

골형성 지표로써 bone alkaline phosphatase(BALP)와 TALP치에 대한 BALP치 비율(B/T)의 응용

김 남 수 · 최 인 혁

전북대학교 수의과대학
(1999년 6월 24일 접수)

Studies on the application of bone alkaline phosphatase and percentage of BALP values to total alkaline phosphatase as a marker of bone formation

Nam-soo Kim, In-hyuk Choi

Department of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

(Received Jun 24, 1999)

Abstract : Twenty-one dogs(male 11 heads, female 10 heads) which were about 16 months (16.3 ± 3.5) old and 10kg(10.1 ± 2.0) body weight, were allotted randomly into four groups as follows. Group I consisted of five dogs whose muscles were operated for sham muscle injuries. Group II consisted of seven dogs treated for cystic duct obstruction. Group III consisted of five dogs treated for the union fracture model. Group IV consisted of five dogs treated for the non-union fracture model.

Radiographical and histological observations were carried out to determine bone alkaline phosphatase(BALP) and total alkaline phosphatase(TALP) values of each group for 20 weeks after the treatments with the condition of new bone formation. And also the applicability of percentage of BALP values to TALP (B/T) was studied after BALP was compared respectively with TALP.

The level of TALP was increased without any relation to bone formation in group II, and all levels of BALP and B/T were increased in group III. The mean of B/T was high in statistical significance, due to varied levels of B/T and BALP.

The changes of rates of B/T were significantly increased only in the case of the active new bone formation in group III, union fracture model.

It was recognized that the mean values of B/T were statistical significant of the high applicability of the B/T ratio as an index of bone formation.

Key words : bone alkaline phosphatase, bone formation, total alkaline phosphatase, B/T ratio, union fracture, non-union fracture.

서 론

최근 가정에서 기르는 동물의 개념이 단순한 애완동물에서 함께 사는 반려동물로 바뀌면서 교통사고와 같은 외상으로 인한 골절관측이나 반려동물의 노령화에 따른 골질환이 증가되고 있다. 이러한 골절의 치유과정이나 골질환에서 골형성 정도를 파악하는 것은 치유의 진행정도나 질병의 진행상태 및 예후 등을 판단하는데 중요한 지표가 된다¹⁻³. 골의 형성정도를 파악하는 방법으로는 방사선학적인 방법^{4,5}과 혈청학적인 방법^{6,7} 및 biopsy를 통한 골조직의 형태학적인 방법^{8,9} 등이 알려져 있다. 방사선학적인 방법으로는 단순한 방사선 촬영법과 CT에 의한 골염정량법(骨鹽定量法)^{5,10} 방사성 동위원소를 이용한 bone scintigraphy^{4,11} 등이 알려져 있다. 혈청학적인 방법으로는 alkaline phosphatase(이하 ALP)⁶, bone alkaline phosphatase(이하 BALP)¹², bone gla-protein(이하 BGP, osteocalcin)¹³⁻¹⁵, carboxy-terminal propeptide of type I procollagen(이하 PICP)^{16,17}, osteonectin⁶, matrix gla protein^{18,19}의 측정 등이 알려져 있다.

Biopsy에 의한 방법으로는 조직학적 정량분석법으로 형태계측학적인 방법^{5,10}, double tetracycline labeling법^{18,20} 등이 알려져 있다. 그러나 이와같은 방법들은 고가의 장비나 복잡한 측정절차 때문에 수의임상영역에서는 단순 방사선법이나 ALP 측정법 등이 최근까지 널리 응용되고 있는 실정이다. 단순방사선법은 화골 교체시기에 mineral 량이 30~50% 증가 혹은 감소하기 이전에는 음영 변화에 의한 이상부위를 발견하기 어려운 것으로 알려져 있어 골형성의 조기확인, 골파괴성 병변, 대사성 골질환 또는 골종양으로 인한 골전이의 조기발견 등에는 실용성이 의심스럽다^{4,11,21,22}. ALP는 골형성 과정 외에도 50% 이상이 간이나 담도계²³, 신장^{24,25}, 소화관⁶, 태반²⁶, 악성종양²⁷ 등에서도 생성되기 때문에 정상적인 범위의 폭이 넓고 이러한 질환과 합병증이 있는 경우의 ALP의 측정은 골형성 정도를 파악하는데 정확성을 기할 수 없다^{24,28-30}.

사람에 있어서는 1984년에 Rosalki와 Foo³¹에 의해서 골형성 과정에서 생성되는 ALP만을 검출할 수 있는 방법이 개발되어 이를 bone specific alkaline phosphatase(BALP)라고 하였다. BALP에 의한 골형성 정도를 측정하는 새로운 방법의 개발은 그후 많은 연구자^{9,32,33}들에 의해서

측정하는 방법들이 더욱 개선되고 최근에는 정상적인 사람에서의 BALP치가 조사되어 그 임상적인 응용성이 인정되고 있다^{1,3,34-36}.

BALP치의 측정은 골아세포의 골형성 과정에서 분비되는 ALP에 당단백인 N-acetylglucosamine이 함유되어 있다는 사실이 알려지고^{35,37,38} 이 N-acetylglucosamine이 wheat germ lectin과 결합하면 결정을 형성하게 되며 침전반응을 일으키게 되는 원리를 응용한 방법으로 혈청중에서 BALP만을 침전시켜 그 양을 측정하는 방법이다^{31,32,38,39}.

그러나 수의학에의 BALP치의 측정법과 그에 대한 임상적 연구는 미미하며 조 등⁴⁰이 1997년 정상적인 개의 BALP치에 대한 연구를 발표한 바 있다. 따라서 현재까지 임상적으로 골형성 정도를 파악할 수 있는 신뢰성 있는 방법이 매우 적어 방사선 사진으로 골화가 확인될 때까지는 골형성 정도를 파악하기 어려운 실정이다.

또한 정상적인 사람에서의 ALP치^{3,24,41,42}나 BALP치^{1,3,14,34,41} 및 개에서의 ALP치^{24,43}는 정상범위의 폭이 넓어 어떤 개체의 ALP치가 정상범위에 있는지를 파악하기 어려운 점이 있다. 이 실험에서는 total alkaline phosphatase(TALP)치 안에 BALP치가 일정한 비율을 차지하고 있음을 고려하여 TALP치에 대한 BALP치 비율(B/T; bone alkaline phosphatase value \times 100/total alkaline phosphatase value)을 계산하고 이를 변이계수(CV; coefficient of variability)로 검증하여 BALP치의 평균에 대한 산포도의 신뢰성을 검토하였다.

