

RANKL/RANK 通路及其靶向药物地诺单抗在骨科疾病中的应用

陈天洪 李景峰

【摘要】 RANKL/RANK 通路可激活下游的 TRAF6、NF- κ B、MAPK 等信号从而调节破骨细胞的分化和增殖,是治疗许多骨疾病的关键靶点通路之一。地诺单抗是一种抗 RANKL 单克隆抗体,目前已被批准应用于临床。在骨质疏松、骨转移瘤、多发性骨髓瘤、骨巨细胞瘤、动脉瘤样骨囊肿等疾病中,地诺单抗能够有效缓解病人症状,增强手术效果,并可能拥有延长骨转移瘤病人生存期等益处。与经典药物唑来膦酸相比,地诺单抗表现出更强的安全性及耐受性。

【关键词】 RANKL;RANK;信号通路;地诺单抗;骨疾病

骨骼的发生和改建依赖于破骨细胞介导的骨吸收和成骨细胞介导的骨形成,二者的联合作用是一个贯穿个体一生的动态过程^[1]。在这个动态过程中,骨吸收负责清除受损或陈旧的骨骼,并进一步激活成骨细胞成骨以补充损失的骨量。骨形成和骨吸收的平衡对骨骼稳态的维持十分重要。然而,由于机体衰老或病理因素等原因,成骨与破骨的动力平衡常常被打破,导致过度的骨吸收或骨形成。由此产生或加重了一系列骨组织相关疾病^[2],例如绝经后骨质疏松,恶性肿瘤骨转移和骨原位肿瘤等。破骨细胞是唯一能吸收骨组织的细胞。它们的形成和活性主要由成骨细胞系细胞发出的信号控制。但在疾病状态下,其他类型的细胞也被证明能够间接支持破骨细胞的形成,例如乳腺癌细胞和类风湿性关节炎滑膜中的 T 细胞^[3-4]。对成骨和破骨过程的调控是治疗许多骨组织疾病的关键步骤。核因子 κ B 受体活化因子(receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK)、核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)和骨保护素(osteoprotegerin, OPG)构成的 RANKL/RANK/OPG 信号通路是调控成骨与破骨动态过程的关键信号通路,近年来已成为许多骨骼疾病极具潜力的治疗靶点^[5]。本文从 RANKL/RANK/OPG 信号通路出发,综述了抗 RANKL/RANK 通路药物地诺单抗在骨科疾病中的应用。

一、文献检索策略

本文通过英文检索词“RANKL/RANK”、“RANKL/RANK/OPG”、“Anti-RANKL antibody”、“denosumab”、“orthopedic diseases”、“Osteoporosis”等在 PubMed 平台进行检索,筛选通过靶向 RANKL/RANK 通路治疗骨科疾病的相关文献,共检索到相关文献 887 篇。文献纳入标准为:①已正式发表的期刊文献;②文献内容与 RANKL/RANK 通路以及骨科疾病密切相关;③同类研究中质量和证据等级较高的文献;④英文文

献。文献排除标准为:①同类研究中质量和证据等级较低的文献;②非英文文献;③无法获取全文的文献。根据纳入与排除标准最终纳入英文文献 78 篇(图 1)。

二、RANKL/RANK/OPG 信号通路

RANKL 是破骨细胞分化和增殖的关键调节因子,在骨组织中主要由成骨细胞和骨细胞表达。RANKL 通过作用于破骨细胞前体细胞和破骨细胞上的 RANK 促进破骨细胞谱系的增殖和分化,最终促进骨吸收^[6]。RANKL 属于肿瘤坏死因子(TNF)家族,是一种 II 型跨膜蛋白。RANKL 以膜结合型和可溶性型两种形式存在。两种形式的 RANKL 都具有促破骨细胞形成活性,其中膜结合型 RANKL 很可能与体内骨吸收的空间分布和程度有关^[5]。RANK 属于 TNF 受体超家族,是一种 I 型跨膜蛋白。RANK 与 RANKL 结合并募集 TNF 受体相关因子 6(TNF Receptor-Associated Factor 6, TRAF6),TRAF6 进一步激活核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族和酪氨酸激酶 c-Src、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)等信号通路^[3,6-7]。MAPK 能够激活转录因子 c-Fos 的核转位,

