

Sklerostin – nový regulační marker kostního obratu a klíčový cíl v terapii osteoporózy

V. CIRMANOVÁ¹, L. STÁRKA¹

¹Endokrinologický ústav, Praha

SOUHRN

Cirmanová V., Stárka L.: **Sklerostin – nový regulační marker kostního obratu a klíčový cíl v terapii osteoporózy**

Kostní remodelace je celoživotní koordinovaný proces kostní resorpce a formace, která obnovuje kostru při zachování její struktury. Za tento proces jsou zodpovědné specializované buňky: osteoblasty, osteoklasty a osteocyty. V posledních letech bylo dosaženo značného pokroku v identifikaci molekul zapojených do regulačních drah kostního metabolismu. Tyto objevy usnadnily rozvoj nových biochemických markerů, které monitorují tvorbu nebo resorpci kosti. Kostní markery jsou užitečné pro vyšetřování patofyziologických procesů metabolických poruch kostí a také pro vývoj nových léků na osteoporózu, revmatoidní artritidu či metastatické postižení kostí. Pro regulaci remodelace kosti má zásadní význam Wnt signální dráha. Silným inhibitorem kostní formace je glykoprotein vylučovaný osteocyty – sklerostin. Monoklonální protilátky proti sklerostinu představují perspektivní naději pro léčbu osteoporózy.

Klíčová slova: kostní remodelace, osteoporóza, osteoskleróza, sklerostin, AMG 785

SUMMARY

Cirmanová V., Stárka L.: **Sclerostin – a new regulatory marker of bone turnover and a key target in the treatment of osteoporosis**

Bone remodelling is a lifelong process of coordinated bone formation and resorption, which renews the skeleton while maintaining its structure. For this process, specialized cells are responsible: osteoblasts, osteoclasts and osteocytes. In recent years, considerable progress has been made in identifying molecular pathways involved in regulating bone metabolism. These discoveries facilitated the development of new biochemical markers to monitor bone formation and resorption. Bone markers are useful for investigating the pathophysiological processes of metabolic bone disorders and for developing new drugs for osteoporosis, rheumatoid arthritis and metastatic bone disease. For the regulation of bone remodelling, the Wnt signalling pathway is essential. A potent inhibitor of bone formation is a glycoprotein secreted by osteocytes – sclerostin. Monoclonal antibodies against sclerostin are promising for treatment of osteoporosis.

Keywords: bone remodelling, osteoporosis, osteosclerosis, sclerostin, AMG 785

Osteologický bulletin 2011;16(1):16–19

Adresa: MUDr. Veronika Cirmanová, Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1, e-mail: vcirmanova@endo.cz

Došlo do redakce: 3. 3. 2011

Přijato k tisku: 15. 4. 2011

Úvod

Mechanismus remodelace kosti je složitý proces, kterého se účastní celá plejáda faktorů. Jedním z nich je i sklerostin, morfogeneticky působící protein secernovaný osteocyty, který inhibuje formování kosti [1]. První publikace o tomto inhibitoru se objevily v r. 2003 [2] a sdělení o jeho účasti na kostním metabolismu, o mechanismu jeho působení a o možnosti využít těchto poznatků k novým přístupům v léčbě osteoporózy [3] i přehledů o tomto proteinu [4] se množí exponenciálně (*obr. 1*).

Regulátory aktivace osteoklastů a osteoblastů

Objev OPG/RANKL/RANK systému výrazně změnil naše chápání regulačních mechanismů diferenciace osteoklastů a osteoblastů [5]. Identifikace RANKL jako základního cytokinu pro tvorbu a aktivaci osteoklastů vedl k rozvoji léků, které blokují činnost RANKL, a inhibují tak kostní resorpci [6]. Terapie osteoporózy je většinou založena na sni-

