

수학적 모델링을 이용한 골조직 세포 네트워크에서 Osteal Macrophage와 골세포의 역할 예측

황수정[†]

건양대학교 의과대학 치위생학과

Predicting the Role of Osteal Macrophages and Osteocytes in Bone Tissue Network Using a Mathematical Modeling

Soo-Jeong Hwang[†]

Department of Dental Hygiene, College of Medical Science, Konyang University, Daejeon 35365, Korea

The aim of this study was to investigate the role of osteal macrophages (osteomac) and osteocytes in bone remodeling using a mathematical model. We constructed the bone system with pre-osteoblasts, osteoclasts, osteocytes, and osteomac. Each link of the parameters and ordinary differential equations followed the Graham's model in 2013 except for the parameters of osteomac signaling and osteocytes signaling to link preosteoblasts and osteoblasts. We simulated the changes in each cell and bone volume according to the changes in the parameters of osteomac signaling and osteocytes signaling. The results showed bone volume was unstable and decreased gradually when the effectiveness of osteocytes and osteomac dropped below a certain level. When the parameters of osteomac signaling and osteocytes signaling to link preosteoblasts and osteoblasts had a value less than 1, bone volume increased with the increase in the parameter of osteomac signaling to link preosteoblasts and osteoblasts. Moreover, although the parameter of osteocytes signaling to link preosteoblasts and osteoblasts, increased in case of a small parameter of osteomac signaling, bone volume decreased. If the parameters of osteomac signaling to link preosteoblasts and osteoblasts were over a certain level, bone volume was positively maintained, despite the parameter of osteocyte signaling to link preosteoblasts and osteoblasts. We suggested the osteomac may affect bone remodeling and may play an important role in bone cell network.

Key Words: Macrophages, Osteoblasts, Osteoclasts, Osteocytes

서론

시스템 생물학은 정보기술과 생명과학기술이 융합되어 특정현상을 규명하기 위해 관계를 중심으로 한 시스템 차원의 관점에서 분석하고 통합하는 학문이다¹⁾. 시스템 생물학에서는 수학적 모델링 방식으로 새로운 가설을 제시하고 생체동역학을 탐구할 수 있으며 기존의 경험적 실험에 의존하고 있는 생명과학 연구에서 소요되는 많은 비용과 시간을 감소시킬 수 있다²⁾. 시스템 생물학이라는 용어는 이전부터

사용되었지만 2000년 이후부터 관련 연구가 기하급수적으로 늘어나고 있다.

구강질환의 기전에 관한 시스템 생물학 관점에서의 국내 연구는 드문 편이다. 중대구강병 중 하나인 치아우식증은 치아조직에 국한된 질병이며 타액이나 다른 전신 건강에 영향을 받기도 하지만 인체 다른 조직과의 커뮤니케이션은 적은 편이다. 양대 구강병 중 하나인 치주조직병은 구내 세균뿐 아니라 전신적 요인의 영향을 많이 받으므로 치주조직병의 질병기전에 관한 시스템적 접근이 필요하지만, 여전히 치주세균에 의

Received: March 29, 2018, Revised: April 10, 2018, Accepted: April 12, 2018

ISSN 2233-7679 (Online)

[†]Correspondence to: Soo-Jeong Hwang

Department of Dental Hygiene, College of Medical Science, Konyang University, 158 Gwanjeodong-ro, Seo-gu, Daejeon 35365, Korea
Tel: +82-42-600-8446, Fax: +82-42-600-8048, E-mail: denthwang@konyang.ac.kr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4725-1512>

Copyright © 2018 by Journal of Dental Hygiene Science

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

한 발생이 우위에 있다. 치의학 연구에 있어서 시스템 생물학적 연구방법을 적용하기에 가능한 부분을 고려해 보았을 때 질병의 관점보다는 조직의 관점으로 보는 것이 유리하다.

