birse CE, Halpern W, Ullrich S, Moore PA: *Osteostatin/TNFSF18 inhibits osteoclastogenesis and is selectively expressed by vascular endothelial cells. Endocrinology* 147:70-78, 2006
 91. Zhang J, Fu M, Myles D, Zhu X, Du J, Cao X, Chen YE: *PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. FEBS Lett* 521:180-184, 2002
 92. Fu M, Zhang J, Lin Yg Y, Zhu X, Willson TM, Chen YE: *Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits osteoprotegerin gene expression in human aortic smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun* 294:597-601, 2002
 93. Olesen P, Ledet T, Rasmussen LM: *Arterial osteoprotegerin: increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF-alpha. Diabetologia* 48:561-568, 2005
 94. Wang R, Zhang L, Zhang X, Moreno J, Celluzzi C, Tondravi M, Shi Y: *Regulation of activation-induced receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL) expression in T cells. Eur J Immunol* 32:1090-1098, 2002
 95. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle WJ, Penninger JM: *Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. Nature* 402:304-309, 1999
 96. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN: *Role of cytokines in rheumatoid arthritis. Annu Rev Immunol* 14:397-440, 1996
 97. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, Muller R, Goldring SR, Choi Y, Benoist C, Gravallese EM: *TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. Am J Pathol* 159:1689-1699, 2001
 98. Jones DH, Kong YY, Penninger JM: *Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. Ann Rheum Dis* 61 Suppl 2:ii32-39, 2002
 99. Arron JR, Choi Y: *Bone versus immune system. Nature* 408:535-536, 2000
 100. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, Takaoka A, Yokochi T, Oda H, Tanaka K, Nakamura K, Taniguchi T: *T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. Nature* 408:600-605, 2000
 101. Kim K, Kim JH, Lee J, Jin HM, Lee SH, Fisher DE, Kook H, Kim KK, Choi Y, Kim N: *Nuclear factor of activated T cells c1 induces osteoclast-associated receptor gene expression during tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine-mediated osteoclastogenesis. J Biol Chem* 280:35209-35216, 2005
 102. Kim N, Takami M, Rho J, Josien R, Choi Y: *A novel member of the leukocyte receptor complex regulates osteoclast differentiation. J Exp Med* 195:201-209, 2002
 103. Koga T, Inui M, Inoue K, Kim S, Suematsu A, Kobayashi E, Iwata T, Ohnishi H, Matozaki T, Kodama T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T: *Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. Nature* 428:758-763, 2004
 104. So H, Rho J, Jeong D, Park R, Fisher DE, Ostrowski MC, Choi Y, Kim N: *Microphthalmia transcription factor and PU.1 synergistically induce the leukocyte receptor osteoclast-associated receptor gene expression. J Biol*

- Chem* 278:24209-24216, 2003
105. Walsh MC, Kim N, Kadono Y, Rho J, Lee SY, Lorenzo J, Choi Y: *Osteoimmunology: Interplay Between the Immune System and Bone Metabolism. Annu Rev Immunol* 2005
 106. 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
 107. Hofbauer LC, Heufelder AE: *Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. J Mol Med* 79:243-253, 2001
 108. Hofbauer LC, Schoppet M: *Osteoprotegerin: a link between osteoporosis and arterial calcification? Lancet* 358:257-259, 2001
 109. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, Cleutjens KB, Geusens PP, Kitslaar PJ, Tordoir JH, Spronk HM, Vermeer C, Daemen MJ: *Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1998-2003, 2001
 110. Doherty TM, Uzui H, Fitzpatrick LA, Tripathi PV, Dunstan CR, Asotra K, Rajavashisth TB: *Rationale for the role of osteoclast-like cells in arterial calcification. Faseb J* 16:577-582, 2002
 111. Whyte MP, Obrecht SE, Finnegan PM, Jones JL, Podgornik MN, McAlister WH, Mumm S: *Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. N Engl J Med* 347:175-184, 2002
 112. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK: *Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1610-1616, 2001
 113. Galvin KM, Donovan MJ, Lynch CA, Meyer RI, Paul RJ, Lorenz JN, Fairchild-Huntress V, Dixon KL, Dunmore JH, Gimbrone MA, Jr., Falb D, Huszar D: *A role for smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system. Nat Genet* 24:171-174, 2000
