

## 개의 골절 모델에서 골절치유에 따른 Osteocalcin 및 Procollagen Carboxy-terminal Propeptide의 변화

김남수<sup>1</sup> · 김수미 · 강창원 · 최은경\* · 최인혁  
전북대학교 수의과대학, \*충남대학교 수의과대학

### The Changes of Osteocalcin and Procollagen Carboxy-terminal Propeptide on Healing in Canine Fracture Models

Nam-soo Kim<sup>1</sup>, Soo-mi Kim, Chang-won Kang, Ohn-Kyung Choi\* and In-hyuk Choi

*College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, 561-756, Korea*  
*\*College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, 361-763, Korea*

**Abstract :** The purpose of this investigation was to examine the effects of osteocalcin (serum bone GLA-protein, BGP) and procollagen carboxy-terminal propeptide (PICP) on new bone formation of canine fracture models. Serum osteocalcin and PICP were measured by standard RIA. The values of osteocalcin and PICP in the non-union and delayed-union fracture models were measured biweekly for 20 weeks in 14 dogs. The unions were radiographed for fracture healing. In non-union fracture group, the activity of BGP was markedly increased at four to eight weeks and decreased at twelve to twenty weeks and the activity of PICP was markedly increased at two to six weeks and slightly decreased at sixteen to twenty weeks. In delayed-union fracture group, the activity of BGP was markedly increased at two to eight weeks after treatment and maintained for the level until twenty weeks and the activity of PICP was markedly increased at two to six weeks after treatment and maintained for the level until twenty weeks. Radiologically, non-union group was not achieved until twenty weeks after fracture, delayed-union group was successfully achieved in eighteen weeks after fracture. These results suggested that the activities of osteocalcin and PICP are useful parameters for biochemical markers of bone formation in dogs.

**Key words :** osteocalcin, bone GLA-protein, procollagen carboxy-terminal propeptide, bone formation, biochemical marker, fracture model

## 서 론

골아세포의 작용에 의한 골형성과 파골세포의 작용에 의한 골흡수는 골의 대사를 나타내는 두 축으로 흔히 골절 및 골이식에 따른 골형성 상태의 확인이나 대사성 골질환 등의 진단에 있어서 매우 유용성이 있다<sup>2,4,10,26</sup>. 골 형성은 골아세포에서 분비되는 여러가지 단백질과 이에 따른 효소들에 의해 발생되는 것으로 알려져 있다<sup>1,6,11</sup>. 그리고 이들을 측정하는 생화학적 검사방법은 첫째, 골아세포와 파골세포중 세포 내 효소이면서 동시에 혈액으로 분비되는 효소들의 혈중 농도를 측정하는 경우와 둘째, 골형성 과정에서 부분적으로 혈액 내에 유리되는 새로 형성된 골 실질의 구성 성분, 또는 골 흡수 과정 중에서 분비되는 골 실질의 분절들을 측정하는 검사법들이 연구 보고 되어져 왔다<sup>7,17,21,23</sup>. 최근 골형성을 쉽고 정확하게 측정 평가할 수 있는 방법에 대한 연구가 활

발히 진행되면서 방사선 동위원소를 이용한 핵의학적 접근이나 혈액 또는 요중의 골대사와 연관된 물질을 측정하는 비침습적 방법에 관심이 집중되고 있는 실정이다<sup>3,12,13,14,18</sup>. 이러한 점에서 현재 이용되고 있는 골아세포에서 분비되는 효소에는 osteocalcin(bone GLA-protein, BGP), type I procollagen (PICP), bone specific-alkaline phosphatase(BALP), osteonectin 그리고 matrix GLA-protein 등이 있다.

Osteocalcin은 골의 비교원성 단백질 중 20%를 차지하며 골조직과 치아 조직에서만 특이하게 발견되는 것으로 알려져 있다<sup>2,19</sup>. 주로 골아세포에서 합성된 후 골의 세포외 기질에 축적되는데, 이때 새로 합성된 osteocalcin의 일부가 혈중으로 방출되는 것으로 알려져 있지만, 아직까지도 그 기능이나 기전 등은 명확히 규명되지 못하고 있다. 다만 혈 중에 방출된 osteocalcin의 농도를 방사면역방법을 이용하여 측정하면 골 형성 정도를 알 수 있을 것으로 생각한 여러 연구자들의 보고가 있다<sup>4,5,15,16,22</sup>.

