

·综述·

OPG/RANK/RANKL 信号轴与原发性骨质疏松关系的研究进展

李应福¹, 李宁^{1*}, 谢兴文²

1. 甘肃中医学院, 兰州 730000
2. 甘肃省中医院, 兰州 730050

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 01-0115-05

摘要: 随着我国人口老龄化的逐渐加剧,原发性骨质疏松症的发病率日渐增加,这不仅会增加国家、社会的医疗投入,而且使人民的负担更加沉重。如何有效的预防、缓解甚或逆转原发性骨质疏松症病情的进展一直是生物医学研究的热点。因此更加深入的了解原发性骨质疏松症的发病机制与发展过程,为研发有效的药物提供理论支撑将尤为重要。近年来国内外研究的 OPG/RANK/RANKL 细胞信号通路就与原发性骨质疏松症的发生、发展存在着明显的相关性。本文旨在对此细胞通路的研究现状与其作用展开综述,以期对今后研究此细胞信号通路与原发性骨质疏松症的预防、缓解及治疗等方面的相关研究有所帮助。

关键词: 原发性骨质疏松;细胞信号通路;破骨细胞;成骨细胞

Research progress of the relationship between OPG/RANK/RANKL signal axis and primary osteoporosis

LI Yingfu¹, LI Ning¹, XIE Xingwen²

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China
2. Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730050, China

Corresponding author: LI Ning, Email: 535682960@qq.com

Abstract: With the increase of aging population in China, the incidence of primary osteoporosis is increasing, which not only increases the expense of medical care of the country and the society, but also increases the burden of people. How to prevent, to relieve, or to reverse the progress of osteoporosis has always been a hot spot in biomedical research. Therefore, it is important to understand the pathogenesis and the development of osteoporosis in order to provide a theoretical support for the development of drugs. In recent years, it has been reported that OPG/RANK/RANKL signaling pathway is obviously correlated with the occurrence and development of osteoporosis. This article reviews the current situation of this cellular pathway and its effect, in order to help future research in this signaling pathway and the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: Primary osteoporosis; Cell signal transduction; Osteoclast; Osteoblast

原发性骨质疏松症是指骨单位体积量减少,骨组织微结构破坏,致易发生骨折的全身性骨代谢障碍性疾病,主要强调骨量、骨丢失与骨结构的重要作用,以骨量减少、脆性增加、结构退化、易发生骨折为临床特征^[1]。近几年基于原发性骨质疏松症的防止与治疗从分子生物学方面进行的深入研究取得了较大突破^[2]。研究证明^[3],骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG),核因子- $\kappa\beta$ 受体活化因子

(receptor activator of nuclear factor $\kappa\beta$, RANK)和核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子配体(ligand of receptor activator of nuclear factor $\kappa\beta$, RANKL)在骨代谢的调节中发挥着重要的作用,OPG是RANKL的受体,二者结合后主要抑制破骨细胞的成熟分化及骨基质的吸收;而RANK是RANKL又一受体,二者结合后发挥破骨细胞分化的作用,促进骨基质的吸收。因此只有当OPG和RANK保持一定的比率,才能保持骨代谢轴平衡,才能防止各种疾病的发生。本文就近年来发现的OPG/RANK/RANKL信号通路与

*通讯作者: 李宁, Email: 535682960@qq.com

骨疾病相关的原发性骨质疏松的关系及作用研究等最新进展做一综述。

1 OPG/RANK/RANKL 系统的组成

1.1 OPG

OPG 是抑制骨吸收、增加皮质骨和松质骨密度、面积和骨强度的关键细胞因子^[4],主要由间充质细胞衍生的细胞如成骨细胞和骨髓间充质干细胞分泌表达,OPG 除了有成骨细胞、骨髓基质细胞、成纤维型滑膜细胞及单核细胞表达外,在心脏、肺、脾、胃、肾、肝、小肠、皮肤、甲状腺、骨髓、脊髓、脑、胎盘等多种组织中均有表达^[5]。其主要功能是竞争性的阻断 RANKL 与其功能性受体 RANK 结合,并形成 OPG/RANKL/RANK 系统,从而封闭成骨细胞诱导的破骨细胞前体细胞分化与融合,并调控破骨细胞的生成、分化、成熟与凋亡,影响其生理功能^[6-7]。Shimizu-Ishiura 等^[8]研究发现,小鼠卵巢切除术(OVX)小鼠给予 OPG 后骨小梁显著增多,相反未给予 OPG 的 OVX 小鼠骨小梁减少,证实 OPG 可以抑制骨吸收,最终防止骨量丢失。研究证实^[9]对于可逆转因 OPG 缺乏引起的严重骨质疏松可用重组 OPG 治疗,并提高去势后骨质疏松大鼠的骨量。OPG 还可以与肿瘤坏死因子(TNF)相关凋亡诱导配体(TRAIL)结合,抑制 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡,因此骨肉瘤、巨细胞瘤、软骨肉瘤、转移性骨肿瘤、前列腺癌、乳腺癌等的发展与体内 OPG 水平相关。但是目前 OPG 和 TRAIL 结合的分子生物学意义正在实验研究阶段。

