

OPG/RANK/RANKL 系统与骨质疏松症的相关研究进展

汪煌¹, 万全增¹, 李春雯², 史晓林³

(1. 浙江中医药大学 2009 级硕士研究生, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 3. 浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州 310005)

关键词 骨保护素 核因子 κ B 受体活化因子 骨质疏松

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)、核因子 κ B 受体活化因子(receptor activator of nuclear factor - kappa B, RANK)和核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor - kappa B ligand, RANKL)系统是近年来发现的一组调控破骨细胞分化激活的细胞因子,三者均属肿瘤坏死因子受体超家族(tumor necrosis factor receptor superfamily, TNFRSF)。成骨细胞及骨髓基质细胞表达 RANKL,与破骨细胞前体细胞或破骨细胞表面上的 RANK 结合后,促进破骨细胞的分化和激活,并抑制破骨细胞的凋亡。由成骨细胞分泌的 OPG 可以与 RANKL 结合,竞争性抑制 RANKL 与 RANK 之间的结合,从而抑制成熟破骨细胞的生成。研究表明许多激素、细胞因子等均通过直接或间接地调节 OPG、RANKL 和 RANK 的表达,介导破骨细胞的分化和功能,而达到抗骨质疏松或致骨质疏松的作用。本文就 OPG/RANK/RANKL 系统与骨质疏松症的相关研究进展作一综述。

1 OPG/RANK/RANKL 系统

1.1 OPG 1997 年 OPG 分别被美国和日本两家实验室同时发现。其属于肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族成员,是一种可溶的分泌型糖蛋白,有单体和同源二聚体两种形式,分子量为 60 ku 和 119 ku。最初合成的 OPG 是一个含有 401 个氨基酸的多肽,当其中的 21 个氨基酸被裂解后,形成一个含有 380 个氨基酸的成熟蛋白质。OPG 除了在成骨细胞中有较高的表达外,在心、肾、肝、脾、骨髓等多种组织中均广泛地表达^[1]。OPG 作为一种诱饵性受体,能结合 RANKL 和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF - related apoptosis inducing

ligand, TRAIL),通过与这些配体的竞争性结合来阻断 RANKL 与 RANK 的结合,进而发挥抑制破骨细胞分化成熟、诱导破骨细胞凋亡的作用^[2]。Yasuda^[3]研究认为,OPG 基因敲除小鼠出现严重的骨质疏松症,皮质骨和骨小梁均减少,而过度表达 OPG 的转基因小鼠则出现严重的骨硬化症。

1.2 RANK RANK 是肿瘤坏死因子受体超家族成员,为 I 型跨膜蛋白。人的 RANK 是具有 616 个氨基酸的肽段,包括 28 个氨基酸构成的信号肽,21 个氨基酸构成的跨膜区、胞外区 N 端和胞浆区 C 端^[4]。RANK 主要表达于单核和巨噬细胞系,包括破骨细胞的前体细胞、淋巴细胞、树突状细胞和成骨细胞。此外,在骨骼肌、骨小梁、胸腺、肝脏、直肠、小肠及肾上腺中均有表达。RANK 是 RANKL 发挥促破骨细胞分化作用的惟一靶信号受体,其主要功能是在破骨细胞及其祖细胞表面与 RANKL 结合,直接促进破骨细胞的分化、活化、成熟及阻止破骨细胞凋亡。

1.3 RANKL 人的 RANKL 是由 317 个氨基酸组成的多肽,是一种缺乏信号肽的 II 型跨膜蛋白。它由两部分组成,即 40 ~ 45 ku 长的细胞内和细胞膜黏附部分及从全长裂解下来的长约 31 ku 的可溶性部分,两者都以三聚体的形式存在^[4]。人的 RANKL 基因位于染色体 13q14 上,其信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)在骨和骨髓中表达最高,在淋巴组织中的表达也较高。RANKL 的生物学效应是结合且活化破骨细胞上的特异性受体 RANK,从而刺激破骨细胞前体分化,活化成熟破骨细胞,阻止破骨细胞凋亡并延长其寿命,促进骨吸收。