따라서 이 실험은 개에서 BALP치의 응용 가능성을 검토하고 간단한 실험실 방법으로 조기에 골아세포의 활성화와 관련된 골형성 지표를 얻기 위하여 실험에 착수 하였으며 그 실험방법으로는 정상적인 개에서 BALP를 측정하여 기준치를 설정하고 담관폐쇄시 분비되는 TALP, BALP치의 차이를 검토하고 골형성 과정에서 BALP의 변화를 검토하기 위하여 유합골절 model과 비유합 골절 model를 이용하여 BALP치를 측정하였다. BALP치의 유용성을 검증하기 위하여 wheat germ lectin을 이용한 BALP치를 측정하였으며 신생골의 형성은 방사선 사진을 이용하여 확인하였다. 또한 골형성 과정에서 나타난 각 측정치의 신뢰성을 비교하여 B/T의 유용성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 정상적인 개의 BALP치를 측정하기 위하여

임상적으로 건강하다고 판단되는 체중 10kg(10.12±2.02 kg)내의, 연령 16개월(16.3±3.5개월)의 암컷 10두, 수컷 11두인 총 21두의 잡종견을 무작위로 선택하여 5개 군으로 나누어 대조군으로 근육 손상군(I군)에 5두, 담낭 폐색군(II군)에 7두, 유합 골절군(III군)에 5두, 비유합 골절군(IV군)에 4두를 각각 배치하였다.

실험군의 처리 : 각 실험군에 대한 처리는 atropine sulfate의 전 마취와 thiopental sodium의 유도마취 및 halothane의 유지마취 하에서 상법에 따라 다음과 같이 처리하고 각 군에 대하여 시술후 2주 간격으로 20주까지 방사선 촬영을 하고 혈청에서는 TALP, BALP를 각각 측정하였다.

I군 : 대조군(sham operation control group)으로 5두에 대한 근육손상을 위하여 전지편측 전완부에서 외측 중앙 5~6cm를 종절개하여 요골 접근법으로 요골까지 접근한 후 봉합하였다.

II군 : 7두에 대한 담낭관 폐색은 정중선을 약 5cm 절개하여 담낭을 노출시킨 후 전사로 담낭관을 결찰하여 폐색하였다.

III군 : 골절 model로써 5두에 대해 I군에서와 같은 방법으로 요골에 접근한 후 요골의 근위골간을 5mm 정도 절취하고 근위골간에 간격을 둔 채로 연부조직을 폐쇄 봉합하였으며 내외부 고정은 하지 않았다.

IV군 : 비유합골절 model로써 4두에 대해 후지의 하퇴부를 외측중앙접근하여 절개하고 비골의 근위골간을 10mm 절취하여 비유합 골절 model를 만든 후 연부조직을 폐쇄 봉합하였으며 내외부 고정은 하지 않았다.

혈청의 생화학적 검사 : 각 군의 공시동물에 대하여 시술후 매 2주 간격으로 20주까지 채취한 혈액은 혈청을 분리하여 -80℃의 deep freezer에 보관하여 30일 이내 측정에 사용하였으며 매회 측정은 3회 반복 측정하여 평균치를 사용하였다.

1) TALP의 측정 : TALP의 측정은 p-nitrophenyl phosphate를 기질로 하여 ALP의 발색정도를 보는 Bessey-Lowry 법⁴²에 따랐다.

준비된 혈청을 -4℃에서 24시간 해동하여 사용하였다. Stock substrate sol.(p-nitrophenylphosphate : Sigma Chem. Co. USA) 0.5ml 와 alkaline buffer sol.(2-amino-2-methyl-1-propanol : Sigma Chem. Co. USA) 0.5ml를 혼합하고 혈청 0.1ml를 첨가하여 37℃에서 30분간 incubation 하였다. 이 용액에 0.05N NaOH 10ml를 적용시켜 정색반응을 얻어 blank를 대조로 UV spectrophotometer(Spectino 601, Mil-

ton Roy Co. USA)를 이용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 다음 이 용액에 HCl 0.2ml 첨가 혼합하여 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 먼저 얻은 값에서 나중 얻은 값을 뺀 수치를 TALP치로 하였다.

2) BALP의 측정 : Rosalki와 Ying Foo(1984)의 방법³¹을 개선시킨 Behr와 Barnert(1986)의 방법³²에 따랐다.

혈청은 -4℃에서 24시간 해동하고 lectin 용액은 wheat germ agglutinin(*Triticum vulgare*, wheat germ lectin. Sigma Chem. Co. USA)을 5g/L의 농도로 용해하고 Triton-X 100 sol.은 Triton-X surfactant(Sigma Chem. Co. USA)를 20g/L의 비율로 희석하여 준비하였다.

준비된 혈청 50μl에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤 37℃, 30분간 incubation 하고 이 용액에 Triton-X 100 Sol. 5μl를 첨가하여 잘 혼합하여 37℃, 30분간 다시 incubation 하였다. 이렇게 제작한 serum mixture를 2000g에서 15분간 원심분리하여 상청액과 침전물을 분리하였다.

상청액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP치를 측정하였다. BALP는 TALP에서 상청액의 ALP치를 빼고 남은 값으로 하였다. B/T는 TALP 중에 차지하고 있는 BALP를 백분율로 계산하였다.

3) 기타 : 생화학적 검사에서 Cholesterol, BUN 및 bililubin은 자동 혈액화학분석기(Spotchem™ SP-4410, Dai-ichi Kagaku Co. Japan)로 kit를 사용하여 각각 측정하였으며 ALT, AST, Ca, Pi는 분광광도계(Spetronic 601, Milton Roy Co. USA)로 각각의 측정 kit(Sigma Chemical. Co. USA)를 사용하여 측정하였다.

혈액학 검사 : 각 군에서 시술후 2주 간격으로 20주까지 혈액검사로 적혈구수, 백혈구수, Hb, PCV 등을 자동혈액분석기(Minos Vet. ABX Co. France)로 측정하였다.

방사선 사진 검사 : III, IV군에 대하여 각각 시술후 2주 간격으로 20주까지 골절 model 부분과 골이식 부분을 mediolateral position과 craniocaudal position으로 방사선 사진을 촬영하였다.

통계처리 : 실험결과의 통계처리는 student's t-test로 하였으며 p < 0.05를 유의한 차이의 한계로 하였다. 실험결과의 수치는 mean±SD로 하였으며 평균에 대한 산포도의 신뢰도는 변이계수(CV : coefficient of variability)로 검증하였다.

결 과

임상증상 : 담낭관을 폐색한 II군에서 시술후 침울증상을 나타내었고 결막 및 가지점막의 황색변화와 뇨의 암갈색 변화 그리고 분변색에 있어서도 짙은 황갈색 변화를 보였다. 시간이 경과함에 따라 식욕부진과 체중감소 등을 보이다가 12주 이후에는 거의 정상상태로 회복되었다.

그러나 II군 이외의 각 군에서는 실험기간동안 체온, 심박수 및 호흡수 등의 일반 임상증상은 각 실험군간에 차이를 관찰할 수 없었으며 전 실험기간동안 정상범위내의 변화를 나타냈다.