골조직은 조골세포, 파골세포, 골세포 등 여러 세포들의 네트워크에 의해 유지된다. 네트워크의 큰 축은 receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK)-RANK ligand (RANKL)-osteoprotegerin (OPG)³⁾, transforming growth factor (TGF)- β ⁴⁾, bone morphogenetic proteins (BMP)⁵⁾, Wnt⁶⁾ pathway 등이 있으며 염증이 발생하였을 때 염증세포들에 의해 tumor necrosis factor- α ⁷⁾, interleukin-1⁸⁾과 같은 signaling이 작동하면서 골조직 네트워크에 문제가 생겨 골조직 파괴가 발생한다. 최근 들어 골조직 네트워크에서 골세포의 역할이 조명을 받고 있다. 골세포는 sclerotin을 표현하면서 Wnt signaling을 억제하고 있으며 부갑상선 호르몬, 기계적 자극 등의 신호가 오면 sclerotin이 억제되면서 골조직 생성을 도모를 통해 골조직 생성과 파괴에 주된 조절자 역할을 하고 있다고 여겨진다⁹⁾.

근래 골조직 내 세포 중 osteal macrophage (osteomac)의 역할에 대해 궁금증이 커지고 있다. Osteomac이 골조직의 생성과 개조에 잠재적 역할을 할 것이라 기대하고 있으며 외부 물질이 투여되었을 때 key player 역할을 할 것으로 추측되지만¹⁰⁾ 아직 실험연구가 활발히 진행되지 않고 있고 그 역할은 아직 모호한 상태이다. 따라서, 본 연구는 osteomac이 골조직 개조에서 하는 역할을 탐색하기 위해 수학적 모델링을 사용하였으며 2013년 Graham 등¹¹⁾의 골세포의 역할을 규명한 수학적 모델링에 osteomac을 추가하여 모델을 만들고 분석하여 osteomac의 역할을 예측하고자 한다.

연구대상 및 방법

RANK-RANKL-OPG pathway와 TGF- β signaling 등을 링크(link)로 하고 파골세포, 조골세포, 골세포를 노드(node)로 설정한 Graham 등¹¹⁾의 cell population 모델을 이용하였다. 세포들 간의 자가분비(autocrine), 측분비(paracrine)를 포함하는 링크를 포함하였으며 선행 모델에 osteomac 노드를 추가하기 위해 선행 실험 연구들을 조사하였다. Osteomac은 성숙한 조골세포를 유지하는 역할을 하고 있으며 골조직 개조 과정에서 조골세포를 보호하고 있다¹²⁾. Osteomac은 대식세포의 일종이며 대식세포는 파골세포의 전구세포가 파골세포로 되는 것을 유도할 수 있다¹³⁾. 따라서, osteomac이 조골세포와 파골세포 모두에 영향을 미치는 링크를 추가하였다. Osteomac은 질병을 일으키는 pathogen, 자가사멸된 세포, 괴사된 세포 등에 의해 추가적으로 생겨나고 자가사멸로 없어지기 때문에 그에 해당하는 링크도 추가하였다. Graham 등¹¹⁾과 마찬가지로 각 세포들은 분화될 수 있는 충분한 줄기세포를 가지고 있다고 가정하였고 성숙한 세포 중 일부는 자가사멸한다고 가정하였다. 최종적으로 Fig. 1과 같은 네트워크를 구축하였다.

구축된 네트워크를 중심으로 시간에 따른 변화량을 분석하기 위해 상미분방정식(ordinary differential equation)을 구성하였다. Osteomac이 추가된 링크를 제외하고는 Graham 등¹¹⁾의 모델의 미분방정식을 인용하였다. 작성된 미분방정식의 파라미터를 동정하기 위해 각 실험자료를 바탕으로 genetic algorithm에 기반하여 실험값과 시뮬레이션값의 차이가 최소화되는 최적화된 parameter set을 구하게 되는데,