 114. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI: *Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature* 390:45-51, 1997
 115. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G: *Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. Nature* 386:78-81, 1997
 116. Pereira L, Lee SY, Gayraud B, Andrikopoulos K, Shapiro SD, Bunton T, Biery NJ, Dietz HC, Sakai LY, Ramirez F: *Pathogenetic sequence for aneurysm revealed in mice underexpressing fibrillin-1. Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3819-3823, 1999
 117. Spicer SS, Lewis SE, Tashian RE, Schulte BA: *Mice carrying a CAR-2 null allele lack carbonic anhydrase II immunohistochemically and show vascular calcification. Am J Pathol* 134:947-954, 1989
 118. Bajwa GS, Morrison LM, Ershoff BH: *Induction of aortic and coronary athero-arteriosclerosis in rats fed a hypervitaminosis D, cholesterol-containing diet. Proc Soc Exp Biol Med* 138:975-982, 1971
 119. Hass GM, Landerholm W, Hemmens A: *Production of calcific athero-arteriosclerosis and thromboarteritis with nicotine, vitamin D and dietary cholesterol. Am J Pathol* 49:739-771, 1966
 120. Henrion D, Chillon JM, Godeau G, Muller F, Capdeville-Atkinson C, Hoffman M, Atkinson J: *The consequences of aortic calcium overload following vitamin D3 plus nicotine treatment in young rats. J Hypertens* 9:919-926, 1991
 121. Hines TG, Jacobson NL, Beitz DC, Littledike ET: *Dietary calcium and vitamin D: risk factors in the development of atherosclerosis in young goats. J Nutr* 115:167-178, 1985
 122. Niederhoffer N, Bobryshev YV, Lartaud-Idjouadiene I, Giummelly P, Atkinson J: *Aortic calcification produced by vitamin D3 plus nicotine. J Vasc Res* 34:386-398, 1997
 123. Niederhoffer N, Lartaud-Idjouadiene I, Giummelly P, Duvivier C, Peslin R, Atkinson J: *Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity. Hypertension* 29:999-1006, 1997
 124. Canfield AE, Farrington C, Dziobon MD, Boot-Handford RP, Heagerty AM, Kumar SN, Roberts IS: *The involvement of matrix glycoproteins in vascular calcification and fibrosis: an immunohistochemical study. J Pathol* 196:228-234, 2002
 125. Demer LL, Tintut Y: *Mineral exploration: search for the mechanism of vascular calcification and beyond: the 2003 Jeffrey M. Hoeg Award lecture. Arterioscler Thromb Vasc*

- Biol* 23:1739-1743, 2003
126. Wallin R, Wajih N, Greenwood GT, Sane DC: *Arterial calcification: a review of mechanisms, animal models, and the prospects for therapy. Med Res Rev* 21:274-301, 2001
 127. Aizawa H, Saito Y, Nakamura T, Inoue M, Imanari T, Ohyama Y, Matsumura Y, Masuda H, Oba S, Mise N, Kimura K, Hasegawa A, Kurabayashi M, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nagai R: *Downregulation of the Klotho gene in the kidney under sustained circulatory stress in rats. Biochem Biophys Res Commun* 249:865-871, 1998
 128. Kawaguchi H, Manabe N, Miyaura C, Chikuda H, Nakamura K, Kuro-o M: *Independent impairment of osteoblast and osteoclast differentiation in klotho mouse exhibiting low-turnover osteopenia. J Clin Invest* 104: 229-237, 1999
 129. Saito Y, Yamagishi T, Nakamura T, Ohyama Y, Aizawa H, Suga T, Matsumura Y, Masuda H, Kurabayashi M, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nagai R: *Klotho protein protects against endothelial dysfunction. Biochem Biophys Res Commun* 248:324-329, 1998
 130. Yamashita T, Okada S, Higashio K, Nabeshima Y, Noda M: *Double mutations in klotho and osteoprotegerin gene loci rescued osteopetrotic phenotype. Endocrinology* 143:4711-4717, 2002
 131. Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC: *Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1926-1931, 2000
 132. Parhami F, Morrow AD, Balucan J, Leitinger N, Watson AD, Tintut Y, Berliner JA, Demer LL: *Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:680-687, 1997
 133. Balica M, Bostrom K, Shin V, Tillisch K, Demer LL: *Calcifying subpopulation of bovine aortic smooth muscle cells is responsive to 17 beta-estradiol. Circulation* 95: 1954-1960, 1997