TALP의 변화 : 각 실험군에서 시술 후에 나타난 TALP치와 그 변화율은 Table 1과 같다. 담낭관을 폐쇄시킨 II군에서는 폐쇄전 49.17±4.06 IU/L에서 폐쇄후 2주에 286.97±55.13IU/L로 증가하여 483.62%의 가장 높은 증가율을 나타내고(p<0.01) 그후 8주까지 감소하는 경향을 나타냈으나 8주 이후에는 100IU/L에서 103IU/L의 범위 안에서 105~108%의 증가율로써 일정한 수준을 유지하고 있었다. I군에서는 시술전 51.47±3.4IU/L 이었으며 시술후 8주까지는 56~77IU/L의 범위를 나타내어 8~50%의 약한 증가율을 나타내었고 8주에서 20주까지는 56IU/L에서 59IU/L의 범위를 나타내어 5% 내외의 증가

율을 나타내고 있었다. 또한 골절 model의 III군에서는 시술전 51.73±4.0IU/L이었으며 시술후 2주에 125IU/L로 131.7%의 증가율을 나타냈으나 8주부터 20주까지는 94.9IU/L에서 96.9IU/L의 범위로써 83.6% 내지 87.4%의 일정한 수준의 증가율을 유지하고 있었다. 골절 model에서 비유합을 이룬 IV군에서는 시술전 55.82±4.8IU/L이었으며 시술후 2주에 118IU/L로 111.6%의 증가율을 나타냈으나 8주부터 20주까지는 72.6IU/L에서 74.9IU/L의 범위로써 30.1% 내지 34.2%의 일정한 증가율을 유지하고 있었다.

이러한 변화는 담낭관 폐색군인 II군과 담낭관을 폐쇄하지 않은 I, III, IV군 사이 및 골절 유합군인 III군과 골절 비유합군인 IV군 사이에는 유의성 있는 차이(p=0.01)가 인정되었다.

BALP의 변화 : 각 실험군에서 시술 후에 나타난 BALP치와 그 변화율은 Table 2와 같다. 골절 model인 III군에서 실험전 17.0±0.5IU/L에서 시술후 2주에 56.4±2.8IU/L로 234%의 높은 증가치를 나타내고 8주 이후에는 42.6 IU/L에서 35.3IU/L의 범위에서 150.6%와 107.6%가 증가된 상태로 일정한 수준을 유지하고 있었다. 담낭관을 폐쇄시킨 II군에서는 폐쇄전 17.1±9.9IU/L에서 폐쇄후 2주

Table 1. Changes of TALP activities after treatment of sham operation, cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture (IU/L)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
I *	51.47	77.02	76.6	63.06	55.7	57.15	56.82	58.24	58.91	58.6	59.19
(±SD)	3.4	4.6	3.6	8.1	3.8	3.5	2.9	3.9	2.7	3.1	3.9
CV**	6.60	5.97	4.70	12.83	6.82	6.52	5.11	6.70	4.58	5.29	6.59
II	49.17	286.2	212.0	173.0	103.0	101.0	100.0	101.1	101.0	102.0	102.0
(±SD)	4.1	55.1	13.1	9.8	9.7	7.0	8.6	7.2	7.6	2.8	8.1
CV	8.33	19.25	6.18	5.66	9.42	6.93	8.60	7.12	7.52	2.75	7.94
III	51.73	125.1	103.1	95.0	95.25	96.91	95.77	95.91	96.54	94.91	95.08
(±SD)	4.0	10.0	6.0	2.0	3.0	3.2	3.3	3.4	5.5	4.2	3.7
CV	7.77	7.99	5.82	2.11	3.15	3.30	3.44	3.54	5.70	4.43	3.89
IV	55.82	118.1	104.0	85.24	74.66	74.89	73.96	73.41	72.66	72.59	73.84
(±SD)	4.8	7.4	9.9	2.8	2.3	2.6	4.1	2.5	2.0	2.0	2.0
CV	8.60	6.27	9.52	3.29	3.08	3.47	5.54	3.41	2.75	2.75	2.71

* I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group, III: union fracture group, IV: non-union fracture group.

** CV: Coeffency of variability.

Table 2. Changes of BALP activities after treatment of sham operation, cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture (IU/L)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
I *	18.19	23.74	24.03	23.54	23.49	23.28	21.74	18.71	17.15	17.41	18.47
(±SD)	0.2	2.9	6.8	7.5	7.3	3.8	6.0	4.1	3.2	2.6	3.0
CV**	1.10	12.23	28.33	31.9	31.06	16.31	27.65	21.93	18.6	14.94	16.21
II	17.08	21.84	24.35	22.23	21.55	19.47	17.41	17.17	15.79	15.78	16.02
(±SD)	9.9	7.6	10.0	8.0	9.3	4.9	3.9	6.2	8.7	9.1	9.6
CV	57.89	34.86	41.3	36.04	43.06	25.13	22.41	36.05	55.06	57.59	60.0
III	16.96	56.40	45.9	44.29	42.62	38.20	35.60	35.34	36.49	35.26	37.89
(±SD)	0.5	2.8	2.8	2.5	1.4	1.3	3.4	2.4	1.9	2.1	1.3
CV	2.94	4.96	6.10	5.64	3.29	3.40	9.55	6.80	5.20	5.95	3.43
IV	17.39	22.68	30.75	27.03	20.83	17.43	15.54	13.28	10.48	9.73	9.46
(±SD)	2.2	4.8	3.6	2.3	3.9	4.9	3.5	1.7	2.5	2.6	1.8
CV	12.64	21.15	11.69	8.52	18.75	28.16	22.58	12.78	23.81	26.80	18.95

* I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group, III: union fracture group, IV: non-union fracture group.

** CV: Coeffency of variability.

Table 3. Percentage of BALP/TALP values after treatment with sham operation, cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture (%)

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	
I *	B/T**	35.3 ±0.06	29.9 ±0.63	31.2 ±1.89	38.1 ±0.93	42.9 ±1.92	40.4 ±1.09	38.6 ±2.07	32.8 ±1.05	28.8 ±1.19	28.8 ±0.84	30.5 ±0.77
	CV**	0.17	2.11	6.06	2.44	4.48	2.70	5.36	3.20	4.13	2.92	2.52
	B/T	34.7 ±2.41	7.3 ±0.14	11.3 ±0.77	12.7 ±0.82	20.4 ±0.96	19.8 ±0.7	17.0 ±0.45	16.8 ±0.86	15.8 ±1.14	15.7 ±3.25	15.7 ±11.9
II	CV	6.95	1.92	6.81	6.46	4.71	3.54	2.65	5.12	7.22	20.70	7.58
	B/T	30.8 ±0.13	44.8 ±0.28	43.7 ±0.47	46.3 ±1.25	44.2 ±0.47	39.2 ±0.41	37.5 ±1.03	36.5 ±0.71	37.1 ±0.34	36.8 ±0.5	40.0 ±0.35
III	CV	0.42	0.63	1.08	2.69	1.06	1.05	2.74	1.94	0.94	1.35	0.88
	B/T	30.4 ±0.46	19.5 ±0.65	29.8 ±0.36	31.8 ±0.82	28.0 ±1.70	22.7 ±1.88	21.6 ±0.85	17.8 ±0.68	13.7 ±1.25	13.7 ±1.30	1.35 ±0.90
IV	CV	1.51	3.33	1.21	2.58	6.07	8.28	3.94	3.82	9.12	9.49	6.67

* I: sham operation group, II: cystic duct obstruction group, III: union fracture group, IV: non-union fracture group.