žení úbytku kostní hmoty inhibicí resorpce, ale má pouze mírný vliv na zvýšení kostní hmoty. Nedávný objev Wnt signální dráhy (Wingless and INT-1, secernované modifikované proteiny) a jejich regulátorů osteoblastické aktivace by mohl přispět k identifikaci nových terapeutických cílů, zvyšujících kostní formaci. Aktivace Wnt signální dráhy vede ke zvýšené proliferaci a diferenciaci prekurzorových buněk osteoblastů, což příznivě ovlivňuje tvorbu nové kosti a zvýšení hustoty kosti. Wnt signalizace se skládá z kanonické a nekanonické cesty. V nekanonické cestě Wnt reguluje proces diferenciace mezenchymálních buněk ve prospěch buněk osteoanabolické řady na úkor adipogeneze, pomocí aktivace G proteinů a následně ovlivněním fosfatidylinositolové signální cesty a proteinkináz C. Kanonická Wnt kaskáda je zahájena vazbou Wnt ligand na jeho transmembránový receptor zvaný Frizzled. K jeho navázání je důležitá přítomnost koreceptoru LRP5 nebo LRP6 (lipoprotein-receptor related protein) za vzniku komplexu Wnt-Frizzled-

LRP5, zabraňující fosforylaci β kateninu, čímž se znemožní jeho degradace. β katenin se hromadí v cytoplasmě, translokuje se do jádra a navodí expresi genů, umožňující diferenciaci mezenchymálních buněk do osteoblastické linie [7].

Sklerostin – antagonist Wnt signalizace

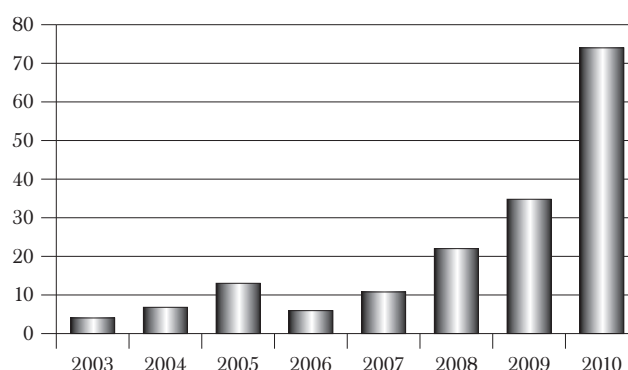
Wnt signalizace může být antagonizována secernovanými nebo intracelulárními inhibitory, které zabraňují vzniku Wnt-Frizzled-LRP5 komplexu. Tito antagonisté mohou sloužit jako potenciální terapeutické cíle pro tvorbu kostí. Jedním z nejslibnějších cílů je **sklerostin**. Tento glykoprotein secernovaný osteocyty byl identifikován jako jeden z hlavních inhibitorů Wnt signalizace [8]. Animální i humánní studie ukazují, že inhibice sklerostinu, vylučovaného osteocyty anti-sklerostinovými protilátkami, indukuje tvorbu kosti. Sklerostin interaguje s LRP5 a LRP6 a inhibuje vazbu Wnt na svůj receptor, což blokuje tvorbu kosti. Sklerostin je téměř výhradně exprimován v osteocytech. V reakci na mechanickou zátěž osteocyty vylučují cytokiny ovlivňující Wnt signální dráhu. Tyto cytokiny řídí diferenciaci osteoblastů, a tím regulují tvorbu kostí. Sklerostin negativně reguluje osteoblasty a inhibuje kostní novotvorbu. Sklerostin může působit inhibičně na tvorbu kosti tím, že brání aktivaci lemučících buněk stejně jako inaktivaci aktivních osteoblastů. Glukokortikoidy stimulují expresi sklerostinu, a tím inhibují tvorbu kostí, zatímco intermitentní PTH inhibuje sekreci sklerostinu osteocyty, a tím stimuluje kostní formaci [9]. Uvedené poznatky naznačují, že osteocyty mohou působit jako klíčové regulátory při tvorbě a lokalizované remodelaci kosti [10]. Přesná fyziologická úloha sklerostinu v osteocytech zatím není zcela jasná, ale četné studie ukazují, že exprese sklerostinu se snižuje při přítomnosti mechanické zátěže, což může nakonec vést k vyšší osteogenezi. Downregulaci exprese sklerostinu ovlivňuje také parathormon (PTH). Schematický model působení sklerostinu v regulaci kostní novotvorby ukazuje obr. 2.

