대한척추외과학회지 제 8 권 제 3 호
Journal of Korean Spine Surg.
Vol. 8, No. 3, pp 372~377, 2001

성장 인자 및 그의 임상 적용

문성환 · 김학선 · 이환모

연세대학교 의과대학 정형외과학교실

Growth Factors and Their Clinical Applications

Seong-Hwan Moon, M.D., Hak-Sun Kim, Hwan-Mo Lee, M.D.

Department of Orthopedic Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

– Abstract –

Growth factor is a polypeptide regulating cell proliferation, maturation, activity, and apoptosis. Despite its small molecular weight, it exerts diverse and potent biologic effects on cellular function. With recent development of molecular biology and vector technology, it is now possible to administer recombinant growth factors in clinical dose and modify somatic cell with growth factor encoding gene. Research fields in spinal surgery can be divided into spinal fusion, disc regeneration and spinal cord regeneration. In this review, we discuss the action mechanism of growth factors and their possible clinical applications especially in the field of spinal fusion and disc regeneration.

Key Words : Growth factor, Spinal fusion, Disc degeneration

근래에 발전된 분자 생물학적 기법으로 세포내 및 세포간 작용에 대해 많은 이해가 이루어졌고 이에 기초하여 병인의 탐구 및 병인에 기초한 치료도 가능하게 되었다. 비교적 타 분야에 비해 생역학적인 요소가 강조된 척추외과분야에서도 최근부터는 여러 척추 질환의 생물학적 이해 및 치료적 접근이 시도되고 있다[16,24,25,33]. 척추분야에서 치료적 목적으로 선택 가능한 생물학적 방법은 세포 이식, 조직 이식, 성장 인자 치료, 유전자 치료 등이 있을 수 있다. 척추에 관련된 조직 재생 연구에서 분야에 근거하여 크게 나누면 첫째, 척추 유합(spinal fusion), 둘째 추간판 기질 재생(regeneration of intervertebral disc matraix), 셋째 척수 재생(spinal cord regeneration)으로 나눌 수 있다. 이번 논문에서는 특히 척추 유합 및 추간판 재생에 중점을 두고 성장 인자의 유용성 및 그의 임상적 적용에 대해 다루겠다. 본 논문에서 언급되는 성장 인자들의 원명은 Table 1에 표기하였다.

Table 1. Abbreviation used in the text

TGF-ß1	Transforming growth factor-beta1
EGF	Epidermal growth factor
IGF-1	Insuline like growth factor-1
BMP-2	Bone morphogenic protein-2
PDGF	Platelet derived growth factor
OP-1	Osteogenic protein-1
aFGF	acidic Fibroblast growth factor
bFGF	basic Fibroblast growth factor

세포간 신호 전달 기전

모든 살아있는 세포는 주위 환경으로부터 자극을 받고 이에 적절한 반응을 한다. 단세포 생물의 경우에도 외계에 직접 반응하면서 다른 세포가 분비한 물질에도 반응

Address reprint requests to
Seong-Hwan Moon, M.D.
Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University College of Medicine
#134 Shinchon-dong, Soedaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel : 82-2-361-5649, Fax : 82-2-363-1139, E-mail : shmoon@yumc.yonsei.ac.kr

