

## 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증의 최근 현황

김신윤 · 김현주

경북대학교 의과대학 경북대학교병원 골격계질환유전체연구센터

### Glucocorticoid-induced Osteoporosis; Update

Shin-Yoon Kim, M.D., Ph.D., and Hyun-Ju Kim, Ph.D.

Skeletal Diseases Genome Research Center, School of Medicine,  
Kyungpook National University Hospital, Daegu, Korea

#### 서 론

글루코코르티코이드(glucocorticoid)는 부신피질에서 분비되는 스테로이드 호르몬으로 세포, 조직, 또는 기관의 발달(development), 성장(growth), 대사(metabolism), 사멸(apoptosis) 등과 같은 다양한 생물학적 기능을 체계적으로 조절한다. 임상적으로, 글루코코르티코이드는 가장 광범위하게 사용되는 약물로 항염증작용(anti-inflammatory)과 면역 억제(immunosuppressive)의 기능을 가지고 있다. 그러므로, 자가면역질환(autoimmune disease)의 치료에서부터 척수 손상(spinal cord injury), 천식(asthma), 피부염(dermatitis), 관절염(rheumatoid arthritis) 등 여러 질병의 치료약으로 흔히 쓰인다. 그러나 글루코코르티코이드를 장기간 투여할 경우 골다공증이라는 심각한 부작용을 초래하게 된다. 실제로 스테로이드를 다량 투여하는 대부분의 환자에서 뼈의 손실이 일어나게 되며 골다공증으로 인해 심한 손상을 입게 된다. 통계적으로 살펴보면, 글루코코르티코이드를 투여하는 환자의 경우 1년 이내 골밀도의 12%가 급격히 감소되고 그 이후로는 뼈의 손실이 서서히 진행되어 2-5% 정도의 골밀도가 매년 점차적으로 감소됨이 보고된 바 있다<sup>32)</sup>. 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증의 흔한 발생빈도와 심각성에도 불구하고,

하고, 이에 대한 치료는 여전히 만족스럽지 못한 상황이다. 그러므로 골다공증의 병리학적 기작(mechanism)에 대한 보다 정확한 이해를 통해 이에 대한 예방과 치료방법의 개선이 이루어질 수 있다. 이 총설에서는 지금까지 밝혀져 온 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증(Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: GIO)의 기작을 살펴보고자하며, 특히 최근 본인 등의 연구 결과<sup>13)</sup>에 의해 새로이 밝혀진 그의 병리학적 기작에 대해 정리하고자 한다.

#### 칼슘 대사에 대한 글루코코르티코이드의 영향

글루코코르티코이드가 칼슘대사에 작용함으로써 간접적으로 뼈에 영향을 미친다는 기작이 오랜 기간 동안 GIO에 대한 원인으로 받아들여져 왔다. 다시 말해 글루코코르티코이드가 콩팥에서의 칼슘의 제거를 촉진하고 소장에서의 칼슘의 흡수를 억제하게 됨으로써 야기되는 칼슘의 불균형이 글루코코르티코이드를 투여하는 환자에서 secondary hyperparathyroidism을 일으키게 된다고 알려져 왔다<sup>2,14,27)</sup>. 그러나 소장의 칼슘 수송에 있어 글루코코르티코이드의 효과에 대한 이들의 연구결과는 일치하지 않음이 밝혀졌다. Lukert와 Raisz<sup>18)</sup>은 사람을 대상으로 한 연구 결과를 통해 소장의 칼슘 흡수는 글

통신저자 : 김 현 주

대구시 중구 삼덕동 2가 44-2  
경북대학교 의과대학 경북대학교병원 골격계질환유전체연구센터  
TEL: 053-420-5454 • FAX: 053-420-5453  
E-mail: biohjk@knu.ac.kr

Address reprint requests to

Hyun-Ju Kim, Ph.D.,  
Skeletal Diseases Genome Research Center, School of Medicine,  
Kyungpook National University Hospital, 44-2 Samduk 2-ga, Jung-gu,  
Daegu 700-412, Korea  
Tel: +82,53-420-5454, Fax: +82,53-420-5453  
E-mail: biohjk@knu.ac.kr

\*본 논문은 보건복지부 보건과학기술연구개발사업의 지원에 의한 것임(A010252).

루코코르티코이드에 영향을 받지 않는다고 보고하였다. 또한 GIO는 cancellous bone의 손실과 밀접한 관련이 있으나 hyperparathyroid인 경우에는 cortical bone의 손실이 발견 된다<sup>5)</sup>. 더욱이 parathyroid 호르몬(PTH) 분석을 통한 많은 연구들에서 글루코코르티코이드를 투여하는 환자의 PTH 정도가 증가하지 않음을 확인하였다. 다시 말해 이들 연구에서는 hyperparathyroidism을 발견하지 못하였다<sup>12,17,22)</sup>. 그러므로 secondary hyperparathyroidism은 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증에 대한 명확한 원인 규명을 제공하지 못한다.