** Ba/Ta(%): BALP/TALP × 100.

*** CV: Coeffency of variability.

에 21.8±7.6IU/L로 27.5%의 증가율을 나타냈으나 4주 이후에는 15.8IU/L에서 24.4IU/L의 범위 안에서 일정한 수준을 유지하고 있었다. I 군에서는 시술전 18.2±0.2IU/L이

있으며 시술후 2주에서 20주까지 17.2-24.0IU/L의 범위를 나타내고 있었다. 비유합골절군인 IV 군에서는 시술전 17.4±2.2IU/L에서 시술후 2주에 22.7±4.8IU/L로 증가하여 30.5

Fig 1. Serial radiograms of union fracture model in dogs.

Fig 2. Serial radiograms of non-union fracture model in dogs.

%의 증가율을 나타내고 그후 8주까지 20.8~30.8IU/L의 범위를 나타냈으나 10주 이후에는 9.5IU/L에서 17.4IU/L의 범위를 나타내어 오히려 정상치 수준보다 감소하는 경향을 보였다.

이러한 변화들은 유합골절군인 Ⅲ군은 골아세포의 변

화와 관련이 적은 I, II, IV군과 유의성 있는($p < 0.01$) 차이를 나타내고 있었으나 I, II, 군의 군간에는 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다.

TALP치에 대한 BALP치 백분율(B/T)의 변화 : 각 군에서 시술 후에 나타난 TALP치에 대한 BALP치의 비

Table 4. Changes of cholesterol, bilirubin, BUN, AST and ALT after treatment of sham operation, cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	
I	T-cho	148.6 ±3.0	148.6 ±2.7	150.0 ±4.2	149.2 ±4.4	150.6 ±2.9	150.6 ±3.8	150.6 ±4	150.6 ±3.8	150.4 ±4.2	148.6 ±3.2	150.2 ±3.3
	T-bil	1.73 ±0.01	1.73 ±0.02	1.72 ±0.01	1.73 ±0.01	1.74 ±0.02	1.73 ±0.02	1.74 ±0.02	1.74 ±0.01	1.74 ±0.01	1.74 ±0.02	1.74 ±0.02
	BUN	15.8 ±0.8	15.6 ±0.9	15.6 ±0.5	15.8 ±0.4	15.6 ±0.9	16.2 ±0.8	16.8 ±0.4	16.2 ±0.8	15.8 ±0.8	16.4 ±0.5	15.6 ±0.5
	AST	15.0 ±0.7	15.8 ±0.8	16.0 ±0.7	15.4 ±0.5	15.4 ±0.9	15.4 ±0.9	15.4 ±0.5	15.8 ±0.8	15.4 ±0.5	15.4 ±0.5	16.0 ±0.7
	ALT	20.0 ±0.7	20.8 ±0.8	21.2 ±1.0	20.4 ±0.5	20.6 ±1.1	20.4 ±0.9	20.4 ±0.5	20.8 ±0.8	20.6 ±0.5	20.4 ±0.4	21.2 ±0.4
II	T-cho	152.7 ±3.0	270.0 ±11.0	276.0 ±11.0	283.0 ±13.0	289.0 ±15.0	280.0 ±17.0	183.0 ±10.0	178 ±10.0	171.0 ±4.2	172.0 ±3.4	167.0 ±4.2
	T-bil	1.78 ±0.01	3.96 ±0.02	3.95 ±0.18	3.99 ±0.08	3.96 ±0.11	3.87 ±0.18	2.77 ±0.15	2.15 ±0.2	2.04 ±0.08	2.02 ±0.05	1.99 ±0.03
	BUN	16.7 ±1.0	14.4 ±1.0	13.6 ±1.0	12.9 ±0.9	12.4 ±1.1	12.7 ±1.1	12.7 ±1.1	12.6 ±1.1	12.7 ±1.1	12.4 ±0.8	12.9 ±0.7
	AST	16.6 ±0.8	279.0 ±20.0	304.0 ±27.0	307.0 ±15.0	309.0 ±20.0	288.0 ±8.3	143.0 ±30.0	84.0 ±12.0	66.0 ±8.3	51.0 ±8.3	42.0 ±5.9
	ALT	22.3 ±1.1	380.1 ±21.0	405.0 ±28.0	408.0 ±14.0	406.0 ±17.0	390.0 ±11.0	196.0 ±13.0	93.0 ±5.3	75.0 ±7.0	59.0 ±5.7	50.0 ±3.4
III	T-cho	154.0 ±6.7	155.0 ±5.7	156.0 ±6.1	158.0 ±5.1	158.0 ±5.3	156.0 ±2.5	156.0 ±5.6	154.0 ±1.2	155.0 ±4.2	156.0 ±4.0	156.0 ±4.0
	T-bil	1.73 ±0.01	1.73 ±0.02	1.74 ±0.01	1.73 ±0.01	1.73 ±0.01	1.73 ±0.01	1.73 ±0.01	1.72 ±0.01	1.73 ±0.00	1.72 ±0.01	1.73 ±0.01
	BUN	14.3 ±0.5	14.5 ±0.6	14.5 ±0.6	14.25 ±0.5	14.5 ±0.6	13.8 ±0.5	14.5 ±1.0	14.0 ±0.0	13.8 ±1.0	13.8 ±0.5	14.0 ±0.8
	AST	15.5 ±3.0	21.5 ±2.6	21.0 ±2.9	17.0 ±2.7	16.5 ±2.4	16.8 ±2.9	17.0 ±2.1	17.0 ±1.4	17.0 ±2.0	16.3 ±3.2	16.3 ±2.6
	ALT	21.8 ±1.0	30.5 ±3.7	27.3 ±1.7	23.1 ±1.4	23.4 ±1.2	23.5 ±1.7	23.3 ±1.7	23.5 ±1.0	24.3 ±1.0	23.8 ±2.2	23.8 ±1.0
IV	T-cho	158.0 ±2.5	159.0 ±1.8	159.0 ±2.0	158.0 ±2.9	159.0 ±2.7	159.0 ±2.9	160.0 ±2.7	159.0 ±1.6	160.0 ±2.9	159.0 ±2.87	159.0 ±2.4
	T-bil	1.74 ±0.01	1.75 ±0.01	1.74 ±0.02	1.74 ±0.01	1.75 ±0.01	1.74 ±0.02	1.74 ±0.01	1.74 ±0.01	1.74 ±0.06	1.75 ±0.01	1.74 ±0.01
	BUN	14.8 ±0.4	15.2 ±0.8	15.0 ±0.0	15.2 ±0.8	14.6 ±0.5	14.6 ±0.9	15.0 ±0.7	14.6 ±0.5	15.2 ±0.8	15.0 ±0.7	15.4 ±0.5
	AST	15.8 ±0.8	25.0 ±1.2	24.6 ±0.5	22.4 ±0.5	17.0 ±3.4	16.6 ±3.3	16.4 ±3.8	16.8 ±3.0	16.6 ±3.6	16.4 ±3.2	14.8 ±1.5
	ALT	23.2 ±0.8	29.8 ±1.5	29.4 ±0.9	26.2 ±1.3	23.6 ±1.3	23.4 ±1.3	23.4 ±1.5	23.6 ±0.9	23.4 ±1.8	23.4 ±1.1	23.2 ±1.6

* I : sham operation group, II : cystic duct obstruction group, III : union fracture group, IV : non-union fracture group.

