

## 골전환율 bone turnover: 골형성과 골흡수의 생화학 마커

인간 골격을 이루는 206개의 뼈는 근육과 다른 신체 기관을 부착하거나 지지하는 물리적인 골조 역할을 한다. 살아있는 뼈는 65%의 미네랄(주로 칼슘 수산화인회석 calcium hydroxyapatite 형태의 인산칼슘 calcium phosphate)과 20%의 유기물(대부분 콜라겐 타입 I), 그리고 15%의 물로 구성되어 있다. 그 조직과 구조는 사람이 만든 건축물보다 뛰어나며, 인간의 경우 평균 80년 정도 기능을 수행한다.

골다공증 osteoporosis은 50세 이상 연령층의 12.5%에서 발병하는 퇴행성 뼈 질환으로, 이 연령대의 50% 이상이 골다공증의 위협을 받을 수 있다. 골다공증은 낮은 뼈 밀도와 뼈 조직의 구조적인 퇴화에 의해 특성을 나타내며, 잦은 골절상 및 추가 합병증을 초래한다. 이 연령대의 여성들은 남성들보다 골다공증과 연관된 골절상이 4배 정도 더 많이 발생된다. 골다공증의 연구와 진단을 위해 과학자 및 의사들은 골아세포 osteoblast의 기능과 골형성 bone formation이나 골흡수 bone resorption를 평가하는 특정 골대사 마커(활성 골아세포를 직접 또는 간접적 측정하는 제품)의 측정에 의존하고 있다. 다양한 골대사 마커들은 성장 여러 단계에서 나타나기 때문에, 골아세포 기능과 골형성의 다양한 양상을 모니터링하는데 유용하다.

TAKARA는 혈청이나 혈장에서 두 가지 주요 골형성 마커(오스테오칼신 osteocalcin 및 procollagen type I C-peptides [PIP])를 정량 측정할 수 있는 5가지 EIA(enzyme immunoassay) 키트를 제공하고 있다. 골전환율 bone turnover 연구에 사용할 다른 TAKARA 제품으로는 뼈와 연관된 세포에서 ALP(Alkaline Phosphatase) [골형성]와 TRACP(Tartrate-Resistant Acid Phosphatase) [골흡수]의 활성 측정용 TRACP & ALP Double Stain Kit (Code MK300)가 있으며 ACP (Acid Phosphatase)와 ALP 정량 측정용 TRACP & ALP Assay Kit(Code MK301) 뿐만 아니라 오스테오칼신 osteocalcin과 PIP에 대한 단일클론항체와 다클론항체 등이 있다.

### 골형성 bone formation 마커

ALP는 유골 osteoid 형성과 무기질화 mineralization에 중요한 역할을 하는 효소이다. 뼈 특이적 ALP는 골형성 osteogenesis을 촉진하는 기능을 가진 오스테오칼신 막당단백질 membrane glycoproteins이며, 골아세포 osteoblast 활성도의 마커로 잘 알려져 있다. 특히 ALP는 피로인산염 pyrophosphate (석회화 calcification 위치에서 결정화 억제제) 뿐만 아니라 유기인산 에스테르 organic phosphate esters (무기 인산염 농도 증가)를 분해한다. 혈청에서 전체 ALP는 다양한 조직(간, 뼈, 장, 비장, 신장, 태반)에서 유래한 여러 dimeric isoform으로 구성되어 있다. 그러나 건강한 성인에서

는 혈청 ALP의 50%는 간에서, 나머지 50%는 뼈로부터 얻어진다. TAKARA의 TRACP & ALP Double-Stain Kit는 ALP와 TRACP 활성에 따라 골 세포를 각각 다른 색으로 염색한다. 본 제품은 골 세포 샘플에서 이 두 가지 효소 활성을 시각적으로 구분할 수 있도록 하고, TRACP & ALP Assay Kit는 TRACP와 ALP의 정량 분석에 사용된다.

골아세포 osteoblast의 두 번째 특이적 마커는 오스테오칼신 osteocalcin (OC)이며, 비콜라겐 뼈 기질 단백질 non-collagenous bone matrix proteins의 약 15%를 구성하고 있다.  $\alpha$ -carboxylglutamic acid protein으로 알려진 OC는 작고 (5.9 kDa), 비타민 K-의존적인 hydroxyapatite ( $\text{Ca}^{2+}$ )-binding protein으로, 골아세포와 치아의 상아아세포 odontoblasts (이 세포는 치아의 상아질이 된다)에서만 발견된다.

