

신연 골형성술에 있어서의 분자생물학적 최신 지견

지유진*,** · 송현철* · 김여갑*** · 김진* · 김창현*

가톨릭대학교 치과학교실 구강악안면외과*, 경희대학교 치과대학 대학원**,
경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실***

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:456-463)

CURRENT REVIEW OF MOLECULAR BIOLOGY IN DISTRACTION OSTEOGENESIS

Yu-Jin Jee*,**, Hyun-Chul Song*, Yeo-Gab Kim***, Jin Kim*, Chang-Hyen Kim*

*Division of Oral & Maxillofacial Surgery, Department of Dentistry, The Catholic University**

*Graduated School, College of Dentistry, Kyung-Hee University***

*Dept. of Oral and Maxillofacial surgery, college of Dentistry, Kyung Hee University****

Distraction osteogenesis is a well-established clinical treatment for limb length discrepancy and skeletal deformities. Appropriate mechanical tension-stress is believed not to break the callus but rather to stimulate osteogenesis. In contrast to fracture healing, the mode of bone formation in distraction osteogenesis is primarily intramembranous ossification. Although the biomechanical, histological, and ultrastructural changes associated with distraction osteogenesis have been widely described, the basic biology of the process is still not well known. Moreover, the molecular mechanisms in distraction osteogenesis remain largely unclear. Recent studies have implicated the growth factor cascade is likely to play an important role in distraction. And current research suggested that mechanical tension-stress modulates cell shape and phenotype, and stimulates the expression of the mRNA for bone matrix proteins.

This article presents the hypotheses and current research that have furthered knowledge of the molecular biology that govern distraction osteogenesis. The gene regulation of growth factors and extracellular matrix proteins during distraction osteogenesis are discussed in this article. It is believed that understanding the biomolecular mechanisms that mediate distraction osteogenesis may guide the development of targeted strategies designed to improve distraction osteogenesis and accelerate bone healing.

I. 서론

의학분야에서 외과적 치료의 주 목표는 질환의 제거를 통한 생명의 연장이었고 이를 위해 다양한 수술방법이 소개되고 발전되어 왔다. 그러나 치료후에 종종 나타나는 영구적 장애, 결손, 합병증 등으로 인해 환자는 사회정신학적 문제를 야기하여 사회적으로 실패하기도 하였다. 그래서 이러한 장애 및 조직결손을 회복시키기 위한 재건 술식이 현재까지 계속 연구되고 있으며 특히 외상, 감염, 종양, 선천적 기형 등으로 인한 골결손의 재건을 위해 자가골 이식술, 혈행골 포함 근피관술, 유리혈관화 골이식술, 동종 및 이종골 이식술등이 이용되고 있다. 신연 골형성술(distraction osteogenesis)은 1905년 Codivilla¹⁾가 점진적 신연에 의해 사지 신장을 처음으로 보고한 이래 1950년대 Ilizarov^{2,3)}에 의해 이론적으로 정립되었고 이후 이 술식은 정형외과영역에

서 사지신장에 널리 이용되었다. 그후 안면골에서 골신연술이 응용되어 1973년 Snyder 등⁴⁾이 성견의 하악골을 이용한 골신장을 처음으로 보고하였으며 1992년 McCarthy 등⁵⁾이 하악골 왜소증 환자에서 하악골 신장을 시행하여 18-24mm의 골신장에 성공한 임상증례를 보고하였으며 이후 많은 실험적, 임상적 보고를 통해 악안면 영역에서 신연 골형성술이 기존의 골 재건술 및 성형술을 대체할 만한 유용성이 있다고 증명되었다.

신연 골형성술은 점진적으로 작용하는 견인력에 의해 점차적으로 분리되는 골편사이로 신생골이 발생하는 생물학적 과정으로 Ilizarov^{2,3)}는 "the law of tension-stress" 으로 이를 설명하였다. 즉 생체조직에 점진적 인장력을 가하면 조직대사가 활성화되어 세포증식 및 생합성이 촉진된다는 것이다. 이 이론에 따라 골을 절단 후 골절편을 서서히 잡아당겨 늘이면 골내에 성장판과 같은 구조물이 출현하고 늘어난 부위에서 골화반응이 일어나 골의 길이가 늘어난다는 것이다. 또한 골조직 뿐만 아니라 골을 피개하는 연조직의 신장을 도모할 수 있어 기존의 골재건시 나타나는 연조직재건에 대한 문제점을 해결할 수 있다고 그 장점을 보고하였다. 신생골부에서 나타나는 조직학적 소견에 대해서 McCarthy⁵⁾는 섬유조직부(zone of fibrous tissue), 확장골형성부(zone of extending bone formation), 골개조부(zone of bone remodeling), 성숙골부(zone of mature bone)등

송현철

442-723, 경기도 수원시 팔달구 지동 93

가톨릭대학교 성빈센트병원 치과/ 구강악안면외과

Hyun-Chul Song

Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Dentistry, St. Vincent's Hospital, The Catholic Univ.

93 Chi-Ding, Paldal-Gu, Suwon 442-723 Korea

Tel : 82-31-249-7670 Fax : 82-31-258-3352

의 4가지 요소가 있음을 보고하였다. 임상적으로 신연 골형성술은 골절단술(osteotomy), 잠복기(latency period), 신연기(distracton period), 경화기(consolidation period), 개조기(remodeling period)의 5단계로 구성된다. 먼저 신연시킴 부위에 골절단술 또는 피질골 절단술을 시행한 후 신연장치를 장착하고 신연을 시작하기 전에 골절단부의 재혈관화와 염증의 소실을 위해 일정기간의 잠복기를 갖는다. 보통은 5-7일 정도의 잠복기가 필요하다. 신연기 동안에는 신연속도 및 신연빈도가 신연 골형성에 매우 중요하다. 신연속도(distracton rate)는 하루에 신연되는 길이를 의미하는 것으로 1-2mm/day가 합당한 것으로 보고되어졌으며 신연빈도(distracton rhythm)는 하루에 시행하는 신연횟수를 의미하는 것으로 신연속도가 일정 할 때 신연횟수가 증가하면 신연 골형성이 향상되고 연조직 손상이 최소로 된다. 아울러 신생혈관 과 골형성이 촉진된다. Ilizarov는 하루에 1 mm의 속도를 4회 나누어 시행하는 것이 이상적이라 하였다. 경화기는 신연완료 후 신연장치가 제거되기 전까지의 기간으로 신연 후 형성된 신생골이 더욱 성숙되고 필요한 강도를 얻게 되는 시기이며 4주-8주의 기간이 필요하다. 마지막 골개조기는 장치제거 후 신생골의 완전한 골개조가 이루어지기까지의 기간으로 초기에 형성된 신생골이 층판골에 의해 강화되고 피질골과 골수강 및 하버스관의 개조로 이루어진다. 이와 같은 과정을 거쳐 신생골은 약 1년 이상의 기간이 지나면 기존의 골과 유사한 구조와 강도를 가지게 된다.