또한 골은 주 성분이 교원질인 기질과 여기에 침착되어 있는 수산화인회석으로 이루어져 있는 것으로 널리 알려져 있다<sup>8,9</sup>. 특히 제 1형 콜라겐은 골기질의 무기질화된 성분의 90% 이상을 차지하므로 이러한 제 1형 콜라겐의 합성지표는

<sup>1</sup>Corresponding author.

E-mail : namsoo@chonbuk.ac.kr

이 논문은 2002년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음. (CNU-BSRI, No. 2002-09)

골의 합성 및 흡수에 있어서 중요한 의미를 갖게 된다<sup>15,16</sup>. 제 1형 콜라겐이 생성될 때 아미노 말단부의 펩티드는 골에 축적되고 카르복실 말단부가 혈중으로 방출되는 것으로 알려져 있는데 이때 혈중에 방출된 PICP의 측정은 곧 골형성을 예상할 수 있는 지표로 이용될 수 있을 것으로 생각되어 osteocalcin 연구와 함께 최근 여러 연구자들에 의해 활발히 연구되고 있다<sup>15,16,20,24,25,27</sup>.

지금까지 대사성 골질환의 연구에 있어서 신생골 형성의 과정이나 골 융합의 정도를 규명하기 위해 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직까지 개나 고양이에 있어서 osteocalcin 이나 PICP 등에 관한 구체적 관련 자료는 매우 찾아보기 어렵다.

따라서 이 연구에서는 개의 골절 model를 이용하여 골형성의 생화학적 지표를 찾고자 5두에서는 척골에 골절을, 4두에서는 비골에 non-union 골절을 실험적으로 일으켜, 5두를 가장 수술군으로한 대조군과 비교 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 실험군 분류

체중 10 kg(7-15 kg), 나이 10-22개월령 한국산 잡종견을 구충제를 투여하고 1개월 기초 사육 후 임상검사, 혈액 및 혈액 화학 검사 상 건강하다고 인정 되는 14두 (M:9, F:5)를 공시 동물로 사용하였으며 기초 사육기간과 실험기간 동안 하루 3회 일반 개 사료를 급여하며 사육하였다.

I군은 대조군으로 가장수술(sham operation)을 한 5두, II군은 비골에 non-union 골절을 일으킨 5두, III군은 척골에 골절을 일으킨 4두로 하였으며 실험군의 분류에 있어서 특별히 암수 구분은 하지 않았다. 또한 각 실험군은 일반혈액 검사와 혈액화학검사 그리고 임상검사를 일주일 간격으로 3회 실시하여 정상 범위임을 확인하고 이를 실험 전 대조치로 하였다.

### 실험군의 처리

마취는 atropine sulfate (0.05 mg/kg)를 전마취제로, thiopental sodium (25 mg/kg)을 도입마취제로 사용하였으며, 마취 유지는 halothane (0.5-2%)을 사용하였다.

일반적인 수술방법에 따라 수술 부위를 소독한 후 I군과 III군은 후지의 비골 1/3 부분을 6-7 cm 중 절개하여 비골을 노출시킨 다음, 실험 I군은 바로 봉합하고 실험 III군은 절골도(oscillating saw)를 사용하여 비골을 1 cm 절제한 후 봉합하였다. 실험 III는 전지의 척골 상위 1/3 부위를 5-6 cm 중 절개하여 척골을 노출 시켜 절골도를 사용하여 0.5 cm 절제한 후 재위치 시켰고 강선(suture wire, 3호)으로 고정시킨 후 봉합하였다.

시술의 전 과정은 무균 조작하에 실시하였으며, 각 항목의 측정은 실험 전과 시술 후 2주 간격으로 20주 동안 실시하였다.

### 일반 혈액검사 및 생화학적 검사

일반 혈액검사는 EDTA 채혈병에 경정맥에서 통해 0.5 ml 채혈하여 자동혈액 분석기를 사용해 검사하였으며, 생화학적 검사는 경정맥에서 항응고제를 처리하지 않은 튜브에 채혈한 후 원심 분리하여 혈청을 얻었다. 그 중 일부는 자동혈액 화학 분석기를 사용하여 측정하였다.

