

Sklerostyna – nowy cel terapii anabolicznej niskiej masy kostnej

Sclerostin – new target for bone anabolic therapy in low bone mass

Katarzyna Pawlak-Buś¹, Piotr Leszczyński^{1,2}

¹Oddział Reumatologii i Osteoporozy Szpitala im. Józefa Strusia w Poznaniu, ordynator Oddziału dr hab. med. Piotr Leszczyński

²Katedra Fizjoterapii, Reumatologii i Rehabilitacji Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, kierownik Katedry prof. dr hab. med. Włodzimierz Samborski

Słowa kluczowe: sklerostyna, sygnały Wnt, osteoporoza, terapia anaboliczna.

Key words: sclerostin, Wnt signaling, osteoporosis, anabolic therapy.

Streszczenie

Sklerostyna jest białkiem wydzielanym przez osteocyty, które ma właściwości hamujące proces kościotworzenia. Zidentyfikowano nowe locus w pobliżu genu *SOST* w miejscu 17q21, które koduje wytwarzanie tego białka. Sklerostyna łączy się z koreceptorami LRP5 i LRP6 dla lipoprotein o niskiej gęstości i wpływa na aktywność białek morfogenetycznych kości (BMP) oraz moduluje ścieżkę sygnałową Wnt/ β -katenina. Prawdopodobnie ta ścieżka sygnałowa odgrywa najważniejszą rolę w procesie osteogenezy i jest najwzschodniej w ostatnich latach studiowaną drogą regulatorową metabolizmu kości. Mimo olbrzymiego postępu osiągniętego w ostatnich latach w zrozumieniu molekularnych aspektów metabolizmu kości, obecnie nie jest dostępna jakakolwiek całkowicie satysfakcjonująca terapia niskiej masy kostnej i zapobiegająca złamaniom. Prowadzonych jest wiele badań naukowych mających na celu identyfikację potencjalnych celów terapeutycznych związanych ze ścieżką Wnt/ β -katenina.

Summary

Sclerostin is a potent protein secreted by osteocyte which can inhibit bone formation. A new locus was identified near *SOST* gene at 17q21 which it encodes. Sclerostin directly binds low density lipoprotein co-receptors Lrp5 and Lrp6 and modulates both bone morphogenetic proteins (BMPs) and Wnt/ β -catenin signaling pathway. Probably this is the crucial importance for osteogenesis and has probably been the most intensively studied signaling pathway in bone metabolism in recent years. Although much progress has been made in the molecular understanding of bone metabolism in recent years, no therapy is available yet to cure low bone mass and to protect fractures. Many of the current approaches to identify potential therapeutic targets are focused on the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Czy potrzebujemy nowych perspektyw w leczeniu osteoporozy?

Poprawa właściwości mechanicznych i strukturalnych kości, ich odporności nawet na niewielki uraz, co obecnie określa się mianem jakości kości (*bone quality*), zwiększenie gęstości mineralnej kości (*bone mineral density*), zapobieganie złamaniom osteoporotycznym oraz szybsze i bez jakichkolwiek powikłań ich gojenie się to fundamentalne cele współczesnej profilaktyki i leczenia osteoporozy.

Obecnie ingerencja farmakologiczna w mechanizmy remodelingu kości opiera się głównie na hamowaniu procesów nadmiernej resorpcji tkanki kostnej, a tylko nieliczne preparaty mają udowodnioną skuteczność w gojeniu złamań trzonów kręgowych poprzez pobudzenie procesów kościotworzenia. Zarówno bisfosfoniany, kalcytonina, jak i selektywne modulatory receptora estrogenowego (SERM) zapobiegają nadmiernej resorpcji kości, nie przeciwdziałają natomiast dalszej jej utracie i nie stymulują procesów formowania nowej tkanki kost-

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Piotr Leszczyński, Oddział Reumatologii i Osteoporozy, Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. J. Strusia, ul. Szkolna 8/12, 61-833 Poznań, e-mail: piotr_leszczyński@wp.pl; k.bus@makabu.net

Praca wpłynęła: 9.06.2010 r.

nej. Jedynym preparatem o pełnych właściwościach anabolicznych jest parathormon (PTH), którego stosowanie napotyka jednak wiele ograniczeń, głównie o charakterze ekonomicznym. Dlatego też istnieje naturalna potrzeba odkrycia leku łączącego w sobie zarówno właściwości antyresorpcyjne, jak i aktywujące formowanie nowej tkanki kostnej.