1.2 RANK

RANK 是诱导破骨细胞成熟的关键细胞因子,属 TNFR 超家族成员,RANK 在体内主要表达于单核和巨噬细胞系,另外在胸腺、肝脏、骨骼肌、骨小梁、小肠、结肠及肾上腺中也有表达。RANK 主要通过破骨细胞及其前体细胞表面与 RANKL 结合,进而发挥促进破骨细胞的分化、成熟并阻止破骨细胞迅速凋亡的作用。在体内主要存在于可溶型和跨膜蛋白型两种方式:前者在血液中存在,可发挥阻断 RANKL 促破骨细胞分化、生长的功能;后者存在于破骨细胞表面,选择性地与 RANKL 结合,促使骨吸收。研究证实^[10],RANK 基因敲除鼠明显缺乏破骨细胞,最终会形成非致命性石骨症。而 RANK 过度表达则出现破骨细胞数量显著增加,细胞迁移能力增强,骨吸收速度加快,外基质被破坏矿化,临床主要表现为 Paget 病。

1.3 RANKL

RANKL 是调控骨吸收的关键细胞因子,属 TNF 超家族成员,RANKLmRNA 在骨髓基质细胞、原始间叶细胞、激活的 T 淋巴细胞及肺中高度表达。RANKL 蛋白在骨细胞、增生的软骨细胞等细胞中高度表达^[11]。Steeve 等^[12]发现软骨基质中的 RANKL 有三种类型:RANKL1、RANKL2 和 RANKL3 型。RANKL1 和 RANKL2 型均能增强破骨细胞前体细胞的增殖,RANKL3 型则抑制破骨细胞前体细胞的增殖,RANKL 不仅调节骨代谢,还具有活化 T 细胞表达的 RANKL 又能活化破骨细胞的功能,因此 RANKL 在免疫与骨骼系统的相互交叉对维持骨代谢轴动态平衡起着重要的作用。另外 RANKL 在成骨细胞高尔基体中大量储存,OPG 则可使 RANKL 保持在胞内,减少其释放至胞膜及胞外^[13]。实验研究发现,可溶性 RANKL 过度表达的大鼠,骨组织中出现骨吸收与骨骼脆性均增加、骨密度降低等类似绝经后骨质疏松症状^[14]。Weitzmann 等^[15]认为,RANKL 是细胞因子对于破骨细胞的分化成熟和骨吸收的最后下游效应。

2 OPG/RANK/RANKL 系统对破骨细胞生成的调节

RANK/RANKL 信号通路在破骨细胞生成调节中发挥着重要作用。当成骨细胞释放的 RANKL 与破骨细胞表面上的 RANK 结合,肿瘤坏死因子受体相关因子(TNF receptor associated factor, TRAFs)会迅速结合到 RANK 的胞质区,当 TRAF6 与 RANK 结合后,激活下游信号通路,如核因子- $\kappa\beta$ (nuclear factor- $\kappa\beta$,NF- $\kappa\beta$)、c-Jun N 末端激酶、钙调素蛋白磷酸酶、胞外信号调节激酶、Src、c-Myc、p38、丝氨酸-苏氨酸激酶 Akt/PKB 等活化并转运到核内,c-Fos 的表达增加,与活化的 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cells,NFAT-c1)结合并相互作用,启动破骨细胞生成基因的转录,最终诱导破骨细胞的终末分化及形成并抑制其凋亡^[16-17]。另外有研究表明,如果有效阻断 RANKL 与 RANK 的结合,可以防止肿瘤溶骨的发生^[18]。

