

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανοσοποιητικού συστήματος και οστικού μεταβολισμού Κλινικές εφαρμογές

Οι σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανοσοποιητικού συστήματος και οστικών κυττάρων έχουν δημιουργήσει το νέο πεδίο της οστεοανοσολογίας, που επιδιώκει μέσω της ανίχνευσης των μοριακών σχέσεων ανάμεσα στο οστόν και το ανοσοποιητικό σύστημα να αποκαλύψει παθογενετικούς μηχανισμούς σε μια μεγάλη ομάδα νοσημάτων, που περιλαμβάνουν τα αυτοάνοσα νοσήματα, την οστεοπόρωση, τον καρκίνο κ.ά. Στο άρθρο αυτό έγινε προσπάθεια να συγκεντρωθούν όλα τα δεδομένα για το ρόλο της οστεοανοσολογίας στην παθολογία πολλών νόσων και να απαντηθούν βασικά ερωτήματα, όπως (α) Μπορούν τα ανοσολογικά κύτταρα να εμπλέκονται σε νοσήματα του οστού; και (β) μπορεί η απορρύθμιση του οστικού μεταβολισμού να οδηγήσει στην ανάπτυξη αυτοάνοσων παθήσεων; Η ανακάλυψη, τα τελευταία χρόνια, του βιολογικού δρόμου του ενεργοποιητή του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα κΒ (RANK), της οστεοπροτεγερίνης (OPG) και του συνδέτη τους (RANKL) έχει οδηγήσει σε μερικές πολύ σημαντικές πληροφορίες. Τα μόρια αυτά δεν είναι υπεύθυνα μόνο για τη φυσιολογική ρύθμιση της λειτουργίας των οστεοκλαστών, αλλά συμμετέχουν στην παθογένεια ποικίλων νόσων που εμπλέκουν τα οστά, όπως η μετεμνηνοπαυσιακή οστεοπόρωση, η οστική απώλεια από τα στεροειδή, η οστεοπόρωση που σχετίζεται με τα θαλασσαιμικά σύνδρομα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και άλλες αυτοάνοσες αρθρίτιδες, οι οστικές μεταστάσεις στους συμπαγείς όγκους, η οστική νόσος στο πολλαπλούν μυέλωμα, η HIV-λοίμωξη, αλλά και η αθηρωμάτωση των αγγείων. Ο βιολογικός δρόμος των RANK/RANKL/OPG φαίνεται επίσης να σχετίζεται με την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω των δενδριτικών κυττάρων και να αποτελεί τη γέφυρα μεταξύ οστικού μεταβολισμού και ανοσοποιητικού συστήματος. Η ανάπτυξη νέων φαρμάκων που στοχεύουν το βιολογικό αυτό δρόμο μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερο χειρισμό των ασθενών με «ανοσολογικού-τύπου» οστικές διαταραχές.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εμφάνιση του νέου πεδίου της οστεοανοσολογίας αντιπροσωπεύει μια συνδυαστική αναθεώρηση πολλαπλών φαινομένων που σχετίζονται με βιολογικά γεγονότα στο οστόν και το ανοσοποιητικό σύστημα. Η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης αυτής αρχίζει με τη βασική γνώση ότι το οστόν προσφέρει ένα μικροπεριβάλλον που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (hematopoietic stem cells, HSCs), απ' όπου προέρχονται όλα τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, τα οποία με τη σειρά τους παράγουν διάφορες ανοσοτροποποιητικές κυτταροκίνες που επηρεάζουν τη λειτουργία των οστικών κυττάρων.

Οι λόγοι που τα οστά αποτελούν το ιδανικό ανατομικό μικροπεριβάλλον για τη συντήρηση και τη διαφοροποίηση των HSCs έχουν διευκρινιστεί πρόσφατα. Φαίνεται ότι τα κύτταρα που δημιουργούν το δίκτυο του οστού, οι οστεοβλάστες (OBs), παράγουν ζωτικές κυτταροκίνες για την ανάπτυξη της δεξαμενής των HSCs. Υπάρχουν συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα ότι το οστόν παίζει σημαντικό ρόλο στην προσαρμοσμένη ανοσία, ενώ είναι ενδιαφέρον ο τρόπος με τον οποίο το ανοσοποιητικό σύστημα επηρεάζει τον οστικό μεταβολισμό. Οντογενετικά, η σκελετική ανάπτυξη προηγείται, ανεξάρτητα της πρώιμης ανάπτυξης του ανοσοποιητικού συστήματος. Έτσι, είναι απίθανο ότι υπάρχουν επιδράσεις από το ανοσοποιητικό στα οστά και το σχηματισμό της μυελικής κοιλότητας κατά την

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2008, 25(4):442-455
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2008, 25(4):442-455

Ε. Τέρπος,¹
Δ. Χριστούλας,¹
Γ. Μελέτης²

¹Τμήμα Βιοϊατρικής Έρευνας και Αιματολογική Κλινική, 251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας, Αθήνα
²Α΄ Παθολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Νοσοκομείο «Λαϊκό», Αθήνα

Interactions between immune system and bone cells: Clinical implications

Abstract at the end of the article

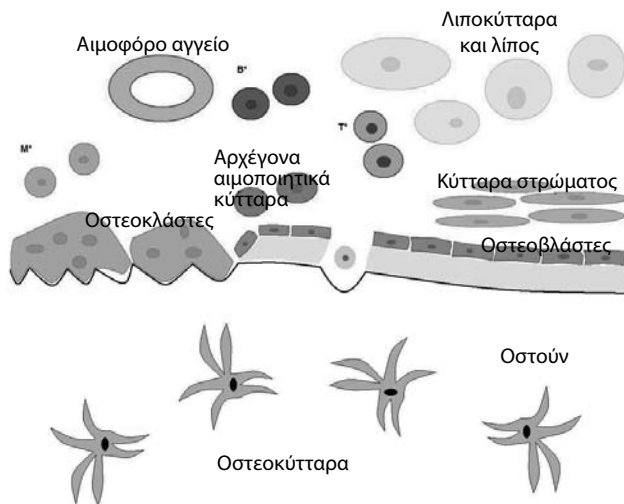
Λέξεις ευρητηρίου

Καρκίνος
Οστεοανοσολογία
Οστεοπόρωση
Οστικές μεταστάσεις
Πολλαπλούν μυέλωμα

Υποβλήθηκε 3.8.2007
Εγκρίθηκε 5.9.2007

ανάπτυξη. Ωστόσο, η ομοίωση και ο ανασχηματισμός του οστού συμβαίνουν καθόλη τη διάρκεια της ζωής μας, επιτρέποντας στα ανοσολογικά και τα οστικά κύτταρα να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (εικ. 1). Για το λόγο αυτόν, η οστική ομοίωση επηρεάζεται συχνά από ανοσολογικές δράσεις, ειδικά όταν έχει ενεργοποιηθεί το ανοσοποιητικό σύστημα. Κατά τη διάρκεια παθολογικών καταστάσεων, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση, το πολλαπλούν μυέλωμα (ΠΜ), οι οστικές μεταστάσεις στους συμπαγείς όγκους κ.λπ., προάγεται η παραγωγή παραγόντων που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό, αλλοιώνοντας την ισορροπία μεταξύ των κυττάρων που σχηματίζουν οστούν (OBs) και αυτών που το αποδομούν (οστεοκλάστες, OCs). Παλαιότερα, δεν ήταν σαφές αν οι επιδράσεις αυτές επηρέαζαν τη φυσιολογική οστική ομοίωση. Ωστόσο, η ανακάλυψη ότι ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα παράγουν το συνδέτη του ενεργοποιητή του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (receptor activator of nuclear factor κB ligand, RANKL), μέλος της υπερικογενείας των παραγόντων νέκρωσης του όγκου (tumor necrosis factor, TNF), που αποτελεί καταλυτικό παράγοντα για τη διαφοροποίηση των OCs, αποδεικνύει αρκετά ικανοποιητικά ότι υπάρχει σύνδεση μεταξύ ανοσολογικών κυττάρων και οστικού μεταβολισμού.

Κατά τη διάρκεια της ζωής μας, ερχόμαστε σε επαφή με διάφορους λοιμώδεις παράγοντες, με αποτέλεσμα να



Εικόνα 1. Σχηματικό διάγραμμα της δομής του μικροπεριβάλλοντος του οστού με την παρουσία οστικών και αιμοποιητικών κυττάρων: T* (T-λεμφοκύτταρα μνήμης και κυκλοφορούντα T-λεμφοκύτταρα), B* (B-λεμφοκύτταρα, η διαφοροποίηση των οποίων γίνεται μέσω αλληλεπιδράσεων με τα κύτταρα του στρώματος, B-κύτταρα μνήμης, ώριμα B-λεμφοκύτταρα), κύτταρα στρώματος (μεσεγχυματικής προέλευσης όχι πλήρως διευκρινισμένης), M* (μονοκύτταρα) και οστεοειδές (πρόσφατα σχηματισμένος αλλά όχι επιμεταλλωμένος διάμεσος ιστός, που αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο τύπου I [90%] και μη κολλαγονογενείς πρωτεΐνες [10%]).

παρουσιάζεται μια βαθμιαία αλλαγή της σύνθεσης της δεξαμενής των T-λεμφοκυττάρων, με άθροιση κυττάρων μνήμης που εκφράζουν RANKL και είναι εγκατεστημένα στο οστόν. Έτσι, η ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος αυξάνει την επίδραση στην οστική ομοίωση.¹

Τελικά, πόσο σχετική είναι η οστεοανοσολογική προσέγγιση στη βιοϊατρική έρευνα με τη θεραπεία της ανθρώπινης νόσου; Αν και οι περισσότερες μελέτες στην οστεοανοσολογία εστιάζονται στις φλεγμονώδεις οστικές νόσους, όπως η οστεοαρθρίτιδα και η ρευματοειδής αρθρίτιδα, είναι σημαντικό να έχουμε υπόψη τις τεράστιες επιπτώσεις από κοινά μεταβολικά νοσήματα των οστών, όπως η μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση που επίσης σχετίζεται με κυτταροκίνες φλεγμονής, καθώς και από κακοήγη νοσήματα που προσβάλλουν τα οστά είτε πρωτοπαθώς (π.χ. ΠΜ), είτε δευτεροπαθώς μέσω μεταστάσεων (κακοήγη νεοπλασμάτα μαστού, πνεύμονα, προστάτη κ.λπ.).