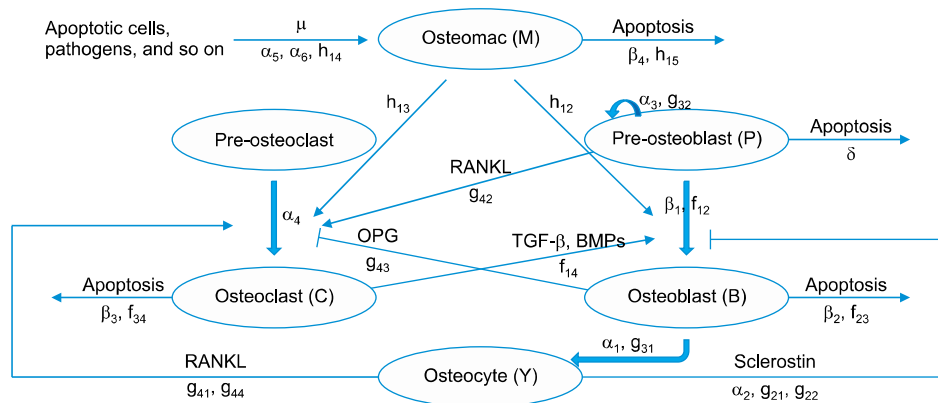


Fig. 1. Network of the cells in bone tissue for this study. M: number of osteal macrophages (osteomac) at a given time, P: number of pre-osteoblasts at a given time, B: number of osteoblasts at a given time, C: number of osteoclasts at a given time, Y: number of osteocytes at a given time, α_1 : osteoblast embedding rate, α_2 : differentiation rate of pre-osteoblast precursors, α_3 : pre-osteoblast proliferation rate, α_4 : differentiation rate of osteoclast precursors, α_5 : differentiation rate to osteomac by apoptotic cells, α_6 : differentiation rate to osteomac by pathogens, β_1 : differentiation rate of pre-osteoblasts, β_2 : osteoblast apoptosis, β_3 : osteoclast apoptosis, β_4 : osteomac apoptosis, δ : pre-osteoblast apoptosis, μ : number of osteomacs without stimuli, g, f, h: effectiveness of each cell signaling.

본 연구에서는 Graham 등¹¹⁾이 구축해놓은 parameter set과 초기수치값을 사용하였다. 새롭게 진입한 osteomac의 경우, 실험 논문이 많지 않고 서로 상반되는 결과들도 보이고 있어서 osteomac에 대한 파라미터 수치를 연구자가 변화시키면서 최종변수에 미치는 영향을 관찰하였다. 골조직량은 조골세포의 수만큼 증가하고 파골세포의 수만큼 감소하는 것으로 식을 구성하였다. 다음은 Fig. 1로 구축된 상미분방정식이다. 수학적 모델링을 통해 보고자 하는 최종변수는 osteomac과 골세포에 대한 파라미터 수치의 변화에 따른 골조직의 각 세포의 시간에 따른 변화량과 골조직량이다. 결

과분석은 MATLAB R2015b (Mathworks, Natick, MA, USA)를 이용하였다.

$$\frac{dY}{dt} = \alpha_1 B^{g_{31}} \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right)$$

$$\frac{dP}{dt} = \alpha_2 Y^{g_{21}} \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right)^{g_{22}} + \alpha_3 P^{g_{32}} \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right) - \beta_1 P^{f_{12}} C^{f_{14}} - \delta P$$

$$\frac{dB}{dt} = \beta_1 P^{f_{12}} C^{f_{14}} M^{h_{12}} - \beta_2 B^{f_{23}} - \alpha_1 B^{g_{31}} \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right)$$