Belindo se spolupracovníky prokázal, že chronické zvýšení PTH u myši snižuje expresi sklerostinu v osteocytech [11]. Recentní studie prokázala negativní korelaci sérových hladin sklerostinu s PTH a volným estrogenem u postmenopauzálních žen [12]. Tyto nálezy naznačují, že hladiny sklerostinu jsou regulovány estrogeny a PTH u žen po menopauze. Již v roce 2010 Gaudio a spolupracovníci [13] prokázali, že hladiny sklerostinu v séru jsou významně vyšší u pacientů s kostní ztrátou indukovanou imobilizací. Tyto údaje souhlasí s hypotézou, že sklerostin souvisí s mechanickou zátěží a imobilizací u lidí. Expresi sklerostinu ovlivňuje také 1,25(OH)₂ vitamín D sám nebo v kombinaci s kyselinou retinovou zvýšením SOST exprese u lidských osteoblastů in vitro [14]. Další studie prokázala zvýšenou koncentraci sklerostinu v synoviální tkáni u pacientů s revmatoidní artritidou. Zjištěné nálezy ukazují, že zánětlivé cytokiny mohou podporovat nerovnováhu mezi kostní resorpcí a formací, a tím ovlivňovat regulační molekuly dráhy Wnt jako sklerostin [15]. Úlohu sklerostinu u pacientů s mnohočetným myelomem prokázal Terpos se spolupracovníky [16]. Sklerostin je zvýšen v séru pacientů s mnohočetným myelomem a jeho hladina koreluje s pokročilým stadiem, zvýšenou kostní resorpcí, sníženou funkcí osteoblastů a hor-