Έχοντας κατά νου τα παραπάνω θέματα, παρουσιάζουμε αρχικά την ανάπτυξη των οστών και τον οστικό ανασχηματισμό και ακολούθως επικεντρώνουμε σε διάφορα καταλυτικά σημεία της αλληλεπίδρασης μεταξύ οστών και ανοσοποιητικού συστήματος, από τα οποία πιστεύουμε ότι θα προκύψουν θεραπευτικά οφέλη.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ

2.1. Οστική ανάπτυξη

Ο σκελετός αποτελείται από ένα επιμεταλλωμένο δίκτυο (διάμεσος ιστός), που συντηρείται από ένα πολύπλοκο σύνολο κυττάρων.² Εκτός του ότι προσφέρει στήριξη, ο σκελετός είναι μια αποθήκη ασβεστίου, ενός κριτικού ιόντος για μια ποικιλία μεταβολικών διαδικασιών, ενώ αποτελεί και την εστία της αιμοποίησης (μυελός των οστών). Η οστική ανάπτυξη γίνεται με δύο παθογενετικούς δρόμους. Τα χονδρογενή οστά, που περιλαμβάνουν τα μακρά οστά και τους σπονδύλους, αρχίζουν να σχηματίζονται στο έμβρυο με τη μορφή ενός αρχικού χόνδρινου περιγράμματος.³ Ένας δεύτερος τύπος οστών, τα υμενογενή (π.χ. τα πλατιά οστά του κρανίου, της ωμοπλάτης και της λεκάνης), σχηματίζονται απευθείας από την ωρίμανση μεσεγχυματικών κυττάρων που διαφοροποιούνται σε OBs.³

Σε ένα δεύτερο επίπεδο, γίνεται ο διαχωρισμός του χονδρογενούς οστού σε φλοιώδες και σπογγώδες. Το φλοιώδες οστόν σχηματίζει την εξωτερική επιφάνεια των χονδρογενών οστών και προσφέρει τη δομική ακεραιότητα των μακρών οστών. Αποτελεί το 80% του σκελετού και είναι τυπικά πυκνό οστόν με ένα καλά οργανωμένο δίκτυο κολλαγόνων ινών, που είναι τοποθετημένες κατά μήκος των γραμμών τάσης για να προσδώσουν στο οστόν

μέγιστη αντοχή.^{2,3} Το σπογγώδες οστόν είναι λεπτότερο και λιγότερο οργανωμένο και βρίσκεται κυρίως στο χώρο του μυελού των οστών. Ωστόσο, σε ορισμένα οστά με υψηλή περιεκτικότητα σε σπογγώδες οστόν, όπως οι σπόνδυλοι, το σπογγώδες οστόν συνεισφέρει σημαντικά στην οστική ακεραιότητα. Μια βασική λειτουργία του σπογγώδους οστού είναι να παρέχει μια μεγάλη επιφάνεια για μεταβολικές διεργασίες. Ο οστικός ανασχηματισμός, που αποτελείται από την οστική αποδόμηση και την αντικατάσταση με νέο οστόν, γίνεται πιο συχνά στο σπογγώδες οστόν απ' ό,τι στο φλοιώδες.

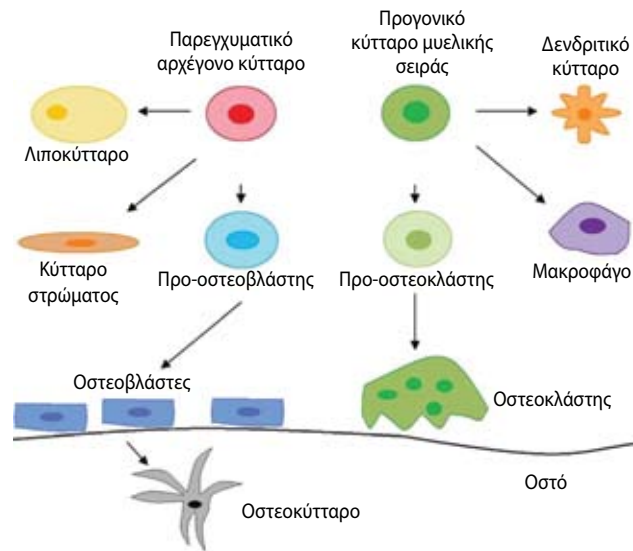
Οι OBs αρχικά παράγουν το δίκτυο του οστεοειδούς, που στη συνέχεια επιμεταλλώνεται εξωκυττάρια. Η κύρια δομική πρωτεΐνη του οστού είναι το κολλαγόνο τύπου I, που προσφέρει στο οστόν ανθεκτικότητα στις πιέσεις, ανάλογα με τον τρόπο που λειτουργεί το οπλισμένο με αστάλι τσιμέντο των οικοδομών. Επιπλέον, το οστεοειδές περιέχει μια σειρά άλλων πρωτεϊνών που έχουν ποικίλες σημαντικές λειτουργίες στο οστόν. Το μεταλλικό άλας του οστού είναι ο υδροξυαπατίτης, που αποτελεί ένα άλας ασβεστίου-φωσφόρου με ιόντα υδροξυλίου.

2.2. Κύτταρα του οστού

Οι OBs προέρχονται από μεσεγχυματικά προγονικά κύτταρα, τα οποία είναι πολυδύναμα και μπορούν επίσης να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα του στρώματος του μυελού και λιποκύτταρα (εικ. 2).⁴ Τα ενδοκυττάρια και τα εξωκυττάρια σήματα που καθορίζουν την εξέλιξη των μεσεγχυματικών κυττάρων σε OBs δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως, αν και κάποια παρακρινή σήματα και παράγοντες μεταγραφής έχουν αναγνωρισθεί. Αυτά περιλαμβάνουν τους μεταγραφικούς παράγοντες Runx2 και οστερίξη (osterix), που όταν απουσιάζουν εμποδίζουν το σχηματισμό OBs, και μέλη της οικογένειας των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (bone morphogenetic protein, BMP), που προωθούν τη διαφοροποίηση των OBs.⁵⁻⁷ Πιο πρόσφατα, έχει αποδειχθεί ότι η μεταβολική οδός *Wnt* μετέχει στην απόφαση για το αν το μεσεγχυματικό κύτταρο θα διαφοροποιηθεί σε λιποκύτταρο (αδικοκύτταρο) ή OB.⁸⁻¹²

Καθώς το οστεοειδές επιμεταλλώνεται υπό την επίδραση της οστικής αλκαλικής φωσφατάσης που παράγεται από τους OBs, μια μερίδα των OBs παγιδεύονται και σχηματίζουν τα οστεοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά θεωρούνται ότι αισθάνονται τις πιέσεις που ασκούνται στο οστόν και στέλνουν σήματα μέσω ενός δικτύου μικροκαναλίσκων, που συνδέει τα ίδια μεταξύ τους και με τους OBs, στην επιφάνεια του οστού.

Οι OCs είναι εξειδικευμένα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα



Εικόνα 2. Σχηματική σύνοψη της διαφοροποίησης των κυττάρων του οστού. Μεσεγχυματικά στελεχειαία κύτταρα, που επίσης διαφοροποιούνται σε μυοβλάστες, λιποκύτταρα (αδικοκύτταρα), χονδροκύτταρα και κύτταρα στρώματος του μυελού, διαφοροποιούνται σε πρόδρομους οστεοβλάστες (προ-οστεοβλάστες) και στη συνέχεια σε ώριμους OBs στην επιφάνεια του οστού. Οι ώριμοι OBs είτε ενσωματώνονται στο οστόν ως οστεοκύτταρα ή παραμένουν στην επιφάνεια του οστού ως καλυπτήρια κύτταρα. Ένα κοινό μυελοειδές προγονικό κύτταρο, που μπορεί να εξελιχθεί σε μακροφάγο και δενδριτικό κύτταρο, δεσμεύεται ως πρόδρομος οστεοκλάστης (προ-οστεοκλάστης) και στη συνέχεια εξελίσσεται σε ώριμο, πολυπύρρηνο οστεοκλάστη.

που αποδομούν το οστόν.¹⁴ Είναι αιμοποιητικά κύτταρα στην καταγωγή τους και προέρχονται από ένα πρόδρομο μυελοειδές κύτταρο, που επίσης διαφοροποιείται σε μακροφάγο και δενδριτικά κύτταρα (DCs) (εικ. 2). Τα σήματα που ενεργοποιούν τους OCs για να σχηματιστούν και να αποδομήσουν το οστόν περιλαμβάνουν μια σειρά μεταγραφικών παραγόντων και παρακρινών κυτταροκινών. Οι OCs προσκολλώνται στο οστόν μέσω μιας εξειδικευμένης «κατασκευής», που τους επιτρέπει να δημιουργούν ένα χώρο απορρόφησης, απομονωμένο από τον εξωκυττάριο χώρο. Οι OCs προκαλούν οξέωση στο χώρο απορρόφησης, έτσι ώστε να καταστήσουν διαλυτό το μεταλλικό τμήμα του οστού.¹⁴ Για να απομακρύνουν το οργανικό τμήμα, οι OCs παράγουν λυσοζυμικά ένζυμα, όπως η καθεψίνη K, που επίσης απελευθερώνονται στο χώρο απορρόφησης. Για να διευκολύνουν τη διαδικασία της αποδόμησης, οι OCs μεταβάλλουν το σχήμα τους και σχηματίζουν μια κυματοειδή επιφάνεια, που επιτρέπει τη μεταφορά ιόντων H⁺ μέσω μιας αντλίας πρωτονίων. Τα προϊόντα της αποδόμησης εισέρχονται στον OC και μεταφέρονται στην αντίθετη επιφάνειά του. Οι OCs είναι εξαιρετικά ευκίνητοι, κινούνται πάνω στην επιφάνεια του οστού, αποδομούν σχετικά μεγάλες περιοχές οστού και αποπύπτουν με τη μεσολάβηση παρακρινών κυτταροκινών και πιθανώς παραγόντων του

αποδομηθέντος οστεοειδούς.¹⁴

2.3. Ο συνδυασμός οστικής αποδόμησης και σχηματισμού

Ο σκελετός είναι ένα δυναμικό όργανο που ανασχηματίζεται συνεχώς. Για να γίνει εφικτή η διαδικασία αυτή, πρέπει να υπάρχει στενή σχέση και συνδυασμός της οστικής αποδόμησης και του οστικού σχηματισμού. Αν και οι ερευνητές έχουν προτείνει έναν τοπικό παράγοντα με την παραπάνω λειτουργία, η ακριβής του φύση παραμένει ακαθόριστη.¹⁵ Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της ενήλικης ζωής, η οστική μάζα αυξάνεται.¹⁶ Γενετικοί παράγοντες και φυλετικές στεροειδείς ορμόνες ενορχηστρώνουν τη διαδικασία αυτή.² Απώλεια είτε των οιστρογόνων στις γυναίκες, είτε των ανδρογόνων στους άνδρες σχετίζεται με την προαγωγή της οστικής αποδόμησης, χωρίς ανάλογη αύξηση του οστικού σχηματισμού. Στις γυναίκες, η απώλεια των οιστρογόνων με την εμμηνόπαυση προκαλεί διπλασιασμό της οστικής αποδόμησης. Το φαινόμενο αυτό, σε συνδυασμό με τη μακρότερη επιβίωση των γυναικών και τη μειωμένη οστική μάζα τους σε σχέση με τους άνδρες, τις κάνει πιο ευάλωτες στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης.²

3. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΟΣΤΕΟΒΛΑΣΤΩΝ-ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

3.1. Ο ρόλος των οστεοβλαστών στη δεξαμενή των HSCs

Οι OBs της ενδοοστικής επιφάνειας του οστού, που βρίσκεται δίπλα στη μυελική κοιλότητα, λειτουργούν ως υποστηρικτικά κύτταρα για τα HSCs.¹⁷⁻¹⁹ Η επέκταση του πληθυσμού των OBs στο οστό, που ενεργοποιείται από τη δράση του υποδοχέα της παραθορμόνης/πεπτιδίου που σχετίζεται με την παραθορμόνη (PTH/PTHrP) στους πρόδρομους OBs, συνοδεύεται από αύξηση του αριθμού των HSCs στο μυελό των οστών,¹⁸ ενώ η καταστροφή των οστεοβλαστών οδηγεί σε ελάττωση των HSCs.¹⁹ Αλληλεπιδράσεις μεταξύ HSCs και OBs εμποδίζουν τον άμετρο πολλαπλασιασμό των HSCs, αλλά διατηρούν την ικανότητά τους για αυτοανανέωση.²⁰

3.2. Το οστό ως αποθήκη των B- και T-κυττάρων μνήμης

Ο μυελός των οστών είναι το σημείο όπου αρχικά αναπτύσσονται τα λεμφοκύτταρα, ενώ πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ώριμα λεμφοκύτταρα και κύτταρα μνήμης κατοικούν επιλεκτικά στο μυελό. Αφού ολοκληρώσουν την ωρίμανσή τους στα βλαστικά κέντρα, τα B-λεμφοκύτταρα