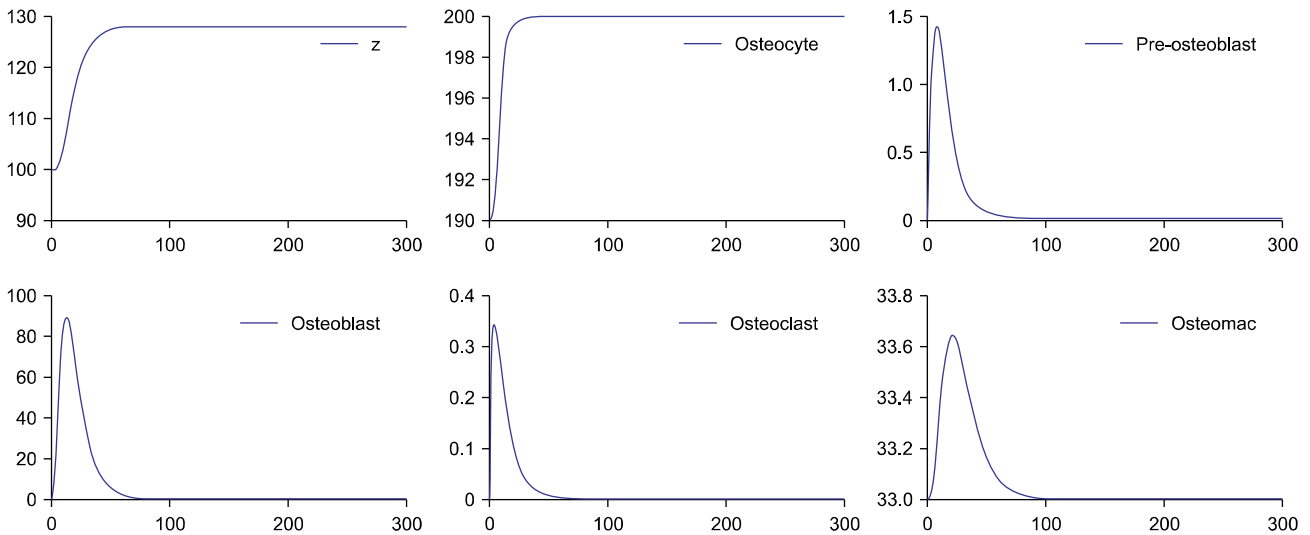


Fig. 2. Change of each cell's populations under stimulus when g21 (effectiveness of osteocyte signaling to link between pre-osteoblast and osteoblast)=0.8 and h12 (effectiveness of osteomac signaling to link between pre-osteoblast and osteoblast)=1.7. z: bone volume.

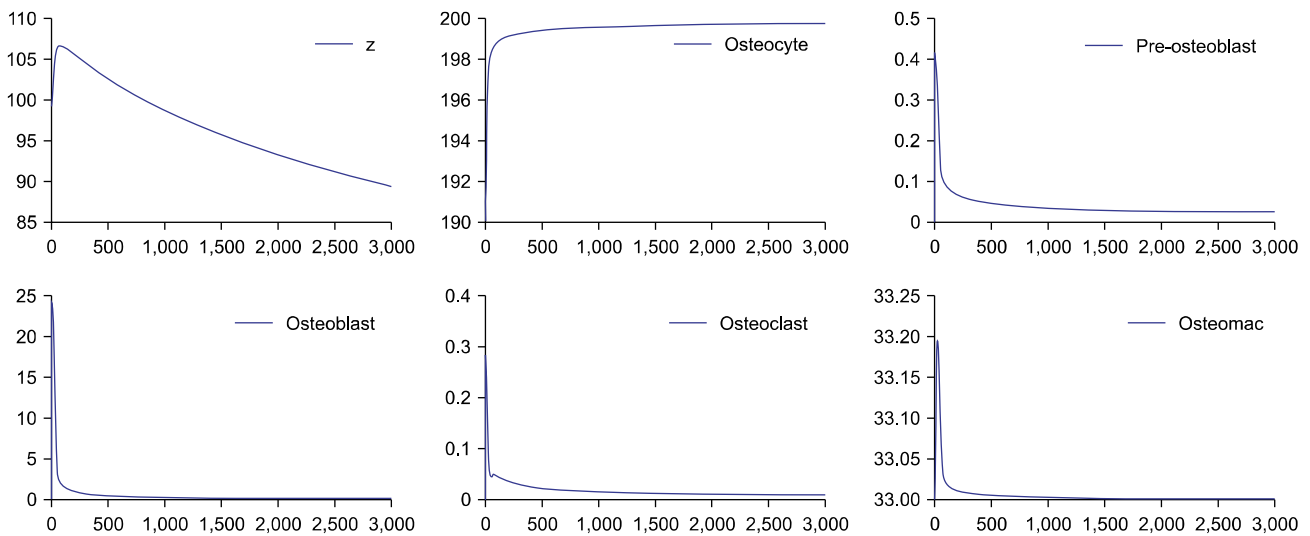


Fig. 3. Change of each cell's populations under stimulus when g21=0.5 and h12=1.7. z: bone volume.