### 성호르몬에 대한 글루코코르티코이드의 영향

성호르몬은 뼈의 대사 조절에 중요한 역할을 한다. 에스트로젠(estrogen)은 T 임파구로부터 파골세포(osteoclast)의 형성을 촉진하는 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ )와 IL-7 (interleukin-7)과 같은 cytokine의 생산을 억제할 뿐만 아니라, 조골세포(osteoblast)로부터 파골세포의 형성을 저해하는 OPG (osteoprotegerin)의 생산을 촉진한다고 보고되었다<sup>8)</sup>. 또한 최근의 연구 결과에 따르면, 에스트로젠은 조골세포로부터 세포의 사멸(apoptosis)에 중요 역할을 하는 Fas ligand의 생산을 유도함으로써 파골세포의 사멸을 촉진함이 보고되었다<sup>15)</sup>. 그러므로 성호르몬은 파골세포의 형성을 저해하고 세포의 사멸을 촉진함으로써 뼈의 손실을 막아주는 역할을 한다. 이에 대해 글루코코르티코이드는 뼈의 손실을 막는 성호르몬의 생산을 저해함으로써 골다공증을 일으킨다고 보고된바 있다<sup>19)</sup>. 그러나 호르몬 대체요법(hormone replacement therapy)으로는 글루코코르티코이드에 의해 유도된 골다공증을 회복할 수 없다. 그러므로 글루코코르티코이드의 성호르몬에 대한 영향으로는 GIO에 대한 기작을 명확히 밝힐 수 없다.

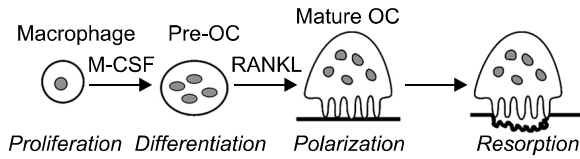
### 조골세포에 대한 글루코코르티코이드의 영향

조직학적 연구결과를 토대로 본다면, 뼈 형성의 감소가 GIO의 대표적인 현상이라 할 수 있다<sup>7)</sup>. Weinstein 등은 in vivo에서 글루코코르티코이드가 조골세포의 사멸을 유도함으로써 조골세포의 뼈 형성을 억제한다고 보고하였다<sup>33,34)</sup>. 이러한 in vivo의 연구결과를 입증해주는 많은 in vitro 연구 결과도 보고되어왔다. 글루코코르티코

이드인 Dexamethasone (DEX)을 투여한 환자에서 혈청내 osteocalcin과 carboxyterminal propeptide type I의 양이 감소함이 보고된 바 있다<sup>16)</sup>. 또한 글루코코르티코이드는 조골세포 계열의 세포 증식을 억제함으로써 조골세포의 수를 감소시킬 뿐 아니라<sup>28)</sup>, 조골세포의 사멸을 촉진하고, 조골세포의 분화와 기능을 유도하는 Runx2와 collagen I의 발현을 억제함으로써 조골세포화(osteoblastogenesis)도 억제한다<sup>4,23,24)</sup>. 이와 유사하게 글루코코르티코이드는 기질(stromal) 세포가 지방질(adipocytic) 세포로 분화되도록 유도한다. 이러한 분화의 전환은 CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) family와 peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ 2 (PPAR $\alpha$ 2)와 같은 전사인자에 의해 조절되어진다<sup>26,35)</sup>. 글루코코르티코이드가 조골세포의 분화를 억제하는 또 하나의 분자적인 기작은 조골세포화를 촉진하는 주요 경로인 Wnt- $\beta$ -catenin의 신호 경로를 저해함으로써 이루어진다<sup>21)</sup>. 글루코코르티코이드는 Wnt 저해분자인 Dickkopf의 발현을 유도하고, glycogen synthase kinase 3- $\beta$ 의 활성을 통해  $\beta$ -catenin을 불안정화시킴으로써 canonical Wnt- $\beta$ -catenin의 신호전달 과정을 억제한다<sup>21,29)</sup>. 그러나 in vitro에서 뼈를 형성하는 조골세포에 대한 글루코코르티코이드의 효과는 여전히 명확하지 않은 상태이다. 앞서 언급한 바와 같이 조골세포를 억제한다는 보고도 있는 반면 또 다른 한편으로는, 글루코코르티코이드가 실제적으로 세포 배양시 mineralized nodule 형성을 증가시킴이 보고된 바 있다<sup>1,25)</sup>. 그러므로 in vivo에서 그의 억제효과는 글루코코르티코이드가 중간 매개 세포를 억제하고 그 중간 매개 세포에 의해 조골세포가 다시 억제될 수 있다는 가능성을 시사해 준다.

