

# 고주파 미세자극에 의한 뼈의 생성에 관한 모델링

윤영준\*, 김문환\*\*, 배철수\*\*\*

## Resonance May Elucidate New Bone Formation Induced by Low amplitude and High frequency Mechanical Stimuli

Young June Yoon\*, Moon-Hwan Kim, Cheol-Soo Bae

요 약

뼈가 왜 고주파 미세자극(low amplitude and high frequency)에 반응하는가를 진동의 공명현상(resonance)을 이용하여 접근해 보았다. 예를 들면 30Hz,  $5\mu\epsilon$  정도의 진동이 뼈 내 골수 간질액 (bone fluid)의 흐름을 주관하는 미세관(canalculus) 내벽에 작용할 경우 빗 형태의 구조물들로 연결되어 있는 골세포돌기 세포막 (osteocytic process membrane)은 공명현상에 의해서  $1,000\mu\epsilon$  이상으로 증폭된다. 이 결과는 사전조사 형태에 속하며, 향후 (1) 세포실험을 통하여 세포내 신호전달체계변화를 분자생물학적인 방법으로, 그리고 (2) 세포내 골격계에 해당하는 액틴필라멘트의 변화를 공초점 주사 레이저 현미경 (Confocal Laser Scanning Microscope)등의 영상기기의 사용으로 관찰하려고 한다.

ABSTRACT

Bone is a self-assembly material. It is known that the low amplitude and high frequency mechanical stimulus, which is much less amplitude but higher frequency than those induced by the normal activity, can induce new bone formation. The vibrating resonance is employed to elucidate why new bone is formed by this kind of mechanical stimulus. For example, as 30 Hz and  $5\mu\epsilon$  mechanical stimulus is applied at the wall of canalculus (the tiny tube type pathway of bone fluid flow and the diameter of canalculus is less than 200nm), the osteocytic cell membrane experiences  $1,000\mu\epsilon$  strain due to the vibrating resonance. Two experiments will follow after this pilot study; (1) observing the MAPK pathway of osteocytes by using in-vitro cell culture and (2) visualizing the actin filament network in the osteocytes by using the imaging technique, such as confocal laser scanning microscope.

키워드

골세포, 고주파, 미세자극, 뼈 생성, 세포신호전달체계, MAPK, 액틴 필라멘트, 진동

### 1. 서 론

뼈는 외부의 자극에 의해서 재생성 또는 생성을 한다 [1,2]. 테니스 선수의 공을 치는 팔뼈는 치지 않는 팔뼈에 비해 두께가 약 35% 정도 두껍다고 알려져 있다 [3,4,5]. 또 무중력상태라고 말할 수 있는 우주비행 후에는 엉치뼈(hip)의 골밀도가 약 2%정도 감소함을 알 수 있다 [6]. 이는 외부 힘의 유무여부에 따라서 뼈가 생성되기도 하고 감소하

기도 한다는 것을 의미한다.

최근까지 알려진 바에 의하면 여러 가지 다른 외부적인 힘에 의해서 새로운 뼈를 만드는 과정인 뼈의 생성 (bone modeling)과 기존의 뼈를 새로운 뼈로 대체하는 과정인 뼈의 재생성 (bone remodeling)이 발생한다고 알려져 있다. 골수 간질액 (bone fluid)의 흐름에 의한 골세포돌기 (osteocytic process)의 자극이 그 대표적인 원인으로 알려져 있다 [1,7]. 이 골수 간질액의 흐름은

\* 뉴욕시립대학교 연구교수 (yoon.youngjune@gmail.com)

\*\* (주)한국전파기지국 연구소장(mhkim@krtnet.co.kr)

\*\*\* 관동대학교 정보전자통신공학부 교수(baecs@kwandong.ac.kr)

두 가지 원인에 의해서 발생하는데, 하나는 순환기의 압력차에 의한 것 [8, 9]이고 다른 하나는 걸음이나 운동 등에 의한 뼈의 변형에 의한 것 [10] 이다. 그 외의 경우가 고주파 미세자극 (low magnitude and high frequency)에 의한 뼈의 생성이다.

뉴욕주립대학교의 루빈 박사 연구팀 [11,12]은 고주파 미세자극을 발생시키는 판을 제작한 후, 임상실험에서 이 자극형태가 뼈의 생성에 직접적인 원인이 됨을 발견하였다. 예를 들면 제작된 판을 이용하여 0.2g과 30Hz의 미세자극을 32명의 여성에게 하루 두 차례에 걸쳐 10분씩 주었을 때, 이 외부자극이 골다공증 등에 의해서 발생하는 골밀도 저하를 방지한다는 사실을 발견하였다.