$$\frac{dC}{dt} = \alpha_4 Y^{g_{41}} P^{g_{42}} (\epsilon + B)^{g_{43}} \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right)^{g_{44}} M^{h_{13}} - \beta_3 C^{f_{34}}$$

$$\frac{dM}{dt} = \alpha_5 (\beta_2 B^{f_{23}} + \beta_3 C^{f_{34}} + \delta P) \alpha_6^{h_{14}} - \beta_4 M^{h_{15}} + \mu$$

$$\frac{dz}{dt} = -k_1 C + k_2 B$$

(K_Y : critical value of osteocyte function, z : bone volume at a given time, κ_1 : bone resorption rate, κ_2 : bone formation rate)

결 과

Osteomac과 골세포가 골조직 개조에서 미치는 영향을 확인하기 위해서 골세포가 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 g_{21} 과 osteomac이 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 h_{12} 의 수치를 변경해 보았다. $g_{21}=0.8$, $h_{12}=1.7$ 로 설정하였을 때 골조직의 signaling이 유입되었을 때의 시뮬레이션의 Fig. 2와 같다. 일정 시간이 지난 후 모든 세포는 초기 수치로 회복되었고 골조직의 양이 약간 증가한 상태로 유지되면서 평형을 이루었다. 골세포가 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 g_{21} 을 0.5로 하향시키면 파골세포가 지속적으로 생성이 되면서 골조직의 양은 감소하였다(Fig. 3). Osteomac이 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 h_{12} 를 하향시키는 경우에도 파골세포가 지속적으로 생성되면서 골조직의 양이 감소하였다(Fig. 4). g_{21} 과 h_{12} 수치를 연속적으로 변화시켜보았다. Fig. 5A와 같이 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 g_{21} 이 1 이하이고 osteomac이 조골과정에 미치는

효과 파라미터인 h_{12} 가 낮은 경우에는 골세포가 조골과정에 미치는 효과 파라미터인 g_{21} 을 증가시켜도 골조직의 양은 정상수치를 회복하지 못했으며, h_{12} 가 증가에 따라 골조직이 지속적으로 증가하는 것이 아니고 오히려 골조직이 감소하였다가 다시 증가하는 양상을 보였다. Osteomac의 효과 파라미터인 h_{12} 의 수치가 어느 정도 이상이 되어야 조골과정이 원활히 이루어져서 골조직의 양이 향상됨을 보였다. Fig. 5B, 5C에서 Fig. 5A보다 더 큰 수치로 g_{21} 과 h_{12} 를 변화시켜보았다. g_{21} 을 0에서 1 사이로 변화시킨 우측 그림과 비교하여 0에서 2사이로 변화시킨 좌측 그림은 g_{21} 이 일정 수치 이상이 되면 골조직량이 유지되거나 향상됨을 볼 수 있었다.

고 찰

골조직 네트워크는 여러 세포들이 서로 연결되어 있어 직관적으로 시스템의 변화를 파악하기는 쉽지 않다. 따라서 수학적 모델링을 이용한 골조직 네트워크에 대한 탐색은 골조직 변화나 골조직 질병 발생, 골조직 질병 치료에 관한 아이디어를 제공해 줄 수 있다. 2003년 Komarova 등¹⁴⁾의 모델은 파골세포와 조골세포 간의 네트워크만으로 시스템을 구성하였고 현상과 유사한 결과를 도출하는 수학적 모델을 구축하였다. 해당 모델을 응용하여 2010년에는 Ayati 등¹⁵⁾이 myeloma와 치료방법에 따른 골조직 변화량을 수학적 모델링을 이용해서 보여주고 적절한 치료방법을 제시한 바 있다. 그러나 2003년 Komarova 등¹⁴⁾의 모델은 지정된 파라미터 이외에 파라미터가 조금만 변화되어도 해당 결과를 얻을 수 없는 단점을 가지고 있다. 2004년 Lemaire 등¹⁶⁾은 2003