**Unit : T-cho(mg/dl), Bil(mg/dl), BUN(mg/dl), AST(IU/L), ALT(IU/L).

율의 변화와 B/T에 대한 CV는 Table 3과 같다.

각 군에서 시술 후에 나타난 B/T의 변화는 시술후 방사선 사진과 조직학적인 소견에서 신생골의 형성이 인

정된 III군에서는 시술 전에 비하여 20%에서 40%의 증가율을 나타냈으며 신생골의 형성이 없었던 I군, II군, IV군에서의 비유합예에서는 시술 전과 같거나 낮은 변화

Table 5. Changes of calcium and phosphorus after treatment of sham operation, cystic duct obstruction, union fracture and non-union fracture

Group/Week	Before	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	
I	Calcium	9.76±0.2	9.80±0.1	9.88±0.1	9.78±0.1	9.80±0.2	9.76±0.5	9.78±0.1	9.82±0.1	9.80±0.1	9.84±0.1	9.80±0.1
	Pi	4.36±0.1	4.34±0.1	4.36±0.1	4.34±0.2	4.28±0.1	4.32±0.1	4.34±0.1	4.34±0.1	4.30±0.1	4.34±0.2	4.32±0.1
II	Calcium	10.1±0.2	9.90±0.2	9.90±0.2	9.88±0.2	9.90±0.2	9.88±0.2	9.90±0.2	9.90±0.2	9.87±0.1	9.87±0.2	9.85±0.2
	Pi	4.87±0.1	4.84±0.1	4.84±0.1	4.84±0.1	4.82±0.1	4.75±0.1	4.82±0.1	4.85±0.1	4.84±0.1	4.87±0.1	4.88±0.1
III	Calcium	9.94±0.2	8.58±0.1	8.62±0.1	8.68±0.2	8.72±0.1	8.78±0.1	9.20±0.2	9.22±0.2	9.28±0.2	9.26±0.2	9.36±0.1
	Pi	4.92±0.1	8.52±0.1	8.58±0.2	8.68±0.2	8.72±0.1	8.78±0.1	6.20±0.1	6.22±0.1	6.28±0.2	6.26±0.2	6.36±0.1
IV	Calcium	9.92±0.1	9.00±0.1	8.95±0.1	8.87±0.2	8.90±0.2	9.05±0.1	9.00±0.1	9.07±0.2	9.15±0.1	9.15±0.1	9.15±0.1
	Pi	4.67±0.1	5.75±0.2	5.92±0.1	5.82±0.1	5.07±0.1	5.07±0.2	4.95±0.1	4.90±0.1	4.85±0.1	4.85±0.1	4.92±0.1

* I : sham operation group, II : cystic duct obstruction group, III : union fracture group, IV : non-union fracture group.

**Unit : Ca(mg/dl), P(mg/dl).

을 나타내고 있었다.

대조군(Sham operation group)으로 시술한 I 군의 B/T는 시술 전 35.3±0.1%가 시술 후 4주까지 감소되었다가 8주에 42.9±1.92%로 21.5%까지 증가하였으나 14주부터는 다시 감소하고 있었다.

담낭관을 폐쇄시킨 II 군에서는 시술 전의 34.7±2.41%가 시술 후 2주에 44.8±0.28%로 79.1%까지 감소하였으나 8주 이후에는 41.2%에서 54.6%의 범위에서 일정한 감소율을 나타내고 있었다.

비유합골절 model인 IV 군에서는 시술 전 30.4±0.46%가 시술 후 2주에 35.9%까지 감소율을 보이다가 4주에 시술 전과 같은 수준으로 회복된 후 점차 감소하여 16주 이후에는 13.7±1.25%로 54.9%의 일정한 감소율을 나타내고 있었다.

골절 model에서 신생골이 형성된 III 군에서는 시술 전 30.8±0.13%에서 시술 후 2주에 44.8±0.28%로 45.5%까지 증가되어 8주까지 비슷한 수준으로 증가된 수준을 유지하다가 10주부터는 36.5±0.41%에서 40.0±0.41%의 범위에서 18.9%~29.9%가 증가된 일정한 수준을 유지하고 있었다.

각 평균치에 대한 산포도의 신뢰성 : I 군에서 IV 군까지 시술 후의 경과 과정에서 나타난 TALP, BALP 및 B/T의 평균치에 대한 산포도의 신뢰도를 검토한 CV는 Table 1, 2, 3과 같다. 전 군에서 측정된 평균치에 대한 CV는 B/T가 3.77%로 평균치의 산포도에 대한 가장 높은

신뢰도를 나타냈으며 TALP가 5.96%나타났으나 BALP는 20.79%로 낮은 신뢰도를 나타내고 있었다.

각 군에서의 CV는 골형성과 전혀 관련이 없는 I 군과 II 군에서 B/T가 3.20±1.60%, 5.48±1.93%로 가장 신뢰도가 높았으며 TALP에서는 6% 수준에서 유사하게 나타났다. 그러나 BALP는 I 군과 II 군에서 17.48±9.35%, 42.68±12.71%로 낮은 신뢰도를 나타내고 있었으며 II 군에서의 BALP가 전 실험을 통하여 가장 낮은 신뢰도를 나타내고 있었다.

신생골이 형성된 III 군에서도 B/T의 CV가 1.29±0.18%로 평균치에 대한 가장 높은 신뢰도를 나타내고 있었으며 TALP와 BALP에서도 4.62%±0.28%, 5.21±1.86%로 다소 높은 신뢰도를 나타내고 있었다.

골절에서 신생골이 형성되지 않은 IV 군에서는 B/T와 TALP에서 5.09±2.85%, 4.62±2.34%로 높은 신뢰도를 나타냈으나 BALP는 17.8±6.86%로 낮은 신뢰도를 나타내고 있었다.

Cholesterol, BUN, bililubin, ALT, AST, Ca, Pi 치의 변화 : 각 군에 대한 혈청의 생화학적 검사에서 cholesterol, BUN, bililubin, ALT, AST, Ca, Pi 치의 변화는 Table 4와 같다. II 군에서 cholesterol, bililubin, ALT, AST 치는 담낭관 폐쇄 후 증가되었으며 BUN 치는 감소되었다. 이러한 변화는 II 군과 다른군 간에 유의성 있는 차이(p=0.05)를 나타냈으나 I, III, IV 군 사이에서는 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다.

혈청내 Ca과 Pi의 변화는 Table 5와 같다. I 군과 II군에서는 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었으나 III군과 IV군에서는 Ca의 감소와 Pi의 증가($p=0.05$)가 인정되었다.

방사선 검사 : III군과 IV군에 있어서 시술후 2주 간격으로 촬영한 방사선사진에서 III군은 2주에서 4주까지 골절 단단에서 신생골의 음영이 나타나기 시작하여 14~16주 사이에 유합을 이루었다(Fig 1). 비유합골절 model인 IV군에서는 2~4주에 골절 단단에서 신생골의 음영이 나타나기 시작하여 8주까지 지속되었으나 10주부터는 더이상의 가골은 형성되지 않았으며 이러한 상태는 20주까지 지속되고 있었다(Fig 2).