### Osteocalcin (Bone GLA-protein)의 측정

Osteocalcin RIA kit (Osteocalcina, Radim Co. Italy)를 사용하였으며  $\gamma$ -counter (Cobra, Packard Co. U.S.A)를 이용하여 osteocalcin 값을 산출하였다.

### Serum carboxy-terminal propeptide of type I procollagen (PICP)의 측정

Radioimmunoassy법에 따라 PICP RIA kit (Procollagen, PICP, Orion Diagnostica Co. Finland)를 사용하여 측정하였으며  $\gamma$ -counter (Cobra, Packard Co. U.S.A)를 이용하여 PICP 값을 산출하였다.

### 방사선 사진 촬영

방사선 촬영기 (Siemens Co. Germany)를 이용하여 실험 기간 중 골절 model 부위를 조건 (Kvp:40-45, mAs:4.0-5.0)에 맞게 조사 한 후 mediolateral position과 craniocaudal position으로 단순 방사선 사진을 촬영 하였다.

### 통계처리

실험결과의 통계처리는 ANOVA test 와 Student's t-test로 하였으며,  $p < 0.05$ 를 유의한 차이의 한계로 하였다. 실험결과의 표현은 Mean  $\pm$  S.D. 로 하였다.

## 결 과

실험기간 동안 체온, 심박수 및 호흡수등의 일반 임상 증상은 각 실험군간 유의성 있는 차이의 변화를 관찰할 수 없었으며 전 실험기간 동안 각 군 모두 정상 범위내의 변화를 보였다. 또한 자동 혈액 분석기와 자동혈액화학 분석기를 사용하여 측정한 일반 혈액검사와 혈액 생화학적 검사의 결과에 있어서도 각 실험군간 약간의 변화는 있었으나 모두 정상 범위내의 변화였으며 각 실험군간 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다.

### Osteocalcin의 변화

(1) Standard curve 와 serial dilution curve의 작성

방사면역 측정법에서의 항원-항체 결합체 (bound form)와 비결합체(free form)의 분리에는 경쟁반응(competition reaction)으로 항원과 <sup>125</sup>I가 표지된 osteocalcin을 동시에 항체에 반응시키고 제 2항체를 넣어 결합형을 침전시켜 분리하였다. 동위원소로 표지된 항원만이 항체와 결합된 양(B<sub>0</sub>)을 100으로 하고, 항체에 방사성 동위원소가 표지된 항원과

표지 않된 항원의 경쟁적 결합(B)을 비율(B/B<sub>0</sub>)로 나타내어 표준농도와 비교하고 정량화하여 작성한 결과, 혈청의 희석 정도에 따라 혈청 내 osteocalcin은 BGP항원의 표준 용액 곡선과 평행함을 보여 주었다.

(2) 골형성에 따른 osteocalcin의 변화

대조군인 가장 수술군은 실험 전 대조치인 1.68±0.20 ng/ml 가 실험이 진행되었던 20주 동안에도 거의 변화가 없었으나 delayed union 골절 및 non-union 골절 모델에 있어서 골형성에 따른 osteocalcin의 변화는 Fig 1과 같다.

II군은 실험전 1.512±0.080(ng/ml)에서 실험 후 2, 4, 6, 8, 10주에 1.725±0.100, 2.115±0.510, 2.130±0.530, 2.157±0.560, 1.680±0.610(ng/ml)로 14.00, 39.73, 40.13, 42.38, 11.25% 증가 소견(p<0.05)을 보였으며 12주 이후에는 점점 감소하여 실험 전 대조치보다 낮은 수치를 나타내었다. III군은 실험 전 1.692±0.200(ng/ml) 에서 실험 후 2, 4, 6, 8, 10주에 2.130±0.490, 3.240±0.860, 3.278±0.240, 2.812±0.410, 2.692±0.420(ng/ml)을 나타내어 25.00, 91.59, 93.49, 66.27, 59.27%의 증가 소견(P<0.05)을 보였으며, 12주 이후 20주까지도 평균 63.29%의 증가 소견(P<0.05)을 나타내었다.