국내외 연구동향

신연 골형성술에 대한 연구는 주로 정형외과영역과 구강악안면외과영역에서 많이 시행되었고 초기연구는 신연 골형성술시 골생성 유무에 대한 동물실험 및 임상보고였다. 특히 골생성 유무를 신연속도와 횟수를 다양하게 함으로써 가능한 빨리 신연시키면서 최상의 골형성을 이룰 수 있는 데 초점을 맞추었고 이들 연구에 사용된 동물로는 주로 성견, 양, 염소, 백서, 가토 등이었다. 그래서 각 동물에 대한 최적의 신연 모델이 현재 많이 제시되고 있다.

초기 연구들을 통해 신연 골형성술시 골형성이 유도되는 것은 이제는 널리 받아들여지고 있으며 그 임상적용을 다양하게 넓히고 있다. 그러나 골형성에 대한 기전은 아직까지 밝혀지지 않았고 이에 대한 연구가 최근에 와서 널리 시행되고 있다. 또한 분자생물학의 발전으로 세포수준에서 기계적 자극이 골형성을 어떻게 유도하는지와 이에 관여하는 성장인자들(growth factors)의 역할이 무엇인지에 대한 연구가 가능하게 되었다. 이에 대한 최초의 보고는 Rowe 등⁶⁾, Mehrara 등⁷⁾, Warren 등⁸⁾의 일련의 연구로 이들은 백서를 이용한 하악골 신연시 발현되는 성장인자(growth factors)와 세포의 기질 단백질(extracellular matrix proteins)들을 조사하였고 또한 골형성 실패시 발현의 차이에 대해서도 연구하였다. 이후 신연 골형성술에 대한 분자생물학적 연구가 주 관심사가 되었고 최근에는 이러한 연구를 통해 골생성에 관여하는 성장인자를 주입함으로써 골경화기를 줄여

전체적 신연기간을 단축하고 골형성을 증진하는 치료학적 목적의 논문이 보고되고 있다.

국내에서는 1990년대 신연 골형성술이 소개되어진 이후 이에 관한 실험논문⁹⁻¹³⁾ 및 임상증례¹⁴⁻¹⁶⁾가 많이 보고되었으며 기존의 악교정수술 및 재건술을 대체할 수술로 각광받게 되었고 새로운 신연장치 개발로 구강내 치조골 증강술에도 이용되고 있다. 국내 연구는 주로 골형성에 초점을 맞추어 골신장부의 조직학적 변화 및 잠복기, 신연속도 및 신연양에 따른 골형성 유무와 신연술 후 하지조신경의 변화 등에 대해 연구되어졌다. 분자생물학적 연구는 아직까지 활성화되어 있지 않으나 2000년대 이후 임순모 등¹⁷⁾이 성견 하악골에서 골신장시 증식세포핵항원과 제 I형 교원질(Type I collagen) 발현에 대해 보고하였고 백선호 등¹⁸⁾은 osteocalcin과 osteonectin의 발현에 대해서, 송정호 등¹⁹⁾은 백서 하악골에서 TGF와 osteocalcin, 제 I형 교원질들의 발현에 대해서 보고하였다. 이밖에 류수장 등²⁰⁾은 혈소판공부혈장을 이용한 골촉진 인자의 투여로 20%이상의 골생성 증가를 보고하기도 하였다.

이러한 국내외적 연구동향을 살펴보면 현재까지의 연구는 분자수준에서의 골형성 기전규명과 더불어 이를 치료학적으로 이용하여 골형성을 증진시키고 골경화기를 단축하는 궁극적 목적을 가지고 시행되어왔다. 그러나 아직까지 이 연구결과를 임상에 응용하기에는 무리가 따르며 이에 대한 지속적인 연구가 수반되어야 할 것이다. 그래서 본 논문은 최근까지 알려진 분자생물학적 측면에서의 신연골 형성술에 대한 문헌고찰을 통해 골형성에 관여하는 성장인자, 세포외 기질단백질 및 그들의 상호 발현기전, 골생성 촉진인자의 임상적용 등에 대한 최신 지견을 정리하여 향후 진행되어야 할 연구의 방향설정 및 기초자료로 활용하고자 한다.

II. 본 론

1. 신연골 형성기전

골형성 기전은 크게 두가지로 분류되어왔다. 태아성장시 두개골에서 나타나는 막성 골화(intramembranous ossification)와 장골에서 나타나는 연골내 골화(endochondral ossification)로 신연골 형성기전을 밝히기 위하여 과거 많은 동물 실험이 시행되었고 골절부의 골형성기전과 종종 비교연구 되었다. Ilizarov²⁻³⁾는 신연 골형성시 막성 골화에 의한 골형성을 보고하였고 신연 속도와 횟수에 따라 나타나는 연골내 골화과정은 직접 골화되는 과정보다 느린 과정으로 간주하였다. 이후 대다수의 연구에서 신생골의 막내골화 기전이 증명되었으며 현재 널리 받아들여지고 있다. 이와는 달리 Kojimoto 등²¹⁾은 골신연시 연골내 골화가 일어난다고 보고하면서 이는 실험종과 환경에 따른 차이의 결과라는 가설을 제시하였다. 또한 Yasui 등²²⁾은 막내 골화와 연골내 골화와 더불어 연골세포에서 모세혈관 침투없이 직접적으로 골형성이 일어나는 제 3의 골화(transchondroid bone formation) 기전을 관찰하였고 이를 막내 골화와 연골내

골화의 중간단계로 제시하였다. Ueda 등²³⁾은 막성골화와 연골내 골화는 신연속도와 혈액 공급에 따라 다르게 나타남을 보고하였다.