고 찰

골형성 과정의 지표로서 BALP치를 이용하려는 연구는 1984년 Rosalki와 Foo³¹에 의해서 체내 여러 기관과 조직세포에서 분비되는 ALP중 골아세포에서 분비되는 ALP치만을 분리측정할 수 있는 방법이 보고되면서 시작되었다. 골질환이나 골절치유과정 등에서 다른 합병증이 있는 경우에는 이와 관련된 ALP의 동종효소들의 분비에 의해 예민도 및 특이성의 저하로 ALP치를 적용하기에 어려운 점이 많다^{6,14,38}. 그러므로 이러한 상황에서 BALP치만을 측정할 수 있다는 것은 골형성 과정을 파악하는데 중요한 의미를 갖는 것으로 생각된다.

한편 최근까지 BALP치 측정을 위한 새로운 방법들이 보고^{9,32,33}되고 있으며 1993년에는 Leung *et al*³에 의해서 정상적인 사람에서의 BALP치가 보고되었다. 그러나 지금까지 수의학에서는 BALP치에 대한 자료는 1997년 조 등⁴⁰이 정상적인 개 130두를 이용하여 연령별 BALP의 기준치를 설정하고자 하였다. 이 실험에서는 골형성 과정에서의 BALP치의 임상적인 응용성을 검토하기 위하여 유합골절과 비유합골절에서 나타나는 BALP치를 관찰하였다.

지금까지 골형성지표로 알려진 TALP는 사람^{3,12,18,35,42,44,45}에서 정상범위가 20~300IU/L(Young: 60~300, Adult: 20~90)로, 개^{24,43}에서는 10~225IU/L(Young: 50~225, Adult: 10~45)로 알려져 있다. 또한 정상적인 사람에서의 BALP치^{1,3,12,14,34,41}의 범위도 10~123.1IU/L(Young: 66.3~123.1, Adult: 9.8~13.5)로 정상치에 대한 범위가 광범위하게 알려져 있어 실제 임상에 적용하는데 여러가지 문제점을 안고 있다.

이 실험의 결과에서도 TALP치와 BALP치는 정상적인 개에서 CV가 평균 48.2%와 45.2%로 높게 나타나고 있어 이것은 평균치에 대한 산포도의 신뢰도가 낮음을 의미하게 되므로 실제 측정된 TALP치나 BALP치가 정상범위에 있는지를 판단하는데 상당한 혼란을 가져오기 쉽다. 이러한 원인은 TALP가 다양한 동위효소^{6,14,28,38}로 이루어져 있고 특히 성장기에 효소의 분비량이 개체에 따라 차이가 많은 것으로 생각된다.

이러한 문제점을 최소화 하기 위하여 이 실험에서는 TALP중에 BALP가 차지하고 있는 비율(B/T)을 조사하였다. B/T가 아직 보고된 바는 없으나 Gamero¹²가 정상적인 21세에서 51세 연령의 성인에서 조사한 TALP와 BALP의 결과를 근거로 하여 산출한 B/T는 15.6%이었다. 조 등⁴⁰이 조사한 실험에 따르면 정상적인 성견(1~7세)에서는 $30.69 \pm 4.3\%$ 를 차지하고 있어 B/T는 중간에도 상당한 차이가 있는 것으로 알려지고 있다. 또한 조 등에 따르면 TALP나 BALP가 성장기에 많이 생성되고 있음에도 B/T는 성장기에 $27.48 \pm 5.84\%$ 에서 성장기 이후에 $30.69 \pm 4.3\%$ 로 큰 변화를 나타내지 않았다. 이것은 BALP의 생성이 많은 개체에서는 다른 종류의 ALP도 비례적으로 많이 분비되고 있다는 것을 의미하게 된다. 따라서 각 개체에서 분비되는 TALP중에서 BALP가 일정한 비율일 경우에는 개체의 차이가 많은 TALP나 BALP로서 골아세포의 활성정도를 측정하는 것 보다는 각 개체에서의 분비율의 차이가 적은 B/T를 조사하는 것이 골아세포의 활성지표로서 더 높은 신뢰성이 있을 것으로 생각된다.

골아세포의 활성과 TALP, BALP의 관계 및 골형성 정도에 따른 TALP와 BALP의 임상적인 응용성을 검토하기 위한 이 실험은 대조군으로 근육손상만을 일으킨 I군과 담낭관을 폐쇄시킨 II군 사이의 결과에서 BALP치는 유의성 있는 변화를 인정할 수 없었으나 TALP치는 유의성 있는 변화를 나타내고 있었다. 또한 담낭관을 폐쇄시킨 II군에서 TALP치가 2주에서 6주 사이에 정상치의 483%에서 252%까지 높은 증가율을 나타내고 있음에도 골아세포의 활성지표로 알려진 BALP치에는 큰 변화를 나타내지 않고 있어 담낭관 폐쇄시에는 골아세포의 활성과 관계없이 TALP치가 증가되고 있음을 확인할 수 있었다.

이러한 결과는 담낭관을 폐쇄한 II군에서 담낭 폐색시에 나타나는 황달, 침울, 식욕부진, 구토, 뇨색의 변화

등 일반적인 임상증상이나 혈액화학검사에서 나타난 cholesterol, bilirubin, ALT, AST의 증가와 BUN이 감소한 결과는 많은 연구자들이 보고한 담낭관 폐쇄시의 결과^{29, 46-48}와 유사한 경향을 나타내고 있었다. 따라서 담낭폐쇄와 같은 합병증이 있을 경우에는 골형성 지표로서의 TALP치는 의미가 없음을 시사해주고 있으며 이러한 사실은 여러 연구자들에 의해서 골형성 지표로서의 TALP치를 BGP나 PICP와 비교한 실험에서 나타난 결과와 일치하고 있다.^{12,46-53} 또한 대조군인 I군에서 B/T가 시술 전후에 큰 변화가 없는데 반하여 II군에서는 시술 전에 비하여 시술 후에 매우 낮은치를 나타내므로서 BALP의 다른 효소가 증가되었음을 입증하고 있다. 이와같은 사실은 Garner¹²가 담관암(cholangiocarcinoma)환자에서 조사한 TALP와 BALP치의 자료에서 B/T가 50.6%로 감소하고 있었음을 알 수 있었으며 이 실험에서와 유사한 결과를 보여주고 있다. 따라서 TALP 중에서 BALP 이외의 ALP가 상승될 경우 즉, 골아세포의 활성화와 관계가 적은 다른 기관에서 분비되는 ALP의 증가는 B/T를 정상수준 이하로 낮아지게 된다.