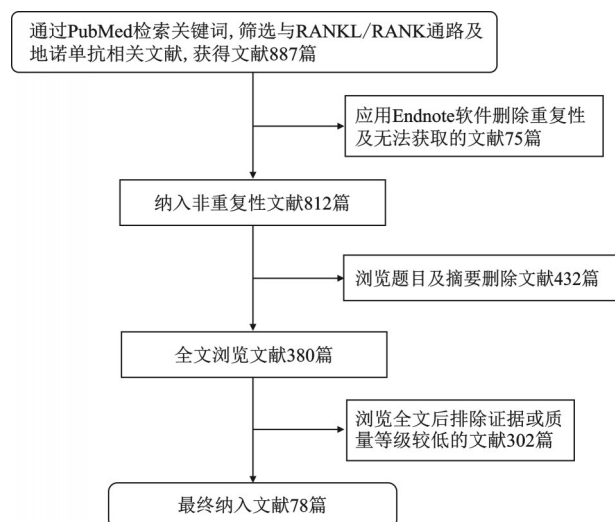


图 1 文献筛选流程图

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2022.02.018

基金项目:国家自然科学基金(81871752)

作者单位:武汉大学中南医院脊柱与骨肿瘤科,武汉 430071

通信作者:李景峰,E-mail:jingfengli@whu.edu.cn

c-Fos 和活化 T 细胞核因子 C1 (nuclear factor of activated T cells c1, NFATc1) 共同触发破骨细胞形成所需基因的转录。RANKL 信号激活 c-Fos 需要 NF- κ B p50 和 p52 的表达^[6]。RANKL 还通过激活磷脂酶 C γ (phospholipase C γ , PLC γ) 以及含有免疫受体酪氨酸激活基序 [immunoreceptor tyrosine based activation (ITAM)-motif, ITAM] 的蛋白激活 NFATc1^[3,7]。TRAF6 还能与 c-Src 形成复合物, 激活抗凋亡的丝氨酸/苏氨酸激酶、Akt/蛋白激酶 B 通路, 导致促凋亡蛋白 Bad 的磷酸化和抑制^[7]。除了 TRAF6, GRB2 相关结合 (Gab) 蛋白 2 [Grb-2-associated binder (Gab) protein 2] 也与 RANK 相互作用, 并参与 RANKL/RANK 通路的破骨细胞调节作用^[6]。OPG 是 RANKL 的诱饵受体, 通过与 RANK 竞争 RANKL, 阻止 RANKL/RANK 通路激活的破骨过程, 抑制骨吸收^[6]。OPG 是一种分泌型 TNF 受体, 有 60 kDa 的单体形式和 120 kDa 的二聚体形式^[5]。其中 OPG 的二聚体能显著提高 OPG 与 RANKL 的亲合力, 使 OPG 更易与 RANKL 结合^[5,8] (图 2)。

三、RANKL/RANK/OPG 通路药物的开发

OPG 能够在体外有效抑制破骨细胞的分化, 但动物实验显示^[9], 需要很高剂量 (> 10~30 mg/kg) 的重组全长 OPG 才能抑制小鼠的骨吸收。且 OPG 具有肝素结合活性, 易与体内存在的肝素结合, 使其在体内表现出“粘性”, 药代动力学和药效学较差^[9]。为了避免 OPG 的这些缺点, 人们利用 OPG/RANK 以及人 IgG1 的 Fc 片段, 设计开发了 OPG-Fc (AMGN-0007) 和 RANK-Fc 等多种重组蛋白, 这些蛋白在小鼠体内都表现出优秀的骨吸收抑制活性, 同时具有较长的半衰期, 但

