

골형성 및 혈관 석회화 관련 전사인자들의 역할

서울대학교 치과대학 세포발생생물학교실

류현모·윤원준

Role of Transcription Factors in Bone and Vascular Mineralization

Hyun-Mo Ryoo, Won-Joon Yoon

*Department of Cell and Developmental Biology, School of Dentistry and
Dental Research Institute, Seoul National University*

뼈는 우리 몸에서 석회화된 대표적인 조직으로서, 일생 동안 재형성 (remodeling) 과정을 통해 우리 몸을 지탱하는 역할을 하고 있다. 뼈에 생기는 질환들은 크게 3가지로 분류될 수 있는데 첫째, 성장 발육과정에서 크기의 이상이 생기는 경우 (예, FGF 수용체 변이, 성장호르몬 이상); 둘째, 뼈의 개조 (remodeling) 과정에서 조골세포에 의한 뼈 형성과 파골세포에 의한 흡수에 균형이 깨어지는 경우 (예, 골다공증, 골경화증); 셋째, 뼈의 석회화 (calcification) 혹은 광화 (mineralization)에 이상이 생기는 경우 (예, 골연화증) 가 있다. 뼈의 건강을 위해서는 발생과 성장발육과정에서 적절한 크기의 뼈가 만들어지고, 이들이 적절히 석회화되고, 적절한 속도로 새로운 기질 단백질과 무기염으로 재형성되고 새로운 형태로 개조됨으로써, 우리의 체중을 지탱하고 움직임의 지렛대 역할을 하는 골격으로서의 역할을 다할 수 있게 된다.

이와 반대로 우리 몸의 다른 조직들은 정상적으로는 석회화 되지 않아야 하며, 만일 석회화될 경우에는 심각한 문제를 야기하게 된다. 예를 들어, 아주 드물지만 FOP (fibrodysplasia ossificans progressiva) 라고 하여 골격근이 석회화되는 경우가 있으며, 동맥경화증의 경우 동맥 혈관벽의 석회화가 일어나는 경우가 있다. 후자의 경우 조금 더 세분해 보면, 혈관내벽에 축적된 콜레스테롤과 그에 의한 염증성 괴사에 따른 석회화가 일어나는 경우, 동맥 중간층의 평활근이 석회화되는 경우, 그리고 동맥의 판막에 생기는 석회화로 분류할 수 있겠다. 최근의 연구들에 의하면 FOP[1]나 동맥경화증[2~5] 같은 이소성 골형성 (ectopic bone formation)은 모두 bone morphogenetic protein (BMP)에 의한 뼈의 석회화와 유사한 발생기전을 가지는 것으로 알려져 있다. 따라서 BMP에 의한 뼈의 형성과 석회화 기전과 그 과정에 관여하는 핵심 전사인자의 기능을 이해함으로써

골다공증에서 뼈 형성을 촉진하는 방법을 이해함과 동시에, 동맥경화증에서의 혈관 석회화를 억제할 수 있는 방법을 제시할 수 있겠다.

BMP-2에 의한 골형성 촉진기전의 이해

BMP-2에 의해 조골세포의 분화가 촉진되는 기전에 대해서는 이전의 종설에서 광범위하게 밝힌바 있고[6], 그 과정에서 핵심적 역할을 하는 전사인자들에 대해서는 최근의 종설에서 정리한 바 있으며[7], 그 핵심적인 내용들을 요약하면 그림 1과 같다. 이를 간단히 설명하면, BMP는 이종2량체 혹은 동종2량체로 이종4량체의 BMP수용체에 결합하게 되고, 이 결합에 의해 bone morphogenetic protein receptor (BMPR)-I이 가진 세포질의 serine/threonine kinase가 활성화되고, 이것은 세포질에 존재하는 Smad (특히 BMP에 의해 활성화되는 Smad1, Smad5, Smad8)를 인산화시키게 되고, 인산화된 이들 Smad는 Smad4와 결합하여 핵으로 들어가게 된다. 이 과정에서 BMP ligand의 처리, BMPR-I의 활성화, Smad의 과발현 모두 조골세포로의 분화를 촉진하였다[8]. 결국 활성화된 Smad는 Dlx5라고 하는 homeodomain을 가진 전사인자의 발현을 촉진하여, Dlx5는 결국 조골세포 분화의 핵심 전사인자라 할 수 있는 Runx2[8] 또는 Osx[9]의 발현을 각각 촉진함으로써 궁극적으로 조골세포 분화의 표지인자인 alkaline phosphatase (ALP) [10], bone sialoprotein[11], osteocalcin[12] 등의 발현을 증가시키면서 석회화에 이르게 한다. 반면 또 다른 homeodomain을 가진 전사인자인 Msx2는 Dlx5와는 길항적인 작용을 하는 것으로 보고되어 있다[10,13]. 따라서 이들 전사인자들의 작용을 명확히 이해하고 이들의 기능을 조절할 수 있는 물질을 찾으면 새로운 약이 될 수 있고, 이들 전사인자의 발현을 줄기세포에서 마음대로 조절할 수 있으면 세포치료나 조직공학적 뼈의 재생이 가

이 연구는 과학재단 특정기초연구과제의 지원에 의해 이루어졌음 (R01-2005-000-10665-0).