B/T와 골아세포의 활성화와의 관계를 검토하기 위하여 유합골절(III군)과 비유합골절(IV군)을 한 실험에서 방사선 사진과 조직학적인 소견이 유합골절을 이룬 III군의 신생골 형성은 골절발생후 4주에서 12주까지 비교적 활발하게 이루어지고 있었으며 이 기간의 BALP치도 133.48%가 증가된 높은치를 나타내고 있었다. 비유합골절을 만든 IV군에서는 방사선 사진에서 골절의 골단에 약간의 골형성이 나타났던 8주까지는 BALP가 75%로 약간 증가되고 있었으며 이것은 골절 초기에 형성된 골아세포의 활성화에 의한 것으로 생각된다. 그러나 방사선 사진상 골형성이 나타나지 않았던 8주 이후에는 시술 전과 유사한 낮은치를 나타내고 있어 BALP치가 골형성과 밀접한 관계가 있음을 인정할 수 있었다. 이러한 결과는 다른 연구자들의 결과와 일치하고 있다.⁵⁴⁻⁵⁷ 이와같이 BALP의 측정은 비교적 간단한 방법으로 높은 신뢰도를 가질수 있어 임상적으로 골형성 과정을 파악하는 지표가 될 것으로 생각된다.

한편 골형성이 인정된 각 군에서 골절 발생후 2주 부터 방사선사진으로 확인할 수 있었으나 BALP치는 이미 시술후 2주에 가장 높은치를 나타내고 있었다. 그러나 이 실험의 측정결과만으로는 BALP치의 측정이 방사선 상으로 용염이 나타나는 시기보다 어느 정도 먼저 골형

성이 감지될 수 있는지를 알 수 없었다. 따라서 이 부분에 대해서는 골아세포의 활성 시기와 정도에 대한 연구가 별도로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이 실험의 결과에서 BALP가 골아세포에서 생성된 효소만을 측정하고 또한 가장 높은 변화율을 나타냈다고 해도 정상치의 평균치에 대한 범위가 광범위하여 골형성 지표로 응용하기에는 다소의 문제점이 있는 것으로 생각된다.

이러한 문제점을 개선하기 위하여 조사한 B/T의 변화율은 골형성이 인정된 III군에서 30%~50% 정도의 현저한 증가를 나타내고 있을 뿐만 아니라 골형성과 관계가 적은 대조군이나 IV군의 골유합이 일어나지 않았던 예에서는 시술 전과 유사하거나 50%~80% 정도로 낮게 나타나 B/T의 변화율이 골형성과 밀접한 관계가 있음을 인정할 수 있었다. 또한 이때의 CV도 TALP, BALP 보다 낮아 평균치에 대한 산포도의 신뢰성이 가장 높게 나타나고 있으므로 B/T가 골아세포 활성화의 지표로서 즉, 골형성 지표로서의 유용성을 인정할 수 있었다.

그러나 아직까지도 골아세포의 형성과정에서 분비되는 BALP의 측정수준이 80% 정도에 이르고 있어^{3,32,33,38} 이를 전량 측정할 수 있는 방법이 더욱 연구되어야 할 부분이다. 더욱이 TALP치중에 포함된 BALP치외에 간이나 태반에서 분비되는 ALP치의 분리측정법은 어느 정도 알려져 있으나 담관이나 장관 등에서 분비되는 ALP치의 분리측정법은 보고가 드물어 ALP치에 대한 동위효소의 분류에 따른 분리측정이 이루어져야 할 것이다.

그러나 앞으로 측정기술의 발달로 BALP의 전량을 측정할 수 있는 방법이 개발된다고 하더라도 개체간의 차이는 줄일 수 없을 것으로 생각된다. 따라서 B/T의 유용성은 변하지 않을 것으로 생각되며 개 외의 사람이나 다른 동물에서의 B/T가 측정되고 향후 많은 중례에서 임상적인 응용성이 검토되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

개에서 BALP치의 임상적인 응용성을 검토하기 위하여 체중 10kg(10.1±2.0)내의, 연령 16개월(16.3±3.5) 전후의 총21두(암컷 10두, 수컷 11두)를 4개군으로 분류하였다. I군 5두는 근육만을 손상시킨 대조군으로, II군 7두는 담낭관 폐쇄군으로, III군 5두는 유합골절군으로, IV군 4두는 비유합골절군으로 각각 배치하였다.

각 군에서 시술후 20주 동안 BALP치를 측정하여 골형성 상태와 비교하기 위해 방사선학적 검사와 조직학적 관찰을 하였다. 또한 이 BALP치를 TALP치와 각각 비교한 후 TALP치에 대한 BALP치의 백분율(B/T)의 유용성을 검토하였다.

Ⅱ군에서는 골형성과 무관하게 TALP치가 증가하였으며, Ⅲ군에서는 BALP치 및 B/T가 높은 증가율을 나타냈다. 이들중 B/T와 BALP치가 가장 현저한 변화를 나타냈으며 B/T의 평균에 대한 신뢰도가 BALP치에 대한 평균의 신뢰도 보다 높았다.

각 군에서 B/T의 변화율을 비교 검토한 바 B/T는 특별히 골형성이 현저하게 증가된 유합골절군인 Ⅲ군에서만 현저한 증가를 나타냈으며 또한 평균에 대한 신뢰도가 높게 나타나 B/T가 BALP치 보다 더 골형성 지표로서 그 유용성이 인정된다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Bouman AA, Scheffer PG, Ooms ME, et al. Two bone alkaline phosphatase assays compared with osteocalcin as a marker of bone formation in healthy elderly women. *Clin Chem*, 41:196-199, 1995.
- Delmas PD. Biochemical makers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinology and Metabolic Clinics of North America*, 1:1-18, 1990.
- Leung KS, Fung KP, Sher AHL, et al. Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *J Bone Joint Surg[br.]*, 75:288-292, 1993.
- Kirchner PT, Simon MA. Current concepts review. Radioisotopic evaluation of skeletal disease. *J Bone Joint Surg*, 63-A:673-681, 1981.
- 今野俊辛, 高橋榮明, 赤澤秀喜 등 骨の組織學的形態計測のための非脱灰極薄研磨標本の作成法. 骨代謝, 15:185-187, 1982.
- Fishman WH. Perspectives on Alkaline phosphatase isoenzymes. *Am J Med*, 1974;617-649.
- Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzyme. *Clin Chem*, 10:2007-2016, 1982.
- Charhon SA, Delmas PD, Malaval L, et al. Serum bone gla-protein in renal osteodystrophy: Comparison with bone histomorphometry. *J Clin Endocr and Metabol*, 63:892-897, 1986.
- Hyldstrup L, Clemmensen I, Jensen BA, 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*, 48:611-619, 1988.
- 乗松尋道. 骨の定量的分析法. In: 骨形態計測 Vol. 6. 西村書店. 新潟. 2-33, 1986.
- Wilson MA. The effect of age on the quality of bone scans using technetium-99M pyrophosphate. *Radiology*, 139:703-705, 1981.
- Garnero P, Delmas PD. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol and Metabol*, 4:1046-1053, 1993.
- Brown JP, Delmas PD, Malaval L, et al. Serum bone Gla-protein: A specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *The Lancet*, 1091-1093, 1984.
- Dura RJ, O'Brien JF, Katzmann JA, 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*, 5: 951-957, 1988.
- Papapoulos SE, Frolich M, Mudde AH, et al. Serum osteocalcin in Paget's disease of bone: Basal concentrations and response to bisphosphonate treatment. *J Clin Endocrinology and Metabolism*, 65:89-94, 1987.
- Eloma I, Virkkunen P, Risteli L, et al. Serum concentration of the cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) is a useful prognostic indicator in multiple myeloma. *Br J Cancer*, 66:337-341, 1992.
- Melkko J, Niemi S, Risteli L, et al. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem*, 36/7:1328-1332, 1990.
- Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of hu-