PICP의 변화

(1) Standard curve 와 serial dilution curve의 작성

동위원소로 표지된 항원만이 항체와 결합된 양(B<sub>0</sub>)을 100으로 하고, 항체에 방사성 동위원소가 표지된 항원과 표지 안 된 항원의 경쟁적 결합(B)을 비율(B/B<sub>0</sub>)로 나타내어 표준 농도와 비교하고 정량화 하였다. 혈청의 희석 정도에 따라 혈청 내 PICP는 PICP항원의 표준 용액 곡선과 평행함을 보여 주었다.

(2) 골형성에 따른 PICP의 변화

대조군인 가장 수술군은 실험 전 대조치인 17.27±1.10 (ng/ml)가 실험이 진행되었던 20주 동안에도 거의 변화가 없었으나 대조군에 비하여 non-union 골절 및 delayed union 골절 모델에 있어서 골형성에 따른 PICP의 변화는 Fig 2와 같다.

II군은 실험 전 16.470±1.000(ng/ml)에서 실험 후 2, 4,

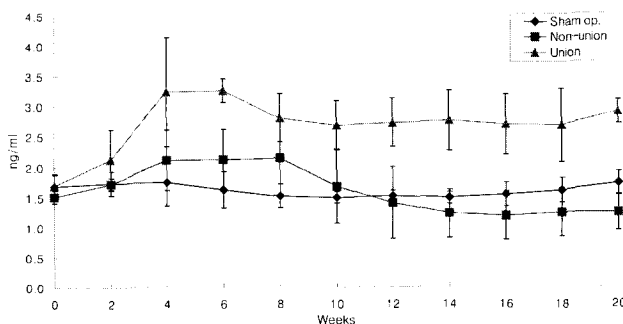


Fig 1. Changes of osteocalcin activities of sham operation, non-union and union fracture model in dogs.

6, 8주에 24.785±3.160, 24.842±3.840, 23.170±2.960, 19.002±4.060(ng/ml)로 50.45, 50.81, 40.68, 15.36% 증가 소견(p<0.05)을 보였으며 16주 이후에는 점점 감소하여 실험 전 대조치보다 낮은 수치를 나타내는 경향을 보였다. III군은 실험 전 10.900±1.220(ng/ml)에서 실험 후 2, 4, 6, 8, 10주에 23.016±2.710, 25.564±2.810, 26.166±1.710, 24.990±3.590, 24.156±2.500(ng/ml)을 나타내어 111.10, 134.40, 140.00, 129.26, 121.50%의 증가 소견(p<0.05)을 보였으며 12주 이후 20주까지도 평균 125.48%의 증가 소견(p<0.05)을 나타내었다(Fig 2).

방사선 사진에 의한 골유합 정도

Non-union 골절 모델과 delayed union 골절 모델에 있어서 기간 경과에 따른 단순 방사선 촬영에 의한 골유합 정도의 확인 결과는 Fig 3, 4 와 같다.

비골에 골절을 일으킨 후 절제해 낸 III군은 실험 2주에 골절단 양측에 칼슘 침착과 함께 가골형성이 이루어지기 시작하여 8주까지 나타내었다. 10주 이후 14주까지는 더 이상의 가골은 형성되지 않았으며 16주에서 20주에 이르기까지는 오히려 형성된 가골이 흡수되어 보였다(Fig 3). 경골에 골절을 일으킨 IV군은 실험 2주에 양측 골절단에 칼슘 침착과 함께 가골 형성이 이루어 지기 시작하여 4주에서 12주

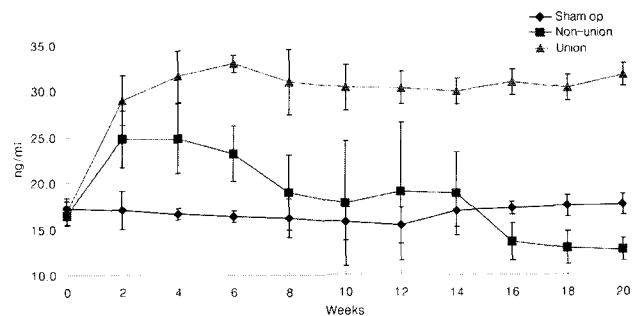


Fig 2. Changes of PICP activities of sham operation, non-union and union fracture model in dogs.