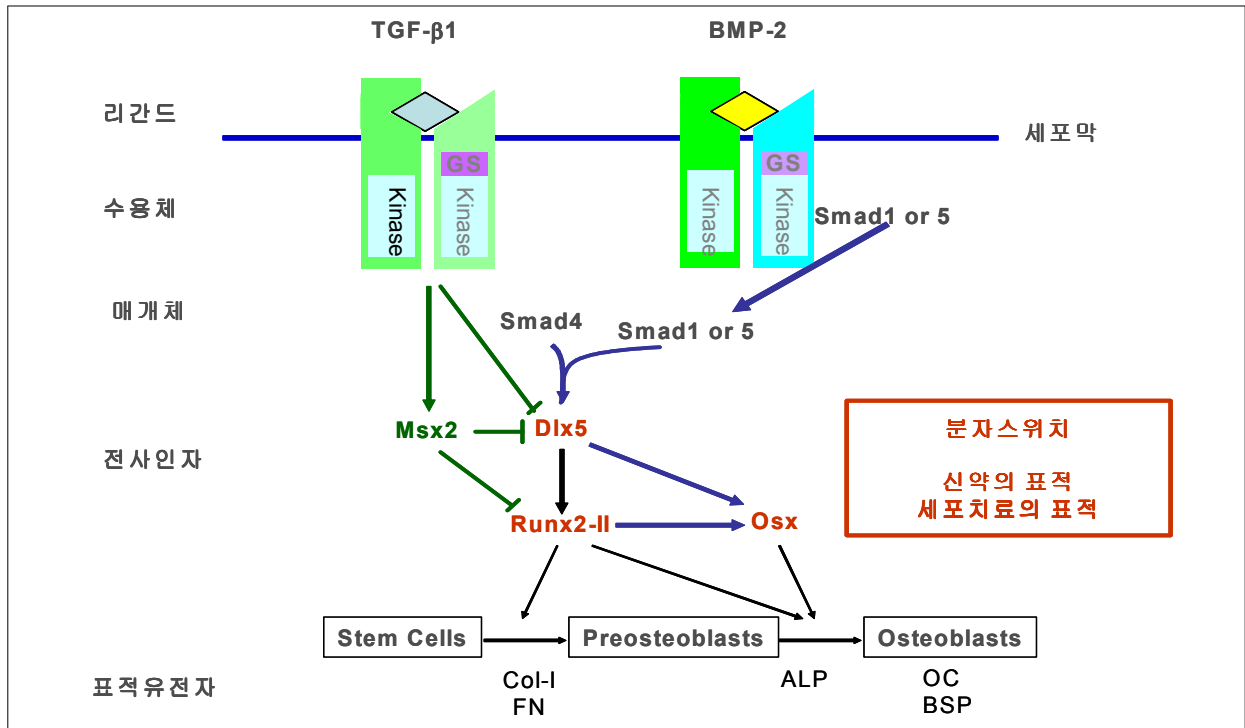


Fig. 1. BMP-2에 의한 조골세포 분화에서 핵심조절 전사인자들의 상호조절관계

능하리라 생각된다.

이소성 골형성의 병태생리

Bostrom 등[2]은 동맥경화증의 plaque에서 BMP-2가 증가한 것을 발견하였고, 어떤 경우에는 골수까지 가진 완전한 골 조직이 경화된 동맥조직에서 발견됨을 보고하였다. 이들은 동맥의 조직에서 세포를 배양할 때 조골세포 배양에서와 같은 석회화된 결절이 생성되며, 이 결절을 생성하는 세포는 혈관주위세포(pericyte)에서 유래한다는 것과 이 세포가 BMP-2를 발현한다는 것을 주장하였다. Iimura 등[3]은 BMP-2를 동맥주위에 처리할 경우 석회화 과정에서 Msx2를 포함한 homeodomain을 가진 전사인자들이 증가하는 것을 보고하여, BMP-2를 매개로 한 동맥경화증에서 homeobox 유전자의 중요성을 제시하였다. Shanahan 등[4]은 석회화된 동맥경화증 조직에서 osteopontin, matrix Gla protein 같은 골조직의 표지인자들의 발현이 증가함을 보고하여 동맥경화증의 석회화가 뼈의 석회화와 유사함을 밝혔다. BMP-2에 의한 혈관 석회화의 기전에 대한 설명은 최근의 종설에 잘 요약되어 있다[14].

BMP-2에 의한 혈관 석회화와 뼈의 석회화에 관여하는 전사인자는 많은 부분에서 일치한다. 즉 Runx2[15,16], Osx[13] 같은 핵심적인 조골세포 전사인자들의 작용은 조직과 관계없이 석회화를 위해서는 증가된다. 그러나 조골세포 분화과정에서의 Dlx5가 차지하는 중요한 역할[8]을 혈관의 석회화에 대해서는 Msx2의 역할[42]로 이해하고 있는 점이 차이가 있다. 따라서 이 종설에서는 그 차이점을 집중조명 함으로써 이해의 폭을

넓히고자 한다.

Msx2의 계통발생

생명체의 발생과정에서 꼬마선충 (*C. elegans*)이나 초파리 (*D. melanogaster*) 같은 하등동물에서부터 척추동물과 사람 같은 고등동물에 이르기까지 잘 보존되어 있는 유전자 가운데 하나가 homeobox 유전자이다. Homeobox 유전자는 같은 염색체에 뭉쳐서 존재하는 clustered homeobox gene group (Hox family)과 여러 염색체에 흩어져 존재하는 non-clustered homeobox gene group으로 분류되는데, Msx2 유전자는 흩어져 존재하는 군에 속하며 초파리에서 발견되는 *muscle segment homeobox (msh)* 유전자의 상동유전자이다[18]. 척추동물의 Msx2는 전사억제 인자(transcriptional repressor)로써 잘 알려져 있다. 설치류와 사람에서 Msx 유전자는 현재까지 Msx1, Msx2, 그리고 Msx3[19] 세 개의 유전자가 밝혀져 있으며, 이 세 유전자의 homeodomain 사이에는 98%의 상동성이 있다.

