

봉독약침이 연골세포 활성화에 미치는 영향

조미애 · 함대현* · 이승기 · 김건호 · 최선미¹ · 심인섭² · 강성길³ · 이혜정

경희대학교 동서의학대학원 침구경락학교실, 1: 한국한의학연구원 의료연구부,
2: 가톨릭대학교 의과대학 통합의학교실, 3: 경희대학교 경희의료원 한방병원 침구과

Effect of Bee Venom Acupuncture on the Recovery of Chondrocyte Phenotype in Rabbit Cartilage

Mei Ai Zhao, Dae-Hyun Hahm*, Seung Ki Lee, Gun-Ho Kim, Sun Mi Choi¹,
Insop Shim², Sung-Keel Kang³, Hye-Jung Lee

Department of Oriental Medical Science, Graduate School of East-West Medial Science, Kyung-Hee University.

1: Department of Medical Research, Korea Institute of Oriental Medicine.

2: Department of Integrative Medicine, College of Medicine, The Catholic University Of Korea.

3: Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Articular cartilage is an important factor for studying the arthritic diseases. The chondrocyte isolated from cartilage has the characteristic of differentiation and re-differentiation when cultured in monolayer. The bee venom (BV) acupuncture was investigated to examine their abilities on chondrocyte re-differentiation via rabbit chondrocyte primary culture. And the expression profiles of type II collagen (COL2) was analyzed using RT-PCR and western hybridization at third passage chondrocyte. In general, the mRNA expression of type II collagen was reduced step by step with the subculture of the chondrocyte. However, after the BV treatment for 48hr at third passage, the expressions of type II collagen were found to be significantly up-regulated, the same result was confirmed by western blotting. These results suggested that the diluted solution of BV for herb-acupuncture was very effective on the recovery of articular chondrocyte phenotype.

Key words : chondrocyte, cartilage, bee venom, type II collagen, herb-acupuncture, rabbit

서 론

퇴행성 관절염의 발병은 관절질환의 종류에 따라 다소 상이하지만, 일반적으로 관절의 활막(synovial membrane)과 활막액(synovial fluid) 부위의 물리적 손상에서 비롯된 연골(cartilage)과 연골하골(subchondral bone)등의 관련 조직이 손상됨으로써 극심한 통증과 부종을 동반하며 병증이 진행됨에 따라 심각한 운동장애가 유발된다. 특히 연골은 말초혈관계 및 신경계가 없고 대사속도가 매우 느리기 때문에 주변조직이 함께 손상되지 않고 연골 부위만 집중적으로 파괴되는 병리적 특성 상, 뚜렷한 자각 증상이 없어 오랫동안 손상이 지속될 수 있다¹⁾.

연골(cartilage)은 연골세포(chondrocyte)와 세포간 기질(extracellular

matrix)로 구성되며 주로 제2형 교원질(collagen)과 폴리테오글리칸으로 구성되는 세포간 기질의 성질에 의해 탄력성과 압축특성을 갖는 독특한 조직이다. 연골세포는 주변 환경에 따라 분화된 특성이 소실되는 탈분화 (de-differentiation) 현상과 탈분화된 세포의 재분화 (re-differentiation) 현상이 가변적으로 발생하게 되는 특성을 가진다. 즉 관절 조직에서 분리된 연골세포의 단층 배양 시, second passage에서부터 type II collagen의 발현이 현저히 줄어들고, 대신 fibroblast 세포의 특징인 type I 및 type III collagen의 발현량이 급격히 증가하게 된다²⁾.

이러한 in vitro에서 가변적 phenotype을 나타내는 연골세포 배양을 안정화시키기 위하여 mesenchymal stem cell³⁾, 고밀도 배양⁴⁾, 현탁배양 및 agarose 배양⁵⁾, 삼차원 배양⁶⁾ 등의 방법이 제안되었으며 또 한편으로는 세포성장인자인 FGF-2, bFGF 등이 연골세포 재생에 효과가 있는 것으로 연구된 바 있다^{7,8)}.