在随后的灵长类动物或人体试验中被发现具有免疫风险^[5]。另外, 靶向受体的抗体可能结合体内的非特异性受体, 从而带来安全风险。因此药物的开发重点转向抗 RANKL 抗体。之后, 美国安进公司利用 IgG2 转基因小鼠足垫免疫法获得了一株可有效抑制 RANKL 促破骨活性的单克隆抗体。这种抗体最初被命名为 AMG162, 现在被称为地诺单抗。地诺单抗的优势在于其取代氨基酸较少, 同时具有较高的亲和力和较强的中和活性。地诺单抗最终成功被批准应用于临床治疗妇女绝经后骨质疏松以及骨肿瘤造成的骨吸收。

Ko 等^[10] 利用 RANKL 和 RANK 的氨基酸片段修饰 RANKL 与 RANK 结合的位点, 得到了一种 RANKL 变异体。这种新的 RANKL 变异体有潜力作为疫苗预防骨质疏松, 能够在体内刺激去卵巢的小鼠产生高水平的 RANKL 特异性抗体, 抑制破骨细胞的形成, 并抑制骨质疏松。产生的抗 RANKL 抗体在体内和体外均对破骨细胞的形成有较强的抑制作用。同时, 这种新的 RANKL 变异体不结合破骨细胞前体细胞中的 RANK^[10], 而是结合 RANKL 的另一种受体——LGR4^[10]。LGR4 是一种富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体, 能与 RANK 竞争结合 RANKL, 并通过 RANKL/LGR4/G α q/GSK3- β /NFATc1 通路抑制破骨细胞形成过程中 NFATc1 的表达和活性, 负向调节破骨细胞分化和骨吸收^[11]。此外, LGR4 是 RANKL/RANK 通路的下游靶点, 能够通过负反馈限制 RANKL 刺激的破骨细胞生成, 减少体内破骨细胞的数量^[11]。在另一项研究中, 研究人员将 RANKL 连接到病毒样颗粒 (VLP) 上, 制造了另一种 RANKL 疫苗, 该疫苗有希