하여 결국은 세포간 통신을 할 수 있다. 이에 반해서 다세포 식물 및 동물의 경우는 직접 개개의 세포가 외계에 반응할 필요는 없지만 기능적으로 다양한 수많은 세포를 단일 유기체의 생존을 위해 유기적으로 통합 및 조절하기 위해서는 복잡한 세포간 통신 수단이 필요하다. 이러한 기능은 한 세포에서 생성 분비된 물질이 다른 세포의 수용체(receptor)에 결합됨으로서 기능에 변화를 주어 전체적으로는 생명체의 효과적인 유지가 가능해진다. 신호전달 물질(signaling molecule)이 수용체에 결합하면 대사, 운동, 분열, 분화, 생존, 사멸 등 거의 모든 세포 활동을 일으키게된다. 세포간 신호 전달하는 물질은 작용기전에 따라 분류할 수 있다. 첫째, 스테로이드 호르몬(mineralocorticcoid, glucocorticoid, estrogen, teststerone, progesterone)을 들 수 있는데 구조적으로는 다르지만 작용기전이 비슷한 갑상선호르몬, 비타민 D, retinoic acid 등도 이 범주에 속한다. 스테로이드 계통 호르몬은 세포에서 분비 후 목표 기관에 도착하면 세포막을 투과하여 세포내 수용체에 결합하여 유전자 발현을 조절함으로서 다양한 세포 반응을 일으킨다. 둘째, nitric oxide와 carbon monoxide 같은 활성 기체 상태의 신호 전달 물질은 반감기가 짧아 원거리에 작용할 수 없고 세포 주위에만 작용하게 된다. 이들도 역시 세포막을 통과하여 세포내 효소의 활성 변화를 시킴으로서 다양한 세포 반응을 일으킨다. 셋째, 신경신호전달 물질(neurotransmitter) 계통으로 이들은 신경과 신경, 신경과 목표 조직사이에 신호 전달을 매개한다. 대부분 수용성 물질로서 세포막 투과가 어렵기 때문에 세포막에 위치한 수용체에 결합하여 세포내 이차적 신호전달 기전을 이용하여 세포반응을 일으킨다. 넷째, 펩타이드 호르몬과 성장 인자(growth factor)는 수개 혹은 수백개의 아미노산 결합에 의해 구성되며 다양한 세포 반응을 일으킨다. 신경 신호 전달에 특히 이용되면 neuropeptide라고 불리며 여기에는 enkephlins, endorphins 등이 속한다. 성장 인자는 세포 분열, 성장, 분화에 중요한 조절 기능을 담당한다. 다섯째, 지질에서 유래된 신호전달 물질로서 prostaglandin, prostacyclin, thromboxane, leukotriene 등이 여기에 속하며 역시 반감기가 짧기 때문에 세포내 혹은 세포 주위에서만 작용한다.

성장 인자

전술한 바와 같이 성장 인자는 아미노산의 펩타이드 결합에 의하며 형성되며 세포 분열, 성장, 분화에 중요한 역할을 가지고 있다. 역사적으로는 Rita Levi-Montalcini에 의해 nerve growth factor(NGF) 가 1950년대에 성장 인자로서는 처음 발견되었다[13]. NGF는 신경의 성장 및 생존에 필요한 성장 인자로서 발견이후 실험실에서 그 기능이 자세히 연구되다가 우연히 세포 분열에 영향을 미치는 새로운 성장 인자가 발견되었는데 이는 후에 epidermal growth factor(EGF)로 명명되었다. 성장 인자의 개념이 정립되고 지속적으로 연구됨으로서 그 이후 수많은 종류의 성장 인자가 발견 보고되었다.

성장 인자의 세포내 신호전달

성장 인자는 목표 세포막에 선택적인 수용체를 가지고 있으며 여기에 성장 인자가 결합하며 성장인자의 계통에 따라 선택적인 세포내 신호전달 체계(intracellular signal transduction pathway)를 이용하여 각 성장 인자 고유의 세포 성장, 분열, 분화, 생존, 사멸, 기질 생성 등의 생물학적 반응을 일으킨다[7,9]. 본 논문에서 언급될 주요 성장 인자들의 세포내 신호전달 기전을 보면 먼저 TGF-β1, BMP-2, OP-1(BMP-7) 등은 TGF 계통에 속하는 성장 인자로서 역시 TGF 계통 수용체에 결합하여 주로 Smad를 통해서 신호 전달되어 세포 유전자 발현에 관여한다. 세포 생존성에 중요한 역할을 하는 IGF-1은 P13K 경유 NF-κB를 이용하여 유전자 조절에 관여하여 효과를 나타낸다[7,10].