### 파골세포에 대한 글루코코르티코이드의 영향

파골세포는 monocyte/macrophage 전구체가 증식(proliferation)과 분화과정(differentiation)을 거친 후, 파골세포에만 보이는 특이적인 현상, 즉 뼈를 흡수하는 기능에 필수적인 cytoskeletal organization (polarization) 과정을 거쳐 마침내 뼈를 흡수하는 기능(resorption)을 담당하게 된다(Fig. 1). 파골세포의 형성에는 두 가지의 cytokines, 즉 RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B Ligand)와 M-CSF (macrophage colony sti-

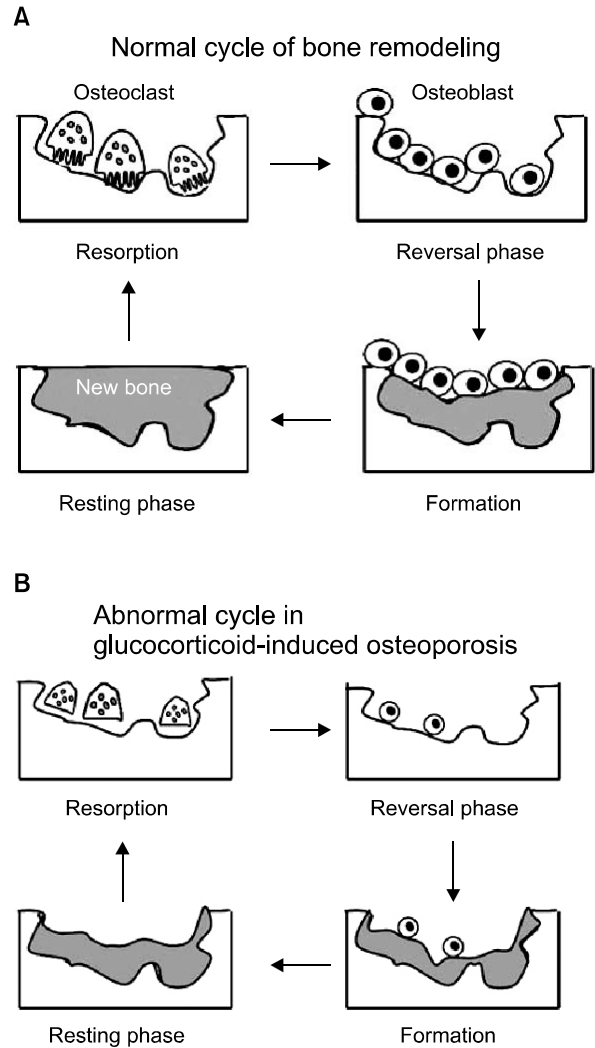


**Fig. 1.** Regulation of osteoclast formation and function. Osteoclasts are derived from hematopoietic mononuclear precursors of the monocyte/macrophage lineage. The proliferation and survival of osteoclast precursors is dependent on the M-CSF. Activation of RANK by RANKL (RANK-Ligand) commits the cell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

mulating factor)가 필수적인 역할을 한다. M-CSF는 주로 세포의 증식, 생존 그리고 cytoskeletal organization에 중요 역할을 하며, RANKL는 세포분화와 생존에 중요한 역할을 담당하고 있다.

앞서 살펴본 바와 같이 지금까지는 글루코코르티코이드가 뼈를 생성하는 세포인 조골세포의 분화와 기능을 저해하고 세포의 사멸을 촉진시킴으로써 뼈의 형성이 되지 않는다고 알려졌을 뿐, 파골세포에 대한 글루코코르티코이드의 영향은 정확히 규명된 바가 없었다. 그러나 본인을 포함한 연구진에 의해 그 기작이 명확히 밝혀졌고 더 나아가 글루코코르티코이드에 의해 유도되는 골다공증의 원인이 새로이 규명되어졌다<sup>13)</sup>.

몸속의 뼈는 일생동안 흡수(혹은 파괴)되고 다시 형성되는 살아있는 조직이다. 뼈의 리모델링(remodeling)이란 조골세포에 의한 뼈 형성과 파골세포에 의한 뼈 흡수 작용이 반복되어지는 과정이다(Fig. 2). 다시 말해 파골세포가 뼈를 파괴하면 조골 세포가 새로운 뼈를 만든다. 뼈의 양은 파골세포와 조골세포의 균형에 의해 정상 상태로 유지되는데 이들의 불균형은 골다공증을 비롯한 각종 대사성 뼈 질환의 원인이 된다. 여성의 폐경 이후 수반되는 골다공증이나 글루코코르티코이드의 투여에 의한 골다공증의 경우 이러한 뼈의 리모델링 과정 중 이미 뼈가 흡수된 자리를 조골세포가 완전히 채우지 못하여 일어나는 현상이다. 그러므로 파골세포에 의한 뼈 흡수 작용이 뼈가 흡수된 같은 위치에서 조골세포의 뼈 형성을 촉진함을 의미한다. 이와 유사하게, 병리학적으로 혹은 약물 투여에 의해 뼈의 흡수가 저해 받게 될 경우 조골세포의 활성이 억제된다<sup>3,11)</sup>. 이러한 뼈의 리모델링 과정에서 파골세포의 활성이 조골세포의 활성을 조절한다는 사실은 글



**Fig. 2.** Comparison of a normal cycle of bone remodeling (A) with an abnormal one caused by glucocorticoid excess (B). Resorptive phase: activated osteoclasts resorb a discrete area of mineralized bone matrix. Reversal phase: subsequently osteoblasts migrate into resorption lacuna, possibly by factors produced by the osteoclast. Formative phase: the osteoblasts deposit new bone matrix, possibly by factors produced by the osteoclast or released from the bone matrix. Resting phase: once embedded, the osteoblasts mature into terminally differentiated osteocytes. Note the impaired recruitment and decreased number of osteoblast as well as the incomplete repair of bone in glucocorticoid-induced osteoporosis. Newly formed bone is in gray.