OC의 조직 특이적 발현은 골형성에 대한 전반적인 세포 활성의 훌륭한 지표가 된다. 이 단백질의 17, 21 및 24에 위치한 3  $\alpha$ -carboxylglutamic acid (Gla) 잔기들은 칼슘 결합을 담당한다. 뿐만 아니라 OC 합성은 비타민 D와 비타민 K 양쪽에 의존적이며, 비타민 K가 glutamic acid 잔기들의  $\alpha$ -carboxylation을 자극하는 동안 비타민 D는 직접적으로 OC 합성을 유도한다.

골형성에서 OC의 정확한 기능은 잘 알려져 있지 않지만, 피드백 메커니즘을 통해 골 리모델링에 관여하는 것으로 추정된다. 혈청 OC 레벨은 골형성 속도와 연관이 있다. 그러므로 carboxylated OC (Gla-OC) vs. decarboxylated OC (Glu-OC)의 immunoassay 측정은 임상평가 연구에 유용하다.

TAKARA에서는 혈장내의 Gla/Glu OC 레벨, 세포/조직 추출물 또는 세포배양 상등액 측정용 immunoassay kit 3종류를 제공하고 있다 (Code MK111, MK118 [for Human], MK126, MK146 [for Rat])

Procollagen Type I propeptide (N- 및 C-)는 골형성 마커의 세번째 타입이다. 이러한 프로펩타이드 propeptide들은 콜라겐 I 전구분자 precursor molecules에서 발견되는 NH-말단 펩타이드 서열이다. 이러한 서열들은 소포체 endoplasmic reticulum 내에서 프로펩타이드 분자를 삼중 나선 형태로 감아돌리는 것을 촉진하는 기능을 한다. 콜라겐이 분비되는 동안에 콜라겐 삼중 나선 분자로부터 프로펩타이드가 쪼개지며, 이후 삼중 나선 콜라겐들은 세포 밖 콜라겐 섬유로 중합된다. 따라서 자유 프로펩타이드 free propeptide의 양은 콜라겐 분자 합성의 양을 반영한다. 특히 procollagen type I carboxy-terminal peptide (PIP)는 골 질환, 알코올성 간질환, 간경변 liver cirrhosis 및 위의 경성선암 scirrhous (Borrmann type IV) adenocarcinoma을 포함한 질환과 콜라겐 레벨의 연관성을 연구하기 위한 참고자료로 유용하다.

TAKARA는 2개의 마우스 단일클론 PIP 항체를 이용하여 샌드위치 방

법의 EIA 키트인 Procollagen Type I C-Peptide EIA Kit (Code MK101) 제 공하고 있으며, 혈장, 혈청, 세포배양 추출물, 세포배양 상등액 및 기타 생체액(biological fluid)에서 인간, 소 또는 개의 PIP 정량 측정이 가능하다.

### 골흡수(bone resorption) 마커

뼈콜라겐의 파괴에서 파생된 분해산물들은 일반적으로 골흡수(bone resorption)에 대한 마커로 인식되고 있다. 이러한 분해산물들은 히드록시 프롤린(hydroxyproline, PYD(pyridinoline) 그리고 DPD(deoxypyridinoline)를 포함하고 있으며, 이러한 물질 뿐만 아니라 BSP(bone sialoprotein)와 TRACP와 같은 비콜라겐 단백질 또한 이러한 마커로 이용되고 있다. 골아세포(osteoblasts)와 상아아세포(odontoblasts)에 의해 만들어진 BSP는 뼈 기질의 비콜라겐 부분의 5~10%를 구성하고 있으며 세포 기질 접착에 중요한 역할을 하고, BSP 혈청 레벨은 골흡수 과정과 연관되어 있는 것으로 추정된다.

두 번째 비콜라겐 단백질 TRACP는 파골세포(osteoclast)와 모발상 세포 백혈병(Leukemia hairy cells)에 특이적으로 연관되어 있다. 이 효소는 5a 및 5b 2개의 sub-isoform으로 존재하며, 파골세포(osteoclast)에는 TRACP-5b만 특이적으로 존재한다. TAKARA의 TRACP & ALP Double-Stain Kit와 TRACP & ALP Assay Kit는 뼈와 관련된 세포에서 TRACP와 ALP 활성을 측정할 수 있다. 골대사는 골형성 및 골흡수가 상호 균형적으로 존재하기 때문에 이러한 두 개의 마커를 동시 비교하는 것은 매우 유용한 방법이다.