Fig 3. Serial radiographs of union fracture model in dogs. (Weeks after procedures)



**Fig 4.** Serial radiograms of non-union fracture model in dogs. (Weeks after procedures)

왕성한 가골 형성을 보이다가 14, 16주에는 조금 느리게 진행되었고, 18, 20주에 이르러 양측 골절단의 완전한 유합을 보였다(Fig 4).

## 고 찰

골대사의 변화를 측정하는 것은 근골격계 질병의 정확한 진단이나 예후등의 판정과 치료의 적합성 여부를 하는데 매우 중요한 요건이 된다.

Bone  $\gamma$ -carboxyglutamic acid protein (이하 BGP)으로도 알려진 osteocalcin은 46개의 아미노산으로 이루어진 분자량이 4.9 Kd인 비고원질 peptide로 칼슘이 결합하는 아미노산 부위인 gamma-carboxyglutamic acid(GLA) 잔기를 3개 가지고 있어 유일하게 칼슘과 결합할 수 있는 아미노산으로 알려져 있다<sup>2,4,6,23</sup>.

Price 등<sup>22</sup>은 pH 3.7에서 isoelectric point가 있으며, hydroxyapatite와 강하게 부착하나, amorphous calcium phosphate와는 부착치 않고 칼슘이나 인이 있는 과포화 용액에서는 hydroxyapatite에 대해 강한 억제 역할이 있다고 보고 하였다. 사람에서 BGP를 24시간 동안 30-60분 간격으로 채취하여 변화를 측정하고 일주기성 리듬이 있다는 보고가 있는데 이러한 일주기성 리듬은 아침에 저하하고 오후나 초저녁에 상승하였다가 밤중에 최고도에 달하였으며 이온화된 칼슘이나 이온화된 인과는 무관하다고 또한 알려져 있다<sup>10,13,16,21</sup>. 이 실험에 있어서는 이러한 점을 감안 하여 혈액 채취 시간을 오전 9-10 사이에 동일한 조건하에서 실시하였던 바 큰 문제점은 없었다.

Osteocalcin은 일반적으로 골형성 및 골흡수가 평형을 이루고 있는 상태에서는 전반적인 골 대체율의 지표가 될 수 있는 것으로 알려져 있으며, 또한 다발성 골수종이나 척추골 다공증등과 같이 평형이 깨진 경우에는 골형성의 지표가 될 수 있는 것으로도 알려져 있다<sup>4,10,13,19,26</sup>. 혈중 osteocalcin은 골 교체율이 증가한 질환인 원발성 및 속발성 부갑상선 기능 항진증, 갑상선 기능 항진증, 말단 비대증, 골의 Parget's

병 등에서는 상승하고 갑상선 기능 저하증, 부갑상선 기능 저하증과 부신 피질 호르몬을 투여 받고 있는 환자에서는 감소하는 것으로 알려져 있다<sup>2,19,26</sup>. 또한 osteocalcin은 신장에서 대사가 되므로 특히 사구체 여과율(GFR)이 40 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 이하로 감소된 신부전의 경우 골대사와는 상관없이 혈중 osteocalcin치가 의미 있게 상승할 수 있다는 점과 일주기성 리듬과 생리 주기에 따른 변화 등도 항상 고려되어야 될 사항으로 알려져 있다<sup>10,13,16</sup>. 사람에 있어서 혈중 osteocalcin치는 사춘기에 골의 성장과 유의한 상관성을 갖고 증가되며, 여성에 있어서 폐경 후에 증가되고 여성 호르몬 치료 후에 감소되는 것으로 알려져 있다<sup>14,21,25</sup>. 현재 사용되고 있는 RIA에 있어서는 소의 osteocalcin을 항원으로 하여 생성 시킨 항체가 사람 혹은 검사 대상의 osteocalcin과 교차 반응을 하므로 대부분의 검사법들이 소의 osteocalcin을 추적자와 표준 웹티드로 이용하고 있어 종에 따른 차이가 인정될 경우 여러 가지 문제점을 유발할 수 있는 소지를 충분히 가지고 있다.