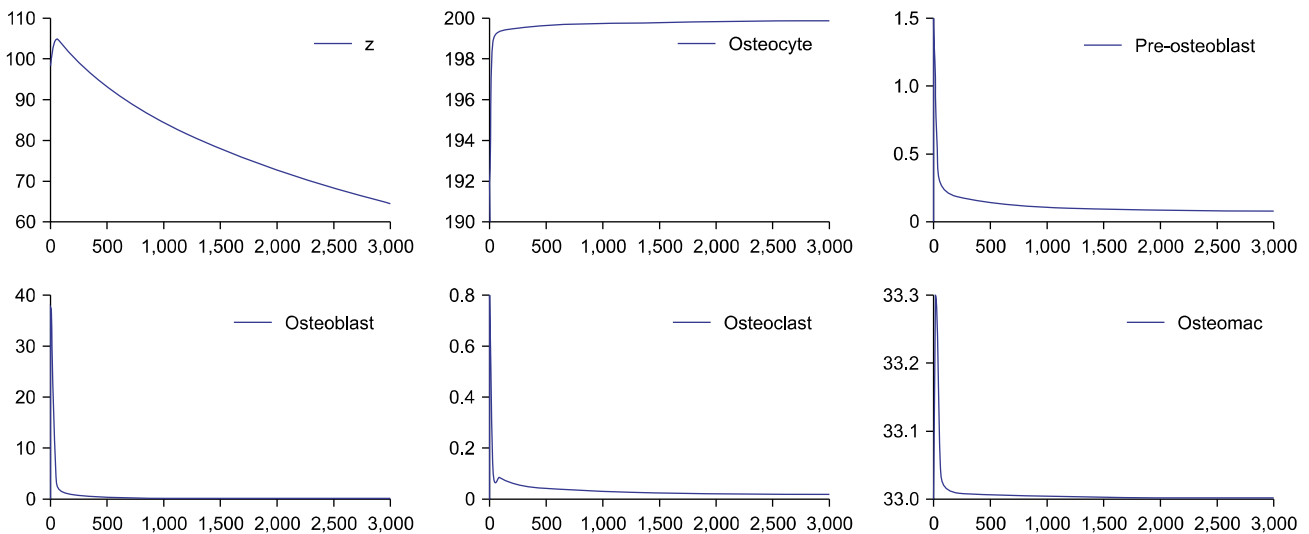


Fig. 4. Change of each cell's populations under stimulus when $g_{21}=0.8$ and $h_{12}=1.2$. z : bone volume.

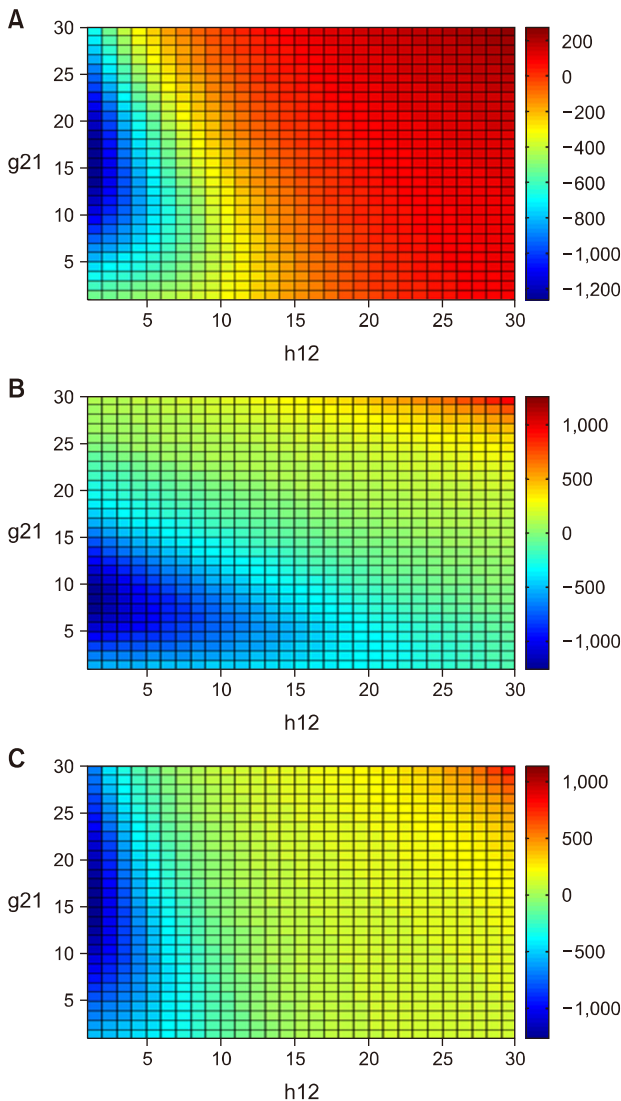


Fig. 5. Change of bone volume. (A) When g21 was gradually increased from 0 to 1 and h12 was gradually increased from 0 to 1. (B) When g21 was gradually increased from 0 to 2 and h12 was gradually increased from 0 to 1. (C) When g21 was increased from 0 to 1 and h12 was increased from 0 to 3. The score < 100 means bone volume decrease, and the score > 100 means bone volume increase.