που παράγουν αντισώματα, καθώς και τα πλασματοκύτταρα μακράς επιβίωσης αναστέλλουν τη σύνθεση του υποδοχέα CXCR5 και αυξάνουν τη σύνθεση του υποδοχέα CXCR4, που ευνοούν τη μετανάστευση από το σπλήνα στο μυελό των οστών, όπου τα στρωματικά κύτταρα υπερεκφράζουν το συνδέτη του CXCR4, το CXCL12.²¹⁻²³ Κύτταρα του στρώματος του μυελού, που φαίνεται να είναι άλλα από τους OBs, συγκρατούν τα πλασματοκύτταρα μέσω του μορίου προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) και της E-σελεκτίνης.^{22,23} Ο μυελός των οστών παρέχει μια σειρά παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων της ιντερλευκίνης-5 (IL-5), της IL-6, του TNF-α και του συνδέτη του CD44, που απαιτούνται για τη διατήρηση των πλασματοκυττάρων στο μυελικό μικροπεριβάλλον.²⁴⁻²⁶ Επίσης, τόσο ο παράγοντας επιβίωσης των B-κυττάρων, BAFF/BLYS (B cell-activating factor/B lymphocyte stimulator), όσο και ένας υποδοχέας του, ο BCMA (B cell maturation factor), παράγονται στο οστικό στρώμα και παίζουν σημαντικό ρόλο στη μακρά επιβίωση των πλασματοκυττάρων.^{27,28} Πρόσφατα ευρήματα σε ασθενείς με ΠΜ δείχνουν ότι, μαζί με τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα, οι OCs δρουν ως η μεγαλύτερη πηγή BAFF/BLYS στο στρωματικό μικροπεριβάλλον του οστού, προάγοντας την επιβίωση των παθολογικών μυελωματικών πλασματοκυττάρων.²⁹

Τα πρόδρομα T-λεμφοκύτταρα εγκαταλείπουν το μυελό των οστών για να εγκατασταθούν στο θύμο αδένι για περαιτέρω διαφοροποίηση. Τα ώριμα T-λεμφοκύτταρα δρουν στα δευτερεύοντα λεμφικά «όργανα» σε θέσεις φλεγμονής. Ερευνητές έχουν αναφέρει πρόσφατα ότι, κατά την απουσία δευτερευόντων λεμφικών οργάνων, ο μυελός των οστών μπορεί να υποστηρίξει την παραγωγή κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων και κυττάρων μνήμης.³⁰ Η σημασία του μυελού των οστών ως δευτερεύον λεμφικό όργανο έχει πιθανή σχέση και με την άμυνα του ξενιστή κατά βακτηριακών λοιμώξεων των οστών (π.χ. οστεομυελίτιδα), όπου οι OBs μπορεί να βοηθούν την ανοσιακή απάντηση μέσω της παραγωγής μιας ποικιλίας ανοσοτροποποιητικών μορίων.³¹

Τα T-κύτταρα μνήμης σχηματίζονται μετά από τη δημιουργία CD4+ και CD8+ πρωτογενών T-κυττάρων. Στα φυσιολογικά ποντίκια, τα CD8+ T-κύτταρα μνήμης βρίσκονται κυρίως στο μυελό των οστών,³² χρησιμοποιώντας το μόριο VCAM-1 για προσκόλληση και την L-σελεκτίνη για να κινηθούν μέσα στα μικροαγγεία του μυελού.³³

3.3. Ρύθμιση των οστεοβλαστών από ανοσοκύτταρα και κυτταροκίνες

Μια ποικιλία κυτταροκινών είναι γνωστό ότι ρυθμίζουν

τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των OBs. Ο TNF-α αναστέλλει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών.³⁴ Οι IL-1, TNF-α και ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) αναστέλλουν τη σύνθεση κολλαγόνου από τους OBs.³⁵⁻³⁸ Οι IL-4 και IL-13 αναστέλλουν τη σύνθεση προσταγλανδίνης και δρουν χημειοτακτικά για τους OBs.^{39,40} Η IL-4 δρα ως άμεσος ενεργοποιητής της ωρίμανσης και αναστολέας της διαφοροποίησης των πρόδρομων οστεοβλαστών.⁴¹ Τα ποντίκια με υπερπαραγωγή IL-4 παρουσιάζουν ελάττωση του οστικού σχηματισμού και των διαφοροποιημένων οστεοβλαστών στην επιφάνεια του οστού.⁴² Ο ρόλος των κυτταροκινών στην απόπτωση των OBs έχει επίσης μελετηθεί. Ο TNF-α είναι πιθανός αποπτωτικός παράγοντας για τους OBs. Τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα παράγουν επίσης προϊόντα που προάγουν τη διαφοροποίηση κυττάρων του στρώματος προς OBs.⁴⁴ Ο B7-H3 είναι ένα μέλος της Ig υπερικογένειας που εκφράζεται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs). Πρόσφατα, ο B7-H3 βρέθηκε να εκφράζεται σε αναπτυσσόμενους OBs και η έκφρασή του να αυξάνει κατά την κυτταρική ωρίμανση.⁴⁵ Επιπλέον, τα ποντίκια χωρίς B7-H3 έχουν ελαττωμένη οστική πυκνότητα σε σχέση με φυσιολογικά δείγματα ελέγχου.

3.4. Ρύθμιση των οστεοκλαστών από ανοσοκύτταρα και κυτταροκίνες

Η πρώτη παρατήρηση ότι τα ανοσοκύτταρα μπορούσαν να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των OCs προήλθε από το εύρημα ότι οι καλλιέργειες φυσιολογικών μονοκυττάρων περιφερικού αίματος, ενεργοποιημένες με φυτοαιμαγλουτίνη, περιείχαν παράγοντες που διεγείραν την οστική αποδόμηση.⁴⁶ Οι διεγέρτες της οστεοκλαστικής δραστηριότητας περιλαμβάνουν τους IL-1, TNF-α, IL-6, IL-11, IL-15, IL-17 και τον αυξητικό παράγοντα των μακροφάγων (macrophage-colony stimulating factor, M-CSF). Αναστολείς της οστικής αποδόμησης περιλαμβάνουν τους IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, τον αυξητικό παράγοντα των κοκκιοκυττάρων και των μακροφάγων (granulocyte/macrophage-colony stimulating factor, GM-CSF) και την IFN-γ. Ο μετατρέπτικός αυξητικός παράγοντας-β (transforming growth factor-β, TGF-β) και οι προσταγλανδίνες έχουν είτε διεγερτικές είτε ανασταλτικές δράσεις στην οστική αποδόμηση, ανάλογα με τις συνθήκες κάτω από τις οποίες εξετάζονται.⁴⁸

3.5. Ο βιολογικός δρόμος RANK-RANKL-οστεοπροτεγερίνης και η ρύθμιση της οστικής ομοιόστασης

Ο προσδιορισμός της λειτουργίας του RANKL και των υποδοχέων του (RANK και οστεοπροτεγερίνης [OPG]) έχει συνεισφέρει σημαντικά στην πρόοδο της οστεοανοσολο-

γίας, ειδικά με την προσεκτική μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ενεργού ανοσίας και της διατήρησης της οστικής ομοιόστασης.⁴⁹⁻⁵¹ Όπως προαναφέρθηκε, η οστική ομοιόσταση διατηρείται από τη λειτουργική ισορροπία μεταξύ των OBs που παράγουν οστού και των OCs που αποδομούν οστού.^{14,51} Σε ένα διαρκή κύκλο, οι OCs απορροφούν οστού και στη συνέχεια οι OBs πληρούν την κοιλότητα που δημιουργείται με νέο οστού. Η ισορροπία αυτή επιτρέπει το συνεχόμενο ανασχηματισμό του οστικού δικτύου, που είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της ανθεκτικότητας του οστού και τη λειτουργία του ως αποθήκη της αιμοποίησης. Αρκετή προσπάθεια έχει γίνει τελευταία για τον καθορισμό των διεργασιών της διαφοροποίησης και της ενεργοποίησης των OCs.

Η OPG, αρχικά, ταυτοποιήθηκε ως ένας διαλυτός υποδοχέας ικανός να εμποδίσει την οστεοκλαστογένεση *in vitro*^{52,53} και να προκαλέσει οστεοπέτρωση σε ποντίκια που την υπερεκφράζουν.⁵³ Επιπλέον, τα ποντίκια με έλλειψη OPG ήταν οστεοπορωτικά με μεγάλο αριθμό OCs και είχαν προδιάθεση για εμφάνιση εναποθέσεων ασβεστίου σε αρτηρίες.⁵⁴ Ο συνδέτης της OPG είναι ο RANKL. Ο RANKL έχει την ικανότητα να προωθεί τη διαφοροποίηση, την ωρίμανση και την ενεργοποίηση των OCs *in vitro* και επιπλέον μπορεί να δράσει ανεξάρτητα της παρουσίας κυττάρων του στρώματος του μυελού των οστών.⁵⁵⁻⁵⁷ Πολλοί γνωστοί οστεοπορωτικοί παράγοντες, όπως οι IL-1, IL-6 και IL-11, δρουν κυρίως μέσω της αύξησης της έκφρασης του RANKL στους OBs.^{51,58} Δεν είναι έκπληξη ότι τα ποντίκια με έλλειψη του RANKL εμφανίζουν οστεοπέτρωση εξαιτίας ελαττωματικών OCs.^{59,60} Τα ποντίκια αυτά έχουν επίσης ελαττωματική οδοντογένεση, μια συχνή ανωμαλία στην οστεοπέτρωση, και εξωμυελική αιμοποίηση σε ήπαρ και σπλήνα, αφού η έλλειψη φυσιολογικών OCs δεν επιτρέπει την ανάπτυξη λειτουργικής μυελικής κοιλότητας στα οστά.⁶⁰ Ο RANK, ο υποδοχέας του RANKL, ανιχνεύεται στα περισσότερα είδη κυττάρων των ιστών που έχουν εξεταστεί.⁶¹ Τα ποντίκια με έλλειψη RANK έχουν ανάλογους ελαττωματικούς OCs έναντι των ποντικών με έλλειψη RANKL, επιβεβαιώνοντας την εκλεκτικότητα του τελευταίου για το RANK που εκφράζεται στους OCs.⁶² Σε ανθρώπους με μεταλλάξεις του RANK και αυξημένη λειτουργία του, παρατηρούνται επώδυνες παραμορφωτικές οστεολύσεις, εύθραυστα οστά και αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα.⁶³⁻⁶⁷

3.6. Η ρύθμιση της ανοσίας από τον άξονα RANKL-RANK-OPG

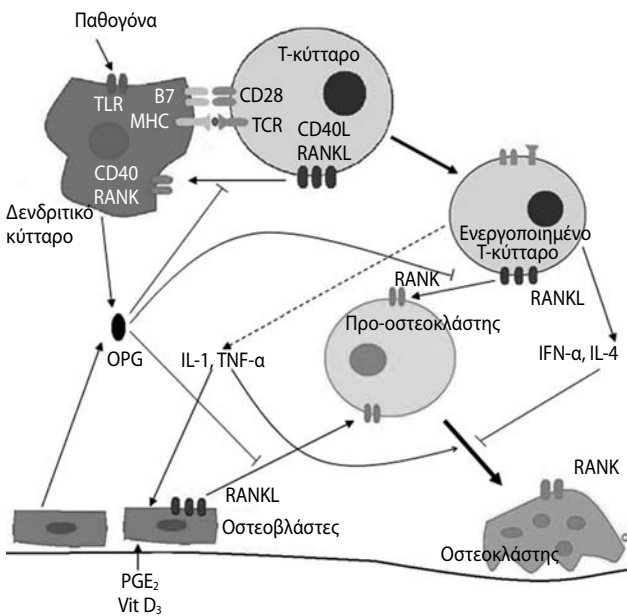
Τα δεδομένα για τη σημασία του άξονα RANKL-RANK-OPG στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος αναφέρονται συνεχώς. Οι μελέτες με ποντίκια με έλλειψη του