2 OPG/RANK/RANKL 系统与骨质疏松症

2.1 绝经后骨质疏松症 绝经后骨质疏松症主要是由于妇女绝经后雌激素减少,导致破骨细胞增殖活化,骨形成能力降低,骨吸收能力增强,骨吸收大于骨形

成,导致骨代谢的负平衡,而造成骨质疏松。Eghbali - Fatourech 等^[5]研究发现,绝经后妇女体内骨髓基质细胞、T 细胞、B 细胞高表达 RANKL,且与雌激素水平呈负相关。Hofbauer 等^[6]研究认为,OPG/RANK/RANKL 系统是雌激素调节破骨细胞生成和抗骨吸收作用的重要途径之一。雌激素缺乏时,促进骨吸收的因子如 IL - 1、IL - 6、TNF - α 、M - CSF 等增多,而抗骨吸收的因子如 TGF - β 合成减少,引起 OPG 基因表达下降;同时,雌激素的缺乏也减少了直接刺激成骨细胞/基质细胞的 OPG 表达。雌激素对骨代谢的调节作用是直接抑制破骨细胞前体增殖的细胞因子产生,而刺激 OPG 的产生。Hofbauer 等^[6]认为雌激素通过雌激素受体直接上调成骨细胞中 OPG 表达,且呈剂量和时间依赖性。Shimizu - Ishiura 等^[7]对切除卵巢(ovariectomized,OVX)小鼠进行研究,给予 OPG 的 OVX 小鼠骨小梁明显增加,而未给予 OPG 的 OVX 小鼠的骨小梁减少。这表明 OPG 能抑制破骨细胞对骨的吸收而减少骨量丢失。高延征等^[8]研究认为,骨组织中 RANKL 持续高表达,而 OPG 表达短期内升高后迅速降低,是骨质疏松的直接原因。Yano 等^[9]报道绝经后骨质疏松妇女的血清 OPG 浓度显著高于绝经后非骨质疏松妇女的血清 OPG 浓度。在骨质疏松病人中,OPG 与 I 型胶原交联羧基末端肽、骨钙素等代表骨吸收和骨形成的指标呈明显正相关,且低 OPG 水平者较高 OPG 水平者更易发生椎骨骨折,提示在骨质疏松病人中低 OPG 者在相同的骨转换条件下具有更高的骨折危险性。

2.2 老年性骨质疏松症 老年性骨质疏松症属低转换型,随着年龄的增加存活的成骨细胞逐渐减少,导致骨吸收大于骨形成,而 RANKLmRNA 表达增高和 OPGmRNA 表达降低有可能是增龄性骨丢失的重要原因之一^[10]。Cao 等^[11]通过实验研究发现,中年鼠松质骨量较青年鼠减少了 20%,老年鼠松质骨量较中年鼠减少了 52%;中年鼠和老年鼠的 RANKLmRNA 水平比青年鼠高 2.1 ~ 4.4 倍;OPGmRNA 水平随年龄的增长有轻微的减少。有研究认为骨质疏松症的发生与遗传因素密切相关。李贤让^[12]研究认为,OPG 基因启动子区 T950C 位点多态性与老年男性骨质疏松症的发生有关,OPG T950C 基因可能是老年男性发生骨质疏松的遗传易感性指标。