년 모델에 비해 어느 정도의 파라미터 변화에도 안정적인 수학적 모델을 구축하였고 RANK-RANKL-OPG와 부갑상선 호르몬을 추가하여 생물학적 근거와 조금 더 부합된 모델링을 하였다. 이후 해당 모델은 더 발전되어 Hill function을 추가한 모델이 구축되었고¹⁷⁾ cytokine 조합을 모델에 투여하여 수학적 모델링을 바탕으로 적절한 골조직 치료 방법을 제안한 바 있다¹⁸⁾.

최근 osteomac에 대한 관심이 증가하고 있으나 osteomac에 관한 실험 논문은 많지 않고 그 실험결과들마저 상반된

경우도 있다. Osteomac은 아니지만 골관절염이나 관절성형술 환자에서 활액막에 있는 대식세포가 파골세포로 분화됨을 보여주거나^{19,20)} 대식세포가 파골세포 분화과정이나 파골세포의 소멸과정을 조절하고 있음을 제안하였다¹³⁾. 2008년 osteomac을 제거했을 때 조골세포의 표지자인 osteocalcin에 대한 mRNA가 감소하는 것을 보여줌으로써 파골세포뿐 아니라 조골세포의 분화에도 역할을 하고 있음을 증명하였다²¹⁾. 따라서 osteomac을 추가한 골조직 네트워크에 대한 탐색이 필요할 것이라 판단하여 Graham 등의 모델¹¹⁾에 osteomac을 노드로 추가하여 탐색해 보았다.

그 결과 골세포뿐 아니라 osteomac도 골조직 항상성 유지에 역할을 하고 있었으며 osteomac이 조골세포 분화에 미치는 효율성의 증가는 골세포의 효율성 정도에 관계없이 골조직량의 증가를 나타내었다. Osteomac이 조골세포 분화에 미치는 효율성이 일정 수치 이상이 되면 골조직이 안정적으로 유지되는 범위가 넓게 나타났다. 이와 달리, osteomac이 조골세포 분화에 미치는 효율성이 일정 수준 이하가 되면 골세포의 효율성을 증가시켜도 골조직량이 감소하는 결과를 나타내었다. 이는 골세포의 효율성은 osteomac의 효율성이 어느 수준 이상 유지될 때 골조직 개조에 영향을 미치지만, osteomac은 효율성의 변화에 대해 독립적으로 관여할 수 있음을 나타낸다고 생각되었다. 본 연구는 수학적 모델링을 이용한 탐색적 방법으로 실험적으로 부족한 osteomac 연구나 직관적으로 이해하기 힘든 골조직 네트워크에 대해 통찰을 제공해 줄 수 있다고 생각된다. 이번 연구에서는 osteomac과 골세포의 조골세포 과정에서의 효율성을 중심으로 살펴보았으나, 이후 연구에서는 osteomac과 골세포 모두 파골세포 분화를 촉진하는 링크를 가지고 있으므로 파골세포 분화 방향으로의 효율성에 대한 시뮬레이션도 필요할 것으로 보인다.

요약

본 연구는 osteomac과 골세포가 골조직 개조과정에서 하는 역할을 조사하고자 수학적 모델링 방법을 사용하였다. 2013년에 발표된 Graham's model¹¹⁾을 기반으로 하고 osteomac을 해당 네트워크에 추가하여 각 링크의 파라미터와 상미분방정식을 작성하였다. 컴퓨터 시뮬레이션 결과 osteomac과 골세포의 효율성이 일정 수치 이하인 경우 골조직 개조가 안정적이지 않고 감소하는 방향으로 이동하였다. 골세포의 효율성은 일정 수치 이상이 되어야 골조직 개조에도 골량이 유지되었으며 osteomac의 효율성의 수치가 증가함에 따라 골량도 함께 증가하는 것을 볼 수 있었다.