루코코르티코이드가 뼈 형성에 영향을 주는 과정에서, 중간매개체적인 역할을 하는 세포가 존재함을 암시해준다. 이러한 가설이 성립한다면, 글루코코르티코이드는 리모델링 과정에 있는 파골세포를 억제하고 이러한 결과로 조골세포가 흡수된 뼈의 위치로 올 수 없게 되고 또한 조골세포의 활성이 저해됨으로써 결국 뼈의 형성이 억제

되게 될 것이다. 이러한 가설에 대한 연구로 연구진들은 파골세포 계열에만 특정적으로 존재하는 글루코코르티코이드 수용체(Glucocorticoid Receptor: GR)의 유전자를 없앤 conditional knock out (KO) mice를 제조하였다<sup>13)</sup>. 다시 말해 글루코코르티코이드 수용체 유전자 옆에 loxP sequence를 단 후 lysosome M Cre mice와 교배를 통해 GR KO mice를 얻었으며, 이들 쥐들은 모든 실험에서 네가티브 컨트롤(negative control)로 사용되어졌다. 먼저 글루코코르티코이드가 파골세포 계열 세포의 증식에 영향을 미치는지 조사되어졌다. 이를 위해 연구진들은 야생형(Wild Type: WT) 쥐와 GR이 결손된 쥐로부터 bone marrow macrophage (BMM)를 분리한 후 DEX의 농도를 달리 넣어 배양하였다. 그 결과 글루코코르티코이드는 GR이 결손된 쥐의 BMM 증식에는 영향을 미치지 못하였으나, 야생형 쥐로부터 분리된 BMM의 증식을 억제하였다.

Weinstein 등<sup>33)</sup>은 글루코코르티코이드가 파골세포의 생존을 촉진한다고 보고한바 있다. 성숙한(mature) 파골세포의 생존에 대한 DEX의 효과를 GR이 결손된 쥐를 이용한 시스템에서 알아보았다. 이를 위해 WT와 GR이 결손된 쥐의 BMM을 분리한 후 파골세포 형성에 필수적인 cytokine인 RANKL과 M-CSF를 넣어 배양하였으며, 이때 5일간의 세포 배양기간 중 5일, 혹은 마지막 이틀, 혹은 마지막 하루 동안 DEX를 넣어 배양하였다. 글루코코르티코이드는 WT로부터 분리된 파골세포의 생존을 촉진하였으나 GR이 결손된 쥐의 파골세포의 생존에는 영향을 미치지 않았으며 이러한 결과는 Weinstein 등<sup>33)</sup>의 연구결과와 일치하는 것임을 알 수 있었다. 즉, 글루코코르티코이드는 파골세포 전구체의 증식과 성숙한 파골세포의 사멸을 억제함으로써 정상적인 파골세포의 수를 유지하도록 한다.

다음 단계로 연구진들은 파골세포의 분화에 대한 글루코코르티코이드의 영향을 알아보았다. 이를 위해 WT와 GR이 결손된 쥐로부터 분리한 BMM을 RANKL과 M-CSF의 존재하에 5일간 배양하고 파골세포에만 특이하게 발현되는 유전자인 MMP-9, TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase) 그리고 cathepsin K의 발현 정도를 측정하였다. 두 쥐로부터 분리된 파골세포 모두에서 이들 유전자의 발현은 변함이 없었으며 이러한 결과는 글루코코르티코이드는 파골세포의 분화에는 영향을 미

치지 않음을 말해준다. 더 나아가 연구진들은 파골세포의 기능에 대한 스테로이드의 효과를 살펴보았다. 이를 위해 WT와 GR이 결손된 파골세포를 덴틴(dentin) 슬라이스상에 배양하고 뼈 흡수 정도를 나타내는 흡수 라구나(resorption lacuna)의 형성 정도를 조사하였다. WT와 GR이 결손된 세포 모두 DEX가 존재하지 않을 경우에는 많은 흡수 구멍(resorption pit)을 형성하였다. 100 nM의 스테로이드의 존재하에서 GR이 결손된 세포는 많은 구멍을 생산하였으나 WT의 경우 뼈흡수 정도가 현저히 억제됨을 확인하였다. 다시 말해 GR을 가지고 있는 WT 세포에 대해 DEX는 실제적으로 뼈의 흡수를 저해함을 나타내준다.