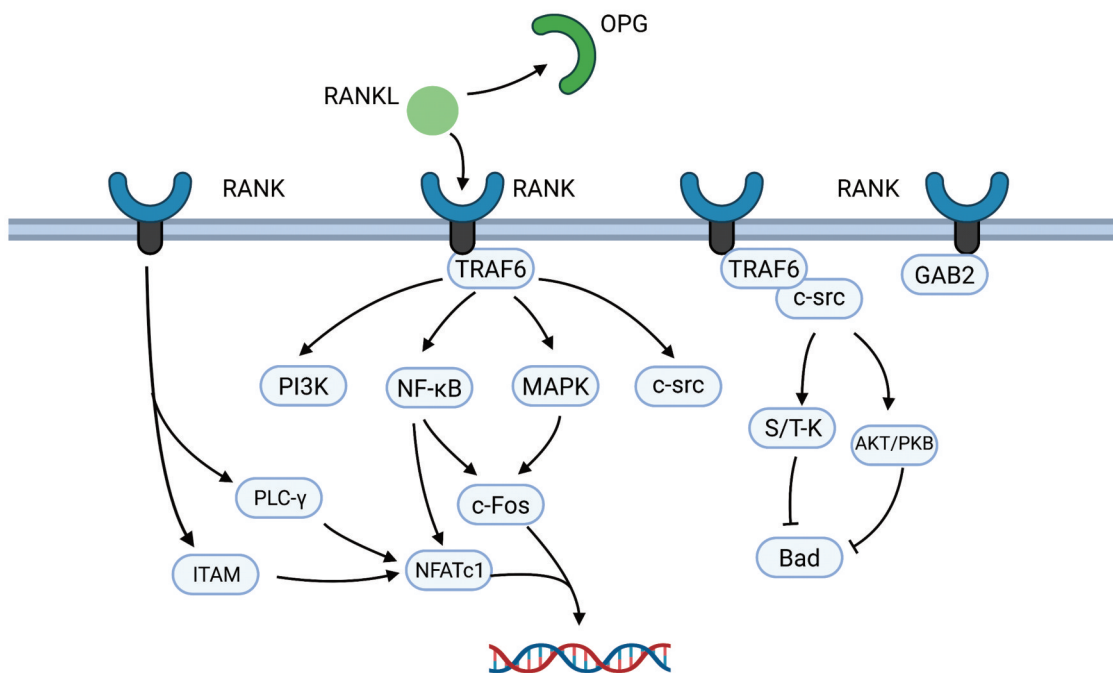


图 2 RANKL/RANK 下游通路信号图 (绘图作者 陈天洪)

望诱导 RANKL 特异性抗体, 减弱 RANKL 活性, 并防止骨质疏松小鼠模型中的骨丢失^[12-13]。但目前这些疫苗并没有被批准用于临床试验。

四、地诺单抗与骨科疾病

(一) 骨质疏松

通常情况下, 破骨细胞介导的骨吸收耗时远低于成骨细胞介导的骨形成, 前者只需要几周时间, 而后者则需要几个月的时间^[14]。因此, 抑制破骨细胞的功能是预防骨丢失的关键。地诺单抗作为抗 RANKL 抗体, 已被批准用于治疗妇女绝经后骨质疏松。在一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照的 III 期自由试验中^[15], 来自北美、欧洲和拉丁美洲等多个地区的 60~90 岁绝经后骨质疏松病人接受了长达 10 年的地诺单抗治疗, 给药方式为每 6 个月 1 次, 每次 60 mg 皮下注射。结果显示在治疗期间, 地诺单抗使这些病人的腰椎骨密度增加了 21.7%, 全髌骨密度增加了 9.2%, 股骨颈骨密度增加了 9.0%, 桡骨骨密度增加了 2.7%, 并且这些病人对地诺单抗的耐受性良好^[15]。另一项参与人数达 7 868 例的相关临床研究也得到了类似的结果, 这表明地诺单抗是治疗绝经后骨质疏松安全有效的药物^[16]。

除了绝经后骨质疏松, 地诺单抗对其他原因导致的骨质疏松同样有效。一项临床试验显示地诺单抗对糖皮质激素所致的骨质疏松病人有益, 且其疗效强于利塞膦酸钠^[17]。在一项 II b 期双盲临床试验中, 研究人员使用地诺单抗治疗输血依赖性的地中海贫血骨质疏松病人, 结果显示地诺单抗成功提高了这些病人的骨密度, 同时还减轻了他们的疼痛程度^[18]。当地诺单抗与特利帕肽等其他抗骨质疏松药物联合使用时, 病人的骨量快速增加, 研究人员认为这种联合用药方式可能为骨质疏松病人提供了一种恢复骨骼完整性的方法^[19]。除了提高病人的骨密度, 地诺单抗还能降低骨质疏松病人的血磷, 改善他们的肾小球滤过率, 降低他们患慢性肾脏疾病的风险^[20]。

(二) 骨转移瘤

除了骨组织, RANKL/RANK 通路也在乳腺、前列腺、子宫内膜、宫颈、胃、食管、膀胱、甲状腺等部位的肿瘤中过表达, 且与预后不良相关^[8]。在小鼠模型中, RANKL 能以血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 非依赖方式促进肿瘤血管生成并在体外诱导化学耐药。在表达 RANK 的细胞中, RANK 激活可上调多药耐药蛋白 1 (MDR1)、乳腺癌耐药蛋白 (BCRP) 和肺耐药蛋白 1 (LRP1) 的表达^[21]。阻断 RANKL 提高了抗 CTLA-4 单克隆抗体及顺铂对实体瘤和转移瘤的疗效^[8, 21]。这些证据表明 RANKL/RANK 通路与骨骼外肿瘤密切相关, 阻断 RANKL/RANK 通路可能是治疗骨骼外恶性肿瘤的方式之一。骨骼外恶性肿瘤的骨转移机制也涉及到 RANKL/RANK 通路, 在前列腺癌和乳腺癌的骨转移中, RANKL/RANK 通路很可能发挥了促进作用^[22-23]。此外, RANKL-RANK 轴的激活还显著促进了肝癌细胞的体外迁移和侵袭能力, 同时对乳腺肿瘤的发生有益。体外研究表明, HIF-1 α 诱导的 RANKL 表达可通过 PI3K/

