OPG-RANKL-RANK 系统与绝经后骨质疏松症

商敏

中图分类号: R711 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2008)07-0532-04

摘要: 雌激素减少导致的骨丢失增加是绝经后骨质疏松症的主要发病原因,OPG-RANKL-RANK 系统的发现是骨骼生理研究领域的重大进展,作为雌激素对骨骼作用的中间环节,在绝经后骨质疏松症的发病中发挥重要作用。OPG 基因与其他候选基因一样,与绝经后骨质疏松症的遗传易感性有关,可望被用于筛查绝经后骨质疏松症的高危人群。OPG 还有可能成为新的生化标记物来预测绝经后骨质疏松症并用于评价疗效。本文针对以上问题对 OPG-RANKL-RANK 系统在绝经后骨质疏松症发生中的作用及其应用综述如下。

关键词: 护骨素; 绝经后骨质疏松症

OPG-RANKL-RANK system and postmenopausal osteoporosis SHANG Min. Department of Gynecology and Obstetrics, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract: Hypoestrogenemia has a direct effect on osteoclast function and appears to exert its adverse effects by increasing bone loss, which acts as the primary factor of postmenopausal osteoporosis. The finding of OPG-RANKL-RANK system is a breakthrough in the study of bone physiology. As the median step of the effect of estrogen on bone function, OPG-RANKL-RANK system plays an important role in the onset of postmenopausal osteoporosis. OPG gene, as other candidate genes, is associated with susceptibility of postmenopausal osteoporosis and may be used to screen for high risk group. OPG can also be used as a biochemical marker to forecast postmenopausal osteoporosis and evaluate therapeutic effectiveness. This article reviews the role of OPG-RANKL-RANK system in the onset of postmenopausal osteoporosis and its possible application in future.

Key words: Osteoprotegerin; Postmenopausal osteoporosis

骨质疏松症是骨强度削弱导致患者发生骨折风险增加为特征的一种骨骼疾病,严重威胁绝经后妇女的健康。我国 60 岁以上老年妇女中骨质疏松症发生率为 28.6%,随着人口老龄化,骨质疏松易患人群越来越多,用于绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)的直接医疗开支和相关疾病的花费迅速增加,加重了社会和个人的经济负担。因此中国 PMOP 的防治面临非常严峻的挑战,对其研究也越来越受到人们的重视。

1 PMOP 的发病机制

骨是雌激素的重要靶器官之一,在成骨细胞、破骨细胞、骨细胞中均有雌激素受体(estrogen receptor,

ER)存在。雌激素对骨骼的作用是通过成骨细胞和破骨细胞的协同调节完成的。雌激素既可以作用于成骨及破骨细胞表面的受体直接影响骨的形成和吸收,也可以通过这些细胞分泌局部调节因子或调节这些细胞对局部调节因子和全身激素反应性来影响骨代谢。雌激素在基因水平抑制 TNF- α 、IL-1、IL-6 等骨吸收因子表达,增加 TGF β 等成骨因子表达,进而启动破骨细胞凋亡,预防骨丢失。

骨质疏松症的主要发病机制是机体的骨重建失衡。人体骨骼是动态的不断变化的组织,循环重复着骨重建,正常情况下骨吸收与骨形成保持动态平衡,绝经后雌激素水平下降,IL-1、IL-6、TNF- α 的基因表达增加,促进破骨细胞的增殖、分化、融合,抑制其凋亡,使骨吸收增加,骨代谢偶联失衡,从而导致了骨质疏松。近年来研究发现,OPG-RANKL-RANK 系统在 PMOP 的发病中发挥重要作用。