Poszukiwania idealnej cząsteczki torującej szlaki aktywacji procesów anabolicznych, czyli budujących kość, skupiają się na poznawaniu mechanizmów regulujących aktywność poszczególnych komórek macierzy kostnej. Jedną z kluczowych cząsteczek odpowiedzialnych za hamowanie procesów formowania tkanki kostnej jest sklerostyna. Białko to stało się obecnie nowym celem intensywnych naukowych dociekań i być może w niedalekiej przyszłości oczywistym celem terapeutycznym. Hamowanie skutków działania sklerostyny poprzez przeciwciała monoklonalne blokujące nadmierną jej aktywność stanowi dobrą perspektywę leczenia niskiej masy kostnej i mogłoby dać oczekiwany efekt anaboliczny w stosunku do kości.

Sieć komórek macierzy kostnej

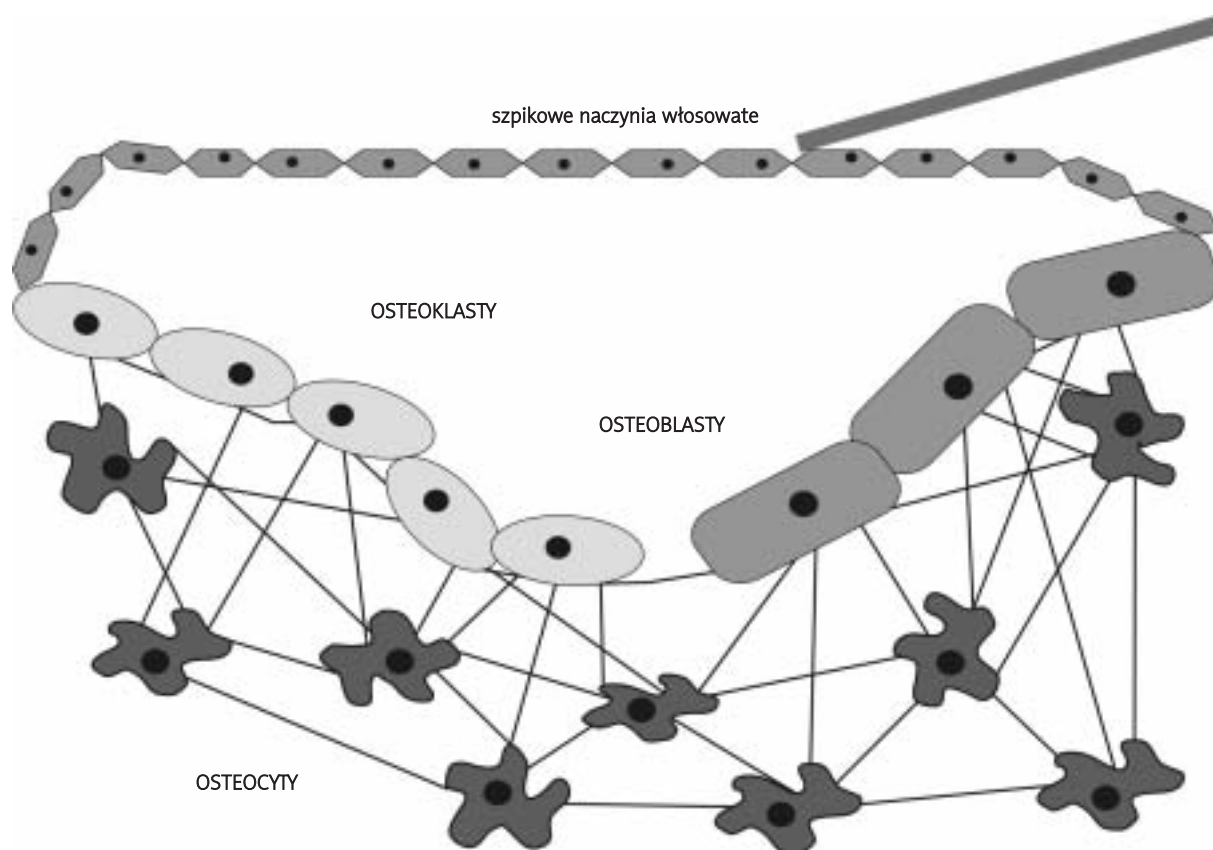
Układ kostny jest statyczny, natomiast tkanka kostna bardzo dynamiczna, ponieważ podlega ciągłym procesom resorpcji i tworzenia. Mechanizmy zapewniające dynamikę remodelingu kości oparte są na sieci wzajemnych powiązań trzech typów funkcjonalnych komórek tworzących macierz kostną osteocytów, osteoblastów i osteoklastów. Osteoblasty jako komórki, od których aktywności zależy formowanie nowej tkanki kostnej, odgrywają nadrzędną rolę w procesach anabolicznych [1]. Osteoklasty, czyli komórki resorbujące kość, stanowią cel dla powszechnie stosowanych leków antyresorpcyjnych, czyli spowalniających procesy kościogubne. Od wyników swoistej cytokinowej rozmowy (*cross talking*) pomiędzy tymi dwoma rodzajami komórek zależy równowaga między procesami tworzenia i resorpcji w zdrowej kości. Dojrzałe osteoblasty produkują osteokalcynę, RANKL (ligand dla receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B – przeciwciała z nadrodziny TNF- α), a także receptor dla PTH (PTH1R) i w ten sposób regulują procesy tworzenia oraz resorpcji kości. W momencie osadzenia w macierzy kostnej osteoblasty przechodzą transformację w osteocyty i wówczas wykazują ekspresję takich cząsteczek, jak DMP1 (*dentin matrix protein-1*) i sklerostyna [2]. Historycznie rzecz ujmując, rola osteocytów – mimo ich znaczącej liczbowej przewagi – była dotąd ignorowana, głównie z powodu położenia głęboko w macierzy kostnej [3]. Obecnie wiadomo, że to właśnie osteocyty odgrywają kluczową rolę w procesie budowy kości. To one odbierają i przekazują sygnały o stanie