현재의 지견은 어느정도 연골내 골화와 막성 골화가 혼합되며 주로 막성 골화가 지배적 골화기전이라고 받아들여지고 있다. Sato 등²⁴⁾은 신연시기에 따라 골화기전에 차이가 나타난다고 주장하면서 시기별 조직학적 변화와 골화기전에 대해서 보고하였다. 이를 종합해 보면 골절단후 잠복기시에 일어나는 조직학적 변화는 골절시 치유과정의 초기단계와 유사하여 골막세포의 증식과 초자연골로 구성된 외부(연성) 가골이 형성되고 골절편부에는 골막성 가골(강성)이 형성된다. 잠복기 후 신연이 시작되면 외측의 연성가골은 신장되고 변형되어 결국에 근원심편으로 분리된다. 골절단 간격은 섬유성 조직과 신생혈관으로 채워지고 신장된 섬유성 조직과 골막성 가골사이의 경계에서 고분화된 연골이 나타난다. 연골은 세층의 연골세포로 구성된다. 작은 다각형의 세포층(prechondrocytes), 변색성 기질(metachromatic matrix)내에 있는 원형의 연골세포층, 밀집된 기질내에 있는 비대성 연골세포층으로 비대성 연골세포층에 모세혈관이 침투하여 신생 골이 연골성 기질표면에 침착한다. 이와같은 전형적 연골성 골화가 신연기 초기의 신장부에서 보인다. 신연부 중앙에서는 몇가지 세포형태가 보인다. 연골세포, 섬유아세포, 난원형의 세포(oval-shaped cell, 연골세포와 섬유아세포의 중간단계 세포)등으로 특히 난원형 세포는 신장력의 방향과 평행하게 배열되며 신연 골형성에서만 나타나고 골절치유시에는 보이지 않는다. 신연이 진행되면 연골성 가골은 연골성 골화에 의해 골성 가골로 대체되고 중심부 섬유성 조직의 양쪽에서 골형성을 관찰할 수 있으며 이 신생골은 막성골화에 의해 직접적으로 형성된다. 신연 후반기에는 막성 골화가 지배적으로 일어나 신장된 교원섬유가 어떠한 연골성 조직의 개재없이 신생 침상골로 변한다. 이러한 현상은 골절치유시 재형성 과정과는 분명히 다른 조직학적 소견을 보인다. 이러한 막성 골화로의 변화는 기계적 인장 자극(mechanical tension-stress)이 환경을 변화시키고 세포의 형태와 표현형(phenotype)을 조절하여 연골생산을 중단시켜 막성 골화가 일어나게 하며 이는 여러 실험실 분자생물학 연구에서 세포수준에 가해진 인장 자극(tension-stress)이 골형성 유도세포의 분화를 촉진한다고 증명되었다²⁵⁻²⁶⁾.

2. 분자생물학

Ilizarov에 의해 신연 골형성술의 이론적 근거가 성립된 이후 인장 자극(tension-stress)과 같은 기계적 자극이 세포수준에서의 골형성을 유도하는 기전에 대해 광범위하게 연구되었으며 동물 실험 및 실험실 연구에서 조직학적 관찰이 가능하였다. 하지만 이에 대한 기전 및 관여 인자에 대해서 밝혀진 것은 아직까지 미미하며 이를 위한 분자생물학적 연구가 1990년대 말부터 시도되었고 현재 골절시 골형성에 관여하는 성장인자와 교원단백질 및 세포외 기질 단백질 등의 발현정도를 통해 신연골 형성 기전에 대한 분자생물학적 연구가 활성화되었다.

현재까지 알려진 성장 인자로는 Transforming Growth Factor- β 1, Bone Morphogenetic Proteins, Fibroblast Growth Factor, Insulin-like Growth Factor-I 등이고 교원성 단백질로는 제 I형 교원질이 있고 비교원성 세포외기질 단백질에는 Osteonectin, Osteopontin, Osteocalcin등이 있다.

1) Growth Factors

Transforming Growth Factor- β family (TGF- β 군)

TGF- β 군은 골아세포를 비롯한 많은 세포의 성장과 분화를 조절하는 25-kDa의 이합체 단백질군으로 골의 성장 및 발육시, 골절부 가골등의 골표면에 있는 성숙 골아세포에서 높은 수준으로 발현된다. 이 성장인자군에는 3가지의 다른 형태(β -1, β -2, β -3)가 있으며 유사하지만 다른 생물학적 활동을 하는 것으로 알려졌다. TGF- β 군은 비활성 복합체인 latent TGF로 분비된다. 골 기질은 많은 양의 latent TGF- β 와 극소수의 active TGF- β 를 가지고 있고 이에 대한 비율은 알려지지 않았다. 골세포에 있는 latent TGF- β 는 산성 환경 또는 plasminogen계의 단백분해 구성요소에 의해서 활성화된다. 즉 골아세포가 plasminogen 활성물질을 생산하기 때문에 이 세포들이 골세포에 있는 TGF- β 의 생산과 활성을 조절하게 된다. TGF- β 는 골아세포에서 BMP-2의 생산을 유도하고 BMP의 골유도 활성을 상승시키며 BMP-2 또한 TGF- β 의 생산을 유도한다. 이들 인자들의 생산은 양성 피드백 체계에 의해서 조절된다. 즉 피드백 체계에 의해서 혈소판으로부터 TGF- β 가 분비되고 활성화되면 골유도 신호가 기시되어 증폭되고 이 신호에 의해서 골절시 골 및 연골 형성과정에서 자극되어 일어난다. TGF- β 는 골아세포 증식을 억제하거나 자극하는 것으로 알려졌다. 이는 농도, 세포밀도, 중, 골아세포 분화정도에 의존하며 대부분의 연구에서 골아세포 분화정도를 알 수 있는 지표로 이용되는 alkaline phosphatase, osteonectin, 제 I형 교원질 등의 생산을 증가시킨다고 보고되었다. TGF- β 의 활성은 두 개의 분명한 수용체(type I, II)와의 결합에 의해서 조절된다. 즉 세포 반응을 일으키기 위해서 이들 수용체가 필요하고 특히 type II 수용체는 스스로 TGF- β 와 결합할 수 있고 이 상태에서 type I 수용체와 결합하여 여러 신호를 기시한다. 골아세포에 대한 TGF- β 의 다양한 활성을 조절하는 신호전달 기전에 대해서는 아직까지 알려지지 않았다. TGF- β 에 대한 초기연구에서 국소 적용후 인접부위의 골막성 골형성(periosteal bone formation)이 증가되는 것으로 알려졌으나 이러한 골유도능력은 BMP군에 비해 매우 약하여 BMP군의 골유도 능력을 증가시키는 잠재적 치료물질로 인식되고 있다. 그러나 면역기능에 억제효과를 나타내고 있기 때문에 전신적 사용은 제한된다²⁷⁾.