 134. Shao JS, Cheng SL, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA: *Teriparatide (human parathyroid hormone (1-34)) inhibits osteogenic vascular calcification in diabetic low density lipoprotein receptor-deficient mice. J Biol Chem* 278:50195-50202, 2003
 135. Zebboudj AF, Shin V, Bostrom K: *Matrix GLA protein and BMP-2 regulate osteoinduction in calcifying vascular cells. J Cell Biochem* 90:756-765, 2003
 136. Al-Fakhri N, Wilhelm J, Hahn M, Heidt M, Hehrlein FW, Endisch AM, Hupp T, Cherian SM, Bobryshev YV, Lord RS, Katz N: *Increased expression of disintegrin-metalloproteinases ADAM-15 and ADAM-9 following upregulation of integrins alpha5beta1 and alphavbeta3 in atherosclerosis. J Cell Biochem* 89:808-823, 2003
 137. Boucher P, Gotthardt M, Li WP, Anderson RG, Herz J: *LRP: role in vascular wall integrity and protection from atherosclerosis. Science* 300:329-332, 2003
 138. Cai Q, Lanting L, Natarajan R: *Growth factors induce monocyte binding to vascular smooth muscle cells: implications for monocyte retention in atherosclerosis. Am J Physiol Cell Physiol* 287:C707-714, 2004
 139. Giachelli CM: *Vascular calcification: in vitro evidence for the role of inorganic phosphate. J Am Soc Nephrol* 14:S300-304, 2003
 140. Fitzpatrick LA, Turner RT, Ritman ER: *Endochondral bone formation in the heart: a possible mechanism of coronary calcification. Endocrinology* 144:2214-2219, 2003
 141. Libby P: *Inflammation in atherosclerosis. Nature* 420:868-874, 2002
 142. Mallat Z, Tedgui A: *The role of transforming growth factor beta in atherosclerosis: novel insights and future perspectives. Curr Opin Lipidol* 13:523-529, 2002
 143. Fu M, Zhang J, Lin Y, Zhu X, Zhao L, Ahmad M, Ehrenguber MU, Chen YE: *Early stimulation and late inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) gene expression by transforming growth factor beta in human aortic smooth muscle cells. Biochem J* 370:1019-1025, 2003
 144. Chen YE, Fu M, Zhang J, Zhu X, Lin Y, Akinbami MA, Song Q: *Peroxisome proliferator-activated receptors and the cardiovascular system. Vitam Horm* 66:157-188, 2003
 145. Fu M, Zhang J, Lin Y, Zhu X, Ehrenguber MU, Chen YE: *Early growth response factor-1 is a critical transcriptional mediator of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 1 gene expression in human aortic smooth muscle cells. J Biol Chem* 277:26808-26814, 2002
 146. Tyson KL, Reynolds JL, McNair R, Zhang Q, Weissberg PL, Shanahan CM: *Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:489-494, 2003
 147. Mbalaviele G, Abu-Amer Y, Meng A, Jaiswal R, Beck S,

- Pittenger MF, Thiede MA, Marshak DR: *Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway inhibits osteoclast differentiation. J Biol Chem* 275:14388-14393, 2000
148. Scatena M, Giachelli C: *The alpha(v)beta3 integrin, NF-kappaB, osteoprotegerin endothelial cell survival pathway. Potential role in angiogenesis. Trends Cardiovasc Med* 12:83-88, 2002
149. Schoppet M, Al-Fakhri N, Franke FE, Katz N, Barth PJ, Maisch B, Preissner KT, Hofbauer LC: *Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in Monckeberg's sclerosis and atherosclerosis. J Clin Endocrinol Metab* 89:4104-4112, 2004
150. 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
151. 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
152. Kim J, Wu H, Hawthorne L, Rafii S, Laurence J: *Endothelial cell apoptotic genes associated with the pathogenesis of thrombotic microangiopathies: an application of oligonucleotide genechip technology. Microvasc Res* 62:83-93, 2001
153. Borges E, Jan Y, Ruoslahti E: *Platelet-derived growth factor receptor beta and vascular endothelial growth factor receptor 2 bind to the beta 3 integrin through its extracellular domain. J Biol Chem* 275:39867-39873, 2000
154. Senger DR, Ledbetter SR, Claffey KP, Papadopoulos-Sergiou A, Peruzzi CA, Detmar M: *Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the alphavbeta3 integrin, osteopontin, and thrombin. Am J Pathol* 149:293-305, 1996
155. Okada T, Akikusa S, Okuno H, Kodaka M: *Bone marrow metastatic myeloma cells promote osteoclastogenesis through RANKL on endothelial cells. Clin Exp Metastasis* 20:639-646, 2003