tkanki kostnej, są mechanosensory, czyli komórkami reagującymi na napięcia mechaniczne, mikrourazy i mikrozłamania (*microcracks*) [4]. To właśnie osteocyty są źródłem sklerostyny, czyli białka kontrolującego mechanizmy budujące nową tkankę kostną (ryc. 1).

Związek nowego białka sklerostyny z masą kostną

Odkrycie sklerostyny i korelacja jej działania z efektem wysokiej masy kostnej doprowadziło do dalszego zgłębiania podstaw molekularnych mechanizmu hamowania aktywacji formowania tkanki kostnej. Idea hamowania działania sklerostyny stała się nową potencjalną drogą w leczeniu niskiej masy kostnej. Powiązanie faktu, że niedobór sklerostyny ewidentnie koreluje z wysoką masą kostną, dało początek poszukiwaniom przyczyn choroby, od tej chwili określanej mianem sklerosteozy. Okazało się, że sklerosteozą jest zaburzeniem układu kostnego, uwarunkowanym genetycznie autosomalnie recesywnie i jest efektem mutacji. Choroba ta prowadzi do uogólnionej hiperostozy, co charakteryzuje się wysokim wzrostem (gigantyzm), zniekształceniami części twarzowej czaszki i pozostałych kości, dysplazją kości, a także zaburzeniami neurologicznymi, w tym podwyższonym ciśnieniem wewnątrzczaszkowym, które może zagrażać życiu pacjenta. Dotychczas opisano ok. 100 przypadków zachorowań na sklerosteozę, głównie, ale nie tylko w populacji afrykańskiej [5]. Po raz pierwszy chorobę tę opisał Truswell [6] w 1958 r. jako osteopetrozę z syndaktylią, a terminu sklerosteozą użył jako pierwszy Hansen w 1967 r. [7]. Sklerosteozą jest zarówno klinicznie, jak i genetycznie podobnym schorzeniem do choroby Van Buchema, czyli uogólnionej hiperostozy, również uwarunkowanej genetycznie. Zainteresowanie przyczyną tych zaburzeń metabolizmu tkanki kostnej doprowadziło ponad 30 lat później do zidentyfikowania genetycznego podłoża sklerosteozy [8, 9]. Mutacja genu *SOST*, leżącego na chromosomie 17 (region 17q12-q21; delecja 52 kb), i w konsekwencji deficyt białka sklerostyny [8], skutkuje wysoką masą kostną bez zmniejszenia wartości i jakości kości u chorych. Oznacza to, że u pacjentów obarczonych tym defektem genetycznym w przypadku, gdy struktura tkanki kostnej jest związana ze zdecydowaną podwyższoną gęstością masy kostnej, nie dochodzi do złamań.