봉독약침요법은 전통적 민간 치료요법의 하나로 각종 통증 질환에 적용되어 왔으며 특히, 1990년대 이후 국내에서 관련 연

* 교신저자 : 함대현, 경기 용인시 기흥읍 서천리 경희대학교 동서의학대학원

· E-mail : dhahm@khu.ac.kr, · Tel : 031-201-2176

· 접수 : 2005/07/13 · 수정 : 2005/08/18 · 채택 : 2005/09/13

구가 활발히 진행되고 있다. 그 결과, 진통⁹⁾, 소염¹⁰⁾, 진경¹¹⁾, 안전성 검사¹²⁾, 면역기능 증강작용¹³⁾ 등의 관련 학술연구가 보고된 바 있으며, 외국의 연구사례를 보면 독일의 Barbara 및 Spoerri^{14,15)} 등에 의해 봉독의 생화학적 성분 규명 및 이들의 약리작용에 대한 연구결과들이 수차례 발표된 바 있다¹⁶⁾. 현재까지 봉독약침의 진통 효능에 대한 기초 및 임상연구가 상당수 발표되어 왔으나 아직 봉독의 연골세포 분화 및 세포 활성에 대한 화학적 영향에 대한 연구는 이루어지지 않은 실정이다.

본 연구는 연골세포의 특성을 이용하여 연골의 손상을 방지하고 더 나아가 연골세포 분화를 촉진시켜 연골을 재생하기 위하여 rabbit을 이용한 *in vitro* primary cell culture 시스템을 확립하고 chondrocyte phenotype의 주요 생체지표인 collagen type II 유전자의 mRNA 및 단백질 발현 수준을 기준으로 chondrocyte re-differentiation 촉진 작용을 검증하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물 (Animals)

몸무게가 250g 내외인 가토(New Zealand White rabbit) 수컷을 신타코 사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

2. 연골채취 및 연골배양

가토를 ether로 마취시킨 후 뒷다리 슬관절 부위의 삭모 및 소독(70%ethanol)하였으며 모든 작업은 무균상태에서 진행하였다. 먼저 소독한 핀셋 및 가위를 이용하여 슬관절을 노출시켜 근육을 깨끗이 제거하고 칼날을 이용하여 연골부위를 slicing 하였다. 다음 petri dish의 PBS용액으로 2-3회 세척 후 0.02% Type II collagenase으로 incubator에서 6시간 동안 처리하였다. 처리된 연골을 1300rpm, 5min동안 centrifuge하고 pellet층을 취하여 3ml 배양배지를 첨가한 현탁액을 만들었다. 연골세포의 counting은 trypan blue를 이용하여 염색하고 $0.5 \times 10^5 / \text{cm}^2$ 의 세포밀도로 petri dish에 치상한 후, 시행하였다. 세포배양은 95% air + 5% CO₂의 humidified atmosphere 공기조건과 37°C 온도의 incubator 조건에서 수행되었으며, 배지로는 10% fetal bovine serum 과 1% penicillin-streptomycin을 포함하는 DMEM을 이용하였고 90% confluence에 도달하면 trypsin-EDTA를 처리하여 분주하였다.

3. 약침처리

실험에서 봉독 약침은 대한약침학회에서 제공한 봉독1호 약침을 희석하여 본 실험에 사용하였다. 배양한 세포를 세 번째 passage 까지 계대배양 한 후, 6시간 동안 incubator 내에서 안정화시키고 봉독약침을 100:1, 1000:1 및 5000:1 등의 농도로 희석하여 각각 첨가하고 다시 48시간 동안 배양 한 후, RNA 및 protein을 추출하여 분자생물학적 분석을 진행하였다.