골수 전해질(bone fluid)의 흐름이 그 원인이라고 생각하는 견해가 강하다. 골수 전해질의 흐름을 해석적으로 연구한 기존의 모델 [13,14,15,16]들을 보면 골세포돌기의 세포막 (osteocytic process membrane)이 여러 개의 작은 빔들에 의해서 미세관 (canaliculus)의 내벽과 연결되어 있음을 알 수 있다 (그림 1). 또한 골수 전해질의 흐름은 직접적으로 세포막에 힘을 가하던지 [13] 또는 이러한 작은 빔들을 변형시켜서 세포막에 자극을 준다고 예측하고 있다. 이러한 골수 전해질이 흐름은 미세관의 직경이 200nm 미만이기 때문에 실험적으로 유동을 가시화시키기 어려운 점을 가지고 있다. 특히 이런 미세관의 내벽에서 연결된 작은 빔들은 인티그린(Integrin)이라고 불리는 세포막 내에 존재하는 단백질과 직접 연결되어 있어서 이러한 빔의 변형이 세포 내 신호전달체계에 직접적으로 자극을 줄 수도 있다 (그림 2). 인티그린(Integrin)이란 단백질은 세포가 세포외 기질(Extracellular matrix)에 접착하여 생존할 때 필요한 단백질로, 인티그린은 세포내 신호전달체계에 중요한 역할을 하고 있음을 그림 2를 통해서 알 수 있다. 그림 2의 FAK, Talin, Vinculin 등은 세포 내에 존재하는 활성효소 (kinase) 또는 단백질 (Protein)이다. 기존의 모델[16]을 살펴보면 골수 전해질 (bone fluid)의 흐름은 골세포 세포막에 연결된 작은 빔들의 변형을 야기하고, 이 변형에 의해서 골세포돌기의 세포막이 변형된다. 이 모델에 따르면 미세관 내벽의 변형률에 비해서 골세

포돌기의 세포막의 변형률이 약 10배에서 100배 정도 증가됨을 예측하고 있다. 그러나 고주파 미세자극에서는 골수의 흐름이 관성(Inertia)에 의해 기존의 모델에서 예측하는 대로 일어나지 않을 수도 있다 그래서 이 연구에서 기존의 모델에 진동의 공명현상을 이용한 다른 해석 방법을 제시하려고 한다.

## II. 진동의 공명현상을 이용한 해석

고주파 미세자극(low magnitude and high frequency)을 묘사하기 위해서 기존의 모델에서 밝힌 골세포의 미세구조[16]에 골수 전해질(bone fluid)의 흐름대신 미세관 (canaliculus)내 벽면이 좌우로 움직인다고 가정하였다. 반복적인 움직임의 형태를  $y(t) = Y\sin\omega t$ 로 간주할 경우, 질량  $m$ 을 가진 세포막의 진동은 다음과 같이 표기할 수 있다.

$$m\ddot{x} + kx = Y\sin\omega t,$$

(1)

여기서  $m$ 은 골세포에서 선택된 부분 (그림 1에서 점선으로 표시된 노란 부분)의 질량,  $k$ 는 빔 모양으로 연결된 부분의 스프링 계수, 그리고  $Y$ 는 미세관 내벽에서 발생하는 좌우 움직이는 거리 (또는 변형률)이고, 골수 전해질에 의한 감쇠 현상 (damping effect)은 제외되었다. 식 (1)의 특수해 (particular solution)는

$$x_p(t) = X\cos\omega t,$$

(2)

로 표시할 수 있으며, (2)를 다시 (1)에 넣으면

$$X = \frac{kY}{k - m\omega^2}.$$

(3)

(3)에서 구해지는  $X/Y$ 값은 미세관 (canaliculus) 벽면에서의 좌우 움직임이 골세포돌기의 세포막 (osteocytic process membrane)에 얼마만큼 전달되는가(또는 전달성, transmissibility)를 나타낸다. 이 계산에서 스프링계수의 값은  $k=7.95 \times 10^{-18} \text{ g/s}^2$ 을 사용하였다 [16].

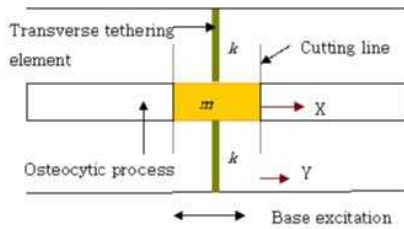


그림 1. 뼈 내의 미세관 (canaliculus)내에 존재하는 골세포 (osteocyte)의 구조. 작은 빗 형태의 연결구조 (Transverse tethering element)들이 세포막을 미세관 (canaliculus)과 직접적으로 연결하고 탄성계수  $k$ 값을 갖는다.  
 Fig. 1 The ultrastructure of osteocytic process in the canalicular space. The transverse tethering elements, which have the spring constant  $k$ , connect the osteocytic process membrane to the canalicular wall.