AKT 信号通路促进乳腺癌细胞的迁移^[8, 22]。抑制 RANKL/RANK 通路可能延缓前列腺癌的骨转移。在去势不敏感的前列腺癌小鼠模型中, 去势降低了小鼠的骨密度并加速了肿瘤的骨转移。OPG 治疗减弱了去势的上述影响^[24]。一项对因骨转移而接受地诺单抗治疗的肺癌病人的分析显示, 与唑来膦酸相比, 地诺单抗将病人的总生存期延长了 1.2 个月^[8, 25]。另一项 III 期临床研究也显示与唑来膦酸相比, 地诺单抗将鳞状细胞肺癌病人的中位数生存期提高了 2.2 个月^[26]。对于前列腺癌病人, 与安慰剂相比, 地诺单抗将无骨转移中位数生存期提升了 4.2 个月, 且显著延迟了首次骨转移时间。同时, 除了颌骨坏死和低钙血症的发生率略高, 地诺单抗组与安慰剂组的不良反应发生率相似^[27]。尽管地诺单抗显示出对恶性骨转移病人的明显益处, 但地诺单抗治疗并不能改善晚期非小细胞肺癌病人及前列腺癌病人的总生存期^[27-28], 同时另一项参与人数达 4 509 人的国际性、多中心、随机、对照的 III 期临床试验也显示, 地诺单抗治疗并没有提高早期高危乳腺癌病人的无骨转移生存率或无病生存率^[29], 大约三分之一的晚期肾细胞癌病人有骨转移, 使用地诺单抗治疗能减少晚期肾细胞癌病人的骨骼并发症, 但无法抑制肿瘤活性或提高生存率^[30]。一项地诺单抗与唑来膦酸治疗晚期乳腺癌骨转移的比较研究显示, 地诺单抗在延迟或预防乳腺癌骨转移病人的骨骼相关事件方面优于唑来膦酸, 并且总体耐受性良好^[31]。一项随机对照试验的系统评价和荟萃分析也认为地诺单抗在延缓骨骼相关事件及降低发生率上优于唑来膦酸, 但在总生存期方面效果相似^[32]。以上这些研究表明, 地诺单抗无法对肿瘤产生直接的抑制作用或提高癌症病人的总生存率, 但能有效延缓晚期恶性肿瘤病人的骨骼相关事件并降低发病率, 有利于提高病人生存质量。而与唑来膦酸相比, 现有的临床数据似乎暗示地诺单抗在延长生存期, 减少骨骼相关事件方面效果更优。在安全性方面, 两者下颌骨坏死的发生率相似, 地诺单抗不会导致急性期反应, 也不需要根据病人肾脏状况而进行监测或调整剂量, 但地诺单抗的低钙血症发生率更高^[26, 30]。

地诺单抗在治疗恶性肿瘤导致的高钙血症中也有应用。恶性高钙血症是晚期癌症病人的并发症之一, 通常由破骨细胞介导的过度骨吸收引起。其特点是血清钙升高, 并提示预后不良。恶性肿瘤高钙血症的发病机制与癌细胞分泌的甲状旁腺激素相关蛋白有关, 甲状旁腺激素相关蛋白能够刺激成骨细胞前体产生 RANKL 并激活破骨通路, 刺激骨吸收从而使骨中的钙释放到血液中^[33]。33 例恶性肿瘤高钙血症病人 (血清钙 > 12.5 mg/dL) 接受地诺单抗治疗, 在第 1、8、15、29 天皮下注射地诺单抗 120 mg, 随后每 4 周注射一次。在治疗后的第 10 天, 地诺单抗就显示出良好的疗效: 21 例病人的血清钙水平降到 11.5 mg/dL 或更低, 其中 12 例病人的血清钙水平降到 10.8 mg/dL 以下。治疗结束后, 有 23 例病人血清钙水平降到 11.5 mg/dL 以下, 21 例病人血清钙水平降到 10.8 mg/dL 以下^[34]。这些结果为地诺单抗用于治疗恶性高钙血症提供了一些临床证据。