RANKL και του RANK έδειξαν τη σημασία των μορίων αυτών για την ανάπτυξη των δευτερευόντων λεμφικών οργάνων, καθώς τα πειραματόζωα αυτά δεν έχουν περιφερικούς λεμφαδένες και παρουσιάζουν ανωμαλίες του σχηματισμού λεμφοζιδίων.^{49,50} Τα περισσότερα δεδομένα αναφέρουν ότι ο RANKL ρυθμίζει την ανοσία μέσω των δενδριτικών κυττάρων (DCs) (εικ. 3), τα οποία χρειάζονται για την έναρξη της T-κυτταρικής ανοσίας *in vivo*.⁶⁸ Τα DCs προέρχονται από το ίδιο προγονικό κύτταρο με τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και ως στενοί συγγενείς των OCs μπορούν να σχηματιστούν *in vitro* με καλλιέργεια ενός κοινού προγονικού κυττάρου με GM-CSF. Μετά από τη λήψη του ανοσολογικού ερεθίσματος, τα DCs μετακινούνται στην T-περιοχή των λεμφαδένων, όπου ενεργοποιούν τα T-λεμφοκύτταρα, τα οποία είναι ειδικά για το αντιγόνο. Η ενεργοποίηση βασίζεται σε αρκετούς παράγοντες, ειδικούς για τα DCs, που προκαλούν αλλαγή

στη δομή και τη δράση των υποδοχέων των χημοκινών, αύξηση άλλων ενεργοποιητικών μορίων και παραγωγή κυτταροκινών. Οι ρυθμίσεις αυτές προκαλούνται από το εξωγενές φλεγμονώδες ερέθισμα, καθώς και από σήματα που μεταφέρονται από μέλη της οικογένειας TNF, όπως ο TNF-α και ο CD40L.

Ο RANKL επιδρά επίσης στη λειτουργία των DCs και, συγκεκριμένα, στη ρύθμιση της επιβίωσής τους.^{69,70} Η δράση του RANKL στα DCs αποδεικνύεται *in vivo*, καθώς χορήγηση RANKL σε DCs, πριν από την υποδόρια χορήγησή τους σε ποντίκια, έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση των DCs στους επιχώριους λεμφαδένες.⁷¹ Η αναστολή του RANKL *in vivo* έχει ως αποτέλεσμα ελαττωμένη απάντηση των CD4+ T-λεμφοκυττάρων στη λοίμωξη από CMV, αν και η απάντησή τους εμποδίζεται πλήρως από την απουσία του σήματος του CD40.⁷² Τα πειράματα αυτά τονίζουν τη σημασία της οικογένειας των TNF στη δημιουργία της άμυνας έναντι των ιών, καθώς και το βαθμό όπου αλληλοκαλύπτεται η λειτουργία των RANKL-RANK και CD40L-CD40.

Εκτός από τη δράση στα DCs, ο RANKL μπορεί να επηρεάζει και την ανάπτυξη των B-λεμφοκυττάρων. Σε ποντίκια με έλλειψη της OPG υπάρχει επέκταση των προ-B-κυττάρων στο μυελό των οστών, ενώ το αντίθετο παρατηρείται σε ποντίκια με έλλειψη του RANKL ή του RANK.^{59,62,73} Επιπλέον, απαιτείται έρευνα για να διαλευκανθούν οι μηχανισμοί μέσω των οποίων ο RANKL μπορεί να ρυθμίζει την εξέλιξη των προ-B-κυττάρων και των συνοδών ανοσολογικών συνεπειών της ρύθμισης αυτής.



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων που συνδέουν την T-κυτταρική ανοσία και τον οστικό μεταβολισμό. Παθολογικά (βακτηριακά ή άλλα) αντιγόνα ή αυτοαντιγόνα φαγοκυτταρώνονται και παρουσιάζονται σε T-λεμφοκύτταρα από δενδριτικά κύτταρα (DCs). Τα T-κύτταρα παρέχουν σήματα ενεργοποίησης στα DCs μέσω του CD40L και σε ανταπόδοση ενεργοποιούνται μέσω των αλληλεπιδράσεων MHC:TCR και B7:CD28. Τα ενεργοποιημένα T-κύτταρα εκφράζουν RANKL, που παρέχει επιπλέον ενεργοποιητικά σήματα και σήματα επιβίωσης στα DCs. Τα DCs μπορούν να ρυθμίσουν αρνητικά το σήμα RANKL:RANK μέσω αύξησης του υποδοχέα αναστολής του RANKL, της OPG. Οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1, TNF-α), που παράγονται κατά την επιτυχή διέγερση των T-κυττάρων, καθώς και ασβεστοτρόποι παράγοντες (PGE₂ ή Vit D₃), προάγουν την έκφραση του RANKL από τους OBs, που συνεργάζονται με τα T-κύτταρα για τη διαφοροποίηση των OCs μέσω παροχής του RANKL στους πρόδρομους οστεοκλάστες. Το σήμα του RANKL στους ώριμους OCs προάγει την αποδόμηση οστού. Οι OBs εμποδίζουν τη σύνδεση του RANKL με τους OCs, μέσω της παραγωγής της OPG, ενώ οι IFN-γ και IL-4, που παράγονται από τα T-κύτταρα, εμποδίζουν το σήμα του RANK. Χωρίς σωστή ρύθμιση, υπερβολική αποδόμηση οστού προκαλεί οστεοπόρωση, αρθρίτιδα και περιοδοντική απώλεια οστών.

4. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΟΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

Αρχικά, πειράματα έδειξαν ότι ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα ή καλλιέργειες T-λεμφοκυττάρων μπορούσαν να υποστηρίξουν την οστεοκλαστογένεση *in vitro*.⁷⁴ Στη συνέχεια, παρατηρήθηκε ότι ποντίκια με έλλειψη της πρωτεΐνης-4, που σχετίζεται με τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, CTLA-4), όπου τα T-λεμφοκύτταρα είναι συστηματικά ενεργοποιημένα, παρουσιάζουν οστεοπορωτικό φαινότυπο, ο οποίος σχετίζεται με αυξημένο αριθμό OCs. Σε άλλη μελέτη, η υπερέκφραση RANKL αποκλειστικά από T- ή T- και B-λεμφοκύτταρα ήταν αρκετή στη διόρθωση του φαινοτύπου οστεοπέτρωσης που παρατηρείται σε ποντίκια με έλλειψη RANKL.⁶⁰ Τα δεδομένα αυτά απέδειξαν αναμφισβήτητα την ικανότητα των λεμφοκυττάρων, μέσω της έκφρασης του RANKL, να ρυθμίζουν την ομοιοστάση των οστών και επιβεβαίωσαν τις υπάρχουσες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και του οστικού μεταβολισμού, δημιουργώντας

το πεδίο της οστεοανοσολογίας και του ρόλου της στην παθογένεια διαφόρων νόσων (εικ. 3).

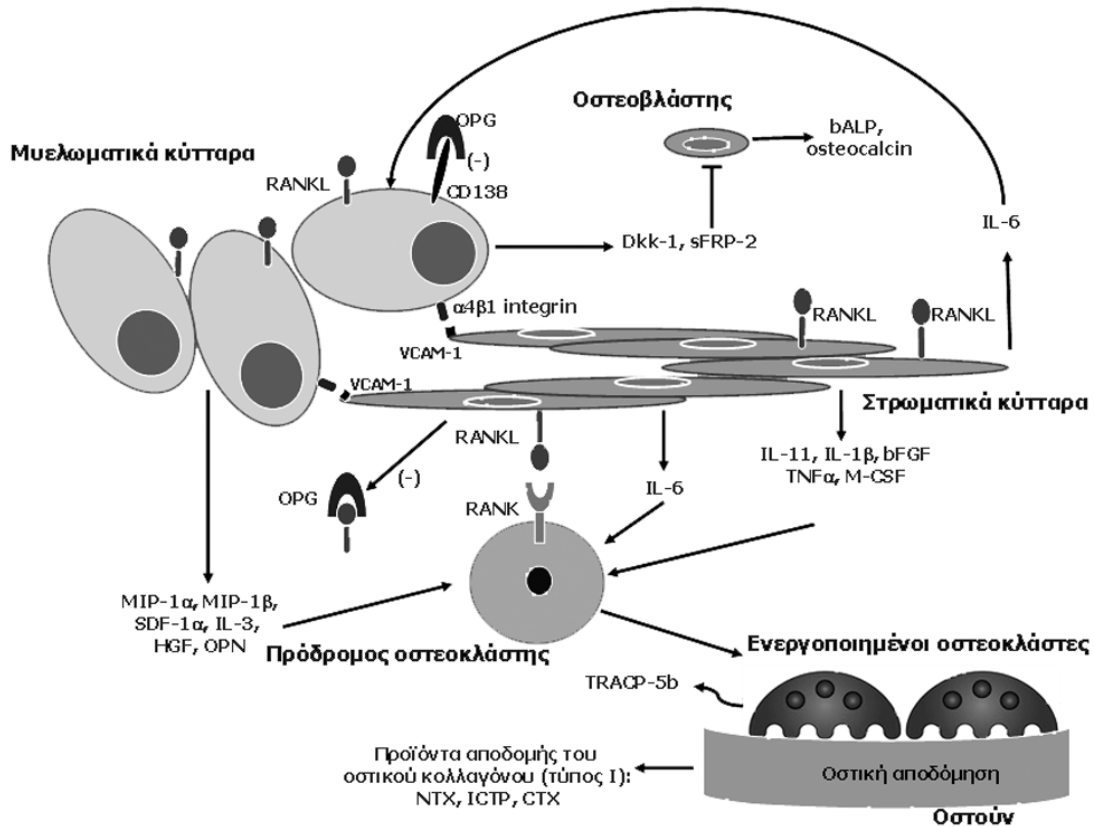
Στην οστεοαρθρίτιδα, η φλεγμονή των αρθρώσεων συνοδεύεται από την καταστροφή οστού και χόνδρου. Διάφορα πειραματικά μοντέλα ζώων έχουν δημιουργηθεί για τη μελέτη της οστεοαρθρίτιδας και έχει ερευνηθεί ο ρόλος του RANKL στην παθογένεσή της. Η θεραπεία της αρθρίτιδας σε ποντίκια με OPG είχε μικρή επίδραση στη φλεγμονή, αλλά απέτρεψε την απώλεια οστού και την καταστροφή των χόνδρων.⁷⁵ Τα πειράματα αυτά δεν μπορούσαν να διαχωρίσουν αν η διατήρηση των χόνδρων ήταν έμμεση ανεπιθύμητη ενέργεια της διατήρησης του οστού ή αν οφειλόταν σε διαφορετικό μηχανισμό. Μια επακόλουθη μελέτη έδειξε ότι η απώλεια οστού και η καταστροφή του χόνδρου ήταν ανεξάρτητα γεγονότα. Η μελέτη αυτή έγινε σε ένα μοντέλο αρθρίτιδας που δημιουργήθηκε με τη μεταφορά ορού από K/BxN ποντίκια, όπου η T-δραστικότητα δεν είναι απαραίτητη για την έναρξη της νόσου. Όταν K/BxN ορός μεταφέρθηκε σε ποντίκια με έλλειψη RANKL, η φλεγμονή και η καταστροφή του χόνδρου ήταν ανάλογες με τα δείγματα ελέγχου, αλλά η αποδόμηση του οστού μειώθηκε σημαντικά.⁷⁶ Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι ο υπάρχων τοπικά RANKL προκαλεί καταστροφή του οστού μέσω των OCs σε πειραματόζωα με αυτοάνοση αρθρίτιδα. Πρόσφατα, ερευνητές έχουν δείξει ότι ο RANKL σε συνδυασμό με M-CSF μπορεί να προκαλέσει τη διαφοροποίηση DCs σε OCs και ότι η διεργασία αυτή ενισχύεται από την παρουσία αρθριτικού υγρού ρευματοειδούς αρθρίτιδας (PA), αναγνωρίζοντας ένα νέο μηχανισμό για τη σχετιζόμενη με τη νόσο οστική καταστροφή.⁷⁷ Αν και η ανοσολογική προσέγγιση της PA περιορίζεται στον τρόπο πυροδότησης της PA (μέσω αποτυχίας της ανοσιακής ανοχής) και στην επακόλουθη φλεγμονή του αρθρικού υμένα (ο παραδοσιακός ορισμός της νόσου), ένα βασικό γνώρισμα της PA είναι η ταχεία καταστροφή του περιαρθρικού οστού, που ακολουθείται συχνά από δευτερογενή οστεοπόρωση. Οι OCs βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό στη θέση της οστικής αποδόμησης και φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο, ενώ η ενεργοποίησή τους σχετίζεται σημαντικά με την υπερπαραγωγή RANKL από τα T-λεμφοκύτταρα.⁷⁸⁻⁸⁰