4. RNA 추출 및 RT-PCR

1) RNA 추출

봉독을 연골세포에 처리하여 48시간 경과 후, 원심분리기를

이용하여 연골세포들을 모으고, PBS로 세척하였다. TRIzolTM 시약을 넣고 상온에서 5분간 방치하였다. 여기에 0.2ml의 chloroform을 첨가하고 15초 동안 강하게 vortexing한 후 상온에 5분간 방치하였다. 그리고 12,000g에서 20분간 원심분리하여 상층액을 새로운 tube로 옮기고 동일한 volume의 isopropanol을 첨가하여 수차례 inverting 한 후, -20°C 조건에서 1시간동안 보관하였다. 이어 12,000g에서 20분간 원심분리하여 total RNA 침전물을 얻었다. 이 침전물에 약 1ml의 75% ethanol을 첨가하고, 12,000g에서 5분간 원심분리한 후, 상층액을 버리고 침전물을 얻어 건조시켰다. 침전물의 양에 따라 적당량의 DEPC 함유 증류수에 녹이고 spectrophotometer를 이용하여 RNA농도를 측정한 후, 다음 실험에 사용하였다.

2) RT-PCR 분석

모든 RT reaction에서는 2µg RNA를 주형으로 하여 40U Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (Life Technologies)를 이용하여 실시한다. RT mixture는 37°C 온도조건에서 60분 간 반응한 후 97°C에서 10분 간 가열하였다. PCR은 5U/µl Taq polymerase와 total cDNA의 1/20을 사용하여 실시하였다. PCR product는 1.0% agarose gel을 이용하여 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 관찰하였으며 그조건은 다음과 같다: 94°C, 5min 1cycle; 94°C, 30sec, 60°C, 30sec, 72°C, 30sec for 23 cycles; 72°C, 10min, 4°C. 실험에서 사용한 collagen type II primer는 다음과 같다.

sense) 5'- gAC CCC ATg CAg TAc ATg Ag -3'

antisense) 5'- AgC CgC cAT TgA Tgg TCT CC -3'

5. Western blot 분석

Western blot분석을 다음과 같이 수행하였다. 세포를 protease inhibitor혼합물이 포함된 RIPA buffer를 이용하여 protein을 추출하였으며 단백질 정량 후, 일정량의 단백질 시료를 6% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 이용하여 분리하고 nitrocellulose membrane(Amersham)으로 전이하였다. Membrane을 5% skim milk로 blocking하고 primary antibody 및 horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody를 결합시킨 다음 발색시켜 목적 단백질의 발현여부를 판정하였다.

결 론

1. 연골세포의 형태적 변화

정상적인 연골세포의 형태는 다사각형 혹은 타원형으로 나타나며 passage가 지나감에 따라 연골의 phenotype이 점차적으로 사라지고 형태도 사각형이 손실되면서 막대기모양으로 변화하게 된다(Fig. 1). 그러나 third passage 단계에서 평판 배양 중인 연골세포에 봉독약침을 처리하고 48hr이 경과했을 때 Fig. 1의 (B)에서 보는바와 같이 연골 세포가 다시 타원형으로 복원되는 것으로 관찰되었으며, 세포밀도 대조군에 비해 많이 증가된 것으로 관찰되었다.

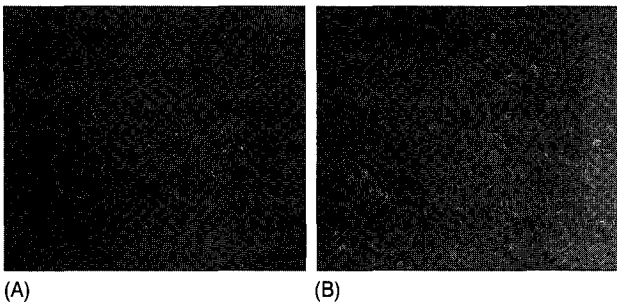


Fig. 1. Morphological characteristics of rabbit chondrocyte on third passage with no treatment (A) and with BV-treatment for 48hr (B).