파골세포내의 cytoskeleton의 조직화(organization)는 파골세포가 뼈를 흡수하는데 필수적인 요소이다<sup>30)</sup>. 글루코코르티코이드가 파골세포의 cytoskeleton에 영향을 미치는지 알아보기 위해 RANKL과 M-CSF의 존재하에 DEX의 농도를 달리 넣어 5일간 배양 후 파골세포의 활성을 나타내는 염색인 TRAP으로 염색을 하였다. GR이 결손된 세포는 정상적인 형태의 파골세포로 spreading을 잘 하였으나, WT의 파골세포들은 스테로이드에 의해 spreading이 현저하게 억제되었다. 이러한 세포의 형태적인 변화는 cytoskeletal organization의 변화를 의미하는 것으로 1 nM의 DEX처리에 의해서도 확인되어졌다. 즉 글루코코르티코이드는 파골세포의 분화에는 영향을 미치지 않는 반면, 성숙한 세포의 cytoskeletal organization을 현저히 저해함을 알 수 있다.

파골세포는 뼈 흡수 과정 동안 급격한 cytoskeletal organization을 수행한다. 뼈에 부착함과 동시에 일반적인 세포의 공간과 뼈를 흡수하는 공간을 구분하기 위해, 파골세포의 actin이 하나의 큰 ring으로 조직화된다<sup>31)</sup>. 즉 파골세포에 있어 actin ring의 형성은 세포가 뼈를 흡수할 수 있는 능력에 대한 중요한 표지(marker)가 되며 이러한 actin ring의 존재는 세포의 뼈 흡수 능력과 일치한다. M-CSF, RANKL, TNF- $\alpha$ , 그리고 IL-1 $\alpha$ 는 파골세포에서의 actin ring 형성을 유도하는 분자로 알려져 있다<sup>9,20)</sup>. DEX는 WT 세포에서 RANKL, TNF- $\alpha$  혹은 IL-1- $\alpha$ 에 의해 유도되는 actin ring 형성을 저해하지는 않았으나, 특이하게 M-CSF에 의해 유도되는 actin ring 형성만을 저해하였다.

파골세포를 포함한 모든 세포에 있어 RhoA, Rac, 그리

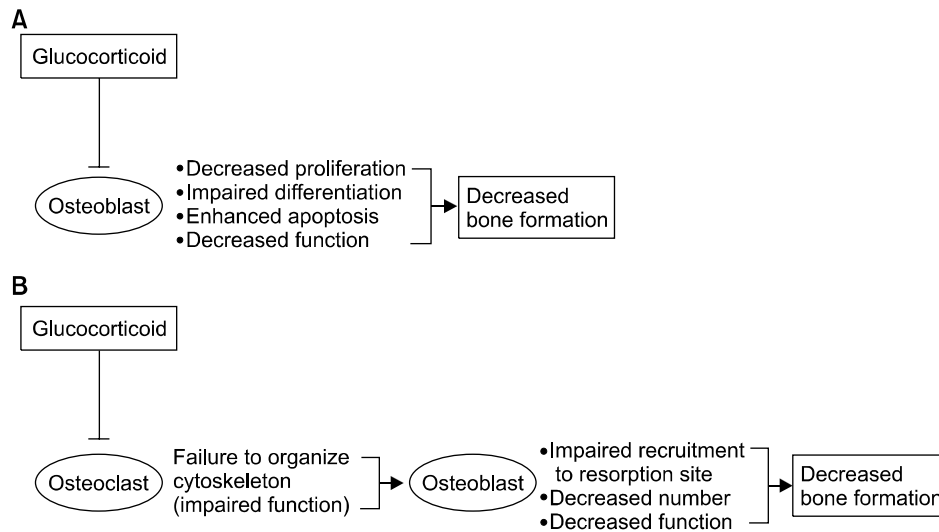
고 cdc42와 같은 GTPase는 cytoskeletal organization에 중요한 역할을 한다<sup>6)</sup>. 파골세포 계열의 세포에서 Rac의 부재는 파골세포 기능의 저하로 뼈의 양이 증가되는 결과를 초래한다. 그러므로 연구진은 DEX가 Rho GTPase들의 활성을 저해함으로써 파골세포의 cytoskeletal organization을 억제하는지 조사하였다. 이를 위해 파골세포를 DEX의 존재하에 배양한 후 M-CSF를 시간대별로 처리하고 Rho와 Rac의 활성을 측정하였다. DEX가 존재하지 않을 경우 M-CSF는 Rho와 Rac의 활성을 촉진하였으나 DEX를 처리한 경우 그 활성이 현저히 감소하였다. Guanine nucleotide exchange factor (GEF)는 비활성적인 GDP-bound 형태의 Rho GTPase를 활성적인 GTP-bound 형태로 전환시키는 역할을 한다. 그중 Vav3는 파골세포에만 특이한 GEF로 파골세포의 cytoskeletal organization과 Rac의 활성에 중요한 분자이다. Vav3가 결손된 쥐는 Rac과 Rho의 활성이 현저히 저해되고 이로 인해 파골세포의 spreading과 cytoskeletal organization이 억제되어 심각한 골석화증(osteopetrosis)을 보인다<sup>10)</sup>. 그러므로 글루코코르티코이드가 Vav3의 활성에 영향을 줌으로써 Rac의 활성을 저해하는지 조사하였다. Rho와 Rac에 대한 DEX의 영향과 유사하게, DEX는 M-CSF에 의해 유도되는 Vav3의 활성, 즉 Vav3의 인산화를 현저히 저해하였다. 즉 글루코코르티코이드는 Vav3의 활성을 저해함으로써 활성적인 GTP-bound 형태의 Rho GTPase로 되지 못하게 되는 결과를 초래하고 이로 인해 cytoskeletal organization을 저해하게 된다.