Msx2의 발생과정에서의 발현과 그 조절

현재까지 연구된 Msx2의 기능은 다양하게 보고되었다. 주로 발생과 분화과정에서 그 역할이 많이 연구가 되었는데, 신경관[20], 안구[21], 사지[22], 치아[23], 골[24], 근육[25], 피부[26], 모발[27], 췌장[28], 유선[29] 등의 광범위한 장기의 발생 및 분화과정에 관여하는 것으로 보고되고 있다. 따라서 Msx2의 기능과 그 발현조절 방법은 매우 다양할 것으로 인식되어 왔다. 또한 이러한 발생과정에서 Msx2는 BMP[30], FGF[31],

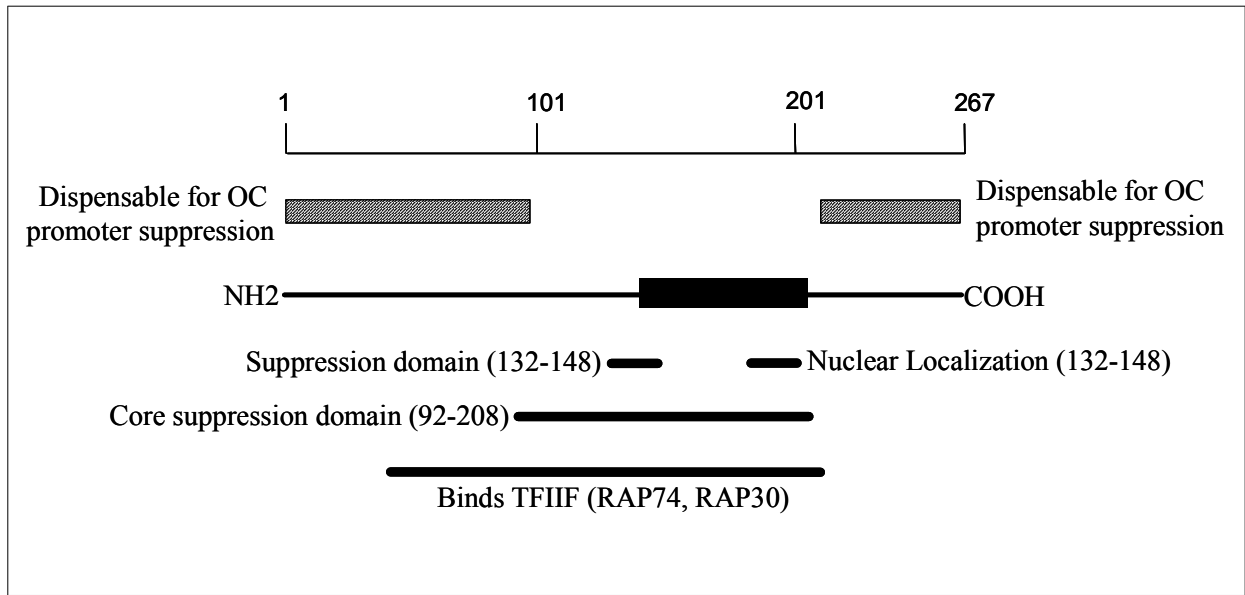


Fig. 2. Msx2 단백질의 분자구조와 작용 도메인

Wnt[32], vitamin D[33] 및 스테로이드호르몬[34] 등의 다양한 신호전달에 반응하며, 특히, 발생과정에서 나타나는 상피-간엽 조직 사이의 상호작용의 작용점에 있어서 Msx2의 기능은 중요하다고 보고되어 왔다[22]. 상피-간엽조직의 상호작용은 limb 발생과정에서 잘 연구되어 왔는데, Msx2의 경우 세포의 증식과 사멸을 조절함으로써 발생과정을 정교하게 조절한다[35].

Msx2의 유전자 구조

Msx2는 267개의 아미노산으로 구성되며 약 29 kDa의 분자량을 가지는 단백질이다. Proline과 lysine을 다량 함유하고 있으며, 소수성 아미노산이 많은 비율로 함유되어 있는 homeodomain을 가지는 전사인자이다. 그림 2에서 보여지듯이 Msx2는 homeodomain을 중심으로 N-terminal과 C-terminal로 나누어진다. Msx2의 가장 핵심적인 기능은 homeodomain에 있는데, 다른 homeodomain 단백질과 마찬가지로 60개의 아미노산 (180 nucleotides)으로 구성되며, 많은 전사인자의 DNA 결합부에 나타나는 3개의 helix구조가 연결된 helix-turn-helix motif를 가지고 있다. 이 도메인은 DNA 결합뿐만 아니라, 분화 과정에 수반되는 여러 단백질들 즉 Runx2[36], Dlx3[36], Dlx5[37], MINT[38], Groucho/TLE[39], Ku-70[40] 등과의 상호 결합을 통해 조골세포의 분화조절에 관여한다. Msx2가 가지는 전사억제 기능은 92-208 아미노산 부위에 있으며, 특히 homeodomain의 N-말단 쪽의 132-148에 존재하는 아미노산의 구조적 특성은 suppressor 기능을 결정짓는다[41]. 이 부위에 존재하는 147번 threonine과 148번 proline은 Msx2의 기능을 결정하는 중요한 아미노산 가운데 하나이다. 전자의 경우 threonine이 alanine으로 변이된 T147A-Msx2의 경우 DNA 결합능이 사라졌으며[37], 148번 proline잔기가 histidine으로 바

뀐 P148H-Msx2의 경우 사람에게 있어서 Boston-type craniosynostosis를 유발하는 원인으로 알려졌다[42].