Ciekawe, że ekspresja genu *SOST* dotyczy tylko dojrzałej kości, czyli dojrzałych osteocytów, dlatego też uważa się, że układ *SOST*/sklerostyna stanowi u ludzi mechanizm regulujący masę kostną, który powoduje hamowanie linii osteoblastów, czyli komórek odpowiedzialnych za procesy anaboliczne zachodzące w kości. Do czynników działających anabolicznie należą również



Ryc. 1. Schemat sieciowej zależności osteocytów, osteoblastów i osteoklastów.

Fig. 1. Diagram of network correlation between osteocytes, osteoblasts and osteoclasts.

kostne białka morfogenetyczne BMP (*bone morphogenic proteins*), parathormon (PTH), insulinopodobny czynnik wzrostu IGF (*insulin growth factor*), endotelina 1 oraz agoniści prostaglandyn. W tym świetle unieczynnienie cząsteczki sklerostyny, np. poprzez stworzenie swoistych przeciwciał przeciw temu białku, również można zaliczyć do czynników dających efekt anaboliczny w stosunku do kości.

Sklerostyna i jej wpływ na remodeling kości

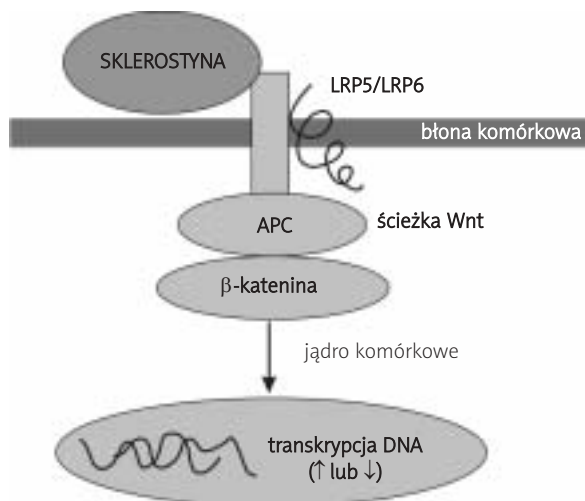
Sklerostyna jest produkowana i uwalniana przez dojrzałe osteocyty na powierzchnię kości w celu hamowania przekazywania sygnałów w kierunku aktywacji, proliferacji i różnicowania osteoblastów z komórek mezenchymalnych. Ekspresja tego białka jest jednak zależna od działania czynników mechanicznych uszkodzających tkankę kostną. Osteocyty są detektorami napięć mechanicznych w kości i mikrourazów. Gdy zdrowa kość nie podlega nadmiernym napięciom, osteocyty poprzez wydzielanie sklerostyny utrzymują równowagę w przebudowie kości, minimalizując aktywność osteoblastów. W przypadku uszkodzenia kości osteocyty hamują sekrecję sklerostyny

[10], przechylając mechanizmy remodelingu kości na stronę kościotworzenia i procesów naprawczych [11]. Sklerostyna, tak jak i wiele innych białek, działa poprzez układ przewodzenia sygnałów wewnątrzkomórkowych Wnt (*Wingless-type like signalling*) [12]. Obecnie większość uwagi naukowców badających procesy modelowania kości skupia się właśnie na mechanizmach szlaku Wnt [13]. Sklerostyna działa antagonistycznie w stosunku do szlaku Wnt i w ten sposób hamuje formowanie nowej kości, zależne od osteoblastów. Szlak Wnt, czyli jedna z dróg przekazywania sygnałów, jest aktywowana w kierunku różnicowania osteoblastów z ich progenitorów i działa stymulująco na procesy kościotwórcze.