글루코코르티코이드는 genomic과 nongenomic의 두 기작에 의해 세포에 작용한다. Genomic 기작이란 스테로이드가 세포내로 확산되어 들어간 후 그의 수용체인 GR과 결합하고 이 결합체가 다시 핵속으로 들어가서 표적 DNA의 GRE (Glucocorticoid response element)에 결합하고 표적유전자의 전사를 촉진 혹은 저해하는 기작이다. 이 기작은 적어도 30분의 반응과정을 필요로 한다. 이에 반해 nongenomic 기작은 스테로이드가 세포막에 존재하는 수용체와 결합하거나 혹은 세포막에서 그 작용을 수행하는 것으로 이 과정은 수초에서 수분 사이에 일어난다. 스테로이드가 파골세포에 작용하는 기작을 알아보기 위해 다양한 시간대별로 DEX를 처리한 군과 처리하지 않은 군에 M-CSF를 5분간 처리하고 Vav3의 인산

화를 측정하였다. DEX가 Vav3 GEF의 활성을 저해하는데 16시간이 걸림을 확인하였으며 이로 인해 글루코코르티코이드는 genomic 기작에 의해 파골세포의 cytoskeletal organization을 저해함을 알 수 있다.

글루코코르티코이드가 in vitro에서 파골세포의 기능을 저해한다는 연구결과를 바탕으로 연구진은 스테로이드가 in vivo에서도 같은 기능을 하는지 조사하였다. 이를 위해 DEX를 주사한 그룹, DEX와 PTH를 함께 주사한 그룹, 그리고 buffer를 주사한 control 그룹의 쥐로부터 calvaria를 분리하고 TRAP 염색을 하였다. In vitro와 유사하게, GR이 결손된 쥐의 그룹에서는 DEX가 영향을 미치지 못하였다. PTH만 주사한 그룹의 쥐에서는 파골세포가 뼈의 표면에 부착되고 중요한 resorptive organelle인 ruffled membrane의 형성이 잘 되었으나 PTH와 DEX를 같이 주사한 WT 그룹에서는 in vitro에서와 유사한 결과를 나타내었다. 다시 말해 파골세포가 뼈의 표면에 부착되지 않고 ruffled membrane이 형성되지 않음을 확인하였다. 더욱이 DEX와 PTH를 같이 주사한 그룹의 경우, 파골세포의 활성을 나타내는 혈청내 TRACP 5b (Tartrate-resistant acid phosphatase 5b)의 수준이 DEX에 의해 현저히 저해됨을 알 수 있었다. WT과는 대조적으로, GR이 결손된 쥐의 그룹에서는 DEX가 존재할 경우에도 PTH에 의해 유도되는 TRACP5b의 수준이 저해되지 않았다. 또한 WT과 GR이 결손된 쥐에 있어 이러한 뼈 흡수 정도의 차이는 파골세포의 수에 의한 것이 아님이 확인되었다. 다시 말해 in vivo에서 DEX의 억제 효과는 파골세포의 수에 대한 저해기작이 아니라 세포의 활성에 대한 저해기작에 의함을 분명하게 알 수 있다.

글루코코르티코이드가 in vitro와 in vivo에서 파골세포의 기능을 저해한다는 결과를 바탕으로 연구진은 뼈의 리모델링에 대한 영향을 조사하였다. 다시 말해 스테로이드에 의해 저해된 뼈 흡수가 뼈 형성에 대한 저해효과를 초래하는지 알아보기로 하였다. 이러한 가설하에서는, 스테로이드를 WT에 주사할 경우 파골세포의 활성을 저해할 것이며 이는 다시 조골세포의 기능을 저해하게 될 것이다. 또한 스테로이드는 GR이 결손된 쥐에는 영향을 미치지 않을 것이므로 뼈의 형성이 정상대로 이루어질 것이라고 예상하였다. 이를 위해 연구진은 형광 지표인 calcein을 DEX와 함께 주사하였다. 특히 WT 쥐에서



**Fig. 3.** The effects of Glucocorticoids on bone cells (A) GCs directly inhibit osteoblast proliferation, differentiation, survival and function, with consequent suppression of bone formation. (B) GCs directly inhibit osteoclast function by suppressing its cytoskeletal organization, which, in the context of remodeling, in turn leads to the failure to effectively recruit and activate osteoblasts, thus suppressing bone formation.