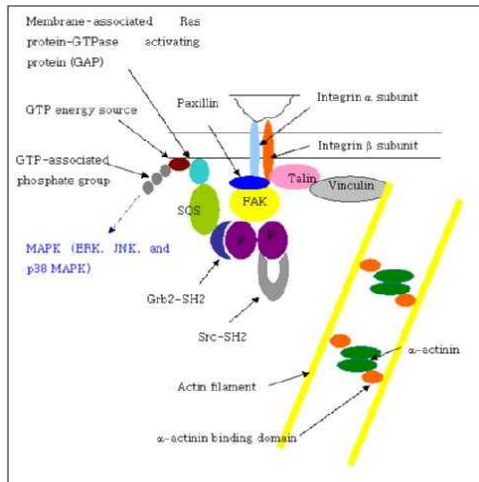


그림 2. 세포막 내에 존재하는 인티그린(Integrin) 단백질과 세포내 다른 구조들과의 연결관계  
 Fig. 2 Integrin and other intercellular components connected to Integrin

III. 결과

그림 3은 미세관 (canaliculus) 내벽 면의 반복적인 움직임이 얼마만큼 골세포돌기의 세포막 (osteocytic process membrane)에 영향을 주는지를 보여주고 있다. 이 결과는 그림 1에서 보듯이 골세포의 정확한 질량과 골세포돌기에 연결된 모든 빗 형태의 연결구조 (tethering element)의 개수를 모두 감안할 수 없어서 부분적으로 잘라내

어서 해석하였다. 특히 그림 4는 30Hz로 미세관 내벽 면을 움직였을 때 부분적으로 잘려진 부분의 질량의 변화에 따른 전달성 (transmissibility) 변화를 보여주고 있다. 예를 들면 부분 질량이  $1.04\mu g$  정도일 경우 30Hz의 진동이 미세관 내벽에 작용할 경우 고유주파수가 미세관 내벽 면에서 발생한 주파수와 가까워짐으로 인한 공명현상 (resonance)에 의해서 전달성(transmissibility)은 증폭된다. 이러한 공명현상으로 인해 미세관의 내벽이  $5\mu\epsilon$  정도의 움직임이 골세포돌기 세포막에는  $1,000\mu\epsilon$  이상으로 증폭된다.

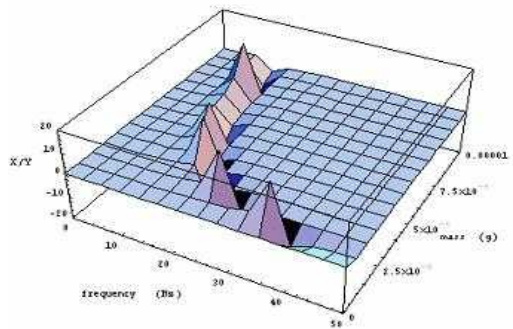


그림 3. 주파수(frequency)와 골세포돌기 단위의 질량(m)에 따른 전달성(Transmissibility, X/Y) 변화  
 Fig. 3 The transmissibility (X/Y) against two parameters, frequency and mass

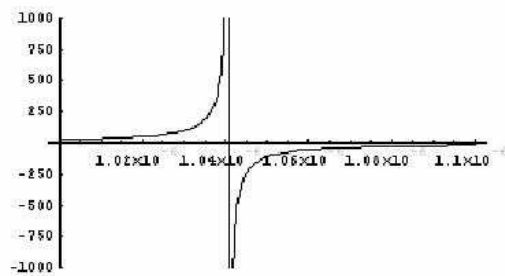


그림 4. 30Hz의 자극이 발생했을 때의 전달성(transmissibility)변화, x축은 그림 1에서 잘려진 부분의 질량(g)이며 y축은 미세관 내벽의 변형률이 얼마만큼 골세포돌기 세포막 (osteocytic process membrane)에 전달되는지를 알려주는 전달성을 나타낸다.  
 Fig. 4 Transmissibility (Y-axis) against the partial mass (g) of osteocytic cell membrane cut in Figure 1.