신연골 형성술시 TGF- β 1의 발현에 대한 분자생물학적 연구에서는 종종 골절부 치유시 TGF- β 1의 발현정도와 비교하여 신연골 형성술의 기전 및 TGF- β 1의 역할에 대해서 보고되었다. Yeung 등²⁸⁾은 염소를 이용한 경골의 골신연시 TGF- β 1 발현에 대해 연구하여 다음과 같은 보고를 하였다. 즉 골절부의 TGF- β 1은 치유 초기에 골아세포나 골막에서 유래한 섬유아세포 유사 세포

(fibroblast like cell)에서 증가하나 골절 치유 1주 후부터 차츰 감소되어 3주 후에는 매우 감소된 소견을 보이나 신연골 형성술시에는 초기에 비슷한 양상을 나타내지만 가골이 신연되는 동안 계속적으로 강력한 발현소견을 보였고 이는 기계적 자극이 골아세포에 형질도입 신호(transduction signal)로 작용하여 TGF- β 1의 발현을 유도하고 TGF- β 1은 골아세포를 자극하여 교원질과 alkaline phosphatase의 합성을 촉진하여 골형성과 무기질화(mineralization)를 유도한다는 가설을 제시하였다. 또한 TGF- β 1은 섬유아세포 유사세포 및 골세포에서도 증가된 발현양상을 나타내는데 특히 섬유아세포 유사세포에서 중증도의 TGF- β 1발현은 다른 성장인자 발현과 함께 작용하여 이 세포를 골아세포로 분화하여 직접적인 골형성을 유도하며 골절 치유시에는 섬유아세포 유사세포에서 감소된 TGF- β 1로 인하여 골막으로 유래한 이 세포를 연골세포로 분화시켜 연골성 골형성을 유도한다는 가설을 제시하면서 경화기동안 TGF- β 1의 감소와 더불어 연골성 골형성이 관찰되는 것이 이 가설을 뒷받침한다고 하였다. Mehrara 등⁷⁾은 백서의 하악골 신연시 골절제 인접부의 중배엽 세포, 염증 세포, 골아세포 등에서 TGF- β 1의 발현이 증가되었고 신연이 계속되는 동안 활성 골아세포, 신생혈관, 세포의 기질내에 있는 주위 교원질등에서 강력한 TGF- β 1의 발현이 보이며 이는 TGF- β 1이 골아세포의 이주, 분화, 세포의 기질합성, 혈관화(angiogenesis)를 조절하는 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 즉 TGF- β 1이 초기에는 원시 중배엽세포의 골절제부로의 이주를 야기하고 지속적인 TGF- β 1의 자극이 이 세포들을 골 세포의 기질 단백질 합성을 형성할 수 있는 전구 골아세포와 골아세포로 분화를 촉진하며 다른 성장인자와의 상호작용을 통해 골화와 재형성을 유도한다고 보고하였다. 또한 TGF- β 1은 제 I형 교원질 분자의 침착과 유지를 야기하며 막성골화를 유도하며 vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor 등의 합성을 촉진하여 혈관화 반응을 일으켜 신생혈관 형성에 간접적 역할을 하고 혈관형성후에는 신연기동안 혈관의 유지에 중요한 역할을 한다고 하였다.

TGF- β 1을 이용한 골치유에 대한 연구도 많이 시행되어 대부분의 연구에서 TGF- β 1이 골형성을 증진시킨다고 보고되었다. 그러나 Critchlow 등²⁹⁾은 가토에서 연골성 골절 치유시 TGF- β 2의 효과를 증명하는데 실패하였고 Rauch 등³⁰⁾은 장골신연시 투여된 외인성 TGF- β 1의 효과를 증명하는데 실패하였다. 이것은 신연기 동안 중요한 역할을 하는 내인성 TGF- β 와는 달리 외인성 TGF- β 가 그런 역할을 수행하지 못함을 의미하며 향후 TGF- β 군의 치료학적 적용에 앞서 풀어야 할 연구과제이다.

Bone Morphogenetic Proteins (BMP군)

BMPs군은 TGF- β 군계에 속하는 아분류(subfamily)의 성장인자로 분류되고 같은 아분류로 TGF- β 군, Growth-Differentiating Factors, inhibins, activins 등이 있다. BMP군은 비골격성 중배엽세포에서 연골과 골형성을 유도하는 기능으로 현재까지 골절치유, 치조골 결손, 임플란트와 같은 보철물주위 골결손 등의 치료약물로 많은 관심을 가지고 연구되어

왔다. 또한 BMP군은 골형성 기능을 조절하는 효과를 가진 다른 성장인자의 발현에 중요한 역할을 한다. 예로 TGF- β 군의 발현촉진을 통한 BMP군의 골형성 기전은 이미 잘 알려졌다. BMP군의 수용체는 TGF- β 의 type I, II 수용체, activin 수용체와 유사하지만 BMP군에만 특이적으로 작용하는 것으로 알려졌다. BMP군과 같은 다양한 기능을 가진 신호전달 분자(pleiotropic signaling molecules)는 세포의 농도차에 따라 세포의 무수한 반응을 조절하는 것으로 보고되고 있다³¹⁾. 즉 BMP군은 고농도에서는 세포분화와 골형성 기능을, 저농도에서는 화학주성(chemotaxis), 세포 증식 기능을 촉진한다.

신연 골형성술과 관련된 BMP군의 발현에 관한 연구도 활발하게 시행되었다. Sato 등³²⁾은 백서의 대퇴골에서 신연 골형성술시 BMP군의 발현에 대해서 보고하였다. 그들의 연구는 내인성 BMP군이 신연술 동안 지속적인 골형성에서 중요한 역할을 한다는 가설하에 진행되었고 각 시기에 따라 BMP군의 발현정도를 관찰하였다. 골절제를 시행하지 않은 정상 대조군에서 BMP-2, 4, 6, 7 mRNA는 발현되지 않았고 실험군에서 골절제 4일 후 BMP-2, 4 mRNA의 발현이 관찰되었고 이는 골절후 나타나는 발현양상과 유사하였다. 잠복기 말에 감소되는 BMP-2, 4 mRNA는 신연기동안 다시 강력한 발현을 보여 골절제후에 나타나는 것보다 약 20배 높게 발현되는 것으로 관찰되었다. 이를 통해 연골성 가골이 능동적으로 흡수되고 신생골이 막성 골화에 의해 직접적으로 형성되며 그밖의 다른 BMP-5, 6, 7 mRNA의 발현은 관찰되지 않았다고 보고하였다. 가토에서 시행된 Rauch 등³³⁾의 연구에서도 비슷한 결과를 보고하였으나 그들은 BMP-7 mRNA의 발현과 함께 BMP군이 중배엽 세포의 연골세포와 골아세포로의 분화를 유도하였으며 막성골화와 연골성 골화가 모두 관찰되었다고 보고하였다. 결론적으로 신연술에 의한 기계적 인장 자극이 세포반응을 일으키는 신호전달체계에서 중요한 역할을 담당할 수 있으며 향후 연구는 경화기 동안 감소되어진 내인성 BMP군을 대신해 외인성 BMP군을 투여함에 의해서 골형성기전을 증진시키려는 방향으로 초점이 맞추어 질 것으로 생각된다.