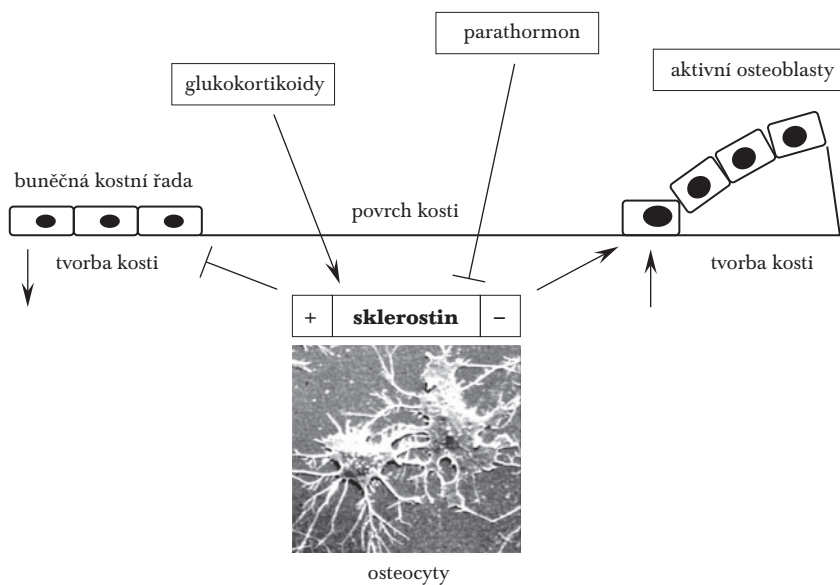
ším přežitím. Sklerostin je produktem genu SOST (SclerOSTeosis) a uplatňuje se v regulaci kostní novotvorby. Mutace SOST, genu kódujícího sklerostin, jsou asociovány se zvýšenou kostní hmotou a kostní densitou BMD v celém skeletu. Tuto poruchu můžeme vidět u 2 vzácných autozomálně recesivních chorob s podobným fenotypem, **sklerosteózy** a **van Buchemovy choroby**. Příčinou sklerosteózy jsou různé inaktivující mutace v SOST genu, při van Buchemově chorobě dochází k delecí v regulační oblasti kódující SOST gen. Důsledkem genetické poruchy u obou chorob je deficit sklerostinu. Sklerosteóza byla hlavně diagnostikována mezi Afričany holandského původu v Jižní Africe, zatímco většina pacientů s van Buchemovou nemocí pochází z malé rybářské vesnice v Nizozemí. Několik jednotlivců a rodin se sklerosteózou nebo van Buchemovou chorobou bylo hlášeno i v jiných částech světa, včetně Španělska, Brazílie, Spojených států, Německa, Japonska, Švýcarska a Senegalu [4]. Skeletální projevy sklerosteózy a van Buchemovy choroby jsou výsledkem endostální hyperostózy a jsou charakterizovány progresivní generalizovanou osteosklerózou. Projevy jsou nejvýraznější na čelistech a lebce s charakteristickým rozšířením čelistí a obličejových kostí, vedoucí k deformaci obličeje, zvýšení nitrolebního tlaku a uskřínutí hlavových nervů, často spojeny s faciální parézou, ztrátou sluchu nebo čichu. Fenotyp pacientů s osteosklerózou je závažnější než u van Buchemovy choroby a je často asociován s výskytem syndaktylie [17]. Podobně jako u člověka, SOST knockoutované myši mají vyšší kostní hmotu a pevnost kostí v důsledku zvýšené kostní formace [18]. U potkanů léčených protilátkami proti sklerostinu došlo nejen k zástavě zvýšené kostní ztráty indukované nedostatkem estrogenu na více místech skeletu, ale také k dalšímu zvýšení kostní hmoty a pevnosti kostí na vyšší úrovni ve srovnání s nonovarietomovanými kontrolami. Inhibice sklerostinu u opic vedla ke zvýšení kostní formace, kostní hmoty a pevnosti kostí v lumbální páteři a zvýšení plošné BMD v krčku femuru i distálního radia [19]. V modelech hojení zlomenin u myši i potkanů, protilátky proti sklerostinu zvyšovaly přemostění a pevnost kostí v místech lomu, což vedlo ke zlepšení hojení kostí ve srovnání s kontrolami. V těchto preklinických studiích nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky.

V první humánní studii byla podávána monoklonální protilátka proti sklerostinu (**AMG 785**) zdravým mužům a post-

Obr. 1
Nárůst publikací o sklerostinu



Obr. 2
Schemický model působení sklerostinu v procesu kostní remodelace



menopauzálním ženám [20]. V této randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované studii 72 zdravých dobrovolníků obdrželo AMG 785 nebo placebo v poměru 3 : 1 subkutánně (0,1, 0,3, 1, 3, 5 nebo 10 mg/kg) nebo intravenózně (1 nebo 5 mg / kg). Probandi byli sledováni v závislosti na dávce po dobu až 85 dnů. Hlavním cílem bylo sledování účinků AMG 785 včetně bezpečnosti a snášenlivosti. Sekundárním cílem byla farmakokinetika, markery kostního obratu a denzity kostního minerálu. Protilátka AMG 785 byla obecně velmi dobře snášena. Bylo pozorováno na dávce závislé zvýšení markerů kostní formace – prokolagen typu 1 N-propeptidu (PINP), specifické kostní alkalické fosfatázy (BAP) a osteokalcinu, společně s poklesem sérového markeru kostní resorpce – C-telopeptidu (sCTX), což představuje velké anabolické okno. Navíc bylo pozorováno statisticky významné zvýšení kostní denzity o 5,3 % v bederní páteři a 2,8 % v proximálním femoru po 85 dnech léčby ve srovnání s placebem.