2.3 药物诱导性骨质疏松症 长期和过量使用某些药物如免疫抑制剂、抗癫痫药、糖皮质激素等可引起骨

质疏松。Van Staa 等^[13]研究发现,服用糖皮质激素 6 个月以上的患者,几乎 50% 的患者都会发生骨质疏松性变化,而高剂量糖皮质激素(强的松 $> 10 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$)则会使患者丢失相当大的骨量。Wang 等^[14]研究发现,超生理剂量的糖皮质激素可通过增强分泌型卷曲相关蛋白 - 1 的表达,稳定糖原合酶激酶 - 3 β 和抑制 Wnt 信号通路,从而抑制成骨细胞形成。Drescher 等^[15]研究证实,糖皮质激素促进成骨细胞 RANKL 的表达,一方面可以促进破骨细胞的分化与成熟,引起骨丢失;另一方面活化的 RANKL 可以增加骨基质的通透性,引起成骨细胞和骨细胞凋亡,减少骨形成。Vidal 等^[16]实验表明,糖皮质激素经转录机制使成骨细胞/基质细胞表达的 OPG 向下调节并使 RANKL 向上调节,如地塞米松使 OPG 表达下降 90%,而使 RANKL 增加 4 倍。Pierotti 等^[17]研究认为,OPG/RANKL 比值的减小造成骨吸收与骨形成的不平衡,导致骨量的丢失,骨原细胞的稳态亦在不同水平受到影响。

2.4 废用性骨质疏松症 废用性骨质疏松症是指由于长期卧床、制动或失重而导致骨量减少,骨细微结构退化致脆性增加,易于发生骨折的一种全身性骨骼系统疾病,属继发性骨质疏松症的一种特殊类型。众所周知,骨质及骨小梁的方向与外力的强度、方向相适应,体能锻炼可以增加骨量,而制动和微重力可以减少骨量。根据 Wolff 定律,即外力方向改变可以引起骨小梁微结构的适应性改变,废用性骨质疏松症被认为与缺乏机械外力有关。由于机械性压力可下调 RANKL 的表达,故其缺乏可致 RANKL 表达增高,骨丢失增加。Bateman 等^[18]通过动物实验研究表明,OPG 可阻止与制动相关的骨丢失。

3 OPG/RANK/RANKL 系统在骨质疏松症的预防和治疗方面的应用前景

OPG/RANK/RANKL 系统的发现及它们在调节骨代谢方面的作用,已为防治骨质疏松症的新药研发开辟了新的思路。靶向 OPG/RANK/RANKL 系统如 OPG、RANK - Fc、抗 RANKL 抗体是预防和治疗包括骨质疏松在内的骨溶解疾病的理想靶点^[19-20]。外源性的 OPG、抗 RANKL 抗体、RANK - Fc 及 Fc - OPG 融合蛋白等拮抗剂能够有效地抑制 RANKL 对破骨细胞的作用。

外源性 OPG 可阻断诸多刺激破骨细胞的因素,

抑制动物和人体各种骨质疏松模型的骨吸收。Bolon 等^[21]研究表明,注射 OPG 能阻止关节损害,并证实治疗骨损害必须在疾病的早期开始用 OPG,以保护关节的完整。Bekker 等^[22]首次观察了重组 OPG (Fc - OPG 融合分子)对人体骨代谢的影响,发现重组 OPG 呈剂量依赖性抑制绝经后妇女骨吸收。Sinclair 等^[23]研究认为,Fc - OPG 比 OPG 具有更高的稳定性,而且在体内的半衰期更长。但是,Fouque - Aubert 等^[24]研究认为,应用 Fc - OPG 的患者体内会出现中和抗体并且影响免疫系统。Fahrleitner - Pammer 等^[25]研究表明,RANK - Fc 融合蛋白对于抑制小鼠的骨吸收和恶性肿瘤的体液性高血钙具有治疗作用。Childs 等^[26]用 RANK - Fc 融合蛋白防止钛合金微粒诱导的小鼠颅骨的骨吸收,取得了较好的效果。