## IV. 결 론

여기서 제시하는 결과는 실험을 유도하기 위한 사전조사에 해당한다. 초기 결과를 이용하여 향후 (1) 세포실험을 통한 세포내 MAPK 신호전달체 계변화 관찰과 (2) 고주파 미세자극 후 세포내 액틴 필라멘트의 변화를 관찰하기 위한 영상화 등의 실험으로 다변화 할 수 있다.

그림 2의 왼편에서 볼 수 있는 인산염집단 (GTP associated phosphate group)과 연결된 MAPK 신호전달체계가 관심대상이다. 다양한 세포 실험을 통해서 세포가 외부의 힘에 의해 자극을 받았을 때 MAPK 신호전달체계가 변화한다는 사실은 이미 밝혀진바 있다 [17,18,19,20,21]. 특히 뼈의 경우 조골세포 (osteoblasts)를 사용하여 2시간에 걸친 반복적인 유체흐름 후 p38MAPK 신호전달체계가 반응함을 알아내었다[21].

향후 실험의 대략적인 개요는 다음과 같다. 생체 재료를 사용하여 지지대(scaffold)를 제작한 후, 쥐(rat)의 골수(bone marrow)에서 줄기세포(stem cell)를 채취한 후 조골세포로 분화시켜서 지지대에 조골세포를 부착시킨다. 인장 시험기를 이용하여 다양한 주파수대의 자극 (0, 10Hz, 20Hz, 30Hz, 그리고 40Hz)을 가한 후 MAPK 신호전달체계의 변화를 살핀다. 또한 그림 2의 오른편에서 볼 수 있듯이 인티그린은 세포의 골격계에 해당하는 액틴필라멘트 (actin filament)와 연결되어 있다. 다양한 주파수대의 자극에 의한 액틴필라멘트의 변형은 공초점 주사 레이저 현미경 (Confocal Laser Scanning Microscope)등의 영상 기기를 사용하여 관찰하려고 한다.

## 참고문헌

[1] S.C. Cowin, "Bone poroelasticity", *Journal of Biomechanics* Vol 32 No. 3, pp217-238, 1999.  
 [2] C.H. Turner, M.R. Forwood, J.Y. Rho, T. Yoshikawa, "Mechanical loading thresholds for lamellar and woven bone formation", *J Bone Miner Res* Vol 9 No1 pp87-97, 1994.  
 [3] H.H. Jones, J.D. Priest, W.C. Hayes, C.C. Tichenor, D.A. Nagel, "Humeral hypertrophy in response to exercise", *The Journal of Bone and*

*Joint Surgery*, Vol 59, No 2, pp 204-208, 1977.

[4] H. Haapasalo, S. Kontulainen, H. Sievanen, P. Kannus, M. Jarvinen, I. Vuori, "Exercise-induced bone gain is due to enlargement in bone size without a change in volumetric bone density: a peripheral quantitative computed tomography study of the upper arms of male tennis players", *Bone*, Vol 27, No. 3, pp. 351-357, 2000.

[5] S. Kontulainen, P. Kannus, H. Haapasalo, H. Sievanen, M. Pasanen, A. Heinonen, P. Oja, I. Vuori, "Good maintenance of Exercise-Induced Bone Gain with Decreased Training of Female Tennis and Squash Players: A Prospective 5 year follow-up study of Young and Old Starters and controls", *Journal of Bone and Mineral Research*. Vol. 16, pp. 195-201, 2001.

[6] T. Lang, A. LeBlanc, H. Evans, Y. Lu, H. Genant, A. Yu, "Cortical and Trabecular Bone Mineral Loss From the Spine and Hip in Long-Duration Spaceflight", *Journal of Bone and Mineral Research* Vol. 19, No. 6, pp. 1006-1012, 2004.

[7] S.C. Cowin, S. Weinbaum, Y. Zeng, "A case for bone canaliculi as the anatomical site of strain generated potentials" *Journal of Biomechanics*, Vol. 28, No. 11, pp.1281-1297, 1995.

[8] R.M.Dillaman, R.D., Roer, D.M., Gay, "Fluid movement in bone: theoretical and empirical", *J. Biomech.* Vol. 24(suppl.1), pp.163-177, 1991.

[9] R.G. Keanini, R.D. Roer, R.M. Dillaman, "A theoretical model of circulatory interstitial fluid flow and species transport within porous cortical bone", *Journal of Biomechanics*, Vol. 28, No. 8, pp.901-914, 1995.

[10] K. Piekarski, M. Munro, "Transport mechanism operating between blood supply and osteocytes in long bones", *Nature* Vol. 269, pp. 80-82, 1977.