Szlak Wnt obejmuje rodzinę białek o charakterze glikoprotein, które za pośrednictwem receptorów uruchamiają transdukcję sygnałów wewnątrzkomórkowych, co prowadzi do generowania transkrypcji genów dla kluczowych białek regulujących procesy komórkowe. Sklerostyna poprzez związanie koreceptorów LRP5 i LRP6 (*low density lipoprotein co-receptor*), wielofunkcyjnych części receptora dla lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), które są modulatorami przekaźnictwa pozakomórkowego, jest inhibitorem szlaku Wnt [14]. Przekaźnictwo

sygnałów tą drogą zostało opisane blisko 20 lat temu. Udowodniono zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, udział sygnałów szlaku Wnt/ β -katenina w osteoblastogenezie i osteoklastogenezie. Opisane sygnały wewnątrzkomórkowe biorą udział w rozwoju, proliferacji, różnicowaniu i migracji komórek m.in. poprzez kontrolę apoptozy [15]. Tak ważna rola w kluczowych procesach tworzenia komórek niesie ze sobą jednak pewne ryzyko. Nadmierna aktywacja mechanizmu pobudzającego proliferację komórek drogą Wnt, np. wskutek mutacji, może powodować niekorzystne skutki i ryzyko inicjowania procesu nowotworzenia. Zarówno układ sygnałów Wnt, jak i parathormon działają komplementarnymi drogami w kierunku tworzenia kości. Wiadomo, że podobne niebezpieczeństwo dotyczy terapii parathormonem [16], czyli również lekiem o właściwościach anabolicznych, którego czas terapii jest ograniczony właśnie ryzykiem nowotworzenia w kierunku *osteosarcoma* [17].

W badaniach wykazano, że mutacja w obrębie genów kodujących białka receptorowe szlaku Wnt powodowała także zmiany gęstości mineralnej kości i miała wpływ na obecność złamań. Przekaznictwo drogą Wnt stanowi więc punkt krytyczny dla siły kości, pobudza różnicowanie komórek w kierunku osteoblastów i formowanie tkanki kostnej, ale również hamuje procesy resorpcji poprzez blokowanie aktywatorów układu RANK/RANKL [18, 19]. Oznacza to, że przekaznictwo sygnałów szlakiem Wnt stanowi etap drogi zarówno procesów tworzenia, jak i resorpcji tkanki kostnej, a to tworzy potencjał współczesnej farmakologii chorób metabolicznych kości (ryc. 2).



Ryc. 2. Schemat ścieżki sygnałowej Wnt/ β -katenina i sklerostyna w osteogenezie.

Fig. 2. Diagram of Wnt/ β -catenin/sclerostin signaling pathway in osteogenesis.

Czy terapia anaboliczna kości jest krokiem w przyszłość?

Gdy chcemy uzyskać efekt tworzenia nowej tkanki kostnej, celem stają się mechanizmy związane z aktywacją osteoblastów i hamowaniem resorpcji kości przez osteoklasty. Idealnym kompleksowym preparatem farmakologicznym modelującym kość byłaby substancja działająca na obie te linie komórkowe. W leczeniu niskiej masy kostnej, a w szczególności reparacji złamań [20], bardzo istotne wydają się mechanizmy dające efekt anaboliczny, polegający na formowaniu nowej tkanki kostnej. Poznanie dróg regulacji mechanizmów wpływających na formowanie tkanki kostnej otworzyło nowe perspektywy w terapii anabolicznej. Odkrycie cząsteczek o działaniu regulującym kluczowe procesy dojrzewania i aktywacji komórek z pewnością pomoże w tworzeniu nowych dróg terapii osteoporozy i jej powikłań.

Stworzenie przeciwciał monoklonalnych blokujących działanie sklerostyny wydaje się potencjalną drogą w osiągnięciu celu, jakim jest rzeczywisty wzrost masy kostnej, a nie jedynie zahamowanie jej resorpcji. Obecnie w fazie badań klinicznych znajduje się preparat humanizowanych przeciwciał monoklonalnych klasy IgG2 podawany podskórnie. Dotychczas brak wystarczających danych, aby ocenić rezultaty jego działania, jednakże pierwsze doniesienia są bardzo obiecujące [21, 22].