Διαταραχή στις ανοσιακές απαντήσεις και υπερ- ή υπο-παραγωγή κυτταροκινών φαίνεται να σχετίζονται με την παθογένεια και άλλων οστικών νόσων. Η ελάττωση των οιστρογόνων μετά από την εμμηνόπαυση σχετίζεται με μια ταχεία και επίμονη αύξηση του ρυθμού με τον οποίο αποδομείται το οστό. Το φαινόμενο φαίνεται να προκύπτει από μια αύξηση στην οστική αποδόμηση που δεν συνοδεύεται από αντίστοιχη αύξηση του οστικού σχηματισμού. Τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα μπο-

ρούν να προκαλέσουν ταχεία απώλεια οστού σε συνθήκες έλλειψης οιστρογόνων μέσω παραγωγής TNF- α .⁸¹ Σε μια σειρά πειραμάτων σε ωθηκεκτομηθέντα ποντίκια, αλλά χωρίς T-λεμφοκύτταρα, δεν υπήρχε απώλεια οστού μετά την ωθηκεκτομή, αποδεικνύοντας ότι τα T-λεμφοκύτταρα είναι απαραίτητα για τη διαδικασία αυτή.⁸² Έχει βρεθεί ότι γυναίκες με μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση έχουν αυξημένα επίπεδα RANKL,⁸³ ενώ η χορήγηση μονοκλωνικού αντι-RANKL (denosumab) βελτιώνει την οστική μάζα με μια υποδόρια ένεση του παράγοντα ανά εξαμήνο.⁸⁴ Επιπρόσθετα, το κλάσμα RANKL/OPG είναι αυξημένο και σε ασθενείς με β -μεσογειακή αναιμία και οστεοπόρωση,⁸⁵ με συνέπεια την αυξημένη δράση των οστεοκλαστών. Μόρια με αντι-οστεοκλαστική δράση, όπως τα διφωσφονικά άλατα, έχουν δώσει καλά αποτελέσματα στην οστεοπόρωση της κληρονομικής αυτής νόσου,^{86,87} ενώ το denosumab δοκιμάζεται σε μελέτες φάσης 2 τόσο σε αυτές τις μορφές οστεοπόρωσης όσο και στην οστεοπόρωση των ανδρών και την οστεοπόρωση που οφείλεται στα στεροειδή.

Ο ρόλος των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ανοσοποιητικών και οστικών κυττάρων ενέχεται επίσης στην παθογένεια της οστικής νόσου στις κακοήθειες. Το πολλαπλούν μυέλωμα (ΠΜ) χαρακτηρίζεται από αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα που συνοδεύεται από ελαττωμένη οστική παραγωγή^{88,89} (εικ. 4). Στο ΠΜ, ο λόγος RANKL/OPG είναι αυξημένος, με συνέπεια την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και την ανάπτυξη οστεολυτικής νόσου.^{90,91} Ο RANKL υπερπαράγεται κυρίως από τους OBs στο ΠΜ, ενώ τα μυελωματικά κύτταρα καταστρέφουν την OPG που θα ανέκοπτε τη δράση του RANKL.⁹² Επιπρόσθετα, η πρωτεΐνη dickkopf-1 (Dkk-1), η οποία είναι ανασταλτής του βιολογικού δρόμου *Wnt* (απαραίτητος για την ανάπτυξη των OBs), εμποδίζει τη διαφοροποίηση και τη δραστηριότητα των OBs, με αποτέλεσμα να επιτείνεται η οστική καταστροφή.^{93,94} Η χορήγηση OPG ή αντι-RANKL σκευασμάτων (denosumab) στους ασθενείς αυτούς έχει αποδώσει θετικά αποτελέσματα.^{95,96}

Στις οστικές μεταστάσεις, ο λόγος RANKL/OPG είναι επίσης διαταραγμένος. Έτσι, στον καρκίνο μαστού και πνεύμονα με οστικές μεταστάσεις ο λόγος RANKL/OPG είναι υπέρ του RANKL, με αποτέλεσμα την εμφάνιση οστεολύσεων,⁹⁷⁻¹⁰⁰ ενώ στον καρκίνο του προστάτη με μεταστάσεις στα οστά, ο παραπάνω λόγος είναι υπέρ της OPG, με αποτέλεσμα να εμφανιστούν οστεοβλαστικού τύπου βλάβες.¹⁰¹⁻¹⁰³ Μελέτες φάσης 2 με χορήγηση μονοκλωνικού αντι-RANKL (denosumab) σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους και οστικές μεταστάσεις έδειξαν ότι η υποδόρια χορήγηση του αντισώματος έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των σκελετικών συμβαμάτων στους ασθενείς αυτούς.^{96,104}



Εικόνα 4. Οστικό μικροπεριβάλλον και παθογένεια της λυτικής νόσου στο πολλαπλούν μυέλωμα. Τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα προσκολλώνται στα κύτταρα του στρώματος του μυελού των οστών (BMSCs) μέσω σύνδεσης της α4β1 ιντεγκρίνης (παρούσα στην επιφάνεια των μυελωματικών κυττάρων) με το μόριο προσκόλλησης 1 των αγγειακών κυττάρων (VCAM-1) που εκφράζεται στα κύτταρα του στρώματος. Η προσκόλληση των μυελωματικών κυττάρων στα BMSCs και τους οστεοβλάστες ενισχύει την παραγωγή RANKL, M-CSF και άλλων κυτταροκινών που προάγουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα (IL-6, IL-11, IL-1β, TNFα, bFGF), ενώ καταστέλλει την παραγωγή OPG (ανασταλτής του RANKL). Οι παραπάνω κυτταροκίνες τροποποιούν επίσης το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, αυξάνοντας την έκφραση και την έκκριση του RANKL τόσο από τα BMSCs όσο και από τα μυελωματικά κύτταρα. Επιπλέον, τα μυελωματικά κύτταρα παράγουν MIP-1α (πρωτεΐνη της φλεγμονής των μακροφάγων-α, macrophage inflammatory protein-1α), HGF (ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας, hepatocyte growth factor) και VEGF (αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου, vascular endothelial growth factor), που προάγουν, επίσης, τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση των πρόδρομων οστεοκλαστών. Η MIP-1α μπορεί μάλιστα να ενεργοποιήσει ιντεγκρίνες και, επιπλέον, προσκόλληση μυελωματικών κυττάρων, λαμβάνοντας μέρος σε μια παρακρινή οδό προώθησης της συγκόλλησης των μυελωματικών κυττάρων με τα κύτταρα του στρώματος, μέσω VLA-4/VCAM-1, ενεργοποιώντας έτσι τους οστεοκλάστες. Η συνδεκίνη-1 (CD138), που εκφράζεται στην επιφάνεια και εκκρίνεται από τα μυελωματικά κύτταρα, μπορεί να δεσμεύσει τη διαλυτή OPG, αναστέλλοντας έτσι περαιτέρω τη δράση της στη λειτουργία του RANKL. Έτσι, ο λόγος RANKL/OPG αυξάνεται οδηγώντας σε διαφοροποίηση, ωρίμανση και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και αυξημένη οστική αποδόμηση, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται από τα αυξημένα επίπεδα των δεικτών οστικής αποδόμησης (5β-ισοένζυμο της όξινης φωσφατάσης ανθεκτικής στο τρυγικό οξύ [TRACP-5β], που παράγεται μόνο από ενεργούς οστεοκλάστες, και προϊόντα αποδόμησης του οστικού κολλαγόνου, όπως τα αμινοτελικά [NTX] και καρβοξυτελικά τελοπεπτιδία του κολλαγόνου τύπου 1 [ICTP και CTX]). Η IL-6 παίζει επίσης ρόλο στο πολλαπλούν μυέλωμα μέσω ενεργοποίησης της MIP-1α, ενώ αποτελεί και σημαντικό τροφικό παράγοντα των μυελωματικών κυττάρων. Τα φαινόμενα αυτά τονίζουν τις πολλαπλές σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μυελωματικών κυττάρων και των BMSCs.

Η περιοδοντίτιδα, που προκαλείται από λοίμωξη με διάφορα βακτηρίδια, αποτελεί σημαντική αιτία οδοντικής απώλειας και σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα καρδιακής ανεπάρκειας και εμφράγματος.^{105,106} Για να ερευνηθεί η αιτιολογία της νόσου, λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος από ασθενείς με εντοπισμένη νεογνική περιοδοντίτιδα μεταφέρθηκαν σε *rag -/-* ποντίκια, στα οποία, στη συνέχεια, χορηγήθηκε το Gram-αρνητικό βακτήριο *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Η περιοδοντική νόσος αναπαράχθηκε στα πειραματόζωα με την τοπική συγκέντρωση

OCs. Θεραπεία με OPG ανέστειλε τη διήθηση από OCs και την οστική καταστροφή.¹⁰⁶ *In vitro* ενεργοποίηση των παραπάνω λεμφοκυττάρων έδειξε ότι ο RANKL εμφανίστηκε σε CD4+ T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιημένα από αντιγόνα του *Actinobacillus actinomycetemcomitans* και η νόσος εξασθένησε όταν τα ίδια κύτταρα απομακρύνθηκαν εκλεκτικά από τα ποντίκια δέκτες.¹⁰⁶ Η μελέτη αυτή έδειξε τη σημασία των CD4+ T-λεμφοκυττάρων στην παθογένεση της περιοδοντίτιδας, ειδικά σε σχέση με την καταστροφή οστού από τη νόσο.

Η απώλεια οστού έχει από καιρό αναγνωριστεί ως μια εξωεντερική επιπλοκή των φλεγμονωδών παθήσεων του εντέρου, όπως η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα.¹⁰⁷ Σε μια πρόσφατη μελέτη, ασθενείς με τα νοσήματα αυτά έχουν αυξημένα επίπεδα OPG ορού, που προέρχονται από τη θέση της φλεγμονής και σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με τη βαρύτητα της οστικής νόσου,¹⁰⁸ ενώ σε άλλη μελέτη ασθενείς με νόσο του Crohn είχαν αυξημένα επίπεδα τόσο της OPG όσο και του RANKL.¹⁰⁹ Η θεραπευτική χορήγηση OPG σε ποντίκια με ελκώδη κολίτιδα λόγω έλλειψης IL-2 είχε ως αποτέλεσμα όχι μόνο τη βελτίωση της οστικής νόσου αλλά και τον περιορισμό της κολίτιδας μέσω ελάττωσης της επιβίωσης των DCs του εντέρου.¹¹⁰

Παθολογική απώλεια οστού παρατηρείται και σε ασθενείς με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (σακχαρώδης διαβήτης και συστηματικός ερυθηματώδης λύκος), αθηρωμάτωση, χρόνιες ιογενείς λοιμώξεις (HIV) και αλλεργικά νοσήματα (άσθμα), με το βιολογικό δρόμο RANKL/RANK/OPG να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένειά τους.¹¹¹⁻¹¹⁴ Η διερεύνηση των οστεοανοσολογικών κυτταροκινών στην ανάπτυξη των νόσων αυτών χρειάζεται επιπλέον διερεύνηση και μπορεί να δώσει νέες θεραπευτικές προοπτικές για την ανακούφιση των ασθενών.

5. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΥΠΟΥ TOLL, ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Οι υποδοχείς τύπου toll (toll-like receptors, TLRs) είναι μέλη μιας αρχέγονης οικογένειας υποδοχέων και είναι κρίσιμοι ενεργοποιητές της αρχικής ανοσιακής απάντησης.¹¹⁵ Εκφράζονται κυρίως σε APCs, όπως τα DCs, τα μακροφάγα και τα Β-λεμφοκύτταρα. Η σύνδεση αυτών των υποδοχέων με μικροβιακά αντιγόνα ή ενδογενείς βλαπτικούς παράγοντες έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση ενεργοποιητικών μορίων και φλεγμονωδών κυτταροκινών που αρχίζουν την επικείμενη ανοσιακή αντίδραση. Επειδή τα μακροφάγα και τα DCs έχουν κοινό πρόγονο με τους OCs, δεν προκαλεί έκπληξη ότι η έκφραση των TLRs ανιχνεύεται επίσης και στα οστικά κύτταρα.¹¹⁶⁻¹¹⁸ Η απευθείας δράση των TLRs –συμπεριλαμβανομένου του TLR-4– στους πρόδρομους οστεοκλάστες αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση που μεσολαβείται από το RANKL.¹¹⁶ Ωστόσο, τα δεδομένα ότι μικροβιακά αντιγόνα αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των OC μέσω των TLRs είναι αντιφατικά. Λοιμώξεις από βακτήρια, όπως η περιοδοντίτιδα, η οστεομυελίτιδα και η σηπτική αρθρίτιδα, προκαλούν μείωση της οστικής πυκνότητας εξαιτίας της υπερβολικής αποδόμησης του οστού από τους OCs.¹¹⁹ Μάλιστα, η λιποπολυσακχαρίδη (μικροβιακό αντιγόνο) ενεργοποιεί την οστική αποδόμηση, προκαλώντας αύξηση του αριθμού των OCs στα ποντίκια.

Επιπλέον, η ενεργοποίηση των TLRs μπορεί να προάγει τη διαφοροποίηση των OCs μέσω παραγωγής RANKL και TNF-α από τους OBs.^{117,118,120}

Η αντιφατική αυτή δράση των TLR, από τη μια πλευρά να παίζουν το ρόλο των αρνητικών ρυθμιστών της οστεοκλαστογένεσης και από την άλλη να προάγουν την οστική αποδόμηση από τους OCs σε βακτηριακές λοιμώξεις, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Όπως περιγράφηκε νωρίτερα, η καταστροφή οστού στην περιοδοντίτιδα προκλήθηκε από λοίμωξη από Gram-αρνητικά βακτήρια, που οδήγησε σε αυξημένη οστεοκλαστογένεση λόγω T-κυτταρικής ενεργοποίησης και επακόλουθης αύξησης του RANKL.¹⁰⁶ Στην ίδια μελέτη, βακτηριακή λοίμωξη ανοσοκατασταλαμένων (SCID) ποντικών δεν είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη απώλεια οστού, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα βακτηριακά προϊόντα δεν έχουν άμεσο ρόλο στην οστεοκλαστογένεση, επειδή τα SCID ποντίκια δεν φέρουν γνωστή βλάβη στους πρόδρομους OCs ή OBs.¹⁰⁶ Έτσι, η απώλεια οστού που σχετίζεται με τις βακτηριακές λοιμώξεις είναι πιθανόν ένα έμμεσο αποτέλεσμα των παροξυσμικά διεγερμένων από τη λοίμωξη T-κυττάρων.

Ανάλογα με τα μακροφάγα ή τα DCs, οι πρόδρομοι OCs παράγουν επίσης προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως ο TNF-α, ως απάντηση σε διάφορους συνδέτες των TLRs.¹¹⁶ Επιπρόσθετα, αν και η ενεργοποίηση των TLRs αναστέλλει τη διαφοροποίηση των OCs, πρόδρομοι OCs στους οποίους χορηγούνται συνδέτες των TLRs διατηρούν ακόμη υψηλά επίπεδα φαγοκυτταρικής δραστηριότητας, που είναι ένας βασικός μηχανισμός του ξενιστή για την αντιμετώπιση της βακτηριακής λοίμωξης. Έτσι, το καθαρό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των TLRs στους πρόδρομους OCs είναι η προαγωγή των ανοσιακών αντιδράσεων για την εκκαθάριση της βακτηριακής λοίμωξης. Οι αλληλεπιδράσεις των μικροβιακών αυτών προϊόντων με τους TLRs στους πρόδρομους OC φαίνεται να ενισχύει το ρόλο των πρόδρομων OCs ως μέλους του προφλεγμονώδους συστήματος, αναστέλλοντας τη διαφοροποίησή τους σε ώριμους OCs και προάγοντας την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών. Ωστόσο, επειδή τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται σε ώριμους OCs, αν οι συνδέτες των TLR απομακρυνθούν,¹¹⁶ μετά από τη λύση της βακτηριακής λοίμωξης, η παρουσία επιτόπιων ενεργοποιημένων T-κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στη διαφοροποίηση πρόδρομων φαγοκυττάρων σε ώριμους OCs που απορροφούν οστού. Επιπλέον, η παραγωγή TNF-α από τους πρόδρομους OCs μετά από την ενεργοποίηση των TLRs μπορεί να προάγει την απορρόφηση οστού από τους ώριμους οστεοκλάστες.

Οι TLRs φαίνεται λοιπόν να ρυθμίζουν την ισορροπία των ανοσιακών αντιδράσεων και του οστικού μεταβολισμού

κατά τη διάρκεια της μικροβιακής λοίμωξης. Ωστόσο, η φυσιολογική *in vivo* ενεργοποίηση των TLRs, που εκφράζονται σε διάφορα κύτταρα, μπορεί να έχει διάφορες δράσεις στον οστικό μεταβολισμό, ανάλογα με τη φύση των ανοσιακών απαντήσεων.¹²¹

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η οστεοανοσολογία, όπως προκύπτει από πολλές πρόσφατες μελέτες, είναι πλέον σημαντικό τμήμα της παθοφυσιολογίας πολλών νοσημάτων που σχετίζονται με τον οστικό μεταβολισμό. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα οστικά κύτταρα επηρεάζονται από κυτταροκίνες που παράγονται από λεμφοκύτταρα, ενώ ταυτόχρονα αυτά παράγουν σημαντικά μόρια απαραίτητα για την ανάπτυξη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, τη διαφοροποίηση και τη μνήμη των Β- και Τ-λεμφοκυττάρων. Η ανακάλυψη του βιολογικού δρόμου των RANK/RANKL/OPG απέδειξε τη συσχέτιση μεταξύ ανοσιακής απάντησης και οστικού

μεταβολισμού, επιβεβαιώνοντας έτσι και τη σημασία διαφόρων οστεοτροφικών κυτταροκινών στην παθογένεια οστικών νόσων.

Ωστόσο, πολλά ερωτήματα πρέπει να απαντηθούν ακόμη.

Ποια είναι η φύση των στρωματικών κυττάρων του μυελού και ποιοι παράγοντες είναι απαραίτητοι για την αλληλεπίδρασή τους με τα κύτταρα της αιμοποιητικής σειράς; Γιατί οι οστεοκλάστες βρίσκονται μόνο στην επιφάνεια του οστού; Σε ποια έκταση η φυσιολογική ανοσιακή απάντηση επηρεάζει την οστική ομοιοστασία; Πώς μεταβάλλονται οι αλληλεπιδράσεις αυτές με την ηλικία;

Όλα αυτά τα ερωτήματα και οι απαντήσεις τους θα αναδείξουν τα προσεχή χρόνια την τεράστια σημασία της οστεοανοσολογίας τόσο στην παθογένεια όσο και στη θεραπεία πολλών νοσημάτων που σχετίζονται με τον οστικό μεταβολισμό.

ABSTRACT

Interactions between immune system and bone cells: Clinical implications

E. TERPOS,¹ D. CHRISTOULAS,¹ J. MELETIS²

¹Department of Medical Research and Hematology Department, 251 General Air Force Hospital, Athens,

²First Department of Internal Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, School of Medicine, "Laiko" General Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2008, 25(4):442-455

The complex interactions between immune system and bone cells have created an interdisciplinary research field of osteoimmunology, which is focused on the molecular understanding of the interplay between the immune and skeletal systems to better understand the pathogenesis of several diseases, including autoimmune disorders, cancer, inflammatory diseases and osteoporosis. In this review, all available data for the organogenesis of the bones and immune systems, the role of the bone in the regulation of the immune response, the role of the immune cells on the regulation of bone homeostasis and finally, the clinical applications of the reveal of these complex interactions are summarized. The two major questions concern the following: (a) Can immune cells be involved in the development of bone-related pathology? and (b) can deregulation of the bone be causing immune-related diseases? The identification of a novel set of proteins within the tumor necrosis factor (TNF)/TNF receptor families that are required for the control of bone remodelling, such as the receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK), osteoprotegerin (OPG) and their ligand RANK ligand (RANKL) has revealed some very interesting observations. These molecules are not only responsible for normal osteoclast regulation and function but they also play crucial role in the pathogenesis of several bone disorders, including postmenopausal and steroid-induced osteoporosis, beta-thalassemia-induced bone loss, myeloma bone disease, bone metastases in solid tumors, HIV-infection, that also vascular calcification. This molecular triad also appears to be associated with the development of the immune system through dendritic cells, and constitutes a molecular bridge spanning bone metabolism and immunity. The development of novel agents that target this system may lead to a better management of several "immune-related" bone disorders.