作者单位: 100050 北京,首都医科大学附属北京友谊医院妇产科

通讯作者: Email: shangmin917@126.com

2 OPG-RANKL-RANK 系统

OPG-RANKL-RANK 系统是近年来发现的在破骨细胞分化过程中的一个重要的信号传导通路,对该系统的研究是由 OPG(osteoprotegerin, 护骨素)的发现启动的。OPG 于 1997 年分别被美国和日本两家实验室同时发现^[1,2],人 OPG 基因位于染色体 8q23~24,其 mRNA 可在包括肺、心、肾和骨骼等在内的多种组织细胞中表达。OPG 属于 TNF(Tumornecrosis factor 肿瘤坏死因子)受体超家族,以可溶性蛋白形式分泌,是 RANKL 的诱骗(decoy)受体,它通过阻断 RANKL 与 RANK 结合而抑制破骨细胞前体的分化、存活与融合,抑制成熟破骨细胞活化及骨吸收活性,导致破骨细胞凋亡。OPG 配基为 RANKL(细胞核因子 κ B 受体活化因子配基),其 mRNA 主要在淋巴组织及骨组织(骨骼、骨髓)中表达。RANKL 在骨骼中的生物学效应是促进破骨细胞分化,增强成熟破骨细胞的活力,阻止破骨细胞凋亡。绝经早期妇女骨髓单核细胞表面 RANKL 的浓度比雌激素治疗的妇女和绝经前妇女的浓度高 2~3 倍,而且每个细胞表达 RANKL 的量与骨吸收指标呈正比,这表明骨髓细胞中 RANKL 的表达上调是雌激素缺乏导致骨吸收增加的重要决定因素^[3]。RANKL 刺激破骨细胞分泌、成熟的唯一靶受体为 RANK 属于 TNF 受体超家族,是 I 型跨膜蛋白,表达于巨噬/单核细胞系,在来自骨髓的破骨细胞前体细胞表面高度表达。RANK 是参与破骨细胞分化、成熟及发挥功能的重要因子,它是。RANKL 与破骨细胞表面的 RANK 结合后,通过激活核因子(NF)- κ B 和 c-Fos, JNK, c-src 以及丝氨酸-苏氨酸激酶 Akt/PKB 途径引起破骨细胞内一系列酶促级联反应,使破骨细胞前体分化、存活、融合为成熟破骨细胞,活化并抑制其凋亡。

3 OPG/RANKL/RANK 系统在 PMOP 发病中的作用

OPG/RANKL/RANK 系统提出了成骨细胞调控破骨细胞分化成熟的机制,在骨质疏松症发病中发挥重要作用^[4],是骨骼生理研究领域的重大进展^[5]。破骨细胞及其前体细胞表面的 RANK 和成骨细胞表面的 RANKL 相互作用后才能刺激破骨细胞的形成和活化,成骨细胞和骨髓基质细胞产生的 OPG 是 RANK 的欺骗受体(诱受体),可以阻断二者的结合进而阻断破骨细胞的形成。因此,OPG 干扰 RANKL 与 RANK 结合的程度决定了骨吸收的速度。进一步

的研究发现,体内调控破骨细胞的多种因子和激素几乎都是通过影响 OPG 和/或 RANKL 的分泌实现的,成骨细胞在抑制骨吸收或促进骨形成的细胞因子,如 TGF α 、TGF β 、IL-1 β 、17 β -雌二醇(17 β -E₂)、IL-18、瘦素、及 BMP-2 的刺激下,OPG 的表达明显升高;在促进骨吸收或抑制骨形成的细胞因子和药物如 PGE₂、rhIGF、糖皮质激素、1,25(OH)₂D₃、甲状旁腺激素以及 ER 拮抗物 ICI182780 的作用下,OPG 的表达降低,RANKL 表达升高。可见,在体内骨吸收和骨形成的平衡关系中,OPG/RANKL 是一个重要的杠杆。破骨细胞的生成主要由骨组织微环境中 OPG/RANKL 的表达决定,雌激素缺乏可直接影响这对因子的表达而导致骨丢失,因此,OPG/RANKL 的表达失衡参与了绝经后骨质疏松的发病。

此外,大量体内实验也表明 OPG 介导了雌激素对骨的作用, Saika 等^[6]运用小鼠基质细胞 ST-2 探讨雌激素缺乏对 OPG 表达的影响,给予 ST-2 细胞 17 β -E₂ 可使 OPGmRNA 水平及蛋白表达增加,这一作用是剂量、时间依赖性及激素特异性的,在用雌激素预处理 5 天后撤除雌激素来模拟绝经,OPG 的表达则大大降低,进一步的研究还表明 17 β -E₂ 是通过 ER α 上调 OPG 表达的。卵巢切除大鼠 OPG 表达降低,雌激素通过增强松质骨中 OPG mRNA 的表达,抑制破骨细胞性骨吸收,从而对卵巢切除大鼠的骨质疏松症有明显的预防作用^[7]。

由此可见,雌激素作用于各种细胞因子后,最终通过影响 OPG-RANKL-RANK 系统对骨发挥作用,绝经后雌激素缺乏影响了该系统因子的表达从而导致骨丢失,提示雌激素虽然可以作用于成骨细胞,但最终还是作用于破骨细胞发挥作用,这与一直以来所认为的雌激素通过抑制骨转换发挥抗骨质疏松作用的观点是吻合的。