이 실험에 있어 신생골 형성과 무관한 대조군에 있어서는 실험 전 대조 치와 시간 경과에 따른 변화가 측정된 20주 내내 별 다른 변화를 나타내지 않았을 뿐만 아니라 통계적으로도 어떠한 유의성 있는 변화를 발견할 수 없었다. 그러나 골절을 유발 시킨 두 실험군에 있어서는 골절 유발 후 비교적 신생골의 형성이 왕성한 시기인 2-10주 동안에 있어서 실험 전 대조 치에 비하여 각각 32%, 67%의 매우 유의성 있는 상승을 나타내고 있었다. 또한 골절의 완전한 유합을 보이지 못한 실험 II군에 있어서는 골절 유발 12주 이후, 점점 감소한 반면 유합을 이룬 실험 III군에 있어서는 증가된 추세를 계속 유지하는 것으로 나타났다. 이러한 osteocalcin의 실험군의 조건에 따른 각각 다른 결과는 신생골과 매우 관계가 있는 것으로 생각되어 진다. 그러나 이 실험에서 사용한 RIA의 특성상 항체들이 인지하는 항원의 인지 부위에 따라서 어떤 항체들은 osteocalcin의 전체를, 그리고 어떤 항체는 일부만을 인지하게 되어 있어서 골 흡수 과정 중에 분해되는 분절된 osteocalcin과는 반응치 않고 단지 새로이 생성된 osteocalcin과 반응할 수 있다는 점과 혈중으로 분비된 후 다시 골로 재 이용되는 osteocalcin량이 얼마나 되는지 등에 관해서는 향후 더 연구 되어야 할 부분들이다.

콜라젠은 하이드록시프롤린, 하이드록시리신 등이 풍부한 단백질로 이아미노산들은 콜라젠이 생성될때 각각 프롤린과 리신의 해독 후 수산화 반응에 의해 형성된다<sup>7-10</sup>. 이러한 콜라젠은 골기질 구성 성분의 대부분을 차지하는 교원성 단백질므로 혈중으로 방출 되는 PICP는 골형성을 잘 반영할 것이라는 예상과 함께, 다른 골형성 표지자들이 골 흡수에 의해서도 영향을 받거나 골기질의 무기질과 연관된 골아세포의 기능에 따른 영향을 받을 수 있는데 비하여 PICP는 골형성만을 반영하므로 특이성이 높을 것이라는 이론적인 예측이 현재까지 여러 연구자들의 관심의 대상이었다<sup>9-11,20,25</sup>. 또한 갑상선 기능 항진증과 일차성 부갑상선 기능 항진증등의

대사성 골질환에서 혈청 PICP가 조직 형태학적 검사<sup>47</sup>와 Ca 역동 연구를 이용한 골대체율과 밀접한 상관 관계가 있음이 보고 되었다<sup>10,12,15,19</sup>. 갑상선 항진증의 경우 칼슘 역동 연구에서 골형성율이 증가 되었음에도 불구하고 혈청 PICP는 감소하였다는 보고도 있으나 이는 갑상선 기능 항진에 비해 PICP 단백질의 제거가 증가되었기 때문인 것으로 추정 된다.

성장 호르몬 결핍 소아에서는 혈청 PICP가 감소되어 있다가 성장 호르몬 투여 후 증가 되고 특히 치료 후 첫째 주에 측정된 PICP의 변화가 치료 후 6개월, 12개월의 성장 속도, 골밀도와 비례함이 보고 되었다<sup>25</sup>. 이러한 결과는 성장 호르몬의 치료 효과를 예견하는데 매우 유용한 검사법으로 기대 된다.

또한 지금까지 제 1형 교원질은 골아세포로부터 분비된 후 세포외에 존재하는 효소의 작용에 의하여 분해되어 보다 성숙한 형태의 fibrin로 변하는 것으로 알려져 있는데, 이 과정에서 N-terminal extension peptide가 떨어져나가, procollagen carboxy-terminal propeptide(PICP)와 procollagen amino-terminal propeptide(PINP)로 분리되어 성숙하므로 이때의 PICP의 측정으로 신생골 형성의 정도를 알 수 있다.