成骨细胞分泌的 OPG 竞争性地与 RANKL 三种亚型结合,使其结合 RANK 的活性丢失,通路启动失败,从而抑制成熟破骨细胞的形成、存活和激活。实验证明^[19],OPG 基因敲除会导致小鼠皮质骨和骨小梁均减少,然而其过多表达会使破骨细胞数量减少,骨量增加,导致出现严重的骨硬化症。因此,

OPG/RANKL 的比率维持骨吸收量和骨形成量的动态平衡,直接影响破骨细胞形成及细胞因子和下游激素对骨代谢发挥作用的重要调节杠杆。一项研究证实,在同等条件下 OPG 与 RANKL 的亲合力比 RANK 与 RANKL 的亲合力低 200 倍^[20],这就间接影响了骨代谢轴的平衡,促进了破骨细胞的活化、分化及成熟。甘璐等^[21]实验研究显示,热可通过对 OPG/RANKL/RANK 信号通路平衡轴的影响,促进 OPG 表达、同时降低 RANKL 表达,使 OPG/RANKL 比值大,从而抑制破骨细胞分化及成熟,抑制骨吸收的作用。

3 OPG/RANK/RANKL 系统与原发性骨质疏松症相关性

3.1 绝经后骨质疏松症

绝经后骨质疏松症是由于妇女绝经后雌激素分泌降低,加速破骨细胞增殖分化,导致骨吸收率增加,骨形成率相对减少,骨吸收大于骨形成,破坏骨代谢轴平衡,导致骨量的减少和骨微结构的变化,骨小梁排列紊乱,使骨的力学性能下降,这是绝经后骨质疏松症发病的主要因素。OPG/RANK/RANKL 信号通路是雌激素参与破骨细胞生成和抑制骨吸收作用的重要路径之一。并且雌激素能增加 OPG 的分泌,同时可以直接抑制 RANKL 受体激活。研究发现雌激素在体内正常生理剂量时直接通过雌激素受体而作用于成骨细胞来表达 OPG、RANKL,最终起到调控破骨细胞的生成和活性的作用。但在另一项绝经后骨质疏松与血清中 OPG 水平的关系研究中发现,其结果却相互矛盾。有的研究认为绝经后妇女的骨密度与骨强度与 OPG 水平呈正相关^[22],有的研究认为二者之间呈负相关^[23],另有研究认为二者并无相关联系^[24]。因此,临床上不能将血清中 OPG 水平作为诊断骨质疏松的直接指标。

3.2 老年性骨质疏松症

随着年龄的不断增长,成骨细胞的存活率逐渐呈下降趋势,导致骨代谢轴失衡,另外 OPGmRNA 表达降低和 RANKLmRNA 表达增高可能是增龄性骨流失的重要原因之一^[25]。Cao 等^[26]研究发现,中、老年鼠的 RANKLmRNA 水平比青年鼠 RANKLmRNA 水平高 2.1~4.4 倍,OPGmRNA 水平随年龄的增长逐渐减少。另外其病因还与性激素减少有关,老年女性骨密度与骨强度下降除了雌激素分泌减少外,还存在于一些非雌激素依赖性骨丢失的老年妇女。老年女性体内雌激素水平伴随着绝

经、肾上腺雌激素水平的下降而逐渐降低,使 OPG/RANKL 比值减小,这就破坏了 OPG/RANK/RANKL 骨代谢轴的平衡;老年男性骨质疏松症亦与雄激素分泌水平有关,研究发现雄激素可减少体外成骨细胞 OPG 表达。但高飞等^[27]研究发现大鼠体内雄激素与 OPG 的水平呈负相关,其主要原因是雄激素可能经芳香化酶的作用转变为雌激素,然后其与 α 受体结合使 OPG 表达增加,抑制破骨细胞的活化、分化成熟。这也许是老年女性比老年男性发生骨质疏松症时间早且程度重的原因之一。