2. RT-PCR 분석

정상적인 연골세포에서 계대 배양이 반복됨에 따라 특정유전자인 collagen type II의 발현양이 점차 감소되었으며, 특히 third passage에서는 현저하게 감소되는 것을 관찰할 수 있었다.



Fig. 2. RT-PCR analysis of type II collagen mRNA expression in rabbit chondrocyte from passage 0 to fifth passage.

가도 연골세포를 Passage 3에서 봉독약침 농도별로 48hr 동안 처리한 후 연골 특정유전자인 collagen type II의 발현양상을 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 5000:1로 희석된 봉독약침으로 처리 시, collagen type II의 발현양이 대조군보다 유의하게 증가하였다. 대조군에서는 가도 연골세포가 passage가 지나감에 따라 그 phenotype가 상실된다는 가정 하에 mRNA 발현량을 분석한 결과 collagen type II 유전자의 발현이 실제로 감소됨을 관찰하였으며, 봉독 처리군에서는 연골의 collagen type II 유전자의 발현량이 회복되었음을 확인할 수 있었다.

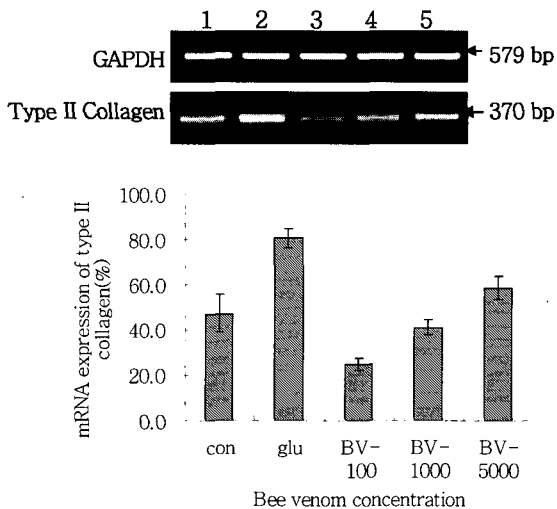


Fig. 3. RT-PCR analysis of rabbit chondrocyte, treated with different BV concentration on third passage. Lane 1: control; Lane 2: glucosamine 400mg/l; Lane 3, 4, and 5: diluted solution of bee venom acupuncture, 100:1, 1000:1, 5000:1, respectively. Glucosamine was used as a positive control.

3. Western blotting 분석

단백질 수준에서 연골세포의 phenotype 변화여부를 확인하기 위하여 Western blotting을 실행하였다. 즉 봉독약침을 second passage 에서 48시간 처리한 후 protein을 추출하여 Western blotting을 실행한 결과는 Fig. 4와 같다. 5000:1로 처리된 봉독약침 처리 시 collagen type II의 발현양이 대조군보다 증가하였으며 이러한 결과는 봉독약침이 연골세포 phenotype의 회복에 효과적임을 보여준다.

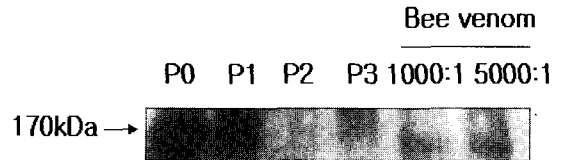


Fig. 4. Western blot analysis of rabbit chondrocyte, treated with differently diluted solution of BV on third passage.

고찰

퇴행성 관절염은 약 전세계 인구의 15%가 진단되어 평균연령이 증가되면서 발병율이 꾸준히 증가되고 있는 중요한 질환이다¹⁷⁾. 퇴행성 관절염은 주로 관절의 연골이 닳아 없어지면서 국소적인 퇴행성 변화가 나타나는데 주요 발병원인은 체중부하, 무리한 연골사이의 마찰 등으로 인한 연골이 손상되어 무릎이 제 역할을 하지 못하는 경우가 많다.