4 OPG/RANKL/RANK 系统在 PMOP 治疗中的应用

对 OPG-RANKL-RANK 系统的认识促使研究者们将其用于以过度骨吸收为特征的疾病的治疗,如多发性骨髓瘤、肿瘤骨转移和 PMOP 等。一项随机双盲的安慰剂对照研究中,给予绝经后妇女单一剂量的人重组 OPG(3 mg/kg)可使尿中代表骨吸收的生化标志物胶原 N 末端肽减少,并持续 6 周,而代表骨形成的生化标志物骨特异的碱性磷酸酶 6 周后才有中等程度的下降,这表明 OPG 可以有效地持续抑制骨转换^[8]。近期还研发了一种完全人 RANKL 的

单克隆抗体,称为称 denosumab^[9]。2006年,McClung等^[10]观察了皮下注射 denosumab 的安全性和有效性,对412名绝经后低骨量妇女随机分组,分别每3个月注射 denosumab(6、14或30 mg)或者每6个月注射 denosumab(14、60、100或210 mg),口服阿仑膦酸盐70 mg或安慰剂作为对照。结果表明,denosumab增加骨矿密度,减少骨吸收。

这些令人鼓舞的结果使未来骨质疏松的治疗有了新的希望。但由于体内 OPG-RANKL-RANK 系统的作用广泛,其调控作用包括骨重建、免疫系统以及其他未知领域。长期使用 RANKL 的单克隆抗体对肿瘤和感染等方面的安全性还有待于长期观察。

5 OPG 基因单核苷酸多态的研究

骨质疏松症的发生受遗传和环境的共同影响,70%~85%的骨密度的变异是由遗传因素引起的。已发现多种候选基因与绝经后骨质疏松的发生有关,为研究 OPG/RANKL/RANK 系统是否对绝经后骨质疏松的遗传易感性起决定作用,学者们对 OPG 基因的单核苷酸多态(single nucleotide polymorphism, SNP)进行了研究。SNP 指基因组 DNA 序列中频率大于1%的单核苷酸变异,这种变异有时导致其编码不同的蛋白从而引起生物学特征的变化,表现为不同个体对疾病的易感性不同,研究与绝经后骨质疏松相关基因的 SNP 与骨密度(BMD)的相关性将有助于预测绝经后骨质疏松高危人群、识别出骨质疏松并发症如骨折等的高危病人、以及开发预防和治疗骨质疏松的新疗法。迄今为止已发现人类 OPG 基因共存在12个多态性位点,其中 T149C、G209A、T245G、C1217T、C4441T 和 C445T、4690delCT、A6833G、A6890C 完全连锁^[11]。许多国家对这些部位的基因多态性与 PMOP 患者的骨量和骨代谢指标的相关性进行了研究,结果各不相同,可能与基因分布的地区差异有关。斯洛文尼亚绝经后骨质疏松妇女的 OPG 基因编码区中共发现8个 SNP,其中 1181G>C 与 BMD 相关,G 的 BMD 比 C 低^[12],其启动子中有四种 SNP,其中 209G→和 245T→G 多态性与 BMD 有关,AG 的 BMD 较 GT 低^[13],在整个 OPG 基因对朝鲜绝经后妇女研究发现 OPG 基因 1181G>C 和 RANKL 基因 rs2277438 多态性与腰椎 BMD 相关^[14]。在中国绝经后妇女中,OPG 外显子 Lys3Asn 多态性与腰椎 BMD 相关,Lys-等位基因 BMD 较低,发生绝经后骨质疏松的风险较高^[15]。这些研究均表明,OPG 基因 SNP 可以被用于筛查绝经后骨质疏