Key words: Bone metastases, Cancer, Multiple myeloma, Osteoimmunology, Osteoporosis

Βιβλιογραφία

1. ARRON JR, CHOI Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000, 408:535–536
2. RAISZ LG, KREAM BE, LORENZO JA. Metabolic bone disease. In: Williams RH, Larsen PR, Kronenberg HM, Polosky KS (eds) *Williams textbook of endocrinology*. WB Saunders, Philadelphia, 2002:1373–1410
3. ROSS MH, KAYE GI, PAWLINA W. Bone. In: Ross MH, Kaye GI, Pawlina W (eds) *Histology: A text and atlas*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003:180–213
4. AUBIN JE. Regulation of osteoblast formation and function. *Rev Endocr Metab Disord* 2001, 2:81–94
5. DUCY P, ZHANG R, GEOFFROY V, RIDALL AL, KARSENTY G. *Osf2/Cbfa1*: A transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997, 89:747–574
6. NAKASHIMA K, ZHOU X, KUNKEL G, ZHANG Z, DENG JM, BEHRINGER RR ET AL. The novel zinc finger-containing transcription factor *osterix* is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* 2002, 108:17–29
7. CELESTE AJ, IANNAZZI JA, TAYLOR RC, HEWICK RM, ROSEN V, WANG EA ET AL. Identification of transforming growth factor β family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87:9843–9847
8. GONG Y, SLEE RB, FUKAI N, RAWADI G, ROMAN-ROMAN S, REGINATO AM ET AL. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001, 107:513–523
9. LITTLE RD, CARULLI JP, DEL MASTRO RG, DUPUIS J, OSBORNE M, FOLTZ C ET AL. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002, 70:11–19
10. KATO M, PATEL MS, LEVASSEUR R, LOBOV I, CHANG BH, GLASS DA 2nd ET AL. *Cbfa1*-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in *Lrp5*, a *wnt* co-receptor. *J Cell Biol* 2002, 157:303–314
11. BOYDEN LM, MAO J, BELSKY J, MITZNER L, FARHI A, MITNICK MA ET AL. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002, 346:1513–1521
12. BENNETT CN, LONGO KA, WRIGHT WS, SUVA LJ, LANE TF, HANKENSON KD ET AL. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by *Wnt10b*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102:3324–3329
13. KNOTHE TATE ML, ADAMSON JR, TAMI AE, BAUER TW. The osteocyte. *Int J Biochem Cell Biol* 2004, 36:1–8
14. TEITELBAUM SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000, 289:1504–1508
15. HOWARD GA, BOTTEMILLER BL, TURNER RT, RADER JI, BAYLINK DJ. Parathyroid hormone stimulates bone formation and resorption in organ culture: Evidence for a coupling mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, 78:3204–3208
16. RIGGS BL, MELTON LJ 3rd. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med* 1986, 314:1676–1686
17. ZHANG J, NIU C, YE L, HUANG H, HE X, TONG WG ET AL. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003, 425:836–841
18. CALVILM, ADAMS GB, WEIBRECHT KW, WEBER JM, OLSON DP, KNIGHT MC ET AL. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003, 425:841–846
19. VISNJIC D, KALAJZIC Z, ROWE DW, KATAVIC V, LORENZO J, AGUILA HL. Haematopoiesis is severely altered in mice with an induced osteoblast deficiency. *Blood* 2004, 103:3258–3264
20. ARAI F, HIRAO A, OHMURA M, SATO H, MATSUOKA S, TAKUBO K ET AL. *Tie2*/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 2004, 118:149–161
21. MANZ RA, ARCE S, CASSESE G, HAUSER AE, HIEPE F, RADBRUCH A. Humoral immunity and long-lived plasma cells. *Curr Opin Immunol* 2002, 14:517–521
22. SHAPIRO-SHELEF M, CALAME K. Regulation of plasma-cell development. *Nat Rev Immunol* 2005, 5:230–242
23. TOKOYODA K, EGAWA T, SUGIYAMA T, CHOI BI, NAGASAWA T. Cellular niches controlling B lymphocyte behaviour within bone marrow during development. *Immunity* 2004, 20:707–718
24. SLIFKA MK, ANTIA R, WHITMIRE JK, AHMED R. Humoral immunity due to long-lived plasma cells. *Immunity* 1998, 8:363–372
25. SZE DM, TOELLNER KM, GARCIA DE VINUESA C, TAYLOR DR, McLENNAN IC. Intrinsic constraint on plasmablast growth and extrinsic limits of plasma cell survival. *J Exp Med* 2000, 192:813–821
26. CASSESE G, ARCE S, HAUSER AE, LEHNERT K, MOEWES B, MOSTARAC M ET AL. Plasma cell survival is mediated by synergistic effects of cytokines and adhesion-dependent signals. *J Immunol* 2003, 171:1684–1690
27. O'CONNOR BP, GLEESON MW, NOELLE RJ, ERICKSON LD. The rise and fall of long-lived humoral immunity: Terminal differentiation of plasma cells in health and disease. *Immunol Rev* 2003, 194:61–76
28. O'CONNOR BP, RAMAN VS, ERICKSON LD, COOK WJ, WEAVER LK, AHONEN C ET AL. *BCMA* is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med* 2004, 199:91–98
29. MOREAUX J, CREMER FW, REMET, RAAB M, MAHTOUK K, KAUKEL P ET AL. The level of *TACI* gene expression in myeloma cells is associated with a signature of microenvironment dependence versus a plasmablastic signature. *Blood* 2005, 106:1021–1030
30. FEUERER M, BECKHOVE P, GARBI N, MAHNKEY Y, LIMMER A, HOMMEL M ET AL. Bone marrow as a priming site for T-cell responses to blood-borne antigen. *Nat Med* 2003, 9:1151–1157
31. MARRIOTT I. Osteoblast responses to bacterial pathogens: A previously unappreciated role for bone-forming cells in host defense and disease progression. *Immunol Res* 2004, 30:291–308
32. BECKER TC, COLEY SM, WHERRY EJ, AHMED R. Bone marrow is a preferred site for homeostatic proliferation of memory CD8 T cells. *J Immunol* 2005, 174:1269–1273
33. MAZO IB, HONCZARENKO M, LEUNG H, CAVANAGH LL, BONASIO R, WENINGER W ET AL. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory CD8+ T cells. *Immunity* 2005, 22:259–270
34. GILBERT L, HE X, FARMER P, BODEN S, KOZLOWSKI M, RUBIN J ET AL. Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor- α . *Endocrinology* 2000, 141:3956–3964
35. CANALIS E. Interleukin-1 has independent effects on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in cultures of rat cal-

- variae. *Endocrinology* 1986, 118:74–81
36. STASHENKO P, DEWHIRST FE, ROONEY ML, DESJARDINS LA, HEELLEY JD. Interleukin-1 β is a potent inhibitor of bone formation *in vitro*. *J Bone Miner Res* 1987, 2:559–565
 37. CENTRELLA M, McCARTHY TL, CANALIS E. Tumor necrosis factor- α inhibits collagen synthesis and alkaline phosphatase activity independently of its effect on deoxyribonucleic acid synthesis in osteoblast-enriched bone cell cultures. *Endocrinology* 1988, 123:1442–1448
 38. SMITH DD, GOWEN M, MUNDY GR. Effects of interferon- γ and other cytokines on collagen synthesis in fetal rat bone cultures. *Endocrinology* 1987, 120:2494–2499
 39. ONOE Y, MIYaura C, KAMINAKAYASHIKI T, NAGAI Y, NOGUCHI K, CHEN OR ET AL. IL-13 and IL-4 inhibit bone resorption by suppressing cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin synthesis in osteoblasts. *J Immunol* 1996, 156:758–764
 40. LIND M, DELEURAN B, YSSEL H, FINK-ERIKSEN E, THESTRUP-PEDERSEN K. IL-4 and IL-13, but not IL-10, are chemotactic factors for human osteoblasts. *Cytokine* 1995, 7:78–82
 41. URA K, MORIMOTO I, WATANABE K, SAITO K, YANAGIHARA N, ETO S. Interleukin (IL)-4 and IL-13 inhibit the differentiation of murine osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Endocr J* 2000, 47:293–302
 42. LEWIS DB, LIGGITT HD, EFFMANN EL, MOTLEY ST, TEITELBAUM SL, JEPSEN KJ ET AL. Osteoporosis induced in mice by overproduction of interleukin-4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:11618–11622
 43. JILKA RL, WEINSTEIN RS, BELLIDO T, PARFITT AM, MANOLAGAS SC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): Modulation by growth factors and cytokines. *J Bone Miner Res* 1998, 13:793–802
 44. RIFAS L, ARACKAL S, WEITZMANN MN. Inflammatory T cells rapidly induce differentiation of human bone marrow stromal cells into mature osteoblasts. *J Cell Biochem* 2003, 88:650–659
 45. SUH WK, WANG SX, JHEON AH, MORENO L, YOSHINAGA SK, GANSS B ET AL. The immune regulatory protein B7-H3 promotes osteoblast differentiation and bone mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:12969–12973
 46. HORTON JE, RAISZ LG, SIMMONS HA, OPPENHEIM JJ, MergenHAGEN SE. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes. *Science* 1972, 177:793–795
 47. DEWHIRST FE, STASHENKO PP, MOLE JE, TSURUMACHI T. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: Identity with interleukin-1 β . *J Immunol* 1985, 135:2562–2568
 48. MARTIN TJ, ROMAS E, GILLESPIE MT. Interleukins in the control of osteoclast differentiation. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1998, 8:107–123
 49. WALSH MC, CHOI Y. Biology of the TRANCE axis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, 14:251–263
 50. THEILL LE, BOYLE WJ, PENNINGER JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol* 2002, 20:795–823
 51. SUDA T, TAKAHASHI N, UDAGAWA N, JIMI E, GILLESPIE MT, MARTIN TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 1999, 20:345–357
 52. TSUDA E, GOTO M, MOCHIZUKI S, YANO K, KOBAYASHI F, MORINAGA T ET AL. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997, 234:137–142
 53. SIMONET WS, LACEY DL, DUNSTAN CR, KELLEY M, CHANG MS, LUTHY R ET AL. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997, 89:309–319
 54. BUCAY N, SAROSI I, DUNSTAN CR, MORONY S, TARPLEY J, CAPPARELLI C ET AL. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998, 12:1260–1268
 55. YASUDA H, SHIMA N, NAKAGAWA N, YAMAGUCHI K, KINOSAKI M, MOCHIZUKI S ET AL. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95:3597–3602
 56. LACEY DL, TIMMS E, TAN HL, KELLEY MJ, DUNSTAN CR, BURGESS T ET AL. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998, 93:165–176
 57. FULLER K, WONG B, FOX S, CHOI Y, CHAMBERS TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998, 188:997–1001
 58. BOYLE WJ, SIMONET WS, LACEY DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003, 423:337–342
 59. KONG YY, YOSHIDA H, SAROSI I, TAN HL, TIMMS E, CAPPARELLI C ET AL. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999, 397:315–323
 60. KIM N, ODGREN PR, KIM DK, MARKS SC Jr, CHOI Y. Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97:10905–10910
 61. ANDERSON DM, MARASKOVSKY E, BILLINGSLEY WL, DOUGALL WC, TOMETSKO ME, ROUX ER ET AL. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997, 390:175–179
 62. DOUGALL WC, GLACCUM M, CHARRIER K, ROHRBACH K, BRASEL K, DE SMEDT T ET AL. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999, 13:2412–2424
 63. HUGHES AE, RALSTON SH, MARKEN J, BELL C, McPHERSON H, WALLACE RG ET AL. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat Genet* 2000, 24:45–48
 64. WHYTE MP, MUMM S. Heritable disorders of the RANKL/OPG/RANK signalling pathway. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004, 4:254–267
 65. WHYTE MP, OBRECHT SE, FINNEGAN PM, JONES JL, PODGORNİK MN, McALISTER WH ET AL. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med* 2002, 347:175–184
 66. WHYTE MP, REINUS WR, PODGORNİK MN, MILLS BG. Familial expansile osteolysis (excessive RANK effect) in a 5-generation American kindred. *Medicine* 2002, 81:101–121
 67. WHYTE MP, HUGHES AE. Expansile skeletal hyperphosphatasia is caused by a 15-base pair tandem duplication in TNFRSF11A encoding RANK and is allelic to familial expansile osteolysis. *J Bone Miner Res* 2002, 17:26–29