Msx2가 조골세포 분화의 촉진인자라는 증거

Msx2가 조골 세포 분화의 촉진인자라는 사실은 최근의 보고들에서 나타난다 [17,43,44]. 반면 Msx2가 조골세포 분화의 억제인자라는 사실은 다양한 연구그룹에 의해 보고되어 온 사실이기도 하다. 따라서 어느 쪽이 정확한 사실인지에 대해 아직도 많은 논란의 대상이기도 하다. 앞서 언급한 Boston-type craniosynostosis는 두개골의 발생과정에서 두개골 접합이 빨리 형성되는 결과를 가져온다. 즉 이러한 현상을 두개골의 형성 과정에서 조골세포로의 분화가 정상에 비해 빨리 일어나기 때문이라고 보고 있는데, 이에 대한 원인은 부모로부터 받은 두 개의 상동 염색체 중에서 하나의 Msx2 allele에 돌연변이가 일어나 남으로써 일어나는 것으로 확인되었다. 즉 Msx2의 homeodomain에 위치한 148번 proline이 histidine으로 변이가 일어나게 되면, 두개골융합이 조기에 일어나는 원인이 되는 것이다. 하지만 이에 대한 정확한 분자생물학적 기전은 아직 밝혀지지 않고 있다. 한편, 변이가 일어난 Msx2의 경우 in vitro에서 정상 Msx2에 비해 강한 DNA 결합능을 갖게 되는 것으로 드러났다 [42]. 결과적으로 강한 결합력을 가진 Msx2에 의해 조골세포 분화가 더욱 빨리 일어나게 되어 두개골 융합이 조기에 일어나는 것이다. 이 변이단백질은 정상 Msx2에 비해 강한 DNA 결합능을 나타내므로 기능획득형 변이로 보고되고 있다[42]. 또한 이상의 P148H 변이단백질의 기능으로 미루어 Msx2를 조골세포 분화의 촉진전사인자로 분류하였다. 그러나 대부분의 실험적 결과는 Msx2가 전사억제기능을 나타내는 데 있어서 세포내의 기본 전사복합체 (basal transcription machinery)와 상호 작

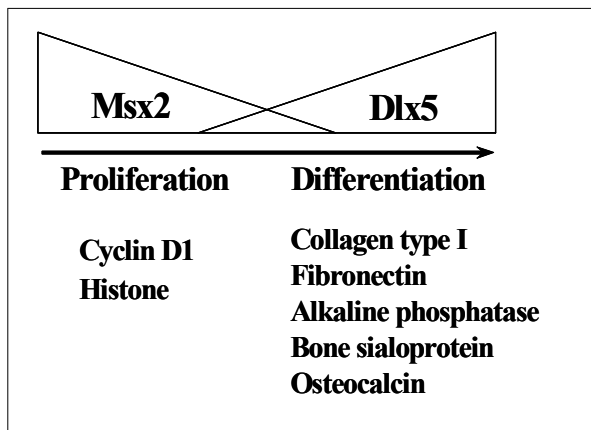


Fig. 3. 조골세포 분화과정에서 Dlx5와 Msx2의 시간적 발현 양상

용할 수 있다. 하지만 Msx2가 분화 촉진인자든 억제인자이든, 두개골 형성 및 조골세포 분화에 있어서 필수적이라는 사실은 분명하다. 이러한 사실은 BMP에 의한 조골세포 분화과정 중 Msx2는 BMP에 의해 직접적으로 유도되는 유전자이기 때문이다[30]. 그렇다면 과연 Msx2의 역할이 조골세포 분화에 어떤 역할을 하는가에 대한 물음은 여러 각도에서의 설명이 필요하리라 생각된다.

한편 Msx2의 경우 발생과정에서 세포의 증식과 사멸에 밀접한 관련성이 있다고 보고되어 왔다[35]. 따라서 Msx2는 분화를 위한 초기 세포증식에 결정적인 것이라는 가설이 중요한 단서가 될 것으로 생각한다. 즉 전구세포의 왕성한 증식은 분화에 필요한 세포의 수를 증가시켜, 조골세포로의 분화를 원활하게 유도할 것으로 생각된다 (Fig. 3). 뿐만 아니라, Msx2는 세포의 증식과 관련된 FGF 신호전달에도 반응한다고 보고되었으며[31], 증식과 관련된 세포내 신호전달과정의 표적유전자로써 보고된 바 있다. 또한 Msx2가 암의 증식과 관련되어 있다는 보고[29]는 Msx2의 석회화 촉진 기능이 세포증식에 따른 이차적인 결과일 가능성을 강력히 제시하는 증거라 할 수 있다.

동맥경화증의 석회화와 관련해서 Msx2의 기능은 Shao 등 [51]에 의해 처음으로 밝혀졌는데, Msx2를 과발현시킨 형질전환 쥐 (transgenic mouse)에서 고지방식을 섭취시킬 경우, 같은 고지방을 섭취한 정상 쥐에 비해 동맥의 석회화가 더욱 촉진된다는 사실을 확인하였다. 그리고 정상적인 쥐의 석회화 조직에서도 Msx2가 발현된다는 사실을 입증하였다. 또한 Msx2는 Wnt 신호전달을 활성화함으로써 동맥경화증에서의 석회화를 촉진하는 것으로 보고되고 있다[52]. Fig. 4에서 볼 수 있듯이 동맥의 석회화에 있어 Msx2는 BMP 신호와 Wnt 신호를 연결하는 중요한 전달자로서의 기능이 재조명되어야 할 것이다.