척추 유합에서의 성장 인자

정상적으로 골조직에는 여러 가지의 성장 인자가 포함되어 있다. 여기에는 BMP 계통, IGF-1, IGF-II, TGF-β1, PDGF, aFGF, bFGF 등이 속하는데 이중에서 BMP 계통만 유일하게 이소성 골형성 능력이 있다. 이러한 이유로 현재까지 시행된 성장 인자를 이용한 척추 유합 연구에서는 주로 BMP 계통의 성장 인자 만 연구되었다. 이에 반해 이론적으로는 타당성 있는 조혈세포내의 성장 인자들의 혼합물을 사용한 척추 유합 연구가 있기는 하나 괄목할만한 임상 결과는 아직 없다[14]. 아래에서는 주로 BMP계통의 성장 인자에 의한 척추 유합 연구에 대해 알아보겠다.

BMP-2

Monroe 등[21]은 토끼의 척추 유합 모델에서 시간별 위치별 유전자 발현을 조사하면서 외부 투입된 BMP-2의 효과를 관찰하였는데 BMP-2의 투여가 전반적인 골형성 유전자들의 발현을 앞당기고 강력하게 유지시킬 수 있음을 보고하였다. 그 이후 소 동물 대동물 그리고 사

람에서의 척추 유합술에 있어 BMP-2는 강력한 골형성 능력을 보여주고 있다[1,23,29].

자가골 혹은 전달체 없이 직접 정제된 BMP를 추간판에 주사하면 방사선학적 조직학적 전방유합을 이룰 수 있었는데 이는 BMP에 의한 국소침습적 척추 전방 유합술의 가능성을 제시하고 있다[22]. 특히 BMP-2와 케이지를 이용한임상연구에서 BMP-2의첨가가 향상된 척추 유합율, 짧은 수술시간, 짧은 재원일수를 얻을 수 있었다[28]. Riew 등[27]은 아데노바이러스를 이용하여 중배엽 간세포(mesenchymal stem cell)에 BMP-2 유전자를 전달하고이를척추에 이식하였을 때 골유합을 이룰 수 있었는데 이는 중배엽 간세포와유전자전달을 조화한 방법이라고볼 수 있다.

BMP-7(OP-1)

토끼를 이용한 척추 후외방 골유합 모델에서 전달체(carrier)를 이용한 OP-1을 척추 유합 부위에 투여 했을 때 100%에서 임상적 골유합을 이룰 수 있었으나 자가골 이식일때는 65%, 전달체만 투여한 경우는 0%에서 골유합을 얻을 수 있었다[2]. 이는 자가골 이식 없이도 효과적인 전달체로 OP-1이 유리된다면 임상적으로 유의한 척추 유합율의 증가를 얻을 수 있음을 시사한다. OP-1을 대동물의 전방 케이지 유합술에 자가골과 같이 적용하면 전방 유합 기간의 단축 및 충실한 골유합을 얻을 수 있음이 보고되었다[15]. 4명의 류마치스성 환축추 불안정시 OP-1을 첨가한 후방 골유합술시 3명의 환자에서 골유합을 보고하여 전신적 스테로이드 투여상태에서도 OP-1에 의한 골유합이 가능함을 보고하였다[11]. 이에 반하여 Laursen 등[12]은 흉요추 골절시 골절부에 OP-1을 투여하여 임상적으로 추시하였는데 수술 후 3-6개월 사이에 투여부의 심각한 골소실이 생겼으나 그 이후 서서히 골유합을 이룰 수 있었는데 이는 OP-1이 골유합에서 긍정적으로만 작용하지 않음을 시사한다.

BMP-9

소동물에서 아데노바이러스를 이용하여 경피적으로 BMP-9 유전자를 척추 후방에 주사하였을 때 성공적인 척추 유합을 보고함으로서 BMP-9의 효과도 소개되었다[8].

LIM mineralization protein-1

이 물질은 성장 인자는 아니지만 골형성 유전자 발현에 있어 세포내 신호전달 증폭제라고 생각되어지며 이 물질이 세포내 발현되었을 때는 골형성 관련 유전자들이 과다 발현되는 현상을 이용하여 척추 유합에 이용하게 되었다[33]. 특히 LIM mineralization protein-1은 세포막에 수용체가 존재하는 일반적인 성장 인자와는 그 작용기전이 다름으로 그 전달방법도 반드시 세포내 전달 및 발현이 전제 조건으로 한다. 아데노바이러스를 이용한 전달법은 그 취지에 적합하여 최근 Viggeswarapu 등[33]은 시험관 및 생체내에서 LIM mineralization protein-1을 이용한 골형성 유도를 보고하였다.