(三) 多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤是一种相对常见的恶性肿瘤,表现为溶骨性骨破坏、高钙血症、肾功能衰竭、贫血和感染风险增加。多发性骨髓瘤性骨病是骨髓瘤的严重后果之一,表现为溶骨性病损或破骨细胞活性增高导致的骨量减少,并伴有成骨细胞功能抑制。相关研究表明,RANKL抑制剂可以防止骨髓瘤细胞引起的骨破坏^[35]。用重组RANK-Fc蛋白抑制RANKL不仅可以减少多发性骨髓瘤诱导的骨溶解,还可以显著降低肿瘤负担。在一些I期和II期临床试验中,接受地诺单抗治疗的多发性骨髓瘤病人的骨吸收被抑制,并且尿液或血清中的骨转换标志物浓度降低^[35]。静脉注射双膦酸盐(如唑来膦酸)是治疗骨髓瘤骨病的经典方法,但对于许多病人,尽管静脉注射了双膦酸盐,骨骼并发症仍无法避免^[36]。一项涉及1 718例病人的全球性III期研究^[36]评估了地诺单抗与唑来膦酸预防成人新诊断多发性骨髓瘤的骨骼相关事件的有效性和安全性。给药方式为每4周皮下注射地诺单抗120 mg或唑来膦酸4 mg。对其中196例亚洲病人的分析结果显示,与唑来膦酸组相比,地诺单抗组发生骨骼相关事件的病人较少,地诺单抗组与唑来膦酸组的骨骼相关事件发生率分别为38.8%和50.5%^[37]。而对于全部的1 718例病人的结果显示:地诺单抗在发生首次骨骼相关事件的时间方面与唑来膦酸相似^[36]。美国临床肿瘤学会临床实践指南更新认为地诺单抗在预防多发性骨髓瘤病人的骨骼相关事件方面不劣于唑来膦酸,且对于有肾功能损害的病人,地诺单抗可能作为首选方案^[38]。对于地诺单抗治疗所导致的不良反应,最近有报道称血清碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)可能用于预测地诺单抗治疗多发性骨髓瘤病人导致的低钙血症^[39],因为血清高ALP值表明成骨细胞钙摄取增加,因此当检测到接受地诺单抗治疗病人血清ALP升高时,应积极预防低钙血症。

(四) 骨巨细胞瘤

骨巨细胞瘤是一种原发性的交界性骨肿瘤,但通常具有局部侵袭性,能导致严重的骨破坏。骨巨细胞瘤中的基质细胞高度表达RANKL,并通过RANKL依赖机制诱导骨吸收^[40]。骨巨细胞瘤的标准治疗方法是手术切除,但这种治疗方法并不适用于所有病人。地诺单抗可用于治疗无法手术切除的骨巨细胞瘤病人^[40]。在一项多中心的II期临床试验中,17例骨巨细胞瘤病人每4周接受一次地诺单抗(120 mg)治疗,这种治疗方法最终获得了良好的疗效^[41]。另一项规模更大的II期临床试验显示,在接受地诺单抗治疗后,169例无法手术切除的骨巨细胞瘤病人中有163例病人疾病进展减慢;100例预计手术治疗的病人中有74例最终没有必要进行手术治疗;26例接受手术的病人中有16例进行了比预期规模更小的手术^[42]。其他临床试验的结果也表明对于骨巨细胞瘤病人,地诺单抗是一种值得选择的辅助治疗药物,可以促进肿瘤的完全切除或增加病人的关节存留率^[43-44]。但最近有报道显示,地诺单抗辅助治疗无法改善进行手术治疗的骨巨细胞瘤病人的局部复发率,甚至可能使复发率增高^[45]。在