Wnt 신호전달과정은 조골세포의 분화에서도 필수적이라는 사실이 밝혀진 바 있는데[46~48], 생체내 Wnt 신호를 억제하는 LDL receptor-related protein (LRP)-5를 이용하여 Wnt 신호를 차단할 경우 조골세포의 분화가 억제되며, 골형성을 감소시킬

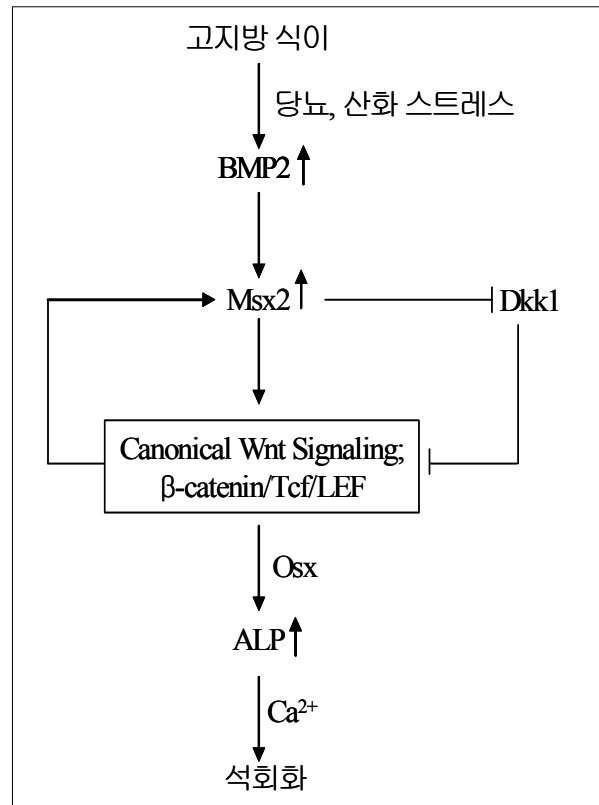


Fig. 4. 동맥경화증 조직의 석회화에서 Msx2의 작용점

과 동시에 골량을 감소시킬 수 있음을 보여주었다[50]. 사람에게 있어서 LRP5의 다양한 유전적 변이는 autosomal dominant osteopetrosis type I (ADOI), autosomal dominant osteosclerosis (ADOS), familial exudative vitreoretinopathy (FEVR), high bone mass (HBM), osteoporosis-pseudoglioma (OPPG), Van Buchem disease type II (VBII) 등의 골조직에서 심각한 병리현상을 보이기도 한다[53]. 뿐만 아니라 Wnt 신호전달은 최종적으로 Runx2 발현의 촉진 그에 따른 조골세포 분화촉진으로 연결된다는 사실이 보고된 바 있다[54].

Msx2가 조골세포 분화의 억제인자라는 증거

Msx2에 의한 조골세포 분화의 억제 기전은 다수의 연구그룹에 의해 소개되어 왔다[10,36,38,45]. 일반적으로 Msx2의 과발현은 조골세포의 분화를 억제하는 효과를 가진다[10,45]. 한편 분자 수준에서의 Msx2의 억제기전은 조골세포 분화인자인 alkaline phosphatase[10], osteocalcin[36,38]에 대한 연구로 이루어져 왔다. 또한 최근에 골형성 촉진인자인 Runx2[13]의 전사를 억제함으로써 일어날 수 있음을 보여주기도 하였다. 비록 Msx2가 조골세포 분화에 억제하는 기능을 가진 하지만, Msx2는 조골세포 분화에 필수적인 전사인자이기도 하다. 다만 이러한 억제기전은 앞서 밝힌 대로 분화이전 세포의 증식에 수반되는 필수과정에서 Msx2의 기능이 중요하리라 생각된다.

Msx2의 전사억제 기전은 조골세포 분화의 또 다른 핵심 전사인자인 Dlx5와의 상호작용에 있다. 이 두 전사인자는 BMP2에 의해 발현이 유도되며, 시기적으로 Msx2가 먼저 유도되지만, Msx2의 mRNA 수준이 완전히 사라지기 전에 Dlx5의 mRNA 양이 증가한다(Fig. 3)[7]. 결국 이 두 전사인자는 일정 시간 서로 공존하는 상태에서 동일한 DNA 염기서열에 대해 비슷한 결합능을 가짐으로써 복잡한 조절이 예측된다. 즉 다른 homeodomain을 가지는 전사인자들과 공통되게 ATTA- 혹은 -TAAT-로 구성된 공통된 DNA 서열을 인식하는데, 실제 ALP promoter와 Runx2 P1-promoter에 대해 이 두 전사인자는 같은 결합부위에 상호 경쟁적인 결합을 통해 서로 경쟁적 저해를 하는 것으로 보고되었다[10,13]. 뿐만 아니라 Msx2는 주변 단백질들과의 단백질-단백질 상호작용을 통하여 조골세포분화를 조절하기도 한다. 따라서 조골세포 분화과정에서 수반되는 Msx2는 분화를 촉진하는 전사인자인 Dlx5와 같은 DNA 서열에 대해 경쟁적 결합을 통해 작용하는 것인지, 아니면, 단백질간의 물리적인 상호작용에 의해 Dlx5 단백질의 활성을 억제하는지, 혹은 위 두 가지 기능이 동시에 작용하여 일어나는지에 대한 것은 명확하지 않다. 뿐만 아니라, Msx2가 가지는 억제 기전 가운데 흥미로운 사실은 Groucho/TLE라고 하는 단백질과 상호 작용함으로써 히스톤 단백질의 탈아세틸화(deacetylation)를 촉진시켜 Runx2의 전사를 감소시킬 수도 있는 것으로 밝혀졌는데, 즉 Groucho/TLE는 히스톤 탈아세틸효소(histone deacetylase)의 접근을 촉진하는데 Msx2가 Groucho/TLE를 먼저 취함으로써 Runx2의 탈아세틸화를 자극하고, 따라서 Runx2 단백질의 유비퀴틴화를 촉진하는 것으로 보여진다[39].