[11] C.T. Rubin, D.W.Sommerfeldt, S. Judex, Y.X. Qin, "Inhibition of osteopenia by low magnitude, high-frequency mechanical stimuli", *Drug Discovery Today*, Vol. 6, No. 16, pp. 848-858, 2001.

[12] C. Rubin, R. Recker, D. Cullen, J. Ryaby, J. McCabe, K. McLeod, "Prevention of

Postmenopausal Bone Loss by a Low-Magnitude, High-Frequency Mechanical Stimuli: A Clinical Trial Assessing Compliance, Efficacy, and Safety". Journal of Bone and Mineral Research, Vol. 19, pp. 343-351, 2004.

[13] S. Weinbaum, S.C. Cowin, Y. Zeng, "A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses", Journal of Biomechanics, Vol. 27, No. 3, pp. 339-360, 1994.

[14] L. You, S.C. Cowin, M.B. Schaffler, S. Weinbaum, "A model for strain amplification in the actin cytoskeleton of osteocytes due to fluid drag on pericellular matrix", Journal of Biomechanics, Vol. 34, No. 11, pp. 1375-1386, 2001.

[15] L.D. You, S. Weinbaum, S.C. Cowin, M.B. Schaffler, "Ultrastructure of the osteocyte process and its pericellular matrix", Anatomical Record 278A(2), pp. 505-513, 2004.

[16] Y. Han, S.C. Cowin, M.B. Schaffler, S. Weinbaum, "Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes", PNAS, Vol. 101, No. 47, pp.16689-16694, 2004.

[17] S. Li, M. Kim, Y.L. Hu, S. Jalali, D.D. Schlaepfer, T. Hunter, S. Chien, J.Y.J. Shyy, "Fluid Shear Stress Activation of Focal Adhesion Kinase", Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 48, pp. 30455-30462, 1997.

[18] C. Li, Y. Hu, M. Mayr, Q. Xu, "Cyclic Strain Stress-induced Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Phosphatase 1 Expression in Vascular Smooth Muscle Cells is Regulated by Ras/Rac-MAPK Pathways", J. Biol Chem Vol. 274, No. 36, pp. 25273-25280, 1999.

[19] J.Y.J. Shyy, Y.S. Li, M.C. Lin, W. Chen, S. Yuan, S. Usami, S. Chien, "Multiple cis-elements mediate shear stress-induced gene expression", Journal of Biomechanics, Vol. 28, No. 12, pp. 1451-1457, 1995.

[20] J.Y.J. Shyy, S. Chien, " Role of Integrins in Endothelial Mechanosensing of Shear Stress", Circ. Res. Vol. 91, pp.769-775, 2002.

[21] J. You, G.C. Reilly, X. Zhen, C.E. Yellowley, Q. Chen, H.J. Donahue, C.R. Jacobs, "Osteopontin Gene Regulation by Oscillatory

Fluid Flow via Intracellular Calcium Mobilization and Activation of Mitogen-activated Protein Kinase in MC3T3-E1 osteoblasts", J. Biol. Chem. Vol. 276, No. 16, pp. 13365-13371, 2001.

---

저자약력

---

윤 영 준(Yoon, Young June)



1996년 공학사, 명지대학교  
 2001년 뉴욕시립대학교  
 2005년 공학박사, 뉴욕시립대학교  
 2005년 뉴욕시립대학교 강사  
 2006년 텍사스주립대학교,  
 박사후 연구원  
 2008년 워싱턴대학교,  
 박사후 연구원

<관심분야> 생체역학 (Biomechanics),  
 다공탄성이론 (Poroelasticity),  
 생체모델링 (Modeling), 기계적 생물학  
 (Mechanobiology)

김문환(Moon- Hwan Kim)



2004년 조선대학교 전자정보공과대학  
 컴퓨터공학과졸업  
 (공학박사)  
 1983년~1997년 한국통신(KT)  
 1997년~2003년 KTF  
 2003년~현재 한국전파기지국(주)  
 기술연구소장

<관심분야> 이동통신, 컴퓨터네트워크, ITS,  
 통신망등

배 철 수(Cheol-Soo Bae)

1979년 명지대학교 전자공학과  
졸업(공학사)

1981년 명지대학교 대학원  
전자공학과졸업 (공학석사)



1988년 명지대학교 대학원 전자공학과  
졸업(공학박사)

1999년~2001년 관동대학교  
공과대학 학장

2000년~2002년 2월 관동대학교  
인양캠퍼스 창업보육센터 소장

2001년~2003년 관동대학교  
평생교육원장

2003년~현재 대한전자공학회 이사

1981년~현재 관동대학교  
전자정보통신공학부 교수

<관심분야> 영상처리, 신호처리시스템,  
영상압축