Insulin-like Growth Factors (IGFs)

IGF I과 IGF II는 제 I형 교원질과 같은 골아세포의 증식 및 분화를 촉진하는 기능을 가지고 있다. 주로 성장중인 골막, 성장판, 골절치유부의 가골, 발육중인 이소성 골조직(developing ectopic bone tissue)등에 풍부히 존재하며 다른 성장인자와 함께 골아세포 전구물질의 증식과 분화를 자극함에 의해서 골 발육, 성장과 재생등의 과정에 기여한다. 또한 골형성과 관련된 기계적 자극과 전신호르몬에 대한 효과를 매개하는 것으로 알려졌다³⁴⁾. 흥미롭게도 IGF I의 또다른 기능중의 하나는 파골세포 형성을 증가시킨다는 것이다. 이는 IGF I이 파골세포의 자가분비 조절인자(autocrine regulator)로서 작용함을 의미한다. 그래서 파골세포를 자극하여 골흡수를 증가시키게 된다. 이러한 기전을 통해 IGF I은 골 기질에 저장되어 있다가 골형성시 흡수시기에 분비되어 파골세포에 의한 골 흡수를 촉진시키는 한편, 전구

골아세포의 증식을 증가시켜 흡수에 의해 제거된 골조직을 재생시키는 역할을 하는 것으로 알려졌다. IGF군은 매우 작은 단백질로 전신적으로 투여된 경우 반감기가 매우 짧다. 많은 실험실 연구를 통해 IGF군은 IGF binding proteins(IGFBPs)과 결합된 형태로 존재하는 것으로 밝혀졌으며 이 형태에서의 반감기는 매우 길며 세포내 IGF수용체와 결합을 억제하여 IGF의 기능을 수행하지 못한다고 보고되었다³⁵⁾. IGFBPs가 IGF군의 기능을 조절하고 생리적 환경에 의한 발현도 IGF군보다 잘 조절되기 때문에 많은 연구가 골아세포에 있는 IGFBPs에 초점이 맞춰지고 있다.

신연술시의 IGF I의 발현에 대해서는 다른 성장인자와 함께 연구되었고 Lammens 등³⁶⁾은 신연기 초기에 혈청 IGF I이 먼저 증가하고 이어 신연 가골과 주위 골조직내의 IGF I이 증가한다고 보고하였으며, Liu 등³⁷⁾은 전신수준에서 초기증가는 주위 연조직으로부터 IGF I이 유리되어 생긴 결과라고 보고하였다. Schumacher 등³⁸⁾은 가토의 경골을 이용한 연구에서 확실한 골 신연동안에만 골막성 IGF I이 증가된다고 보고하였다. Tavakoli 등³⁹⁾은 신연 20일 후와 경화기 20일 후에 감소되는 결과를 보고하였다. 이들 연구를 종합하여 보면 IGF I는 시간의존성 성격을 띠는 성장인자로 주로 신연기 초기의 작용에 중요한 역할을 하는 것으로 생각할 수 있다.

IGF군의 전신투여에 대한 동물실험에서 골형성과 골재생이 증가됨이 보고되었고 특히 IGFBP-3와 IGF를 동시 투여시 단독투여보다 골형성이 효과적으로 증대하며 이는 임상적으로 매우 큰 의의를 가지고 있다. 신연골에서의 IGF I투여에 대해서 Stewart 등⁴⁰⁾은 가토의 하악골 신연시 국소적으로 투여된 IGF I로 인해 3mm/day의 빠른 신연에서도 골형성이 관찰되었고 무기질 침착이 증가되었다고 보고하였다. 이는 경화기동안 감소된 내인성 IGF I를 계속적으로 외인성 IGF I를 투여함으로써 그 기능이 강화된 결과라 하였다. 또한 성장호르몬(growth hormone)을 투여함으로써 GH-IGF axis에 의해 IGF가 증가되어 골형성이 증가되었다는 연구도 발표되었다⁴¹⁾. 외인성 IGF의 효과는 입증되었으나 실제 적용에 있어 그 양과 투여시기 등은 앞으로 풀어야 할 연구과제이다.

Fibroblast Growth Factors (FGF군)

FGF군은 heparin sulphate-containing proteoglycans와 함께 세포 이주, 혈관화, 골발육, 재생, 상피-중배엽 상호작용 등을 조절한다. 이 성장 인자군중 FGF-2에는 리간드(ligand)가 매우 풍부히 있고 골아세포를 자극하여 골형성을 증진시키는 데 중요한 작용을 한다고 많은 동물 및 실험실 연구에서 밝혀졌다⁴²⁾. 또한 FGF군은 주로 골과 연골에 많이 있으나 골 및 연골에 대한 분화효과보다는 유사 섬유아세포에 대한 증식효과를 더 가지고 있다는 연구도 보고되었다⁴³⁾. 특히 FGF-2는 분화된 골아세포보다는 섬유아세포와 전골아세포에 대한 잠재적 분열촉진인자의 기능을 가지고 있다. FGF군의 중요 기능중의 또 하나는 골치유 동안 신경혈관재생에 중요한 혈관화 인자(angiogenic factors)의 기능을 수행한다는 것이다.

신연술시에 발현되는 FGF군에 대해서도 많은 연구가 시행되

었으며 주로 TGF- β , IGF-I등의 다른 성장인자와 같이 발현되는 정도에 대해서 보고되었다. Tavakoli 등³⁹⁾은 양의 하악골을 이용한 신연술 후 TGF- β , IGF-I, bFGF의 발현을 연구하여 경화기 20일 후에 TGF- β , IGF-I의 발현은 미약하였지만 bFGF는 강력한 발현양상을 나타내어 각각의 성장인자가 신연술동안 다른 기능을 수행한다고 보고하였다. Okazaki 등⁴⁴⁾은 rhFGF-2를 경화기에 신연 중앙부에 주입하여 골형성이 촉진됨을 보고하면서 이 기전에 대해서 몇 가지 가설을 제시하였다. 1) FGF-2가 직접적으로 중배엽 세포 증식을 자극하였거나 2) 덜 분화된 전구세포로부터 보충된 중배엽세포를 분화 또는 다른 전구세포의 분화를 유도하였거나 이외에 3) prostaglandins, 내인성 FGF군, TGF- β , BMP군과 같은 성장인자의 국소적 생산을 자극하여 골 생성을 촉진한다고 하였다. FGF군의 발현 및 효과에 대한 여러 연구를 종합해보면 FGF-2는 주로 신연기 말, 경화기에 주로 작용하고 전체 신연기를 줄이기 위하여 경화기에 FGF-2를 주입하는 것이 매우 효과적이며 다른 성장인자에 비해서 강력한 효과를 나타낼 수 있다. 향후 다른 성장인자를 이용한 골치유 효과와 비교한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