松易感人群,对这部分人群进行预防性用药可以更有有效的降低绝经后骨质疏松的发生。

6 OPG/RANKL 作为血清生化标记物的研究

鉴于 OPG/RANKL/RANK 系统参与了 PMOP 的发生,探究血清 OPG、RANKL 水平与骨代谢的关系很快也成为研究的热点。国外学者^[16,17]研究发现,OPG 水平在 PMOP 患者中明显升高,且与骨密度呈负相关,与碱性磷酸酶水平呈正相关,与绝经后骨质疏松和脊椎骨折均有关,而使用雌激素可以下调 PMOP 患者外周血单核细胞中 OPGmRNA 的表达,并使血清 OPG 水平降低,而且 OPGmRNA 的变化与骨密度的变化相关^[18]。故提出 OPG 可望作为预测绝经后骨质疏松患者骨代谢和骨折及评价疗效的生化标志物。但国内结果不尽相同,对504例20~75岁女性的研究发现,年龄与血清 OPG 水平呈正相关、与 RANKL 呈负相关,绝经后 OPG 升高而 RANKL 降低,而 OPG 和 RANKL 的水平均与骨密度及是否骨质疏松无关,从而提出 OPG 水平增高可能是对绝经后骨吸收加快的一个保护性代偿反应^[19]。

综上所述,绝经后雌激素减少导致的骨转换增加是 PMOP 的主要发病原因,OPG-RANKL-RANK 系统在雌激素对骨骼的作用机制中发挥重要作用。虽然雌激素缺乏促进骨吸收因子分泌,但它引起的 OPG/RANKL 变化处于一系列骨吸收信号的下游,因而它对 OPG/RANKL 的影响就更具有意义。OPG-RANKL-RANK 系统除在 PMOP 的发病中发挥重要作用外,已有将 OPG 和 RANKL 抗体用于 PMOP 治疗的报道,OPG 基因 SNP 还与 PMOP 的遗传易感性有关,可以被用于筛查 PMOP 易感人群。血清 OPG 水平是否与骨密度有关尚无定论,但绝经后 OPG 水平会升高这一点是肯定的,虽然目前相关报道还不多,但它有可能成为新的生化标记物来预测 PMOP 并评价疗效。

【参 考 文 献】

- [1] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997, 89(2): 309-319.
- [2] Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, 1998, 139(3): 1329-1337.
- [3] Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal

- women. *J Clin Invest*, 2003, 111(8):1221-1230.
- [4] Marie P, Halbout P. OPG/RANKL: role and therapeutic target in osteoporosis. *Med Sci (Paris)*, 2008, 24(1):105-110.
- [5] Sipes W, Pietschmann P, Rauner M. Strategies for novel therapeutic approaches targeting cytokines and signaling pathways of osteoclasto- and osteoblastogenesis in the fight against immune-mediated bone and joint diseases. *Curr Med Chem*, 2008, 15(2):127-136.
- [6] Saika M, Inoue D, Kido S, et al. 17beta-estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor-alpha. *Endocrinology*, 2001, 142(6):2205-2212.
- [7] 杨召 杨华 姚振强 等. 雌激素对去卵巢大鼠松质骨中骨保护素 mRNA 表达的影响. *中国矫形外科杂志*, 2003, 11(6):399-401.
- [8] Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 2001, 16(2):348-360.
- [9] Hamdy NA. Denosumab: RANKL inhibition in the management of bone loss. *Drugs Today (Barc)*, 2008, 44(1):7-21.
- [10] McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*, 2006, 354(8):821-831.
- [11] Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*, 2002, 17:1245-1255.
- [12] Arko B, Prezelj J, Kocjancic A, et al. Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*, 2005, 51(3):270-279.
- [13] Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. Sequence variations in the osteoprotegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(9):4080-4084.
- [14] Kim JG, Kim JH, Kim JY, et al. Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause*, 2007, 14(5):913-918.
- [15] Zhao HY, Liu JM, Ning G, et al. The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2005, 16(12):1519-1524.
- [16] Dai Y, Shen L. Relationships between serum osteoprotegerin, matrix metalloproteinase-2 levels and bone metabolism in postmenopausal women. *Chin Med J (Engl)*, 2007, 120(22):2017-2021.
- [17] Mezquita-Raya P, de la Higuera M, Garcia DF, et al. The contribution of serum osteoprotegerin to bone mass and vertebral fracture in postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2005, 16(11):1368-1374.
- [18] Liu JM, Zhao HY, Ning G, et al. Relationships between the changes of serum levels of OPG and RANKL with age, menopause, bone biochemical markers and bone mineral density in Chinese women aged 20-75. *Calcif Tissue Int*, 2005, 76(1):1-6.
- [19] Bashir A, Mak YT, Sankaralingam S, et al. Changes in RANKL/OPG/RANK gene expression in peripheral mononuclear cells following treatment with estrogen or raloxifene. *Steroids*, 2005, 70(13):847-855.

(收稿日期:2008-04-18)