외과수술을 통한 abrasion arthroplasty¹⁸⁾ 등과 같이 관절연골을 재생을 위한 많은 의학적 노력이 있었지만 관절연골 자체의 치유 잠재력이 제한되어 있다는 단점으로 인해 이러한 치료 방법들은 성공적인 결과를 얻지 못하였다¹⁹⁾. 또한 관절연골을 이루는 연골세포를 단층배양 할 경우 passage넘김에 따라 연골세포의 표현형이 소실되는 역분화 과정으로 연구에 많은 어려움을 초래해왔다. 이러한 역분화(de-differentiation)된 연골세포의 표현형을 되돌리기 위해서는 지금까지의 연구결과 생체와 비슷한 환경인 3차원 배양을 실시할 경우 연골세포의 표현형이 되돌아오미 보고 되었고 이러한 3차원 배양의 방법으로는 교원질 gel의 사용, agarose gel, biodegradable polymer, pellet culture, alginate bead culture 등이 사용되고 있다²⁰⁾. 또한 연골세포의 특성을 이용하여 연골세포의 증식 및 분화를 촉진시키려는 많은 연구들이 (growth factor의 효과 검증 등) 많이 보도되었으나 몇몇 약물들을 제외하고 뚜렷한 효과가 없어서 이에 대한 연구가 절실한 상황이었다¹⁹⁾.

관절염은 韓醫學에서는 [內經:雜病篇]에 “膝中痛”이라하였고, [內經:經脈篇]에 “膝重痛”이라 기술되어있으며, “孫”은 “膝痺”, “楊”은 “膝紅腫”이라 하여 記述되어 있으며, “鑑別診斷學” 등에는 “痺症”, “痛風”등의 범위에 속한다고 하였다²¹⁾. [東醫寶鑑]에서 內經曰, 腎主骨.이란 기록이 있고 신장이 골관절의 질환과 밀접한 관련이 있음을 말하였다. 또한 現代 韓醫學에서 膝痛, 膝重痛, 膝痺 등으로 표현되고 치료는 鍼灸치료, 藥鍼치료, 藥物 치료등으로 치료하고 있다²²⁾.

약침치료법 중에 봉독약침 치료법은 전통적으로, 그리고 임

상적으로 이미 널리 알려져 있으며 봉독의 주요 성분으로는 mellitin, alampamin, MCD peptide 등이 밝혀져 있고 임상에서 봉독은 풍습성 관절염, 담마진, 기관지 천식 등의 질환 치료에 주로 사용 된다²³⁾. 과학적으로 이미 증명된 봉독의 기능으로는 항염, 진통, 면역기능 증가, 해열, 항암 등의 효과가 있으며²⁴⁻²⁶⁾, 최근들어 관절염 동물 모델을 이용하여 봉독의 소염, 진통효과에 대한 연구가 많이 진행되고 있으나 연골재생효능에 대한 봉독연구는 아직 미미한 상태이다.

본 연구에서 연골세포의 특성을 이용하여 연골세포를 단층 배양하여 collagen type II의 발현이 현저히 떨어지는 third passage에서 봉독약침을 농도별로 처리시 길쭉해진 연골세포가 다시 사각형 및 다각형으로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1). 이러한 결과는 Stockes 또는 Laurence 의 논문에도 보고된 바 있다^{27,28)}.

봉독의 효과를 RT-PCR 및 Western blotting 방법을 이용하여 검정하였다. 본 연구에서 Fig. 2에 그림과 같이 연골세포의 특정유전자인 collagen type II의 mRNA 발현이 계대배양에 따라 점점 감소되고 third passage에서 급격히 감소되는 것을 볼 수 있다. 그리고 봉독약침을 처리할 경우 third passage에서 collagen type II의 mRNA level에서의 발현이 다시 증가하는 결과를 관찰 할 수 있다. 또한 protein level에서 Fig. 4 와같이 봉독 처리군의 collagen type II의 발현양도 증가한 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 다른 단일물질을 연골세포에 처리했을 경우에 유사한 결과를 얻었다²⁹⁾. 이상의 결과로 봉독약침이 연골세포의 phenotype 회복에 효과적인 것을 판단 할 수 있다.