2) Extracellular Matrix Proteins

Collagenous extracellular matrix proteins

신연 골형성술에 대한 분자생물학적 연구에 있어서 성장인자에 대한 연구와 더불어 현재까지 많은 연구가 골형성과 관련된 세포의 기질 단백질의 발현에 관한 것이다. 이 연구를 통해 골생성 기전이 하나 둘 씩 밝혀지고 있다. 세포의 기질은 크게 교원성과 비교원성으로 분류되며 교원성 단백질은 골절 치유와 장골 발육과 관련하여 많은 연구가 보고되었다. 신연 골형성술과 관련된 교원성 세포의 기질 단백질에 대한 연구는 비교적 최근에 와서 시행되었으며 주로 골절치유시 나타나는 양상과 비교하여 신연 골형성의 골생성 기전에 초점이 맞추어지고 있다. 세포의 기질의 주요 구성성분인 교원질은 골형성에 중요한 역할을 담당한다. 이중 제 I형 교원질은 골조직, 피부, 건 등에서 발견되며 골형성에 중요한 기능을 수행하고 제 II형 교원질은 연골조직에서 특이하게 발견된다.

Lane 등⁴⁵⁾은 골절과 관련하여 연골성 골화과정인 염증성(inflammatory), 수복(reparative), 골화(ossification)단계 등 각 시기별로 교원질 발현에 관한 연구를 시행하였다. 그들의 연구에 의하면 연골성 골절치유 중 염증시기에는 영양 혈관과 괴, 혈중생성, 세포괴사, 염증세포 침윤 등의 조직학적 변화와 함께 제 III형 교원질이 일차적으로 가골부의 섬유아세포에 국소화되어 나타나고 수복기는 골절 후 7-14일 후부터 시작되어 연골성 기질과 신생골이 침착성 성장을 하며 이때는 연골세포에 의해서 제 II형 교원질이 생산된다고 하였다. 제 II형 교원질의 표면에 제 IX형 교원질이 연결되어 있기 때문에 같은 발현양상을 나타내며 제 X형 교원질은 수복기 말에 비대성 연골세포내에서 높은 발현을 보인다. 그래서 이것을 통해 연골성 골화의 표시인자로 인식하기도 한다. 마지막으로 골화시기에는 증판골이 재형성

되며 제 II형 교원질을 대체하면서 제 I형 교원질이 강력히 발현하며 이는 골절후 10-14일 후부터 시작된다고 하였다.

이 연구와 비교하여 Sato 등²⁴⁾은 신연시 초기에 제 II형 교원질이 강력히 발현되고 이후 전진된 신연기에는 발현이 거의 없으며 이는 인장 자극에 노출된 연골세포가 제 II형 교원질에서 제 I형 교원질 표현형(phenotype)으로 변이되어 연골성 골화에서 막성 골화로 전이가 일어났다고 보고하였다. 국내에서는 임순모 등²⁷⁾은 골신장부에서 나타나는 연골내 골화는 가능한 억제되어야 할 골형성과정으로 신생골 형성은 혈관화가 미약한 신장 중심부가 아닌 인접부에서 충분한 혈관화와 함께 골형성이 시작되어 골절단면쪽으로 진행되는 막내 골화과정을 거치며 제 I형 교원질이 광범위하게 발현된다고 보고하였다. Warren 등⁸⁾은 하악골 절제후 초기에는 제 I형 교원질이 감소되나 점진적인 신장후 초기 경화기에 해당되는 23일 후에는 강력히 발현되며 급속신장시에는 제 I형 교원질 발현이 30%이하로 감소된다고 보고하였다.

Non-collagenous extracellular matrix proteins

세포의 기질단백질 중 교원질 다음으로 중요한 것은 비교원성 기질로써 골화와 골재형성에 중요한 기능을 수행한다. 여기에는 Osteonectin(ON), Osteopontin(OPN), Osteocalcin(OC) 등이 있다. ON⁴⁶⁾은 분비된 칼슘과 제 I형 교원질과 결합하는 당단백(glycoprotein)으로 칼슘의 교체(turnover), 골 재형성, 무기질화 초기 등의 조절에 중요한 기능을 하며 OPN⁴⁷⁾은 인산화 당단백(phosphorylated glycoprotein)으로 재형성된 세포의 기질에 골아세포의 부착을 증진시키는 작용을 하며 OC⁴⁸⁾는 골조직의 비교원성 기질 단백질 중 가장 풍부히 존재하며 성숙된 골아세포, 연골세포, 치아세포 등에 의해 생산되는 γ -carboxyglutamic-acid-containing protein으로 그 기능에 대해서 정확히 밝혀지지 않았으나 신생골에서 무기질화와 혈청농도를 조절하는 기능을 하는 것으로 알려졌다. ON과 OC의 mRNA는 정상골과 골절된 성인골의 골내막에 있는 골아세포에서 국소적으로 나타나며 OPN은 골절후 단기간 골아세포에 의해서 발현된다. ON 발현은 또한 골절부에서 비대된 연골세포에서 국소적으로 발현되어 이를 통해 무기질화 초기에 중요한 기능을 하는 것을 알 수 있고 OC는 골절치유 초기에 급격히 감소하나 골절부 가골이 활발히 골화되는 시기에 증가된다. Meyer 등⁴⁹⁾은 신연시 골절제부에 생리적으로 견디기 힘든 인장력이 발생될 때 이 두 단백질의 발현이 급격히 감소되고 이와 균등히 결정체 형성(crystal formation)이 감소됨을 관찰하고 이를 통해 ON과 OC의 발현은 골양조직의 무기질화와 골아세포의 분화기능과 밀접한 관계가 있으며 수산화인회석 결정 성장과 크기를 조절하는 중요한 기능을 한다고 보고하였다. Warren 등⁸⁾은 급속신장과 점진적 신장시 OC의 발현에 대해 연구하여 점진적 신장시 OC의 발현이 강력히 나타나며 급속신장시 정상 발현의 50%이하로 발현됨을 관찰하고 OC의 발현이 성공적인 신연 골형성과 관련되어 있다고 보고하였다. Perrien 등⁵⁰⁾은 백서의 경골을 신장시키면서 신장부위, 세포형태, 조직형태, 골화양상 등에 따라 다양하게 발현되는 OPN을 관찰하고 조직치유와 기계적 자극 전도에 있어서 OPN의