Denosumab (AMG - 162) 是 RANKL 的单克隆抗体,已被证实能够阻止 RANKL 与其受体结合,它在特异性、半衰期等方面优于 OPG,也没有自身抗体^[27]。Hofbauer 等^[28]研究发现,Denosumab 可以预防糖皮质激素诱导的骨量丢失,并能增加人类 RANKL 基因敲除小鼠的骨强度。McClung 等^[29]对 412 例绝经后妇女用 Denosumab 治疗 1 年后,患者的腰椎、髌和桡骨中下 1/3 位置处的骨矿物密度分别比安慰剂组提高了 3.0% ~ 6.7%、1.9% ~ 3.6% 和 0.4% ~ 1.3%;该治疗还能够降低骨转换标志物,且降低剂量依赖性。Miller^[30]通过临床试验亦表明,皮下注射 Denosumab 可显著减少绝经后妇女的骨转换标志物水平,增加其骨矿密度。Roux 等^[31]对 Denosumab (A 组)和阿仑膦酸盐 (B 组)治疗绝经后骨质疏松症作比较研究,A、B 两组患者先服用 6 个月阿仑膦酸盐后,A 组转为皮下注射 Denosumab (每个月 60 mg),B 组继续服用阿仑膦酸盐 (每周 70 mg);12 个月后,A 组患者脊柱骨、髌骨的骨密度均比 B 组有很大增长。目前,此抗体正在进行 III 期临床试验,以评价长期安全性和预防骨折的疗效^[32]。

总之,OPG/RANK/RANKL 系统的研究成果是骨生物学史上一个重要的里程碑,不仅为阐明骨质疏松症的发生机制奠定了基础,而且为骨质疏松的治疗开辟了广阔的前景。

4 参考文献

[1] Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, et al. RANKL - RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease [J]. Trends

Mol Med, 2006, 12(1): 17 - 25.

- [2] Sasaki N, Kusano E. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites, Measurement and clinical role of OPG [J]. Clin Calcium, 2006, 16(6): 956 - 962.
- [3] Yasuda H. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites. Receptor activator of NF - kappa B ligand (RANKL) [J]. Clin Calcium, 2006, 16(6): 964 - 970.
- [4] Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(6): 1077 - 1081.
- [5] Eghbali - Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women [J]. J Clin Invest, 2003, 111(8): 1221 - 1230.
- [6] Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells [J]. Endocrinology, 1999, 140(9): 4367 - 4370.
- [7] Shimizu - Ishiura M, Kawana F, Sasaki T. Osteoprotegerin administration reduces femoral bone loss in ovariectomized mice via impairment of osteoclast structure and function [J]. J Electron Microsc (Tokyo), 2002, 51(5): 315 - 325.
- [8] 高延征, 高坤, 沈彬, 等. 去卵巢后大鼠骨组织中核因子 kappa B 受体活化因子配体和骨保护素表达的变化 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(15): 2877 - 2881.
- [9] Yano K, Tsuda E, Washida N, et al. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis [J]. J Bone Miner Res, 1999, 14(4): 518 - 527.
- [10] 郭梁. 成骨细胞、破骨细胞及 OPG/RANKL/RANK 轴与骨质疏松 [J]. 中医正骨, 2010, 22(7): 41 - 44.
- [11] Cao J, Venton L, Sakata T, et al. Expression of RANKL and OPG correlates with age - related bone loss in male C57BL/6 mice [J]. J Bone Miner Res, 2003, 18(2): 270 - 277.
- [12] 李贤让. 护骨素基因多态性与老年男性骨质疏松症的关系 [J]. 山东医药, 2009, 49(29): 71 - 72.
- [13] Van Staa TP, Leufkens HG, Abenham, et al. Use of oral corticosteroids and risk of fractures [J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(6): 993 - 1000.
- [14] Wang FS, Ko JY, Yeh DW, et al. Modulation of Dickkopf - 1 attenuates glucocorticoid induction of osteoblast apoptosis, adipocytic differentiation and bonemass loss [J]. Endocrinology, 2008, 149(4): 1793 - 1801.