68. STEINMAN RM, BONIFAZ L, FUJII S, LIU K, BONNYAY D, YAMAZAKI S ET AL. The innate functions of dendritic cells in peripheral lymphoid tissues. *Adv Exp Med Biol* 2005, 560:83–97
69. WONG BR, JOSIEN R, LEE SY, SAUTER B, LI HL, STEINMAN RM ET AL. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 1997, 186:2075–2080
70. OUAZ F, ARRON J, ZHENG Y, CHOI Y, BEG AA. Dendritic cell development and survival require distinct NF-κB subunits. *Immunity* 2002, 16:257–270
71. JOSIEN R, LI HL, INGULLI E, SARMA S, WONG BR, VOLOGODSKAIA M ET AL. TRANCE, a tumor necrosis factor family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells *in vivo*. *J Exp Med* 2000, 191:495–502
72. BACHMANN MF, WONG BR, JOSIEN R, STEINMAN RM, OXENIUS A, CHOI Y. TRANCE, a tumor necrosis factor family member critical for CD40 ligand-independent T helper cell activation. *J Exp Med* 1999, 189:1025–1031
73. YUN TJ, TALLQUIST MD, AICHER A, RAFFERTY KL, MARSHALL AJ, MOON JJ ET AL. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 2001, 166:1482–1491
74. KONG YY, FEIGE U, SAROSI I, BOLON B, TAFURI A, MORONI S ET AL. Activated T-cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999, 402:304–309
75. GREEN EA, CHOI Y, FLAVELL RA. Pancreatic lymph node-derived CD4+ CD25+ Treg cells: Highly potent regulators of diabetes that require TRANCE-RANK signals. *Immunity* 2002, 16:183–191
76. PETTIT AR, JI H, VON STECHOW D, MULLER R, GOLDRING SR, SHOI Y ET AL. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol* 2001, 159:1689–1699
77. RIVOLLIER A, MAZZORANA M, TEBIB J, PIPERNO M, AITSISELMI T, RABOURDIN-COMBE C ET AL. Immature dendritic cell transdifferentiation into osteoclasts: A novel pathway sustained by the rheumatoid arthritis microenvironment. *Blood* 2004, 104:4029–4037
78. O'GRADAIGH D, COMPSTON JE. T-cell involvement in osteoclast biology: Implications for rheumatoid bone erosion. *Rheumatology* 2004, 43:122–130
79. SCHETT G, HAYER S, ZWERINA J, REDLICH K, SMOLEN JS. Mechanisms of disease: The link between RANKL and arthritic bone disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2005, 1:47–54
80. GEUSENS PP, LANDEWE RB, GARNERO P, CHEN D, DUNSTAN CR, LEMS WS ET AL. The ratio of circulating osteoprotegerin to RANKL in early rheumatoid arthritis predicts later joint destruction. *Arthritis Rheum* 2006, 54:1772–1777
81. CENCI S, WEITZMANN MN, ROGGIA C, NAMBA N, NOVACK D, WOODRING J ET AL. Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF-α. *J Clin Invest* 2000, 106:1229–1237
82. SASS DA, LISS T, BOWMAN AR, RUCINSKI B, POPOFF SN, PAN Z ET AL. The role of the T-lymphocyte in estrogen deficiency osteopenia. *J Bone Miner Res* 1997, 12:479–486
83. EGHBALI-FATOURECHI G, KHOSLA S, SANYAL A, BOYLE WJ, LACEY DL, RIGGS BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003, 111:1221–1230
84. McCLUNG MR, LEWIECKI EM, COHEN SB, BOLOGNESE MA, WOODSON GC, MOFFETT AH ET AL. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006, 354:821–831
85. MORABITO N, GAUDIO A, LASCO A, ATTERITANO M, PIZZOLEO MA, TRIFILETTI A ET AL. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of thalassemia-induced osteoporosis: New pieces of the puzzle. *J Bone Miner Res* 2004, 19:722–727
86. VOSKARIDOU E, TERPOS E, SPINA G, PALERMOS J, RAHEMTULLA A, LOUTRADI A ET AL. Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol* 2003, 123:730–737
87. VOSKARIDOU E, ANAGNOSTOPOULOS A, KONSTANTOPOULOS K, STOUPA E, SPYROPOULOU E, KIAMOURIS C ET AL. Zoledronic acid for the treatment of osteoporosis in patients with beta-thalassaemia: Results from a single-center, randomised, placebo-controlled trial. *Haematologica* 2006, 91:1193–1202
88. TERPOS E, POLITOU M, RAHEMTULLA A. New insights into the pathophysiology and management of bone disease in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2003, 123:758–769
89. TERPOS E, DIMOPOULOS MA. Myeloma bone disease: Pathophysiology and management. *Ann Oncol* 2005, 16:1223–1231
90. TERPOS E, SZYDLO R, APPERLEY JF, HATJIHARISSI E, POLITOU M, MELETIS J ET AL. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: Proposal for a novel prognostic index. *Blood* 2003, 102:1064–1069
91. TERPOS E, DE LA FUENTE J, SZYDLO R, HATJIHARISSI E, VINIQU N, MELETIS J ET AL. Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b: A novel serum marker for monitoring bone disease in multiple myeloma. *Int J Cancer* 2003, 106:455–457
92. STANDAL T, SEIDEL C, HJERTNER O, PLESNERT, SANDERSON RD, WAAGE A ET AL. Osteoprotegerin is bound, internalized, and degraded by multiple myeloma cells. *Blood* 2002, 100:3002–3007
93. TIAN E, ZHAN F, WALKER R, RASMUSSEN E, MA Y, BARLOGIE B ET AL. The role of the *wnt*-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003, 349:2483–2494
94. POLITOU MC, HEATH DJ, RAHEMTULLA A, SZYDLO R, ANAGNOSTOPOULOS A, DIMOPOULOS MA ET AL. Serum concentrations of dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myeloma and reduced after autologous stem cell transplantation. *Int J Cancer* 2006, 119:1728–1731
95. BODY JJ, GREIPP P, COLEMAN RE, FACON T, GEURS F, FERMAND JP ET AL. A phase I study of AMG-0007, a recombinant osteoprotegerin construct, in patients with multiple myeloma or breast carcinoma related bone metastases. *Cancer* 2003, 97(Suppl 3):887–892
96. BODY JJ, FACON T, COLEMAN RE, LIPTON A, GEURS F, FAN M ET AL. A study of the biological receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006, 12:1221–1228

97. CROSS SS, HARRISON RF, BALASUBRAMANIAN SP, LIPPITT JM, EVANS CA, REED MW ET AL. Expression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in breast cancer, and their relations with osteoprotegerin, oestrogen receptor, and clinicopathological variables. *J Clin Pathol* 2006, 59:716–720
98. VAN POZNAK C, CROSS SS, SAGGESE M, HUDIS C, PANAGEAS KS, NORTON L ET AL. Expression of osteoprotegerin (OPG), TNF related apoptosis inducing ligand (TRAIL), and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) in human breast tumors. *J Clin Pathol* 2006, 59:56–63
99. NAKAMURA ES, KOIZUMI K, KOBAYASHI M, SAITOH Y, ARITA Y, NAKAYAMA T ET AL. RANKL-induced CCL22/macrophage-derived chemokine produced from osteoclasts potentially promotes the bone metastasis of lung cancer expressing its receptor CCR4. *Clin Exp Metastasis* 2006, 23:9–18
100. MOUNTZIOS G, DIMOPOULOS MA, BAMIAS A, PAPADOPOULOS G, KASTRITIS E, SYRIGOS K ET AL. Abnormal bone remodeling process is due to an imbalance in the receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) axis in patients with solid tumors metastatic to the skeleton. *Acta Oncol* 2007, 46:221–229
101. JUNG K, LEIN M, STEPHAN C, VON HOSSLIN K, SEMJONOW A, SINHA P ET AL. Comparison of 10 serum bone turnover markers in prostate carcinoma patients with bone metastatic spread: Diagnostic and prognostic implications. *Int J Cancer* 2004, 111:783–791
102. INOUE H, NISHIMURA K, OKA D, NAKAI Y, SHIBA M, TOKIZANE T ET AL. Prostate cancer mediates osteoclastogenesis through two different pathways. *Cancer Lett* 2005, 223:121–128
103. CHEN G, SIRCAR K, APIRIKIAN A, POTTI A, GOLTZMAN D, RABBANI SA. Expression of RANKL/RANK/OPG in primary and metastatic human prostate cancer as markers of disease stage and functional regulation. *Cancer* 2006, 107:289–298
104. LIPTON A, STEGER GG, FIGUEROA J, ALVARADO C, SOLAL-CELIGNY P, BODY JJ ET AL. Randomized active-controlled phase II study of denosumab efficacy and safety in patients with breast cancer-related bone metastases. *J Clin Oncol* 2007, 25:4431–4437
105. CLARK WB, LOE H. Mechanisms of initiation and progression of periodontal disease. *Periodontol* 2000 1993, 2:72–82
106. TENG YT, NGUYEN H, GAO X, KONG YY, GORCZYNSKI RM, SINGH B ET AL. Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J Clin Invest* 2000, 106:R59–R67
107. LOPEZ I, BUCHMAN AL. Metabolic bone disease in IBD. *Curr Gastroenterol Rep* 2000, 2:317–22
108. MOSCHEN AR, KASER A, ENRICH B, LUDWICZEK O, GABRIEL M, OBRIST P ET AL. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss. *Gut* 2005, 54:479–487
109. FRANCHIMONT N, REENAERS C, LAMBERT C, BELAICHE J, BOURS V, MALAISE M ET AL. Increased expression of receptor activator of NF-κB ligand (RANKL), its receptor RANK and its decoy receptor osteoprotegerin in the colon of Crohn's disease patients. *Clin Exp Immunol* 2004, 138:491–498
110. ASHCROFT AJ, CRUICKSHANK SM, CROUCHER PI, PERRY MJ, ROLINSON S, LIPPITT JM ET AL. Colonic dendritic cells, intestinal inflammation, and T cell-mediated bone destruction are modulated by recombinant osteoprotegerin. *Immunity* 2003, 19:849–861
111. PENNISI P, SIGNORELLI SS, RICCOBENE S, CELOTTA G, DI PINO L, LA MALFA T ET AL. Low bone density and abnormal bone turnover in patients with atherosclerosis of peripheral vessels. *Osteoporos Int* 2004, 15:389–395
112. KEARNEY DM, LOCKEY RF. Osteoporosis and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006, 96:769–774
113. ALMEHED K, FORSBLAD D'ELIA H, KVIST G, OHLSSON C, CARLSTEN H. Prevalence and risk factors of osteoporosis in female SLE patients—extended report. *Rheumatology* 2007, 46:1185–1190
114. GIBELLINI D, BORDERI M, DE CRIGNIS E, CICOLA R, VESCINI F, GAUDARELLA R ET AL. RANKL/OPG/TRAIL plasma levels and bone mass loss evaluation in antiretroviral naive HIV-1-positive men. *J Med Virol* 2007, 79:1446–1454
115. TAKEDA K, AKIRA S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004, 16:3–9
116. TAKAMI M, KIM N, RHO J, CHOI Y. Stimulation by toll-like receptors inhibits osteoclast differentiation. *J Immunol* 2002, 169:1516–1523
117. KIKUCHI T, MATSUGUCHI T, TSUBOI N, MITANI A, TANAKA S, MATSUOKA M ET AL. Gene expression of osteoclast differentiation factor is induced by lipopolysaccharide in mouse osteoblasts via toll-like receptors. *J Immunol* 2001, 166:3574–3579
118. HAYASHI S, YAMADA T, TSUNETO M, YAMANE T, TAKAHASHI M, SHULTZ LD ET AL. Distinct osteoclast precursors in the bone marrow and extramedullary organs characterized by responsiveness to toll-like receptor ligands and TNF-α. *J Immunol* 2003, 171:5130–5139
119. NAIR SP, MEGHJI S, WILSON M, REDDI K, WHITE P, HENDERSON B. Bacterially induced bone destruction: Mechanisms and misconceptions. *Infect Immun* 1996, 64:2371–2380
120. ZOU W, SCHWARTZ H, ENDRES S, HARTMANN G, BAR-SHAVIT Z. CpG oligonucleotides: Novel regulators of osteoclast differentiation. *FASEB J* 2002, 16:274–282
121. WALSH MC, KIM N, KADONO Y, RHO J, LEE SY, LORENZO J ET AL. Osteoimmunology: Interplay between the immune system and bone metabolism. *Annu Rev Immunol* 2006, 24:33–63

Corresponding author:

E. Terpos, Department of Medical Research and Hematology, 251 General Air Force Hospital, 3 Kanellopoulou street, GR-115 25 Athens, Greece
e-mail: eterpos@hotmail.com and eterpos@imperial.ac.uk