추간판 기질 재생에서의 성장인자

TGF-β1

Thompson 등[32]은 개의 추간판을 조직 배양하고 여러 성장 인자들(TGF-β1, IGF-1, FGF, EGF)를 투여하고 기질 생성반응을 보았는데 TGF-β1이 가장 강력한 기질 생성능력을 보여 추간판 기질 재생의 선택 가능한 성장인자로 제시하였다. Gruber 등[4]은 인간의 추간판 세포를 3차원 배양하고 여기에 TGF-β1을 투여하여 기질 생성능력을 보았는데 추간판의 퇴행 정도 및 나이에 따라 증가된 세포 증식 반응 그리고 기질 생성 반응을 보고하였다. Nishida 등[25]은 토끼의 추간판에 TGF-β1 유전자를 아데노바이러스를 이용해 전달하여 전달된 TGF-β1 유전자 발현 및 그로 인한 당단백 생성율 증가를 보고하여 유전자 전달법에 의한 TGF-β1 발현으로 추간판내 기질 생성반응을 조작할 수 있음을 증명하였다. Moon 등[17]은 인간의 추간판 세포를 단층 배양하고 TGF-β1 단백 및 아데노바이러스를 이용한 TGF-β1 유전자를 전달했을 때 교원질의 경우는 공히 증가된 생성을 얻을 수 있었으나 당단백의 경우는 유전자 전달법에 의해서만 생성증가를 볼 수 있다고 보고하였다. 이는 추간판 세포의 단층 배양으로 원래의 표현형의 소실로 상이한 생물학적 반응을 보인 것으로 추정된다. 그 이후 Moon 등[19]은 추간판의 표현 형질을 유지하기 위하여 인간의 추간판을 3차원 배양하고 TGF-β1 단백 및 아데노바이러스를 이용한 TGF-β1 유전자를 전달했을 때 배양 기간에 따라 동일한 기질 생성 증가 효과를 보고하였다. 단순한 단백질(TGF-β1) 투입보다는 유전자 전달법이 좀더 지속적인 생물학적 효과를 보였다[20].

BMP-2

골세포에 대한 BMP-2의 효과는 자세히 연구되었지만 추간판 세포에 대한 BMP-2 효과는 이제서야 연구가 시작되는 단계이다. 추간판 세포와 유사한 관절 연골 및 성장판 연골에 대한 BMP-2의 효과는 근래에 활발하게 연

구되고 있다. Grimsrud 등[3]은 BMP-2에 의한 세포내 신호전달이 연골 세포의 성숙 및 분화에 관여한다고 하였으며 Hanada 등[6]은 BMP-2의 초기 작용과 TGF-β1의 연속작용으로 연골조직이 완성된다고 보고하였다. Smith 등[30]은 아데노바이러스를 이용한 BMP-2 유전자를 관절 연골 세포에 전달하고 당단백, 교원질 등의 기질 생성 효과를 보았는데 IGF-1에 비해 월등히 높은 생물학적 반응을 보고하였다. 추간판 세포에 대한 효과는 Moon 등[19]이 아데노바이러스를 이용한 BMP-2 유전자를 추간판 세포에 전달하고 기질 생성 효과를 보고한 이래 Moon 등[18]이 BMP-2 단백에 의한 인간 추간판의 세포내 전사(Transcription) 단계의 기전을 연구하였다. BMP-2의 추간판에 대한 효과는 Muschick 등[22]의 연구에서 발견된 것처럼 추간판 고유의 기질 생성 효과와 골형성(척추 유합) 방향으로의 효과를 정확히 구분할 필요가 있으며 여기에는 전달 방법, 용량 등 원하는 방향으로 생물학적 방응을 조작할 수 있는 자세한 연구가 필요하리라고 생각된다. Moon 등[19]은 BMP-2와 TGF-β1 유전자 동시 전달에 의한 추간판 세포의 기질 생성 효과를 연구하였는데 전술한 세포내 신호전달 기전에서 유추되듯이 BMP-2와 TGF-β1은 Smad를 경유한 같은 신호전달 체계를 이용함으로서 기대한 만큼의 기질 생성에 있어 상승작용을 얻을 수는 없었다. 이러한 연구 결과는 향후 치료적 유전자 선택에 있어 상이한 신호전달체계를 사용하는 성장 인자의 선택이 이론적으로 타당할 것으로 사료된다.