DEX는 조골세포의 기능을 측정하는 지표인 mineral apposition rate를 현저히 저해하였으며, 이와 더불어 bone formation rate도 현저히 저해하였다. 이에 반해 DEX는 GR이 결손된 쥐에서는 아무런 영향을 미치지 않았다. 더욱이 DEX는 WT에서 뼈 형성 지표인 osteocalcin과 alkaline phosphatase의 활성을 현저히 저해하였다. 그러므로 글루코코르티코이드는 파골세포의 기능을 저해하고 이는 조골세포의 기능 저해로 이어져 결국 뼈의 형성이 감소하는 결과를 초래한다.

## 결론

앞서 살펴본 모든 연구 결과를 토대로 글루코코르티코이드는 뼈 형성에 있어 두 가지 기작으로 작용함을 알 수 있다(Fig. 3). 첫째, 글루코코르티코이드는 조골세포의 기능을 직접적으로 저해한다. 다시 말해 글루코코르티코이드는 조골세포의 증식과 분화를 억제하고 그의 사멸을 촉진함으로써 조골세포의 수를 감소시키고 또한 그 기능을 억제한다. 둘째, 글루코코르티코이드는 뼈의 리모델링이라는 관점에서, 파골세포의 기능을 직접적으로 저해함으로써 조골세포의 기능저하를 초래한다. 다시 말해, 글루코코르티코이드는 파골세포의 분화에는 영향을 미치지 않지만, 성숙한 파골세포의 기능에 필수적인 cytoskeletal organization을 억제한다. 기능이 저해진 파골세포로 인해 뼈 흡수가 일어난 같은 자리로 조골세포가 이동하지 못하게 되고, 더 나아가 조골세포의 증식과 기능이 저해됨으로써 뼈의 형성 감소가 일어나게 되며, 결

국 골다공증을 일으키게 된다. 글루코코르티코이드에 의해 활성이 저해진 파골세포가 다시 조골세포의 활성을 저해하는 기작은 자세히 밝혀진 바가 없으나, 두 가지의 가설이 가능하다. 첫째, 파골세포의 기능이 저해됨으로써 TGF- $\beta$ 와 같은 조골세포의 성장을 촉진하는 단백질의 생산 혹은 이동이 감소될 것이다. 둘째, 파골세포의 기능 저해로 인해 파골세포 그 자체에 의한 chemotactic cytokine의 생산도 감소할 것이라 추정된다. 이러한 가설에 대한 해답은 GIO의 병리적 기작을 이해하는데 도움이 될 뿐만 아니라 뼈의 리모델링에 대한 일반적인 기작을 밝히는데도 중요하다.

그러나 이러한 연구 결과는 염증관련 질병으로 인해 글루코코르티코이드를 투여하는 환자에서, 뼈 흡수가 1년 동안 급격히 증가되는 것에 대한 질문은 여전히 남겨둔다. 이러한 현상은 스테로이드에 의한 영향을 받지 않는 TNF- $\alpha$ 와 RANKL과 같은 단백질들이 계속 존재하기 때문이라고 추정된다. 실제로, RANKL과 TNF- $\alpha$  모두 파골세포의 cytoskeleton에 대한 DEX의 저해 효과를 막을 수 있음이 본연구진에 의해 확인되었다. 다시 말해, 글루코코르티코이드는 염증과 관련된 cytokine이 존재하거나 혹은 부재시에 따라 뼈에 대한 특정한 효과를 나타낸다고 추정되며 이에 대한 정확한 기작은 앞으로 연구되어야 할 과제로 남아 있다.