156. Breuil V, Schmid-Antomarchi H, Schmid-Alliana A, Rezzonico R, Euller-Ziegler L, Rossi B: *The receptor activator of nuclear factor (NF)-kappaB ligand (RANKL) is a new chemotactic factor for human monocytes. Faseb J* 17:1751-1753, 2003
157. Hofbauer LC, Schoppet M: *Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. Jama* 292:490-495, 2004
158. Mosheimer BA, Kaneider NC, Feistritz C, Storn DH, Wiedermann CJ: *Expression and function of RANK in human monocyte chemotaxis. Arthritis Rheum* 50:2309-2316, 2004
159. Sattler AM, Schoppet M, Schaefer JR, Hofbauer LC: *Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegerin in osteoporosis and vascular disease. Calcif Tissue Int* 74:103-106, 2004
160. 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
161. Yu X, Huang Y, Collin-Osdoby P, Osdoby P: *Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) recruits osteoclast precursors by inducing chemotaxis, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity, and collagen transmigration. J Bone Miner Res* 18:1404-1418, 2003
162. Tintut Y, Patel J, Territo M, Saini T, Parhami F, Demer LL: *Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. Circulation* 105:650-655, 2002
163. Glass CK, Witztum JL: *Atherosclerosis. the road ahead. Cell* 104:503-516, 2001
164. Rutsch F, Terkeltaub R: *Deficiencies of physiologic calcification inhibitors and low-grade inflammation in arterial calcification. Joint Bone Spine* 72:110-118, 2005
165. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S: *New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. Circulation* 108:1917-1923, 2003
166. Veillard NR, Kwak B, Pelli G, Mulhaupt F, James RW, Proudfoot AE, Mach F: *Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. Circ Res* 94:253-261, 2004
167. Yu X, Huang Y, Collin-Osdoby P, Osdoby P: *CCR1 chemokines promote the chemotactic recruitment, RANKL development, and motility of osteoclasts and are induced by inflammatory cytokines in osteoblasts. J Bone Miner Res* 19:2065-2077, 2004
168. Cuff CA, Kothapalli D, Azonobi I, Chun S, Zhang Y,

- Belkin R, Yeh C, Secreto A, Assoian RK, Rader DJ, Pure E: *The adhesion receptor CD44 promotes atherosclerosis by mediating inflammatory cell recruitment and vascular cell activation. J Clin Invest* 108:1031-1040, 2001
169. Foster LC, Arkonac BM, Sibinga NE, Shi C, Perrella MA, Haber E: *Regulation of CD44 gene expression by the proinflammatory cytokine interleukin-1 beta in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem* 273:20341-20346, 1998
170. Tintut Y, Alfonso Z, Saini T, Radcliff K, Watson K, Bostrom K, Demer LL: *Multilineage potential of cells from the artery wall. Circulation* 108:2505-2510, 2003
171. Jian B, Narula N, Li QY, Mohler ER, 3rd, Levy RJ: *Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. Ann Thorac Surg* 75:457-465, 2003
172. Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, Haase KK, Sarikoc A, Kilic R, Brueckmann M, Lang S, Zahn I, Vahl C, Hagl S, Dempfle CE, Borggreffe M: *Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. J Mol Cell Cardiol* 36:57-66, 2004
173. Kim YM, Kim YM, Lee YM, Kim HS, Kim JD, Choi Y, Kim KW, Lee SY, Kwon YG: *TNF-related activation-induced cytokine (TRANCE) induces angiogenesis through the activation of Src and phospholipase C (PLC) in human endothelial cells. J Biol Chem* 277:6799-6805, 2002
174. Min JK, Kim YM, Kim YM, Kim EC, Gho YS, Kang II, Lee SY, Kong YY, Kwon YG: *Vascular endothelial growth factor up-regulates expression of receptor activator of NF-kappa B (RANK) in endothelial cells. Concomitant increase of angiogenic responses to RANK ligand. J Biol Chem* 278:39548-39557, 2003
175. Nespereira B, Perez-Illarbe M, Fernandez P, Fuentes AM, Paramo JA, Rodriguez JA: *Vitamins C and E downregulate vascular VEGF and VEGFR-2 expression in apolipoprotein-E-deficient mice. Atherosclerosis* 171: 67-73, 2003
176. Yang PY, Rui YC: *Intercellular adhesion molecule-1 and vascular endothelial growth factor expression kinetics in macrophage-derived foam cells. Life Sci* 74:471-480, 2003
177. Monaco C, Andreacos E, Kiriakidis S, Feldmann M, Paleolog E: *T-cell-mediated signalling in immune, inflammatory and angiogenic processes: the cascade of events leading to inflammatory diseases. Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 3:35-42, 2004