- man trabecular bone : Three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocrine (reviews)*, 7:379-408, 1986.
19. Genge BR, Sauer GR, Wu LNY, *et al.* Correlation between loss of Alkaline phosphatase activity and accumulation of calcium during Matrix vesicle-mediated mineralization. *J Bio Chem*, 34:18513-18519, 1988.
 20. Hori M, Takahashi H, Konno T, *et al.* A classification of *in vivo* bone labels after double labeling in canine bones. *Bone*, 6:147-154, 1985.
 21. Charies P, Poser JW, Mosekilde L, *et al.* Estimation of bone turnover evaluated by ⁴⁷Ca-kinetics. *J Clin Invest*, 76:2254-2258, 1985.
 22. Gonchroff DG, Branum EL, Cedel SL, *et al.* Clinical evaluation of high-performance affinity chromatography for the separation of bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes. *Clinica Chimica Acta*, 199:43-50, 1991.
 23. Hill CS, Wolfert RL. The preparation of monoclonal antibodies which react preferentially with human bone alkaline phosphatase and not liver alkaline phosphatase. *Clin Chim Acta*, 186:315-320, 1989.
 24. Cornelius CE. Liver function - Alkaline phosphatase. In : Kaneko JJ ed. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th ed. Academic press, Inc : San Diego, 384-385, 1989.
 25. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW, *et al.* Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biological Chem*, 256:12760-12766, 1981.
 26. Hendrix PG, Hoylaerts MF, Nouwen EJ, *et al.* Enzyme immunoassay of human placental and germ-cell alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem*, 36:1793-1799, 1990.
 27. Weiss MJ, Henthorn PS, Lafferty MA, *et al.* Isolation and characterization of a cDNA encoding a human liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase. *Proc Natl Acad Sci*, 83:7182-7186, 1986.
 28. Burlinaa A, Bugiardinb R. Studies on alkaline phosphatase isoenzymes in hepatic diseases. Relation to γ -glutamyltransferase. *Clinica Chimica Acta*, 85:49-54, 1978.
 29. Center SA, Baldwin BH, King JM, Tennant BC. Hematologic and biochemical abnormalities associated with induced extrahepatic bile duct obstruction in the cat. *Am J Vet Res*, 44:1822-1829, 1983.
 30. Moss DW, Whitaker KB. Modification of alkaline phosphatases by treatment with glycosidases. *Enzyme*, 34: 212-216.
 31. Rosalki SB, Foo AY. Two new methods for Separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem*, 7:1182-1186, 1984.
 32. 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*, 10:1960-1966, 1986.
 33. Shephard MD, Peake MJ. Quantitative method for determining serum alkaline phosphatase isoenzyme activity I. Guanidine hydrochloride : New reagent for selectively inhibiting major serum isoenzymes of alkaline phosphatase. *J Clin Pathol*, 39:1025-1030, 1986.
 34. Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, *et al.* Bone formation rate in older normal women : Concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical markers. *J of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 67:741-748, 1988.
 35. Van Straalen JP, Sanders E, Prummel MF, *et al.* Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation. *Clinical Chimica Acta*, 201:27-34, 1991.
 36. Weiland AJ, Phillips TW, Randolph MA. Bone graft : A radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autograft, allografts, and free vascularized bone grafts. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 74/3:368-379, 1984.
 37. Nagata Y, Burger MM. Wheat germ agglutinin. *J Biological Chem*, 249:3116-3122, 1974.
 38. Sorensen S. Wheat-Germ agglutinin method for measuring bone and liver isoenzymes of alkaline phosphatase assessed in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem*, 34/8:1636-1640, 1988.
 39. Monsigny M, Roche AC, Sene C, *et al.* Sugar-lectin interaction : How does wheat-germ agglutinin bind sialo-

- glycoconjugates? *Eur Biochem*, 104:147-153, 1980.
40. 조성진, 김남수, 최인혁. 정상적인 개에서의 serum bone alkaline phosphatase의 활성치. 한국임상수의학 회지, 14:65-69, 1997.
 41. Stepan JJ, Tesarova A, Havvanek T, *et al.* Age and sex dependency of the biochemical indices of bone remodelling. *Elsevier*, 85:213-283, 1985.
 42. 이삼열, 정윤섭. Phosphatase의 활성 측정. In: 임상병리 검사법. 5th ed. 연세대학교 출판부: 서울, 226-228, 1985.
 43. 이정길, 한홍을, 이창우. 개정 수의 임상병리. 2nd. ed 기전연구사: 서울, 417-418, 1985.
 44. Klein L, Lafferty FW, Pearson OH, *et al.* Correlation of urinary hydroxyproline, serum alkaline phosphatase and skeletal calcium turnover. *Metabolism*, 13:272-284, 1964.
 45. Whitaker NB, Whitby LG, Moss DW, *et al.* Activities of bone and liver alkaline phosphatase in serum in health and disease. *Clinica Chimica Acta*, 80:209-220, 1977.
 46. Center SA, Castleman W, Roth L, Baldwin BH, Tennant BC. Light microscopic and electron microscopic changes in the livers of cats with extrahepatic bile duct obstruction. *Am J Vet Res*, 47:1278-1282, 1986.
 47. DeNovo RC, Prasse KW. Comparison of serum biochemical and hepatic functional alterations in dogs treated with corticosteroids and hepatic duct ligation. *Am J Vet Res*, 44:1703-1709, 1983.
 48. Rutgers C, Stradley RP, Rogers WA. Plasma amino acid analysis in dogs with experimentally induced hepatocellular and obstructive jaundice. *Am J Vet Res*, 48:696-702, 1987.
 49. Epstein S. Serum and urinary marker of bone remodeling: Assessment of bone turnover. *Endocrine*, 9:437-449, 1988.
 50. Farley JR, Chesnut CH, Baylink DJ. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clin Chem*, 21:2002-2007, 1981.
 51. Parvaine M, Kuronen L, Kokko H, *et al.* Two-site enzyme immunoassay for measuring intact human osteocalcin in serum. *J Bone and Mineral Res*, 9:347-345, 1994.
 52. Pastoureau P, Merle B, Delmas D. Specific radioimmunoassay for ovine bone gla-protein(osteocalcin). *Acta Endocrinologica*, 119:152-160, 1988.
 53. Wilkinson MR, Wagstaffe C, Delbridge, *et al.* Serum osteocalcin concentrations in Paget's disease of bone. *Arch Intern Med*, 146:268-271, 1986.
 54. Burchardt H, Jones H, Glowcsewski F, *et al.* Freeze-dried allogeneic segmental cortical-bone grafts in dogs. *J Bone & Joint Surg*, 60:1082-1090, 1978.
 55. Ennecking WP, Burchardt H, Puhl JJ, *et al.* Physical and biological aspects of repair in dog cortical bone transplants. *J Bone and Joint Surg*, 57-A: 237-252, 1975.
 56. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*, 18:213-225, 1987.
 57. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am*, 18:207-212, 1987.