IGF-1

Osada 등[26]에 의해 추간판 세포에 대한 효과가 처음 연구되었으며 Moon 등[19]도 IGF-1 유전자 전달법에 의한 추간판 세포의 기질 생성 반응이 연구되었다. IGF-1은 TGF-β1 이나 BMP-2, OP-1 같은 TGF 계통의 성장 인자는 아니며 당연히 TGF 계통과는 다른 세포내 신호전달 기전을 이용한다. Gruber 등[5]이 보고한 것 같이 IGF-1 PDGF와 같이 세포 생존 인자로서 세포 사멸(apoptosis) 등에 길항하는 인자로 각광을 받고 있다. IGF-1에 이한 추간판 세포의 반응은 현재에도 활발히 연구되고 있다. IGF-1은 직접적인 기질 생성 효과 보다는 추간판 세포 생존 유지라는 측면에서 미래에도 다중 유전자 치료 등에 필수적인 성장 인자라고 생각된다.

EGF, FGF

Thompson 등[32]이 추간판에 대한 EGF FGF의 효과를 보고하였으나 주로 기질 생성 능력은 낮은 편이고 세포 증식에 효과가 있다. 이는 기질 재생의 측면에서 보면 그리 바람직하지 못한 효과라고 볼 수 있다. 그러나 선택적인 상황하에서 세포수의 증가가 필요할 때는 이용할 수 있는 성장 인자이며 특히 최근 관심이 고조되는 추간판 섬유륜 재생 목적으로 사용할 수 있는 성장 인자가 될 수도 있다.

치료적 성장 인자 전달법

치료적 유전자가 선택되더라도 목표 기관에 효율적으로 적절한 농도가 필요한 기간만큼 전달하는 것이 실제 효과에 가장 큰 영향을 미친다. 성장 인자 단백의 직접 투입의 가장 큰 문제점은 초기 고농도에 의한 독성, 그 이후 급속한 농도 저하에 의한 치료적 효과 상실이 되겠다. 이를 극복하기 위해 여러 생물질을 이용하여 지속적인 유리를 유도할 수 있는데 적용된 생물질의 이상 반응이 문제가 될 수 있다. 이러한 문제를 극복하려는 목적으로 최근 시도되는 것은 유전자 전달법이다. 이는 체외 배양된 세포를 사용하거나 혹은 실제 목표기관에 존재하는 세포를 이용하여 원하는 치료적 유전자를 전달하고 지속적으로 치료적 성장 인자를 유리하게 하는 방법이다. 어떠한 방법이라도 최종 임상적용 이전에 안전성의 증명이 필수적이다. 최근 미국에서는 안전성의 증명 없이 무모하게 시도된 유전자 치료로 환자가 사망하게 되었는데 이를 계기로 치료적 효과이외에도 안전성의 확인이 향후 유전자 치료의 임상적용에 가장 중요한 걸림돌로 작용하고 있다.

성장 인자를 이용한 치료법의 미래

척추 유합 및 추간판 변성 등의 분자 생물학적 기전을 궁극적으로 탐구하여 과다 발현 혹은 과소 발현되는 여러 성장 인자 유전자의 분포를 시간별로 분석하여 치료 시기를 결정함과 동시에 투입되는 성장 인자의 적절한 조합 및 총량 등이 정확하게 산출되고 이와 더불어 전신 혹은 국소 독성의 위험성이 배제 될 때에 진정한 의미의 성장 인자 치료시대가 열릴 것이다.