Pomimo tak znaczącego zaawansowania wiedzy w zakresie biologii kości, w codziennej praktyce mamy do czynienia głównie z lekami o działaniu antyresorpcyjnym. To one stanowią trzon leczenia i są ciągle ulepszone. Wydaje się, że efekt redukcji złamań osteoporotycznych o połowę, jaki osiąga się, lecząc antyresorpcyjnie, nie powinien być kresem możliwości terapeutycznych. Mając na uwadze zarówno leczenie osteoporozy, jak i jej profilaktykę, poszukiwania powinny zmierzać w kierunku poznawania mechanizmów anabolicznych i wywierania tą drogą istotnego wpływu na remodeling tkanki kostnej. Dlatego brak procesów regulujących masę kostną i mechanizmów działania kluczowych cząsteczek biorących udział w tej regulacji rzuca nowe światło na możliwości terapii osteoporozy. Sklerostyna, jako białko hamujące dojrzewanie, proliferację i aktywność głównych komórek tworzących tkankę kostną, stanowi nowy cel w poszukiwaniach terapii o działaniu anabolicznym. Przeciwciała monoklonalne przeciwko sklerostynie, czyli nowa forma immunoterapii w osteoporozie, mogą stać się w przyszłości lekiem o korzystnym profilu anabolicznym i skuteczną bronią w walce z czynnikami niszczącymi kość.

Piśmiennictwo

1. D'Amelio P, Cristofaro MA, Grimaldi AC, et al. The Role of Circulating Bone Cell Precursors in Fracture Healing. *Calcif Tissue Int* 2010; 14 Apr 2010 (publikacja on-line).
2. Dallas SL, Bonewald LF. Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1192: 437-443.
3. Rochefort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporos Int* 2010; 4 MAR 2010 (publikacja on-line).
4. Chapurlat RD, Delmas PD. Bone microdamage: a clinical perspective. *Osteoporos Int* 2009; 20: 1299-1308.
5. Hamersma H, Gardner J, Beighton P. Natural history of sclerosteosis. *Clin Genet* 2003; 63: 192-197.
6. Truswell AS. Osteopetrosis with syndactyly. A morphological variant of Albers-Schonberg disease. *J Bone Joint Surg (Br)* 1958; 40: 208-218.
7. Hansen HG. Sklerosteose 1967; 351. Opitz H, Schmidt F, et al. *Handbuch der Kinderheilkunde*.
8. Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet* 2001; 10: 537-543.
9. Balemans W, Patel N, Ebeling M, et al. Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease. *J Med Genet* 2002; 39: 91-97.
10. Khosala S, Westendor JJ, Oursler MJ. Building bone to reverse osteoporosis and repair fractures. *J Clin Invest* 2008; 118: 421-428.
11. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, et al. Increased Sclerostin Serum Levels Associated with Bone Formation and Resorption Markers in Patients with Immobilization-Induced Bone Loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 (publikacja on-line).
12. Kramer I, Halleux C, Keller H, et al. Osteocyte Wnt/ β -catenin signaling is required for normal bone homeostasis *Mol Cell Biol* 2010 (publikacja on-line).
13. Yavropoulou MP, Yovos JG. The role of the Wnt signaling pathway in osteoblast commitment and differentiation. *Hormones* 2007; 6: 279-294.
14. Choi HY, Dieckmann M, Herz J. Lrp4, a novel receptor for Dickkopf 1 and sclerostin, is expressed by osteoblasts and regulates bone growth and turnover in vivo. *PLoS One* 2009; 4 (11).
15. Bodine PVN. Wnt signaling control of bone cell apoptosis. *Cell Research* 2008; 18: 248-225.
16. Bodine PV, Seestaller-Wehr L, Kharode YP. Bone anabolic effects of parathyroid hormone are blunted by deletion of the Wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1. *J Cell Physiol* 2007; 210: 352-357.
17. Berdiaki A, Datsis GA, Nikitovic D, et al. Parathyroid hormone (PTH) peptides through the regulation of hyaluronam metabolism affect osteosarcoma cell migration. *IUBMB Life* 2010; 62: 377-386.
18. Ott SM. Sclerostin and Wnt Signaling – the pathway to bone strength. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6741-6743.
19. Jackson A, Vayssiere B, Garcia T, et al. Gene array analysis of Wnt-regulated genes in C3H10T1/2 cells. *Bone* 2005; 36: 585-598.
20. Rochefort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporos Int* 2010 (publikacja on line).
21. Warmington K, Ominsky M, Bolon B, et al. Sclerostin monoclonal antibody treatment of osteoporotic rats completely reverses one year of ovariectomy-induced systemic bone loss. *J Bone Miner Res* 2005; 20: S22.
22. Ominsky MS, Vlasseros F, Jolette J, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density and bone strength. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 948-959.