### 요약

골전환율(bone turnover)의 생화학 마커는 인간과 동물의 골대사 연구에 유용하다는 것이 입증되었으며, 대부분의 마커는 뼈이외의 조직에서 발견되었다. 따라서, 생물학적 체액내의 마커는 골형성/골흡수 이외의 신체 프로세스에 의해 영향을 받을 수 있다. 그럼에도 불구하고 ELISA(enzyme-linked immunosorbant assays)는 혈청, 소변과 생물체액을 이용해 골형성 및 골흡수 마커를 직접적이고도 민감하게 측정할 수 있다. TAKARA에서는 EIA, 염색 키트 그리고 특정 항체를 포함한 골전환율 연구를 위한 다양한 제품을 제공하고 있다.

### References

Delmas et al. (2000) The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporos Int. Suppl.* 6:S2-17.

Yang, Y.J. and Damron, T. (2002) Histology of Bone. *eMedicine* (www.emedicine.com).

Goddard, D. and Kleerekoper, M. (1998) Osteoporosis symposium: Biochemical markers of bone turnover. *Postgraduate Medicine* 104(4):101-118.

### TAKARA Product References

#### Procollagen Type I C-Peptide EIA Kit (Code MK101)

01. Böhm, H., et al. (2004) Collagen metabolism is a novel target of the neuropeptidemelanocyte-stimulating hormone. *J. Biol. Chem.* 279(8): 6959-6966.

02. Bourcier, C., et al. (2005) Inhibition of Rho kinase modulates radiation induced fibrogenic phenotype in intestinal smooth muscle cells through alteration of the cytoskeleton and connective tissue growth factor expression. *Gut* 54: 336-343.

03. Hu, B., et al. (2003) A nuclear target for interleukin-1<sup>α</sup>: Interaction with the growth suppressor necdin modulates proliferation and collagen expression. *PNAS* 100(17): 10008-10013.

04. Kawaguchi, K., et al. (1999) Endogenous IL-1<sup>α</sup> systemic sclerosis fibroblasts induces IL-6 and PDGF-A. *J. Clin. Invest.* 103: 1253-1260

05. Liu, X., et al. (2004) cAMP-elevating agents and adenylyl cyclase overexpression promote an antifibrotic phenotype in pulmonary fibroblasts. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 286: C1089-C1099.

06. Mori, K., et al. (1999) Dexamethasone enhances in vitro vascular calcification by promoting osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19(19): 2112-2118.

#### Undercarboxylated Osteocalcin (Glu-OC) EIA Kit (Code MK118)

01. Lee, A., et al. (2000) Measurement of osteocalcin. *Ann. Clin. Biochem.* 37: 432-446.

02. Schurgers, L.J., et al. (2004) Effect of vitamin K intake on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationships in healthy subjects. *Blood.* 104(9): 2682-2689.

03. Schurgers, L.J., et al. (2002) Novel effects of diets enriched with corn oil or with an olive oil/sunflower oil mixture on vitamin K metabolism and vitamin K-dependent proteins in young men. *J. Lipid Res.* 43: 878-884.

04. Takahashi, M., et al. (2001) Effect of vitamin K and/or D on undercarboxylated and intact osteocalcin in osteoporotic patients with vertebral or hip fractures. *Clin. Endocrin.* 54(2): 219.

#### Gla-Type Osteocalcin EIA Kit (Code MK111)

01. Barroga, E., et al. (1999) Induction of osteosarcoma functional differentiation and growth inhibition in vitro of canine by 22-oxacalcitriol, calcitriol and all-trans retinoic acid. *J. Vet. Med., Ser. A.* 46 (9): 573.

02. Koyama, N., et al. (1991) A one step sandwich enzyme immunoassay for gamma-carboxylated osteocalcin using monoclonal antibodies. *J. Immunol. Methods.* 139(1): 17-23.

03. Orui, H., et al. (2001) Effects of bone morphogenetic protein-2 on human tumor cell growth and differentiation: a preliminary report. *J. Orthopaedic Sci.* 5(6): 600-604.

04. Schurgers, L.J., et al. (2004) Effect of vitamin K intake on the stability of oral anticoagulant treatment: dose-response relationships in healthy subjects. *Blood* 104(9): 2682-2689.

05. Tsukamoto, Y., et al. (2000) Prolonged intake of dietary fermented soybeans (natto) with the reinforced Vitamin K2 (menaquinone-7) enhances circulating <sup>α</sup>-carboxylated osteocalcin concentration in normal individuals. *J. Health Sci.* 46(4): 317-321.

06. Yamaguchi, M., et al. (2001) Prolonged intake of isoflavone-and saponin-containing soybean extract (nijiru) supplement enhances circulating-carboxylated osteocalcin concentrations in healthy individuals. *J. Health Sci.* 47(6): 579-582