REFERENCES

1) **Boden SD, Zdeblick TA, Sandhu HS and Heim SE**: *The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. Spine, 25(3):376-81, 2000.*

2) **Grauer JN, Patel TC, Erulkar JS, Troiano NW, Panjabi MM and Friedlaender GE** : *Evaluation of OP-1 as a graft substitute for intertransverse process lumbar fusion. Spine, 26(2):127-33, 2000.*

3) **Grimsrud CD, Romano PR, D'Souza M, Puzas JE, Schwarz EM, Reynolds PR, Roiser RN and O'Keefe RJ** : *BMP signaling stimulates chondrocyte maturation and the expression of Indian hedgehog. J Orthop Res. 19(1):18-25, 2001.*

4) **Gruber HE, Fisher EC Jr, Desai B, Stasky AA, Hoelscher G and Hanley EN Jr** : *Human intervertebral disc cells from the annulus: three-dimensional culture in agarose or alginate and responsiveness to TGF-beta1. Exp Cell Res. 235(1):13-21, 1997.*

5) **Gruber HE, Norton HJ and Hanley EN Jr** : *Anti-apoptotic effects of IGF-1 and PDGF on human intervertebral disc cells in vitro. Spine, 25(17):2153-7, 2000.*

6) **Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, Hering TM, Goldberg VM, Yoo JU and Johnstone B** : *BMP-2 induction and TGF-beta1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. J Cell Biochem, 81(2):284-94, 2001.*

7) **Hanahan D and Weinberg RA** : *The Hallmarks of Cancer. Cell, 100:57-70, 2000.*

8) **Helm GA, Alden TD, Beres EJ, Hudson SB, Das S, Engh JA, Pittman DD, Kerns KM and Kallmes DF** : *Use of bone morphogenetic protein-9 gene therapy to induce spinal arthrodesis in the rodent. J Neurosurg, 92(2 Suppl):191-6, 2000.*

9) **Hunter T** : *Signalling-2000 and beyond. Cell, 100:113-127, 2000.*

10) **Itoh S, Itoh F, Goumans M-J and Dijke PT** : *Signalling of transforming growth factor-ß family members through Smad protein. Eur J Biochem, 267:6954-6967, 2000.*

11) **Jeppsson C, Saveland H, Rydholm U and Aspenberg P** : *OP-1 for cervical spine fusion : bridging bone in only 1 of 4 rheumatoid patients but prednisolone did not inhibit bone induction in rats. Acta Orthop Scand, 70(6):559-63, 1999.*

12) **Laursen M, Hoy K, Hansen ES, Gelineck J, Christensen FB and Bunger CE** : *Recombinant bone morphogenetic protein-7 as an intracorporal bone growth stimulator in unstable thoracolumbar burst fractures in humans: preliminary results. Eur Spine J, 8(6):485-90, 1999.*

13) **Levi-Montalcini R** : *The nerve growth factor 35 years later. Science, 237:1154-1162, 1987.*

14) **Lowery GL, Kulkarni S and Pennisi AE** : *Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. Bone, 25(2 Suppl):47S-50S, 1999.*

15) **Magin MN and Delling G** : *Improved lumbar vertebral interbody fusion using rhOP-1: a comparison of autogenous bone graft, bovine hydroxylapatite(Bio-Oss), and BMP-7(rhOP-1) in sheep. Spine, 26(5):469-78, 2001.*

16) **Moon SH, Gilbertson LG, Nishida K, Knaub MA, Muzzonigro T, Robbins PD, Evans CH and Kang JD** : *Human interverterbal disc cells are genetically modifiable by adenovirus-mediated gene transfer. Spine 25:2573-79, 2000.*

17) **Moon SH, Kang JD, Nishida K, Gilbertson LG, Niyibizi C, Smith PN, Knaub MA, Robbins PD and Evans CH** : *Human cervical intervertebral disc cells are susceptible to adenovirus-mediated gene therapy -Therapeutic gene transfer-. Proceedings of 27th annual meeting, Cervical Spine Research Society, p150-153, 1999.*