다양한 기능에 대해서 보고하였다. 특히 막성 골화시에는 초기 발현이 전구 골아세포의 증식과 이주를 촉진하고 후기 감소는 수산화인회석 결정형성에 필요하다고 하였다. 또한 골화기전에 따라 신장부 각 부위의 세포의 기질에서 발현되는 OPN은 서로 다른 기능을 수행하며 결론적으로 OPN은 기계적 자극 전도와 빠른 골형성 유지 등에 있어서 다양하고 중요한 기능을 수행하며 그 기전을 밝히기 위해 더욱 많은 연구가 필요하다고 보고하였다. Sato 등²⁴⁾은 신연 골형성술시 각 시기별로 비교원성 세포의 기질 단백질의 발현에 대해 연구하여 골절 치유과정 또는 태아 골 발육과정보다는 신연 골형성술에서 다양한 세포형태에 따라 비교원성 단백질(OPN, OC, ON, MGP)이 강력히 발현되며 이 결과로 기계적 인장자극이 세포 형태와 표현형을 조절하고 골기질 단백질에 대한 mRNA를 발현한다고 보고하였다. 국내에서는 백선호 등¹⁸⁾이 성견 하악골 신장시 골신장 중심부와 인접 골막부에서 OC, ON의 발현정도를 대조군과 비교하여 인접 골막부에서 높은 발현을 보임을 관찰하고 신생골 형성시 골막의 중요성을 보고하였다.

비교원성 세포의 기질분자에 대한 연구는 성장인자에 비해서 비교적 최근에 활성화되었고 아직도 그 기능과 발현에 관해서 밝혀지지 않은 것이 많아 앞으로 성장인자와 연관된 복합적 연구가 필요할 것이다.

III. 결 론

Ilizarov³⁾가 신연 골형성술의 이론적 근거를 제시하면서 기계적 인장력이 강력한 골형성을 유도한다는 조직학적 연구결과는 악안면 신장술의 임상 및 기초 과학적 연구의 밑받침이 되는 매우 획기적인 사건으로 이후 진행된 분자수준 연구의 기초가 되었다. 유전자 표현에 의한 분자 분석으로 매우 많은 관찰이 가능하였으나 아직까지 풀지 못한 문제는 인장 자극의 생리학적 전도가 신연술시 골생성 세포에 어떻게 전달되고 그것을 세포내에서 어떤 기전을 통해 정보가 전달되는가에 대한 것이다. 지금까지 제시된 유력한 가설중의 하나는 골세포(osteocyte)가 감각세포로 작용한다는 것이다⁵¹⁾. 즉 골기질에 있는 골세포가 그들 자신 및 골아세포와 서로 연결되어있는 네트워크를 형성하여 기계적 자극에 대한 골 적응에 중요한 역할을 한다는 것이다^{52,53)}. 이것은 앞으로 더욱 진행되어야 할 연구방향일 것이다. 현재까지 밝혀진 성장인자 및 세포의 기질 단백질의 발현 및 기능에 대한 것을 기초로 세포수준에서 전도에 대한 기전을 밝히는 것이 신연골 형성술에서 치료학적 목적의 유전자 적용, 신연기간 단축, 최소의 합병증, 성공적인 골형성 등과 실제적인 임상적용을 가능케 할 것이다.

여기서 한가지 주지하여야 할 사실은 실험동물에서 나타난 결과가 인체와 유사한 반응을 보이지는 않는다는 것이다. 인간과 동물의 악안면계에는 분명한 생물학적 차이가 존재하며 이를 극복하기 위해 다양한 종에서 실험을 시행하여야 할 것이다. 지금까지는 신연장치 및 수술적용 등의 문제점으로 인해 성견, 양, 염소 등이 주로 이용되었으나 취급하기에 용이한 가토도 매우 선호

되는 동물이며 또한 백서모델도 분자생물학적 연구에 사용하기에 매우 유용한 동물로 인식되고 있다. 이런 실험종의 선택은 실험조건에 따라 많이 좌우되지만 확실한 것은 다양한 동물에서 연구가 진행되어야 한다는 것이다. 그밖에 새로운 재조합형 단백질, 유전자 전달 방법, 최소한의 비침습적 접근, 생흡수성 다방향 신연장장치 등에 대한 연구가 추가적으로 필요하고 특히 성장인자 주입에 대한 시기, 양, 방법 등에 대한 원칙을 설정하는 연구는 실제 임상적용에 매우 중요한 자료가 될 것이다.

참고문헌

1. Codivilla A: On the means of lengthening in the lower limb, the muscles and tissues which are shortened through deformity. *Am J Orthop Surg* 1905;2:353-369.
2. Ilizarov GA: The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. *Clin Orthop* 1989;238:249.
3. Ilizarov GA: The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop* 1989;239:263.
4. Snyder CC, Levine GA, Swanson HM, Browne EZ: Mandibular lengthening by gradual distraction. *Plast Reconstr Surg* 1973;51:506-508.
5. McCarthy JG, Schreiber J, Karp NS, Thorne CH, Grayson BH: Lengthening the human mandible by gradual distraction. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:1-10.
6. Rowe NM, Mehrara BJ, Dudziak ME, Steinbrech DS, Mackool RJ, Gittes GK et al: Rat mandibular distraction osteogenesis: Part I. Histologic and radiographic analysis. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102:2022-2032.
7. Mehrara BJ, Rowe NM, Steinbrech DS, Dudziak ME, Saadeh PB, McCarthy JG et al: Rat mandibular distraction osteogenesis: II, Molecular analysis of transforming growth factor beta 1 and osteocalcin gene expression. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:536-547.
8. Warren SM, Mehrara BJ, Steinbrech DS, Paccione MF, Greenwald JA, Spector JA et al: Rat mandibular distraction osteogenesis. Part III Gradual distraction versus acute lengthening. *Plast Reconstr Surg* 2001;107:441-453.
9. 김부경, 신상훈, 김종렬: 백서경골에서 신연속도에 따른 골형성 비교 연구. *대구외지* 2000;26:6:620-627.
10. 김기영, 유선열: 가토에서 하악골 신연 양에 따른 하치조신경의 조직학적 변화. *대약성외지* 1998;20:3:250-255.
11. 윤경인, 박재익: 하악골 신연술후 생성된 신생골의 조직학적 및 면역화학적 소견. *대약성외지* 2001;23:3:258-262.
12. 오유근, 오희균, 유선열: 구내 신연장치를 이용한 치조골 신연에 미치는 잠복기의 영향. *대약성외지* 2001;23:4:324-331.
13. 정현, 오희균, 유선열: 치조골 신연후 임플란트 매식시기에 따른 골유착 효과. *대구외지* 2000;26:3:238-244.
14. 김명진, 윤필영, 신동준, 김수경, 김종원, 김규식: Callus distraction method를 이용한 하악골 신장술: 계단골절단 술식의 적용. *대약성외지*. 2000;22:2:254-261.
15. 박영옥, 차봉근, 김지혁: 점진적 Distraction Technique을 이용한 상악골의 전방이동. *대약성외지*. 2000;22:6:687-696.
16. 김진, 윤현중: 악안면 기형 환자에서 악골 신장술의 적용. *대약성외지*. 2000;22:6:657-663.
17. 임순모, 안병근, 박영주, 박희진, 박준우, 이진주 외: 성견 하악 골체부 신장시 신장부위의 증식세포핵항원과 제 1형 교원질 발현에 관한 연구. *대구외지* 2001;27:5:385-393.16.
18. 백선호, 안병근, 박영주, 박희진, 박준우, 이진주 외: 성견 하악골 절단 후 기계적 골 견인에 의해 형성된 골 신장부에 대한 시기별 조직학적 변화. *대구외지* 2001;27:5:404-413.
19. 송정호, 신상훈, 김종렬: 백서 하악골에서 신연빈도에 따른 골형성