이 실험에 있어 골절을 유발 시킨 두 실험군은 골절 유발 후 신생골의 형성이 왕성한 시기인 2-10주 동안에 있어서 실험 전 대조치에 비하여 각각 39%, 127%의 매우 유의성 있는 상승을 나타내고 있었다. 또한 골절의 완전한 유합을 보이지 못한 실험 II군에 있어서는 골절 유발 12주 이후, 점점 감소한 반면 유합을 이룬 실험 III군에 있어서는 증가된 추세를 계속 유지하는 것으로 나타났다. 그러나 신생골 형성과 무관한 대조군에 있어서는 실험 전 대조치와 시간 경과에 따른 변화가 측정된 20주 내내 별 다른 변화를 나타내지 않았을 뿐만 아니라 통계적으로도 어떠한 유의성 있는 변화를 발견할 수 없었다. 이러한 PICP의 실험군의 조건에 따른 각각 다른 결과는 신생골과 매우 관계가 있는 것으로 생각 되어 진다. 그러나 현재까지 이를 이용한 임상연구에서는 이 실험에서와 같이 실험모델을 이용한 경우와는 다르게 대체적으로 그 예민도가 낮은 것으로 알려져 있다. 혈청 PICP 측정이 이론상의 장점에도 불구하고 실제로 여러 대사성 골질환에서 골형성을 예민하게 반영하지 못하는 이유에 대해서는, PICP의 혈중 농도가 골의 진정한 콜라겐 합성을 정확하게 반영하지 못하기 때문이라는 이유가 제시되고 있기도 하지만 아직까지 명확한 설명이 어려우며, 앞으로 이 부분에 대한 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

따라서 이 실험에서 개의 골절모델을 이용한 osteocalcin과 PICP의 변화는 신생골의 형성에 따라 매우 유의한 결과를 나타내고 있어, osteocalcin과 PICP가 골형성의 생화학적 지표로서 그 유용성이 있는 것으로 생각된다. 그러나 지금까지 알려진 골전환율을 측정할 수 있는 어떠한 생화학적 지표들도 골절이나 골이식 혹은 골 대사질환에서 신생골 형성에 대한 예민성과 특이성을 완벽하게 반영하지는 못하므로 보다 정확한 골형성 정도를 알기 위해서는 각 각의 골질환에 적합한 골형성 표지자의 선택이 필요하며 골 밀도 검사와 함

께 골흡수를 반영하는 지표와의 병행 측정이 있어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

대조군과 함께 골절 model은 non-union 골절과 delayed-union 골절로 분류하여 5주에서는 척골에 delayed-union 골절을, 4주에서는 비골에 non-union 골절을 유발시키고 osteocalcin과 PICP를 Radioimmunoassay방법으로 측정 하고 골절 model은 단순 방사선 사진을 각 각 2주에서 2주 간격으로 20 주간 촬영하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

### Non-union group

- 1) Osteocalcin의 활성치는 4주에서 8주까지 현저히 증가하였다가 12주 이후 20주 까지 감소하였다.
- 2) PICP의 활성치는 2-6주 사이에 현저히 증가하였다가 16주 이후 20주까지 조금 감소하였다.

### Delayed-union group

- 1) Osteocalcin의 활성치는 2-8주 사이에 현저히 증가하였으며, 10주 이후 20주까지도 증가 수준을 유지 하였다.
- 2) PICP의 활성치는 2-8주 사이에 현저히 증가 하였으며, 10주이후 20주까지도 증가 수준을 유지하였다.
3. 방사선사진은 I군에 있어서는 골절 후 20주까지 전혀 유합되지 않았으며, II군에 있어서는 2주에 가골이 형성되기 시작하여 6주에서 10주까지 활발한 신생골 형성 후 18주에 완전한 유합을 이루었다.