18) **Moon SH, Lee HM, Park MS, Kim H, Kang ES, Kim HS, Gilbertson LG and Kang JD** : *BMP-2 upregulate the mRNA expression of aggrecan, collagen type I, collagen type II in human interverterbal disc cells. Orthopaedic Research Society 2002(Submitted).*

19) **Moon SH, Nishida K, Gilbertson LG, Hall RA, Robbins PD and Kang JD** : *Biologic response of human intervertebral disc cells to gene therapy cocktail. Proceedings of Orthopaedic Research Society, 2000.*

20) **Moon SH, Nishida K, Gilbertson LG, Knaub MA, Smith PN, Robbins PD, Evans CH and Kang JD** : *Proteoglycan synthesis in human intervertebral disc cells cultured in alginate beads: Exogenous TGF-beta1 vs. adenovirus-mediated gene transfer of TGF-beta1 cDNA. Proceedings of Orthopaedic Research Society, 2000.*

21) **Monroe MA, Boden SD, Hair G, Martin GJ Jr, Racine M, Titus L and Hutton WC** : *Gene expression during autograft lumbar spine fusion and the effect of bone morphogenetic protein 2. Clin Orthop, 351:252-65, 1998.*

22) **Muschik M, Schlenzka D, Ritsila V, Tennstedt C and Lewandrowski KU** : *Experimental anterior spine fusion using bovine bone morphogenetic protein: a study in rabbits. J Orthop Sci, 5(2):165-70, 2000.*

23) **Muschler GF, Hyodo A, Manning T, Kambic H and Easley K** : *Evaluation of human bone morphogenetic protein 2 in a canine spinal fusion model. Clin Orthop, 308: 229-40, 1994.*

24) **Nishida K, Kang JD, Suh J-K, Robbins PD, Evans CH and Gilbertson LG** : *Adenovirus-mediated gene transfer to nucleus pulposus cells: Implication for the treatment of*

intervertebral disc degeneration. Spine, 23:2437-2443, 1998.

25) **Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, Moon S-H, Suh J-K, Vogt MT, Robbins PD and Evans CH** : *Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: An in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor ß1 encoding gene. Spine 24:2419-2425, 1999.*

26) **Osada R, Ohshima H, Ishihara H, Yudoh K, Sakai K, Matsui H and Tsuji H** : *Autocrine/paracrine mechanism of insulin-like growth factor-1 secretion, and the effect of insulin-like growth factor-1 on proteoglycan synthesis in bovine intervertebral discs. J Orthop Res, 14(5):690-9, 1996.*

27) **Riew KD, Wright NM, Cheng S, Avioli LV and Lou J** : *Induction of bone formation using a recombinant adenovi - ral vector carrying the human BMP-2 gene in a rabbit spinal fusion model. Calcif Tissue Int, 63(4):357-60, 1998.*

28) **Sandhu HS** : *Anterior lumbar interbody fusion with osteoin - ductive growth factors. Clin Orthop, 371:56-60, 2000.*

29) **Schimandle JH, Boden SD and Hutton WC** : *Exp eri - mental spinal fusion with recombinant human bone mor - phogenetic protein-2. Spine, 20(12):1326-37, 1995.*

30) **Smith P, Shuler FD, Georgescu HI, Ghivizzani SC, Johnstone B, Niyibizi C, Robbins PD and Evans CH** : *Genetic enhancement of matrix synthesis by articular chondrocytes: comparison of different growth factor genes in the presence and absence of interleukin-1. Arthritis Rheum., 43(5):1156-64, 2000.*

31) **Solheim E** : *Osteoinduction by demineralised bone. Int Orthop, 22(5):335-42, 1998.*

32) **Thompson JP, Oegema TR Jr and Bradford DS** : *Stim - ulation of mature canine intervertebral disc by growth fac - tors. Spine, 16(3):253-60, 1991.*

33) **Viggeswarapu M, Boden SD, Liu Y, Hair GA, Lois-Ugbo J, Murakami H, Kim H-S, Mayr MT, Hutton WC and Titus L** : *Adenoviral delivery of LIM mineralization protein-1 induces new bone formation in vitro and in vivo. J Bone Joint Surg 83(A):364-376, 2001.*