- 비교연구. *대약성외지* 2002;24:2:115-125.
20. 류수장, 이충국, 최병호: 성견 하악골의 신연 부위에서 골형성에 대한 혈소판-풍부 혈장의 효과. *대구외지* 2001;27:6:498-510.
21. Kojimoto H, Yasui N, Goto T, Matsuda S, Shimomura Y: Bone lengthening in rabbits by callus distraction. *J Bone Joint Surg(Br)* 1988;70B:543-549.
22. Yasui N, Sato M, Ochi T, Kimura T, Kawahata H, Nomura S: Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *J Bone Joint Surg Br* 1997;79:5:824-830.
23. Ueda M, Matsuno M, Sakai K, Hata KI: Mechanisms of new bone formation during distraction osteogenesis a preliminary report: Samchukov ML, Cope JB, Cherkashin AM Craniofacial Distraction Osteogenesis. Mosby 2001;37-41.
24. Sato M, Yau N, Nakase T, Kawahata H, Sugimoto M, Hirota S et al: Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 1998;13:1221-1231.
25. Buckley MJ, Banes AJ, Jordan RD: The effects of mechanical strain on osteoblasts in vitro. *J Oral Maxillofac Surg* 1990;48:276-282, .
26. Burger EH, Klein-Nulend J, Veldhuijzen JP: Mechanical stress and osteogenesis in vitro. *J Bone Miner Res. Suppl* 1992;2:S397-401.
27. Wahl SM: Transforming growth factor β : the good, the bad, and the ugly. *J Exptl Med* 1994;180:1587-1590.
28. Yeung HY, Lee KM, Fung KP, Leung KS: Sustained expression of transforming growth factor-beta1 by distraction during distraction osteogenesis. *Life Sci* 2002;24:71(1):67-79.
29. Critchow MA, Bland YS, Ashhurst DE: The effect of exogenous transforming growth factor-beta 2 on healing fractures in the rabbit. *Bone* 1995;16:521-527.
30. Rauch F, Lauzier D, Travers R, Glorieux F, Hamdy R: Effects of locally applied transforming growth factor-beta 1 on distraction osteogenesis in a rabbit limb-lengthening model. *Bone* 2000a;26:619-624.
31. Miyazono K: Signal transduction by bone morphogenetic protein receptors: functional roles of Smad proteins. *Bone* 1999;25:91-93.
32. Sato M, Ochi T, Nakase T, Hirota S, Kitamura Y, Nomura S et al: Mechanical tension-stress induces expression of bone morphogenetic protein (BMP)-2 and BMP-4, but not BMP-6, BMP-7, and GDF-5 mRNA, during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 1999;14:1084-1095.
33. Rauch F, Lauzier D, Croteau S, Travers R, Glorieux FH, Hamdy R: Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4, -7 during distraction osteogenesis in a rabbits. *Bone* 2000b;27:453-459.
34. Rosen CJ, Donahue LR, Hunter S: Insulin-like growth factors and bone: the osteoporosis connection. *Proc Soc Exptl Biol Med* 1994;206:83-102.
35. Baxter RC: Insulin-like growth factor(IGF) binding proteins: the role of serum IGF-BPs in regulating IGF availability. *Acta Paed Scand(Suppl)* 1991;372:107-114.
36. Lammens J, Liu Z, Aerssens J, Dequeker J, Fabry G: Distraction bone healing versus osteotomy healing: A comparative biochemical analysis. *J Bone Miner Res* 1998;13:279-286.
37. Liu Z, Luyten FP, Lammens J, Dequeker J: Molecular signaling in bone fracture healing and distraction osteogenesis. *Histol Histopathol* 1999;14:587-595.
38. Schumacher B, Albrechtsen J, Keller J, Flyvbjerg A, Hvid I: Periosteal insulin-like growth factor I and bone formation. Changes during tibial lengthening in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1996;67:237-241.
39. Tavakoli K, Yu Y, Shahidi S, Bonar F, Walsh WR, Poole

- MD: Expression of growth factor in the mandiblar distraction zone: a sheep study. Br J Plast Surg 1999;52:434-439.
40. Stewart KJ, Weyand B, Van't Hof RJ, White SA, Lvoff GO, Maffulli N et al ; A quantitative analysis of the effect of insulin-like growth factor-1 infusion during mandibular distraction osteogenesis in rabbits. Br J Plast Surg 1999;52:343-350.
41. Bail HJ, Kolbeck S, Lindner T, Dahne M, Weiler A, Windhagen HJ et al: The effect of growth hormone on insulin-like growth factor I and Bone metabolism in distraction osteogenesis. Growth Horm & IGF Res, 2001;11(5):314-323.
42. Kimoto T, Hosokawa, R, Kubo T, Maeda M, Sano A, Akagawa Y: Continuous administration of basic fibroblast growth factor(FGF-2) accelerates bone induction on rat calvaria an application of a new drug delivery system. J Dent Res 1998;77:1965-1969.
43. McCarthy TL, Centrella M, Canalis E: Effects of fibroblast growth factors on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in rat parietal bone cells. Endocrinology 1989;125:2118-2126.
44. Okazaki H, Kurokawa T, Nakamura K, Matsushita T, Mamada K, Kawaguchi H: Stimulation of bone formation by recombinant fibroblast growth factor-2 in callotasis bone lengthening of rabbits. Calcif Tissue Int