뼈와 동맥경화의 석회화 과정에서 Msx2의 작용에 대한 종합적 고찰

이상과 같이 뼈와 동맥경화에서의 조골세포 분화와 석회화 과정은 공통점과 상이점을 가지고 있으며, 특히 Msx2의 기능에 대한 해석에서 상반되어 보이는 결과들로 인하여 혼돈을 야기하는 까닭에 몇 가지 정리되어야 할 부분이 있다. 첫째, Msx2가 조골세포 분화에 긍정적 역할을 보인다고 주장한 그룹의 실험 방법은 대부분 adenovirus를 통해 Msx2의 발현을 증가시키고, 1주일 정도 후에 조골세포 분화를 여러 표지인자의 발현으로 분석하였다[17,44]. 따라서 이 결과로는 Msx2가 조골세포 표지인자의 발현에 미치는 직접적인 영향을 주장할 수 없다는 것이다. 즉 Msx2 발현에 따른 이차, 삼차적인 효과의 종합에 의해 조골세포 분화가 일어났을 가능성이 있다는 것이다. 둘째, Msx2가 주로 세포의 증식, cyclin 발현을 촉진하는 점, 조골세포의 증식기에 Msx2가 주로 발현되는 점을 고려할 때, Msx2는 조골 전구세포의 숫자를 증가시키는 쪽에 주된 역할이 있을 것으로 예측되며, 이들의 과발현이 떨어지는 시점에서 Dlx5[8], Osx[17], Wnt 신호활성화[52] 같은 연속된 작용에 의해 1주일

이 지난 후에는 골형성에 긍정적인 효과로 보여질 수 있을 것으로 생각한다. 그러나 단기적이고 직접적인 Msx2의 역할은 증식기에서 세포분열을 증가시키면서 그 기간 동안에는 분화를 억제하는 작용을 할 것으로 생각된다.

뼈나 동맥경화증의 석회화와 관련된 현상에는 공통적으로 BMP2에 의한 자극이 초기 발생인자로 지목되고 있는 것으로 볼 때, Dlx5가 후속적인 분화과정에서 Runx와 Osx의 발현을 증가시키며 분화를 촉진하는 중요한 역할을 할 것으로 생각한다. 뿐만 아니라, 최근 조골세포 분화에 있어서 Wnt 신호전달이 필수적이라는 보고들[49,50]과, 동맥의 석회화에서 Msx2가 Osx[17]나 Wnt 신호를 활성화시킨다는 보고[52]를 종합해 볼 때, Msx2는 조골세포의 증식뿐만 아니라 이후의 분화과정까지 함께 관리하는 중요한 전사인자로 생각할 수 있을 것이다.

이상에서 고찰하였듯이, Msx2의 생물학적 기능은 발생과정에서부터 뼈의 재형성 과정까지 다양한 단계에서 작용을 보일 것으로 예상된다. Msx2에 대한 많은 연구결과는 주로 조골 세포 분화를 통해 알려진 사실들이지만, 최근 들어 Wnt 신호전달[52]과의 연관성을 통해, 암의 생성[34], 치아[23], 모발[27], 유선의 분화[29] 등에 작용하는 Msx2의 기능을 종합적으로 고려할 때, 동맥의 석회화뿐만 아니라 또 다른 국면의 Msx2의 기능이 있음을 시사하고 있다. 따라서 더욱 세부적인 분자수준에서의 Msx2 연구가 요구되는 것이 사실이다. 최근들어 아세틸화, 유비퀴틴화, 인산화 등 단백질의 합성 후 변형(posttranslational modification)이 분자의 기능 및 활성조절에 중요한 영향을 미친다는 명확한 증거들이 제시되고 있는 시점에서 이러한 단계의 Msx2 조절연구는 가장 절실한 과제라고 본다. 또한 이러한 다양한 과정의 조절에 대한 이해가 석회화 과정뿐 아니라 다른 생물현상의 이해를 증진시키는 역할을 할 것으로 생각한다.

참고문헌

1. Kaplan, FS, Shore, EM, Zasloff, MA: *Fibrodysplasia ossificans progressiva: searching for the skeleton key. Calcif Tissue Int 59:75-78, 1996*
2. Bostrom K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL: *Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest 91:1800-1809, 1993*
3. Iimura T, Oida S, Takeda K, Maruoka Y, Sasaki S: *Changes in homeobox-containing gene expression during ectopic bone formation induced by bone morphogenetic protein. Biochem Biophys Res Commun 201:980-987, 1994*
4. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, Weissberg PL: *High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. J Clin Invest 93:*