4 OPG/RANK/RANKL 信号通路对骨质疏松症的作用研究概述

OPG/RANK/RANKL 骨代谢轴目前是影响破骨细胞激活、分化、发育、成熟及调节其功能最重要的途径,对其的研究在治疗骨质疏松症甚至骨代谢性疾病中起着举足轻重的作用。那么如何调控 OPG/RANK/RANKL 骨代谢轴才能达到促进成骨、抑制破骨的目的,这成为许多临床与实验研究的重点。OPG 与 RANKL 分别作用于成骨和破骨,要通过 OPG/RANKL/RANK 骨代谢轴来逆转和治疗骨质疏松,主要是促 OPG 表达或抑 RANKL 表达。近年人重组 OPG、单克隆 RANKL 抗体已研制成功,部分药物已经开始临床试验^[28-29]。Cummings 等人^[30]研究发现重组 OPG 可有效抑制骨吸收而不影响骨形成,另外单克隆 RANKL 抗体组妇女在腰椎、髌部、股骨和桡骨远端的骨密度与骨强度变化方面较双磷酸盐组明显有效,且骨折的发生率明显低于对照组,证实该类抗体在治疗骨质疏松症方面的具有广阔的应用前景^[31]。Miller 等^[32]研究证实,单克隆 RANKL 抗体可降低绝经后妇女的骨转换标志物水平,并增加其骨矿密度,Hofbauer 等^[33]研究发现,单克隆 RANKL 抗体可以增加人类 RANKL 基因敲除小鼠的骨强度,并有效预防药物(糖皮质激素)诱导的骨量丢失。目前,单克隆 RANKL 抗体还被认为可以用于骨肉瘤、乳腺癌,前列腺癌及骨转移性肿瘤的治疗^[34]。但由于 OPG/RANK/RANKL 系统是一个动态平衡调节过程,对体内除了骨重建的调控外,另包括免疫系统及其他未知领域,因此长期应用是否会对免疫系统有影响及其预防骨折的疗效尚不明确。

总之,对 OPG/RANK/RANKL 系统的深入研究不仅阐释了骨质疏松症发生、发展以及修复的机制,而且为原发性骨质疏松症的预防与治疗提供了一条

新捷径,加速对成骨细胞、破骨细胞及相关细胞因子的信号传导网络的研究进展,为预防和治疗包括绝经后骨质疏松在内的溶骨性疾病提供了最为相关的治疗靶点,为骨代谢疾病尤其是骨质疏松症提供潜在的以细胞为基础的治疗新途径。通过 OPG/RANK/RANKL 系统调节原发性骨质疏松症的发生与发展过程,可以预防原发性骨质疏松症带来各种不可逆的危害。因此获得更为有效安全的治疗原发性骨质疏松药需要更多的临床实验研究。当然各种细胞因子和信号通路在骨代谢与骨重建过程中相互调节和影响,过程极其复杂,因此对于该过程的研究仍然任重道远。

【 参 考 文 献 】

- [1] World Health Organization, Prevention and management of osteoporosis [DB/OL]. <http://alos.eu.no-vartis.net/repository/a8/218308>.
- [2] 丁仁,尹宏,钱卫庆,等. 骨保护素在预测和治疗绝经后骨质疏松症中的作用[J]. 国际骨科学杂志,2011,32(1):24-26.
Ding Ren, Yin Hong, Qian Weiqing, etc. OPG in prediction and treatment of postmenopausal osteoporosis role [J]. International Journal of Bone Science,2011,32(1):24-26.
- [3] 封志云,贺振年,陈中. OPG/RANKL/RANK 系统与软骨及软骨下骨[J]. 国际骨科学杂志,2013,34(2):112-114.
Feng Zhiyun, He Zhenian, Chen Zhong. OPG / RANKL / RANK system and cartilage and subchondral bone [J]. International Journal of Bone Science,2013,34(2):112-114.
- [4] Kostenuik PJ. Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength [J]. Curr Opin Pharmacol,2005, 5(6): 618-625.
- [5] 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.
- [6] 熊燕琴,周筠,雷涛. 骨代谢信号通路的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2014,20(2):200-204.
Xiong Yanqin, Zhou Jun, Leitao. The research progress of bone metabolic signaling pathways [J]. Chinese Journal of Bone osteoporosis,2014,20(2):200-204.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Holen I, Shipman CM. Role of osteoprotegerin (OPG) in cancer [J]. Clin Sci (Lond),2006,110(3):279-291.
- [10] Asuda 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.
- [11] Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression [J]. Nat Med, 2011,17(10): 1231-1234.
- [12] Steeve KT, Jean-Pierre P, Daniell, et al. Differential modulation of RANKL isoforms by human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts: influence of osteotropic factors [J]. Bone, 2008, 43: 284-291.
- [13] Ostrowski MC. A new role for OPG: putting RANKL in its place [J]. J Bone Miner Res,2010,25(9):1905-1906.
- [14] Enomoto T, Furuya Y, Tomimori Y, et al. Establishment of a new murine model of hypercalcemia with anorexia by overexpression of soluble receptor activator of NF-kappa B ligand using an adenovirus vector [J]. Bone Miner Metab, 2011, 29(4): 414-412.
- [15] Weitzmann MN. The Role of Inflammatory cytokines, the RANKL/OPG axis, and the immunoskeletal interface in physiological bone turnover and osteoporosis [J]. Scientifica, 2013,20(13):543-550.
- [16] Boyce BF, Xing LP. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin [J]. Arthritis Research Therapy, 2007, 9 (Suppl 1):S1.
- [17] Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin [J]. Arthritis Res Ther, 2007, 9 (1):12-19.
- [18] Ando K, Mori K, Redini F, et al. RANKL/RANK/OPG: key therapeutic target in bone oncology [J]. Curr Drug Discov Technol,2008, 5(3): 263-268.
- [19] 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.
- [20] Zhang S, Liu C, Huang P, et al. The affinity of human RANK binding to its ligand RANKL [J]. Arch Biochem Biophys,2009, 487(1): 49-53.
- [21] 甘露,吴进,周勇,等. 不同温度下成骨细胞增殖及其 OPG/RANKL mRNA 表达的影响 [J]. 现代生物医学进展,2010,10(5):847-850.
Gan L, Wu J, Zhou Y, et al. At different temperatures osteoblast proliferation and OPG / RANKL mRNA expression [J]. Progress in Modern Biomedicine,2010,10(5):847-850.
- [22] 高延征,高坤,沈彬,等. 去卵巢后大鼠骨组织中核因子 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):2 877-2881.
Gao Yanzheng, Gao Kun, Shenbin, et al. After the ovariectomized rat bone receptor activator of nuclear factor B ligand and osteoprotegerin expression changes [J]. Tissue Engineering Research and Clinical Rehabilitation in China,2009, 13(15):2 877-2881.
- [23] 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.
Ma Peiqi. Research overview of osteoporosis treatment [J]. Shanghai Pharmaceutical, 2008,29(5):227-230.