Osteomac의 효율성이 골조직 개조와 골량 유지에 많은 영향을 미칠 수 있음을 제안한다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단-여성과학자지원사업의 지원을 받아 수행된 연구임(2015R1C1A2A01055471).

References

- Breitling R: What is systems biology? *Front Physiol* 1: 9, 2010. <https://doi.org/10.3389/fphys.2010.00009>
- Kitano H: Systems biology: a brief overview. *Science* 295: 1662-1664, 2002. <https://doi.org/10.1126/science.1069492>
- Hsu YH, Niu T, Terwedow HA, et al.: Variation in genes involved in the RANKL/RANK/OPG bone remodeling pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in men. *Hum Genet* 118: 568-577, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00439-005-0062-4>
- Lamora A, Talbot J, Mullard M, Brounais-Le Royer B, Renidi F, Verrecchia F: TGF- β signaling in bone remodeling and osteosarcoma progression. *J Clin Med* 5: E96, 2016. <https://doi.org/10.3390/jcm5110096>
- Poon B, Kha T, Tran S, Dass CR: Bone morphogenetic protein-2 and bone therapy: successes and pitfalls. *J Pharm Pharmacol* 68: 139-147, 2016. <https://doi.org/10.1111/jphp.12506>
- Karner CM, Long F: Wnt signaling and cellular metabolism in osteoblasts. *Cell Mol Life Sci* 74: 1649-1657, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2425-5>
- Zhao B: TNF and bone remodeling. *Curr Osteoporos Rep* 15: 126-134, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11914-017-0358-z>
- Ruscitti P, Cipriani P, Carubbi F, et al.: The role of IL-1 β in the bone loss during rheumatic diseases. *Mediators Inflamm* 2015: 782382, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/782382>
- Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ: Osteocytes: the master cells in bone remodelling. *Curr Opin Pharmacol* 28: 24-30, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.02.003>
- Miron RJ, Bosshardt DD: OsteoMacs: key players around bone biomaterials. *Biomaterials* 82: 1-19, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.12.017>
- Graham JM, Ayati BP, Holstein SA, Martin JA: The role of osteocytes in targeted bone remodeling: a mathematical model. *PLoS One* 8: e63884, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063884>
- Raggatt LJ, Partridge NC: Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 285: 25103-25108, 2010. <https://doi.org/10.1074/jbc.R109.041087>
- Teitelbaum SL, Tondravi MM, Ross FP: Osteoclasts, macrophage, and the molecular mechanisms of bone resorption. *J Leukoc Biol* 61: 381-388, 1997.
- Komarova SV, Smith RJ, Dixon SJ, Sims SM, Wahl LM: Mathematical model predicts a critical role for osteoclast auto-crine regulation in the control of bone remodeling. *Bone* 33: 206-215, 2003. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(03\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(03)00157-1)
- Ayati BP, Edwards CM, Webb GF, Wikswo JP: A mathematical model of bone remodeling dynamics for normal bone cell populations and myeloma bone disease. *Biol Direct* 5: 28, 2010. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-5-28>
- Lemaire V, Tobin FL, Greller LD, Cho CR, Suva LJ: Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *J Theor Biol* 229: 293-309, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.03.023>
- Pivonka P, Zimak J, Smith DW, et al.: Theoretical investigation of the role of the RANK-RANKL-OPG system in bone remodeling. *J Theor Biol* 262: 306-316, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2009.09.021>
- Sun X, Su J, Bao J, et al.: Cytokine combination therapy prediction for bone remodeling in tissue engineering based on the intracellular signaling pathway. *Biomaterials* 33: 8265-8276, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.07.041>
- Sabokbar A, Fujikawa Y, Neale S, Murray DW, Athanasou NA: Human arthroplasty derived macrophage differentiate into osteoclast bone resorbing cells. *Ann Rheum Dis* 56: 414-420, 1997. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.56.7.414>
- Fujikawa Y, Sabokbar A, Neale S, Athanasou NA: Human osteoclast formation and bone resorption by monocytes and synovial macrophages in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 55: 816-822, 1996. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.55.11.816>
- Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, et al.: Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol* 181: 1232-1244, 2008. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.2.1232>