이상의 결과는 골절시 신생골 형성에 따른 osteocalcin과 PICP 측정치는 골 형성의 생화학적 지표로서 유용한 가치가 있는 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Behr W, Barnert J. Quantification of bone alkaline phosphatase in serum by precipitation with wheat-germ lectin: a simplified method and its clinical plausibility. Clin Chem 1986; 10: 1960-1966
2. Bouman AA et al. Two bone alkaline phosphatase assays compared with osteocalcin as a marker of bone formation in healthy elderly women. Clin. Chem 1995; 41: 196-199
3. Brawner RW, Daniel GB. Nuclear imaging. Vet Clin North Am 1993; 23: 379-398
4. Charhon SA et al. Serum bone gla-protein in renal osteodystrophy: Comparison with bone histomorphometry. J Clin Endocr and Metabol 1986; 63: 892-897
5. Decker B, Bartels H, Decker S. Relationship between endothelial cells, pericytes, and osteoblasts during bone fotation in the sheep femur following implantation of tricalciuphate-ceramic. Anatomical Record 1995; 242: 310-320
6. Delmas PD et al. Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-protein. J Clin Endocrinology Metabolism 1983; 57: 1028-1030

7. Dura RJ et al. Concurrent assays of circulating bone gla-protein and bone alkaline phosphatase: effects of sex, age, and metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol and Metabol.* 1988; 5: 951-957
8. Ebeling PR et al. Utility of type I procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone disease. *J bone and mineral Res* 1992; 7: 1243-1258
9. Epiksen EF et al. Serum markers of type I collagen formation and degradation in Metabolic Bone disease: Correlation with bone histomorphometry. *J Bone and Mineral Res* 1993; 8: 127-132
10. Epstein S. Serum and urinary marker of bone remodeling: Assessment of bone turnover. *Endocrine* 1988; 9: 37-449
11. Fishman WH. Perspectives on Alkaline phosphatase isoenzymes. *Am J Med* 1974; 617-649
12. Front Dov et al. Quantitative bone scintigraphy using SPECT. *J Nucl Med* 1989; 30: 240-245
13. Garnero P et al. Measurement of serum osteocalcin with a human-specific two-site immunoradiometric assay. *J Bone and Mineral Res* 1992; 7: 1389-1398
14. Gregg PJ et al. Scintigraphic Appearance of the tibia in the early stages following fracture. *Clinical Orthopaedics and Related res* 1983; 175: 139-146
15. Hauschka PV, Steven AC. Calcium-dependent  $\alpha$ -helical structure in osteocalcin. *Biochemistry* 1982; 21: 2538-2541
16. Hendrix PG et al. Enzyme immunoassay of human placental and germ-cell alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem* 1990; 36: 1793-1799
17. Hirano K et al. Specific assays for human alkaline Phosphatase isozymes. *Clinica Chemica Acta* 1987; 166: 265-273
18. Holmberg S, Thorngern K-G. Preoperative <sup>99m</sup>Tc-MDP scintimetry of femoral neck fractures. *Acta Orthop Scand* 1984; 55: 430-435
19. Hyldstrup L et al. Non-invasive evaluation of bone formation: measurements of serum alkaline phosphatase, whole body retention of diphosphonate and serum osteocalcin in metabolic bone disorders and thyroid disease. *Scand J Clin Invest* 1988; 48: 611-619
20. Kjærsgaard-Andersen et al. Serum alkaline phosphatase as an indicator of heterotopic bone formation following total hip arthroplasty. *Clin Orthop and Related Res* 1988; 234: 102-109
21. Leung KS et al. Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *J Bone Joint Surg* 1993; 75-B: 288-292
22. Price PA, Nishimoto SK. Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma *Proc Natl Acad* 1980; 77: 2234-2238
23. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest* 1980; 66: 878-883
24. Risteli J et al. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: A new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem* 1993; 39: 635-640
25. Saggese G et al. Effects of long-term treatment with growth hormone on bone and mineral metabolism in children with growth hormone deficiency. *J pediatrics* 1993; 122: 37-45.
26. Wilkinson MR et al. Serum osteocalcin concentrations in Paget's disease of bone. *Arch Intern Med* 1986; 146: 268-271
27. Wuthier RE. Involvement of cellular metabolism of calcium and phosphate in calcification of avian growth plate cartilage. *J Nutrition* 1933; 123(2 suppl.): 301-309