- [24] Indridason OS, Franzson I, Sigurdsson G. Ser-um osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover [J]. Osteoporos International, 2005, 16(4):417-423.
- [25] 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.
Guo Liang. Osteoblasts, osteoclasts and OPG/RANKL/RANK axis and osteoporosis [J]. Orthopaedics and Traumatology, 2010, 22(7):41-44.
- [26] Cao J, Venton NL, Sakat AT, 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.
- [27] 高飞, 董进, 霍建忠. 雄激素对骨质疏松大鼠血清 OPG 表达水平的影响 [J]. 临床医药实践杂志, 2005, 14(5):340-342.
Gao Fei, Dongjing, Huo Jianzhong. Effect of androgen on the expression levels of serum OPG osteoporosis [J]. Journal of Clinical Medicine Practice, 2005, 14(5):340-342.
- [28] Trivedi R, Mithal A, Chattopadhyay N. Anabolics in osteoporosis: the emerging therapeutic tool. Curr Mol Med, 2010, 10(1):14-28.
- [29] Hamdy NA. Denosumab: RANKL inhibition in the management of bone loss. Drugs Today (Barc), 2008, 44(1):7-21.
- [30] Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med, 2009, 361:756-765.
- [31] 曾羿, 沈彬. 分子信号通路在骨质疏松防治中的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(3):305-309.
Zeng Y, Shen B. Research progress of molecular signaling pathways in prevention and treatment of osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2014, 20(3):305-309.
- [32] Miller PD. Denosumab: anti-RANKL antibody [J]. Curr Osteoporos Rep, 2009, 7(1):18-22.
- [33] Hofbauer 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.
- [34] Santini D, Galluzzo S, Zoccoli A, et al. New molecular targets in bone metastases. Cancer Treat Rev, 2010, 36(Suppl 3):S6-10.

(收稿日期: 2015-07-24)

对论文中有关实验动物描述的要求

在医学论文的描述中,凡涉及到实验动物应符合以下要求:(1)品种、品系描述清楚;(2)强调来源;(3)遗传背景;(4)微生物学质量;(5)明确体重;(6)明确等级;(7)明确饲养环境和实验环境;(8)明确性别;(9)有无质量合格证明;(10)有对饲养的描述(如饲料类型、营养水平、照明方式、温度、湿度要求);(11)所有动物数量准确;(12)详细描述动物的健康状况;(13)对动物实验的处理方式有单独清楚的交代;(14)全部有对照,部分可采用双因素方差分析。

(本刊编辑部)