- [15] Drescher W, Weigert KP, Bungler MH, et al. Femoral head blood flow reduction and hypercoagulability under 24h megadose steroid treatment in pigs[J]. J Orthop Res, 2004, 22(3):501-508.
- [16] Vidal NO, Brändström H, Jonsson KB, et al. Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cell; downregulation by glucocorticoids[J]. J Endocrinol, 1998, 159(1):191-195.
- [17] Pierotti S, Gandini L, Lenzi A, et al. Pre-receptorial regulation of steroid hormones in bone cells; insights on glucocorticoid induced osteoporosis[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2008, 108(3-5):292-299.
- [18] Bateman TA, Dunstan CR, Ferguson VL, et al. Osteoprotegerin mitigates tail suspension-induced osteopenia[J]. Bone, 2000, 26(3):443-449.
- [19] Miller PD. Anti-resorptives in the management of osteoporosis[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2008, 22(5):849-868.
- [20] Miller PD, Bolognese MA, Lewiecki EM, et al. Effect of denosumab on bone density and turnover in postmenopausal women with low bone mass after long-term continued, discontinued, and restarting of therapy; a randomized blinded phase 2 clinical trial[J]. Bone, 2008, 43(2):222-229.
- [21] Bolon B, Cabpagnuolo G, Feige U. Duration of bone protection by a single osteoprotegerin injection in rats with adjuvant-induced arthritis[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(9):1569-1576.
- [22] Bekker PJ, Bekker P, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women[J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(2):348-360.
- [23] Sinclair AM, Elliott S. Glycoengineering: the effect of glycosylation on the properties of therapeutic proteins[J]. J Pharm Sci, 2005, 94(8):1626-1635.
- [24] Fouque - Aubert A, Chapurlat R. Influence of RANKL inhibition on immune system in the treatment of bone disease[J]. Joint Bone Spine, 2008, 75(1):5-10.
- [25] Fahrleitner - Pammer A, Dobnig H, Piswanger - Soelkner C, et al. Osteoprotegerin serum levels in women; correlation with age, bone mass, bone turnover and fracture status[J]. Wien Klin Wochenschr, 2003, 115(9):291-297.
- [26] Childs LM, Paschalis EP, Xing L, et al. In vivo RANK signaling blockade using the receptor activator of NF- κ B:Fc effectively prevents and ameliorates wear debris-induced osteolysis via osteoclast depletion without inhibiting osteogenesis[J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(2):192-199.
- [27] Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women[J]. J Bone Miner Res, 2005, 20(12):2275-2282.
- [28] Hofhauer LC, Zeitz U, Schoppet M, et al. Prevention of glucocorticoid induced bone loss in mice by inhibition of RANKL[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(5):1427-1437.
- [29] McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density[J]. N Engl J Med, 2006, 354(8):821-831.
- [30] Miller PD. Denosumab; anti-RANKL antibody[J]. Curr Osteoporos Rep, 2009, 7(1):18-22.
- [31] Rouxa C, Bolognese MA, Bianchini G, et al. Relationship between baseline bone turnover marker levels and percent change in BMD at month 12 in postmenopausal women transitioned to denosumab or continuing on long-term alendronate therapy[J]. J Bone, 2009, (44):476.
- [32] 马培奇. 骨质疏松症治疗药物研究概述[J]. 上海医药, 2008, 29(5):227-230.

(2010-11-28 收稿 2011-01-14 修回)

(上接第 35 页)

- [18] 陈晓强. 针灸正骨治疗颈椎病性高血压 58 例[J]. 颈腰痛杂志, 2008, 29(4):394.
- [19] 张丁. 中药制剂配合针拨术治疗颈椎病性高血压的疗效分析[J]. 局解手术学杂志, 2008, 17(1):67-68.
- [20] 龚建明. 颈源性高血压 8 例误诊分析[J]. 东南国防医药, 2005, 7(6):412.
- [21] 皮后炎. 侯氏黑散加减治疗颈性高血压病 53 例[J]. 实用中医内科杂志, 2008, 22(5):26.
- [22] 颜少敏. 电针治疗椎动脉型颈椎病高血压 30 例[J]. 福建中医药, 2009, 40(4):20-21.
- [23] 王艳红, 世慧娜. 颈型高血压的诊治体会[J]. 现代预防医学, 2007, 34(7):1394.
- [24] 骆大富, 石凌辉, 李上县. 手法治疗颈椎病性高血压 56 例[J]. 按摩与导引, 2007, 23(9):33.
- [25] 卢佳娜. 针刺配合牵引治疗颈椎病假性高血压疗效观察[J]. 中西医结合心脑血管杂志, 2009, 7(6):641.

(2010-07-29 收稿 2010-12-09 修回)