178. Shin V, Zebboudj AF, Bostrom K: *Endothelial cells modulate osteogenesis in calcifying vascular cells. J Vasc Res* 41:193-201, 2004
179. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW: *Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study. Calcif Tissue Int* 68:271-276, 2001
180. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, Ahern MJ, Haynes D: *Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. J Periodontal Res* 38:380-387, 2003
181. Haynes DR, Barg E, Crotti TN, Holding C, Weedon H, Atkins GJ, Zannettino A, Ahern MJ, Coleman M, Roberts-Thomson PJ, Kraan M, Tak PP, Smith MD: *Osteoprotegerin expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies and osteoarthritis and normal controls. Rheumatology (Oxford)* 42:123-134, 2003
182. Tintut Y, Demer LL: *Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. Curr Opin Lipidol* 12:555-560, 2001
183. Sorescu GP, Sykes M, Weiss D, Platt MO, Saha A, Hwang J, Boyd N, Boo YC, Vega JD, Taylor WR, Jo H: *Bone morphogenic protein 4 produced in endothelial cells by oscillatory shear stress stimulates an inflammatory response. J Biol Chem* 278:31128-31135, 2003
184. Avbersek-Luznik I, Malesic I, Rus I, Marc J: *Increased levels of osteoprotegerin in hemodialysis patients. Clin Chem Lab Med* 40:1019-1023, 2002
185. Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Piswanger-Soelkner C, Bonelli C, Dimai HP, Leb G, Obermayer-Pietsch B: *Osteoprotegerin serum levels in women: correlation with age, bone mass, bone turnover and fracture status. Wien Klin Wochenschr* 115:291-297, 2003
186. Kazama JJ, Shigematsu T, Yano K, Tsuda E, Miura M, Iwasaki Y, Kawaguchi Y, Gejyo F, Kurokawa K, Fukagawa M: *Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure. Am J Kidney Dis* 39:525-532, 2002
187. Knudsen ST, Foss CH, Poulsen PL, Andersen NH, Mogensen CE, Rasmussen LM: *Increased plasma concentrations of osteoprotegerin in type 2 diabetic*

- patients with microvascular complications. Eur J Endocrinol* 149:39-42, 2003
188. Fahrleitner A, Preiner G, Leb G, Tscheliessnigg KH, Piswanger-Solkner C, Obermayer-Pietsch B, Portugaller HR, Berghold A, Dobnig H: *Serum osteoprotegerin is a major determinant of bone density development and prevalent vertebral fracture status following cardiac transplantation. Bone* 32:96-106, 2003
 189. Sasaki N, Kusano E, Ando Y, Nemoto J, Iimura O, Ito C, Takeda S, Yano K, Tsuda E, Asano Y: *Changes in osteoprotegerin and markers of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis. Bone* 30:853-858, 2002
 190. Sato T, Tominaga Y, Iwasaki Y, Kazama JJ, Shigematsu T, Inagaki H, Watanabe I, Katayama A, Haba T, Uchida K, Fukagawa M: *Osteoprotegerin levels before and after renal transplantation. Am J Kidney Dis* 38:S175-177, 2001
 191. Hofbauer LC, Schoppet M, Schuller P, Viereck V, Christ M: *Effects of oral contraceptives on circulating osteoprotegerin and soluble RANK ligand serum levels in healthy young women. Clin Endocrinol (Oxf)* 60:214-219, 2004
 192. Khosla S, Atkinson EJ, Dunstan CR, O'Fallon WM: *Effect of estrogen versus testosterone on circulating osteoprotegerin and other cytokine levels in normal elderly men. J Clin Endocrinol Metab* 87:1550-1554, 2002
 193. Brandstrom H, Stiger F, Kahan T, Melhus H, Nystrom F, oHman KP, Malmqvist K, Lind L, Kindmark A: *A single nucleotide polymorphism in the promoter region of the osteoprotegerin gene is related to intima-media thickness of the carotid artery in hypertensive patients. The Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA). Blood Press* 13:152-157, 2004
 194. Brandstrom H, Stiger F, Lind L, Kahan T, Melhus H, Kindmark A: *A single nucleotide polymorphism in the promoter region of the human gene for osteoprotegerin is related to vascular morphology and function. Biochem Biophys Res Commun* 293:13-17, 2002
 195. Cao J, Venton L, Sakata T, Halloran BP: *Expression of RANKL and OPG correlates with age-related bone loss in male C57BL/6 mice. J Bone Miner Res* 18:270-277, 2003
 196. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR: *The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. J Bone Miner Res* 16:348-360, 2001