- 2393-2402, 2002
5. Demer LL, Tintut Y, Parhami F: *Novel mechanisms in accelerated vascular calcification in renal disease patients. Curr Opin Nephrol Hypertens 11:437-443, 2002*
 6. 류현모: *Osteoblast에 미치는 BMP-2의 역할. 대한내분비학회지 16:393-400, 2001*
 7. Ryoo HM, Lee MH, Kim YJ: *Critical molecular switches involved in BMP-2-induced osteogenic differentiation of mesenchymal cells. Gene (in press), 2005*
 8. Lee MH, Kim YJ, Kim HJ, Park HD, Kang AR, Kyung HM, Sung JH, Wozney JM, Kim HJ, Ryoo HM: *BMP-2-induced Runx2 expression is mediated by Dlx5, and TGF-beta 1 opposes the BMP-2-induced osteoblast differentiation by suppression of Dlx5 expression. J Biol Chem 278:34387-34394, 2003*
 9. Lee MH, Kwon TG, Park HS, Wozney JM, Kim HJ, Ryoo HM: *BMP-2-induced Osterix expression is mediated by Dlx5 but is independent of Runx2. Biochem Biophys Res Commun 309(3): 689-694, 2003*
 10. Kim YJ, Lee MH, Wozney JM, Cho JY, Ryoo HM: *Bone morphogenetic protein-2-induced alkaline phosphatase expression is stimulated by Dlx5 and repressed by Msx2. J Biol Chem 279:50773-50780, 2004*
 11. Roca H, Phimphilai M, Gopalakrishnan R, Xiao G, Franceschi RT: *Cooperative interactions between RUNX2 and homeodomain protein-binding sites are critical for the osteoblast-specific expression of the bone sialoprotein gene. J Biol Chem 280:30845-30855, 2005*
 12. Xiao ZS, Hinson TK, Quarles LD: *Cbfa1 isoform overexpression upregulates osteocalcin gene expression in non-osteoblastic and pre-osteoblastic cells. J Cell Biochem 74:596-605, 1999*
 13. Lee MH, Kim YJ, Yoon WJ, Kim JI, Kim BG, Hwang YS, Wozney JM, Chi XZ, Bae SC, Choi KY, Cho JY, Choi JY, Ryoo HM: *Dlx5 specifically regulates Runx2 type II expression by binding to homeodomain-response elements in the Runx2 distal promoter. J Biol Chem 280:35579-35587, 2005*
 14. Hruska KA, Mathew S, Saab G: *Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. Circ Res 97(2): 105-114*
 15. Steitz SA, Speer MY, Curinga G, Yang HY, Haynes P, Aebbersold R, Schinke T, Karsenty G, Giachelli CM: *Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. Circ Res 89:1147-1154, 2001*
 16. Tyson KL, Reynolds JL, McNair R, Zhang Q, Weissberg PL, Shanahan CM: *Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:489-494, 2003*
 17. Cheng SL, Shao JS, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA: *MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. J Biol Chem 278:45969-45977, 2003*
 18. Hill RE, Jones PF, Rees AR, Sime CM, Justice MJ, Copeland NG, Jenkins NA, Graham E, Davidson DR: *A new family of mouse homeo box-containing genes: molecular structure, chromosomal location, and developmental expression of Hox-7.1. Genes Dev 3:26-37, 1989*
 19. Shimeld SM, McKay IJ, Sharpe PT: *The murine homeobox gene Msx-3 shows highly restricted expression in the developing neural tube. Mech Dev 55:201-210, 1996*
 20. Ramos C, Robert B: *msh/Msx gene family in neural development. Trends Genet 21:624-632, 2005*
 21. Holme RH, Thomson SJ, Davidson DR: *Ectopic expression of Msx2 in chick retinal pigmented epithelium cultures suggests a role in patterning the optic vesicle. Mech Dev 91:175-187, 2000*
 22. Cheng HC, Wang CK, Upholt WB: *Transcriptional regulation of Msx2 in the AERs of developing limbs is dependent on multiple closely spaced regulatory elements. Dev Biol 270:513-524, 2004*
 23. Davideau JL, Demri P, Hotton D, Gu TT, MacDougall M, Sharpe P, Forest N, Berdal A: *Comparative study of MSX-2, DLX-5, and DLX-7 gene expression during early human tooth development. Pediatr Res 46:650-656, 1999*
 24. Satokata I, Ma L, Ohshima H, Bei M, Woo I, Nishizawa K, Maeda T, Takano Y, Uchiyama M, Heaney S, Peters H, Tang Z, Maxson R, Maas R: *Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation. Nat Genet 24:391-395, 2000*
 25. Brunelli S, Tagliafico E, De Angelis FG, Tonlorenzi R, Baesso S, Ferrari S, Niinobe M, Yoshikawa K, Schwartz RJ, Bozzoni I, Ferrari S, Cossu G: *Msx2 and necdin combined activities are required for smooth muscle differentiation in mesoangioblast stem cells. Circ Res 94:1571-1578, 2004*
 26. Stelnicki EJ, Komuves LG, Holmes D, Clavin W, Harrison MR, Adzick NS, Largman C: *The human homeobox genes*