Farmakologické látky pro léčbu osteoporózy mohou být klasifikovány jako antiresorpční nebo osteoanabolické podle převažujícího účinku na zlepšení pevnosti kosti, buď inhibicí resorpce kostí osteoklasty, nebo stimulací osteoblastů k tvorbě kostí. Antiresorpční léky (např. bisfosfonáty, SERM, lososí kalcitonin, estrogeny, denosumab) představují širokou škálu s antiresorpčním potenciálem od velmi mírného účinku u lososího kalcitoninu až po velice vysoký u denosumabu. Vzhledem k fyziologickému propojení kostní resorpce a formace, snižování kostní resorpce vede k potlačení kostní formace. Nové antiresorpční preparáty sice potlačují kostní resorpci rychleji a více než kostní formaci, ale i přesto je spojení obou složek kostní remodelace limitujícím faktorem při zlepšování BMD. Antiresorpční léky snižují riziko zlomenin snížením prostorové přestavby kostí a zvýšením kostní mineralizace, ale nebudují ani neobnovují novou kost, čímž se zhoršuje mikroarchitektura kosti. Osteoanabolické léky (např. teriparatid, rekombinační lid-

ský parathormon PTH 1–84) zvyšují kostní formaci rychleji a více než kostní resorpci, ale propojení kostní formace a resorpce se ukazuje jako limitující pro dosažení zvýšeného BMD. Některé léky, jako např. stroncium-ranelát, umožňují alespoň částečné odpojení kostní resorpce a formace, a tím získaly antiresorpční i osteoanabolické účinky [21]. Otázkou zůstává, jak protilátky proti sklerostinu (AMG 785) zapadají do současného spektra osteologické terapie a jaké výhody by mohly nabídnout ve srovnání s léčbou osteoporózy, kterou máme momentálně k dispozici? Je jasné, že sklerostin exprimovaný osteocyty inhibuje osteoplastickou tvorbu kostí a protilátky proti sklerostinu zvyšují tvorbu kosti osteoblasty, proto jsou antisklerostinové protilátky zařazeny mezi osteoanabolické léky. Humánní randomizovaná studie s AMG 785 prokázala dostatečný účinek na markery kostní formace

za měsíc po jednorázové dávce AMG 785, srovnatelný s pozorováním po 6 měsících denního podávání teriparatidu. Navíc zvýšení BMD v bederní páteři (5,3 %) i celé kyčli (2,8 %) za 3 měsíce po jedné subkutánní dávce 10 mg/kg AMG 785 bylo srovnatelné nebo větší než výsledky pozorované po 6 měsíční denní sc aplikaci teriparatidu. Všichni probandi zařazení do první humánní studie s AMG 785 byli samozřejmě suplementováni vápníkem a vitamínem D. Protilátka AMG 785 nejen zvyšuje markery kostní formace (PINP, BAP a osteokalcinu), ale také snižuje marker kostní resorpce (sCTX), což vytváří široké anabolické okno. Tento efekt zatím nebyl prokázán u jiných osteologických léků. Uncoupling mezi osteoblasty a osteoklasty naznačují také limitovaná histomorfometrická data od jednoho pacienta se sclerosteózou, která prokázala stupeň kostní formace větší než 9 směrodatných odchylek nad normu a naopak subnormální počet osteoklastů na plochu kostní tkáně [22]. Zatím zůstává nejasné, zda inhibice sklerostinu (genetická a farmakologická) přímo blokuje účinek osteoklastů, nebo působí sekundárně výrazným zvýšením kostní novotvorby. Tento způsob anabolismu se může lišit od principu působení PTH ve studiích, kdy kostní markery u lidí [23] a primátů [24] vzrostly již za měsíc po podání. První humánní studie s AMG 785 jasně prokázala bezpečnost, dobrou snášenlivost a především efektivnost tohoto nového anabolického léku. Slibné výsledky této studie tak umožňují další podporu klinického výzkumu AMG 785 u vybraných pacientů s osteoporózou, kteří by mohli profitovat ze zvýšení kostní formace.