결 론

토끼 연골세포를 단층배양 할 경우 연골특정 유전자인 collagen type II의 mRNA 발현이 계대배양에 따라 점점 줄어 들고 third passage에서 현저하게 감소하였다. 연골세포 단층배양 시 third passage에서 봉독약침을 48시간 동안 처리한 결과 collagen type II의 발현이 mRNA 및 protein 수준에서 모두 대조군보다 증가한 것으로 관찰되었다. 이로써 연골세포의 phenotype 는 계대배양에 따라 잃어졌으나 third passage에서 봉독약침을 처리할 경우 phenotype가 다시 회복된 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 침구경락연구거점기반구축사업 및 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(0405-OM00-0815-0001)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

1. 서동민, 박동석, 강성길. 蜂毒藥鍼이 adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 鎮痛效果 및 그 機轉에 관한 研究. 대한침구학회지, 20(2):85-97, 2003.

2. Yoon, Y.M., Kim, S.J., Oh, C.D., Ju, J.W., Song, W.K., Yoo, Y.J., Huh, T.L., Chun, J.S. Maintenance of differentiated phenotype of articular chondrocytes by protein kinase C and extracellular signal-regulated protein kinase. The Journal of Biological chemistry 277(10):8412-8420, 2002.

3. Guoping, C., Dechang, L., Mika Tadokoro, Rei Hirochika, Hajime Ohgushi, Junzo Tanaka, Tetsuya Tateishi. Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells cultured in a cobweb-like biodegradable scaffold. Biochemical and Biophysical Research Communication 322, 50-55, 2004.

4. Watt, F. Effect of seeding density on stability of the differentiated phenotype of pig articular chondrocytes in culture. J Cell Sci 89, 373-378, 1988.

5. Benya, P.D., Shaffer, J.D. De-differentiated chondrocytes re-express the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. Cell 30, 373-384, 1982.

6. Benaventure, J., Kadhon, N., Cohen-Solal, L., Ng, K.H., Bourguignon, J., Lasselin, C., et al. Reexpression of cartilage-specific genes by dedifferentiated human articular chondrocytes cultured in alginate beads. Exp Cell Res 212, 97-104, 1994.

7. Molly, M. Stevens, Robert, P. Marini, Ivan Martin, Robert Langer, V. Prasad Shastri. FGF-2 enhances TGF-beta1-induced periosteal chondrogenesis. Journal of Orthopaedic Research 22, 1114-1119, 2004.

8. J. Weisser, B. Rahfoth, A. Timmermann, T. Aigner, R. Brauer, K. von der Mark. Role of growth factors in rabbit articular cartilage repair by chondrocytes in agarose. Osteoarthritis and Cartilage 9, Supplement A, 48-54, 2001

9. 高炯均. 봉독침요법이 항염, 진통 및 해열에 미치는 효능에 관한 실험의 연구. 대한한의학회지 13(1):283-292, 1992.

10. 都垣錫, 張峻赫, 金慶鎬, 尹鍾和, 金甲成. 봉독요법이 흰쥐의 슬관절 염증성 부종에 미치는 영향. 대한침구학회지 12(1):211-220, 1995.

11. 孔賢淑, 高炯均, 金昌煥. 봉독침요법이 항경련에 미치는 영향. 대한침구학회지 10(1):159-165, 1993.

12. 李宗錫, 高炯均, 金昌煥. 약침용 봉독액의 급성독성에 관한 연구. 대한침구학회지 11(1):177-195, 1994.