- MSX-1, MSX-2, and MOX-1 are differentially expressed in the dermis and epidermis in fetal and adult skin. Differentiation 62:33-41, 1997*
27. Ma L, Liu J, Wu T, Plikus M, Jiang TX, Bi Q, Liu YH, Muller-Rover S, Peters H, Sundberg JP, Maxson R, Maas RL, Chuong CM: 'Cyclic alopecia' in *Msx2* mutants: defects in hair cycling and hair shaft differentiation. *Development 130:379-389, 2003*
28. Kritzik MR, Jones E, Chen Z, Krakowski M, Krahl T, Good A, Wright C, Fox H, Sarvetnick N: *PDX-1* and *Msx-2* expression in the regenerating and developing pancreas. *J Endocrinol 163:523-530, 1999*
29. Satoh K, Ginsburg E, Vonderhaar BK: *Msx-1* and *Msx-2* in mammary gland development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia 9:195-205, 2004*
30. Marazzi G, Wang Y, Sassoon D: *Msx2* is a transcriptional regulator in the *BMP4*-mediated programmed cell death pathway. *Dev Biol 86:127-138, 1997*
31. Ignelzi MA Jr, Wang W, Young AT: Fibroblast growth factors lead to increased *Msx2* expression and fusion in calvarial sutures. *J Bone Miner Res 18:751-759, 2003*
32. Willert J, Epping M, Pollack JR, Brown PO, Nusse R: A transcriptional response to *Wnt* protein in human embryonic carcinoma cells. *BMC Dev Biol 2:8, 2002*
33. Lezot F, Descroix V, Mesbah M, Hotton D, Blin C, Papagerakis P, Mauro N, Kato S, MacDougall M, Sharpe P, Berdal A: Cross-talk between *Msx/Dlx* homeobox genes and vitamin D during tooth mineralization. *Connect Tissue Res 43:509-514, 2002*
34. Malewski T, Milewicz T, Krzysiek J, Gregoraszczyk EL, Augustowska K: Regulation of *Msx2* gene expression by steroid hormones in human nonmalignant and malignant breast cancer explants cultured in vitro. *Cancer Invest 23:222-228, 2005*
35. Guha U, Gomes WA, Kobayashi T, Pestell RG, Kessler JA: In vivo evidence that *BMP* signaling is necessary for apoptosis in the mouse limb. *Dev Biol 249:108-120, 2002*
36. Hassan MQ, Javed A, Morasso MI, Karlin J, Montecino M, van Wijnen AJ, Stein GS, Stein JL, Lian JB: *Dlx3* transcriptional regulation of osteoblast differentiation: temporal recruitment of *Msx2*, *Dlx3*, and *Dlx5* homeodomain proteins to chromatin of the osteocalcin gene. *Mol Cell Biol 24:9248-9261, 2004*
37. Zhang H, Hu G, Wang H, Scivolino P, Iler N, Shen MM, Abate-Shen C: Heterodimerization of *Msx* and *Dlx* homeoproteins results in functional antagonism. *Mol Cell Biol 17:2920-2932, 1997*
38. Newberry EP, Latifi T, Towler DA: The RRM domain of *MINT*, a novel *Msx2* binding protein, recognizes and regulates the rat osteocalcin promoter. *Biochemistry 38:10678-10690, 1999*
39. Yoshizawa T, Takizawa F, Iizawa F, Ishibashi O, Kawashima H, Matsuda A, Endo N, Kawashima H: Homeobox protein *MSX2* acts as a molecular defense mechanism for preventing ossification in ligament fibroblasts. *Mol Cell Biol 24:3460-3472, 2004*
40. Willis DM, Loewy AP, Charlton-Kachigian N, Shao JS, Ornitz DM, Towler DA: Regulation of osteocalcin gene expression by a novel *Ku* antigen transcription factor complex. *J Biol Chem 277:37280-37291, 2002*
41. Newberry EP, Latifi T, Battaile JT, Towler DA: Structure-function analysis of *Msx2*-mediated transcriptional suppression. *Biochemistry 36:10451-10462, 1997*
42. Ma L, Golden S, Wu L, Maxson R: The molecular basis of Boston-type craniosynostosis: the Pro148->His mutation in the N-terminal arm of the *MSX2* homeodomain stabilizes DNA binding without altering nucleotide sequence preferences. *Hum Mol Genet 5:1915-1920, 1996*
43. Gotoh M, Notoya K, Ienaga Y, Kawase M, Makino H: Enhancement of osteogenesis in vitro by a novel osteoblast differentiation-promoting compound, *TAK-778*, partly through the expression of *Msx2*. *Eur J Pharmacol 451:19-25, 2002*
44. Ichida F, Nishimura R, Hata K, Matsubara T, Ikeda F, Hisada K, Yatani H, Cao X, Komori T, Yamaguchi A, Yoneda T: Reciprocal roles of *MSX2* in regulation of osteoblast and adipocyte differentiation. *J Biol Chem 279:34015-34022, 2004*
45. Dodig M, Tadic T, Kronenberg MS, Dacic S, Liu YH, Maxson R, Rowe DW, Lichtler AC: Ectopic *Msx2* overexpression inhibits and *Msx2* antisense stimulates calvarial osteoblast differentiation. *Dev Biol 209:298-307, 1999*
46. Zebboudj AF, Shin V, Bostrom K: Matrix *GLA* protein and *BMP-2* regulate osteoinduction in calcifying vascular cells. *J Cell Biochem 90:756-765, 2003*
47. Griethe W, Schmitt R, Jurgensen JS, Bachmann S, Eckardt KU, Schindler R: Bone morphogenic protein-4 expression in vascular lesions of calciphylaxis. *J Nephrol 16:728-732, 2003*
48. Simic P, Vukicevic S: Bone morphogenetic proteins in

- development and homeostasis of kidney. Cytokine Growth Factor Rev 16:299-308, 2005*
49. Kolpakova E, Olsen BR: *Wnt/beta-catenin--a canonical tale of cell-fate choice in the vertebrate skeleton. Dev Cell 8:626-627, 2005*
50. Glass DA 2nd, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, Taketo MM, Long F, McMahon AP, Lang RA, Karsenty G: *Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. Dev Cell 8:751-764, 2005*
51. Shao JS, Cheng SL, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA: *Teriparatide (human parathyroid hormone (1-34)) inhibits osteogenic vascular calcification in diabetic low density lipoprotein receptor-deficient mice. J Biol Chem 278:50195-50202, 2003*
52. Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA: *Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. J Clin Invest 115:1210-1220, 2005*
53. Levasseur R, Lacombe D, de Vernejoul MC: *LRP5 mutations in osteoporosis-pseudoglioma syndrome and high-bone-mass disorders. Joint Bone Spine 72:207-214, 2005*
54. Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyann H, Bhat RA, Bodine PV, Komm BS, Javed A, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB: *Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression. J Biol Chem 280:33132-33140, 2005*