Závěr

Alterace Wnt signální dráhy a jeho regulační molekuly sklerostinu prokázala, že hrají důležitou roli v abnormalitách kostního obratu přítomných u osteoporózy, mnohočetného myelomu, kostních metastáz a artritidy. Vývoj neutralizačních protilátek proti sklerostinu představuje velmi

slibné léčebné prostředky u chorob se zvýšenou kostní resorpcí. Terapie založená na inhibici účinků sklerostinu by mohla poskytnout účinný způsob, jak obnovit sílu kostí u osteoporotického skeletu. Měření sérové hladiny sklerostinu představuje nový přístup při studiu regulace kostní hmoty a může sloužit jako vhodný nástroj k odhalování kostních chorob i monitorování různých terapeutických postupů. Zjištěné poznatky podporují další potenciální klinické studie inhibice sklerostinu.

Literatura

- Poole KE, Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J* 2005;19:1842–1844.
- Kusu N, Laurikkala J, Imanishi M, et al. Sclerostin is a novel secreted osteoclast-derived bone morphogenetic protein antagonist with unique ligand specificity. *J Biol Chem* 2003;278:24113–24117.
- Lewiecki EM. Sclerostin monoclonal antibody therapy with AMG 785: a potential treatment for osteoporosis. *Expert Opinion on Biological Therapy* 2011;11(1): 117–127.
- Moester MJ, Papapoulos SE, Löwik CW, et al. Sclerostin: current knowledge and future perspectives. *Calcif Tissue Int* 2010 Aug;87(2):99–107.
- Hofbauer LC and Shoppert M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004;292: 490–495.
- Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor Activator of Nuclear Factor (kappa)B Ligand and Osteoprotegerin Regulation of Bone Remodeling in Health and Disease. *Endocr Rev* 2008;29:155–192.
- Luchavova M, Raska I. Novelties and possibility of prevention and treatment in the outpatient clinic of general practitioner. *Int med pro praxi* 2011;13(2):74.
- Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2009;24:578–588.
- Bezooijen RL, Bronckers AL, Gortzak RA et al. Sclerostin in Mineralized Matrices and van Buchem Disease. *J Dent Res* 2009;88:569–574.
- Robling AG, Bellido T, Turner CH. Mechanical stimulation in vivo reduces osteocyte expression of sclerostin. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006;6:354.
- Bellido T, Ali AA, Gubrij I et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoclastogenesis. *Endocrinology* 2005;146(11):4577–4583.
- Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, et al. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(4):1991–1997.
- 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;95(5):2248–2253.
- Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C et al. Unique regulation of SOST, the sclerosteosis gene, by BMPs and steroid hormones in human osteoblasts. *Bone* 2004;35:448–454.
- Wehmeyer C et al. *Ann Rheum Dis* 2010; 69 (Suppl2): A1–A76.
- Terpos E et al. *Blood (ASH Meeting Abstracts)* 2009; 114:425.
- Epstein S et al. Endocrine function in sclerosteosis. *S Afr Med J* 1979;55: 1105–1110.
- Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res* 2008;23:866–869.
- Ominsky MS, Vlasseros F, Jollette 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.
- Padhi D, Jang G, Stouch B, et al. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011; 26(1):19–26.
- Marie PJ, Ammann P, Boivin G, et al. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif Tissue Int* 2001;69(3):121–129.
- Stein SA, Witkop C, Hill S, et al. Sclerosteosis: neurogenetic and pathophysiological analysis of an American kinship. *Neurology* 1983;33:267–277.
- Hodsman AB, Hanley DA, Ettinger MP, et al. Efficacy and safety of human parathyroid hormone-(1–84) in increasing bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5212–5220.
- Fox J, Miller MA, Newman MK, et al. Treatment of skeletally mature ovariectomized rhesus monkeys with PTH(1–84) for 16 months increases bone formation and density and improves trabecular architecture and biomechanical properties at the lumbar spine. *J Bone Miner Res* 2007;22:260–273.