## 참고문헌

1. Aubin JE: Osteoprogenitor cell frequency in rat bone marrow

- stromal populations: role for heterotypic cell-cell interactions in osteoblast differentiation. *J Cell Biochem*, 72: 396-410, 1999.
2. **Bikle DD, Halloran B, Fong L, Steinbach L, Shellito J:** Elevated 1,25-dihydroxyvitamin D levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone. *J Clin Endocrinol Metab*, 76: 456-461, 1993.
3. **Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, et al:** The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*, 349: 1207-1215, 2003.
4. **Canalis E:** Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 81: 3441-3447, 1996.
5. **Canalis E, Bilezikian JP, Angeli A, Giustina A:** Perspectives on glucocorticoid-induced osteoporosis. *Bone*, 34: 593-598, 2004.
6. **Chellaiah MA, Soga N, Swanson S, et al:** Rho-A is critical for osteoclast podosome organization, motility, and bone resorption. *J Biol Chem*, 275: 11993-12002, 2000.
7. **Dalle Carbonare L, Arlot ME, Chavassieux PM, Roux JP, Portero NR, Meunier PJ:** Comparison of trabecular bone microarchitecture and remodeling in glucocorticoid-induced and postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 16: 97-103, 2001.
8. **D'Amelio P, Grimaldi A, Di Bella S, et al:** Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key mechanism in osteoporosis. *Bone*, 43: 92-100, 2008.
9. **Faccio R, Novack DV, Zallone A, Ross FP, Teitelbaum SL:** Dynamic changes in the osteoclast cytoskeleton in response to growth factors and cell attachment are controlled by beta3 integrin. *J Cell Biol*, 162: 499-509, 2003.
10. **Faccio R, Teitelbaum SL, Fujikawa K, et al:** Vav3 regulates osteoclast function and bone mass. *Nat Med*, 11: 284-290, 2005.
11. **Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, Wyland JJ, Lee H, Neer RM:** The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med*, 349: 1216-1226, 2003.
12. **Hattersley AT, Meeran K, Burrin J, Hill P, Shiner R, Ibbertson HK:** The effect of long- and short-term corticosteroids on plasma calcitonin and parathyroid hormone levels. *Calcif Tissue Int*, 54: 198-202, 1994.
13. **Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, et al:** Glucocorticoids suppress bone formation via the osteoclast. *J Clin Invest*, 116: 2152-2160, 2006.
14. **Klein RG, Arnud SB, Gallagher JC, Deluca HF, Riggs BL:** Intestinal calcium absorption in exogenous hypercortisolemia. Role of 25-hydroxyvitamin D and corticosteroid dose. *J Clin Invest*, 60: 253-259, 1997.
15. **Krum SA, Miranda-Carboni GA, Hauschka PV, et al:** Estrogen protects bone by inducing Fas ligand in osteoblasts to regulate osteoclast survival. *EMBO J*, 27: 535-545, 2008.
16. **Lems WF, Gerrits MI, Jacobs JW, van Vugt RM, van Rijn HJ, Bijlsma JW:** Changes in (markers of) bone metabolism during high dose corticosteroid pulse treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 55: 288-293, 1996.
17. **Luengo M, Picado C, Piera C, et al:** Intestinal calcium absorption and parathyroid hormone secretion in asthmatic patients on prolonged oral or inhaled steroid treatment. *Eur Respir J*, 4: 441-444, 1991.
18. **Lukert B, Raisz LG:** Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management. *Ann Intern Med*, 112: 352-364, 1990.
19. **Monder C, Miroff Y, Marandici A, Hardy MP:** 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase alleviates glucocorticoid-mediated inhibition of steroidogenesis in rat Leydig cells. *Endocrinology*, 134: 1199-1204, 1994.
20. **Nakamura I, Kadono Y, Takayanagi H:** IL-1 regulates cytoskeletal organization in osteoclasts via TNF receptor-associated factor 6/c-Src complex. *J Immunol*, 168: 5103-5109, 2002.
21. **Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R:** Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 329: 177-181, 2005.
22. **Paz-pacheco E, Fuleihan GE, LeBoff MS:** Intact parathyroid hormone levels are not elevated in glucocorticoid-treated subjects. *J Bone Miner Res*, 10: 1713-1718, 1995.

23. **Pereira RC, Delany AM, Canalis E:** Effects of cortisol and bone morphogenetic protein-2 on stromal cell differentiation: correlation with CCAAT-enhancer binding protein expression. *Bone*, 30: 685-691, 2002.
24. **Pereira RM, Delany AM, Canalis E:** Cortisol inhibits the differentiation and apoptosis of osteoblasts in culture. *Bone*, 28: 484-490, 2001.
25. **Purpura KA, Aubin JE, Zandstra PW:** Sustained in vitro expansion of bone progenitors is cell density dependent. *Stem Cells*, 22: 39-50, 2004.
26. **Ramji DP, Foka P:** CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation. *Biochem J*, 365: 561-575, 2002.
27. **Reid IR:** Glucocorticoid osteoporosis-mechanisms and management. *Eur J Endocrinol*, 137: 209-217, 1997.
28. **Smith E, Coetzee GA, Frenkel B:** Glucocorticoids inhibit cell cycle progression in differentiating osteoblasts via glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . *J Biol Chem*, 277: 18191-18197, 2002.
29. **Smith E, Frenkel B:** Glucocorticoids inhibit the transcriptional activity of LEE/TCF in differentiating osteoblasts in a glycogen synthase kinase-3 $\beta$ -dependent and -independent manner. *J Biol Chem*, 280: 2388-2394, 2005.
30. **Teitelbaum SL:** Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289: 1504-1508, 2000.
31. **Teitelbaum SL:** Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am J Pathol*, 170: 427-435, 2007.
32. **Weinstein RS:** Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord*, 2: 65-73, 2001.
33. **Weinstein RS, Chen JR, Powers CC, et al:** Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids. *J Clin Invest*, 109: 1041-1048, 2002.
34. **Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC:** Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest*, 102: 274-282, 1998.
35. **Wu Z, Bucher NL, Farmer SR:** Induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes is mediated by C/EBP $\beta$ , C/EBP $\delta$ , and glucocorticoids. *Mol Cell Biol*, 16: 4128-4136, 1996.