13. 李泓錫, 金容爽, 朴英培, 高炯均, 金昌煥, 姜成吉. 봉독약침자극이 Methothrxate로 유발된 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 경희한의대논문집 21(1):347-359, 1998.

14. Barbara Rudolf. Chemistry and pharmacology of honey bee venom. Academic Press, pp 329-402, 1986.

15. Spoerri, P.E. Apamin from bee venom. Neurobiology 3, 207-214, 1973.

16. 朴贊烈, 南相水, 金昌煥, 李裁東, 姜成吉, 李潤浩, 安秉哲. 약침용봉독액이 흑색종세포에 미치는 항암효과에 대한 분자생

- 물학적 연구. 동서의학연구소 논문집, 2000: 183-200, 2001.
17. 서병관, 류성룡, 이송실, 허정은, 백용현, 이재동, 최도영, 조윤제, 김남재, 박동석. 退行性關節炎 韓方治療에 對한 最近 研究 動向 -臨床研究 方法論을 中心으로. 대한침구학회지, 21(3):265-282, 2004.
 18. Friedman, M.J., Versi, C.C., Fox, J.M., Del-Pizzo, W., Synder, S.J., Ferkel, R.D. Preliminary results with abrasion arthroplasty in osteoarthritic knee. *clin Orthop* 182, 200-205, 1984.
 19. 성진형, 류재덕, 정형균, 김진영. 홍삼사포닌이 사람의 관절연골세포에 미치는 영향. *대한정형외과학회지* 33(7):1921-1927, 1998.
 20. 김범수, 장준섭. 토끼의 성장판 연골세포에서 배양방법에 따른 TGF- β 1의 역할 변화. *대한정형외과학회지* 34(5):849-857, 1999.
 21. 이영재, 김경식. 퇴행성 슬관절염에 대한 침치료 및 연구의 임상고찰. *대한침구학회지* 11(1):465-472, 1994.
 22. 이성노, 홍서영, 조현철, 변임정, 송호섭, 김기현. 蜂藥鍼治療의 退行性膝關節炎에 대한 臨床의 考察. *대한침구학회지* 20(5):73-81, 2003.
 23. 이경순, 안득균, 신민교, 김창민. *중화대사전*. 5, 1814, 1997.
 24. 왕오호, 안규범, 임진강, 장형석. 퇴행성 슬관절염의 봉독약침 치료효과에 대한 임상적 관찰. *대한침구학회지* 18(3):35-47, 2001.
 25. Kim, M.J., Lee, S.D., Kim, G.H., Kim, G.S. Effects of deer antler Water Extract (pilose antler of *Cervus Korean TEMMINCK* var. *mantchuricus* Sinhoe) on chondrocytes. *대한침구학회지* 21(2):73-88, 2004.
 26. 이상훈, 이현중, 백용현, 김수영, 박재경, 홍승재, 양형인, 김건식, 이재동, 최도영, 이두익, 이윤호. 봉독약침이 류마티스 관절염 환자의 관절 통증, 종창 및 급성 염증 반응에 미치는 영향. *대한침구학회지* 20(2):77-84, 2003.
 27. David, G. Stokes, G. Liu, Rita Dharmavaram, David Hawkins, Sonsoles Piera-velazquez, Sergio, A. Jimenez. Regulation of type-II collagen gene expression during human chondrocyte de-differentiation and recovery of chondrocyte-specific phenotype in culture involves Sry-type high-mobility-group box(SOX) transcription factors. *Biochem J* 360, 461-470, 2001.
 28. Laurence Borge, Sylvie Demignot, Monique Adolphe. Type II transglutaminase expression in rabbit articular chondrocytes in culture: relation with cell differentiation, cell growth, cell adhesion and cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1312, 117-124, 1996.
 29. Jakob, M., Demartean, O., Suetterlin, R., Heberer, M., Martin, I. Chondrogenesis of expanded adult human articular chondrocyte is enhanced by specific prostaglandins. *Rheumatology* 43, 852-857, 2004.