Traub等^[46]的研究中,20例骨巨细胞瘤病人在局部手术前接受了地诺单抗治疗,治疗期间他们的症状及影像学表现都得到改善,术后平均随访30个月统计的局部复发率为15%,与另一项涉及116例同样接受地诺单抗治疗的骨巨细胞瘤病人研究的术后复发率相同^[47],但这也与之前接受单纯手术治疗病人所报道的术后复发率相似^[48]。在另一项研究中,认为地诺单抗治疗提高了局部手术病人的复发率,25例进行地诺单抗和手术治疗的病人中有15例复发,而222例单纯手术病人中仅有16例复发,二者复发率分别为60%和16%^[49]。研究人员认为这可能是因为术前使用地诺单抗促进成骨,使肿瘤边缘增厚而掩盖了真实的肿瘤范围,使得肿瘤去除不完整,且肿瘤细胞可能会包埋在新形成的骨组织中^[45]。因此有研究建议在术前将地诺单抗的剂量减少至刚好足以成骨,并在术中按照初始范围切除肿瘤组织^[50]。以上这些研究所得出的关于地诺单抗给骨巨细胞瘤病人带来的最终好处的结论似乎不尽相同,但地诺单抗确实有利于病人的症状及影像学的改善,至于复发率的不同及其机制还需要更多、更长时间及更大样本量的临床研究来确定。

(五) 良性骨病变

动脉瘤性骨囊肿(aneurysmal bone cyst, ABC)是一种良性骨肿瘤,常用治疗方法为手术切除及植骨。有研究报道了9例接受地诺单抗治疗的ABC病人3个月后疼痛及跛行等临床症状完全消失,同时影像学表现也有所改善,且在治疗期间未出现严重副作用,但在治疗后随访中有2例病人出现严重的高钙血症^[51]。另一报道也显示使用地诺单抗治疗1例骶骨ABC 2个月,病人的疼痛症状得到缓解^[52]。骨纤维发育不良较为罕见,通常使用双膦酸盐治疗。12例使用双膦酸盐治疗后出现疼痛及ALP、I型原胶原N端肽(PINP)升高的病人接受了地诺单抗治疗,结果显示地诺单抗治疗使这些病人的疼痛减轻甚至完全消除,且ALP及PINP下降,这表明地诺单抗对骨纤维发育不良病人有效^[53]。

(六) 其他疾病

Paget's病是一种慢性、局灶性骨骼疾病,表现为受累部位的骨转换显著增加,骨结构紊乱,骨骼强度降低,是仅次于骨质疏松的第二大代谢性骨病^[54]。使用双膦酸盐可以有效治疗Paget's病,但如果病人对双膦酸盐不耐受,那么治疗将变得十分困难。有证据表明Paget's病病人循环系统中的RANKL水平增高,且外周及骨髓中的破骨细胞前体细胞对RANKL的敏感性增强^[55-56],这可能导致Paget's病病人的骨吸收更加活跃。有病例报告认为地诺单抗对Paget's病病人有益。一位对双膦酸盐不耐受的Paget's病病人接受了地诺单抗治疗。结果显示地诺单抗完全缓解了他的症状^[57]。另一种由OPG编码基因缺失导致的青少年Paget's病,地诺单抗同样显示出良好的临床效果^[58]。

类风湿性关节炎是一种以持续性滑膜炎、全身性炎症和关节破坏为特征的慢性疾病。病人的破骨细胞活性增加并导致骨侵蚀和骨丢失^[59]。RANKL能促进类风湿性关节炎的进展^[60-62]。一项共有350例参与者的II期临床试验显示:与

安慰剂相比,地诺单抗治疗 12 个月显著抑制了骨质侵蚀的进展,并改善了病人的改良 sharp 评分。但地诺单抗对类风湿性关节炎的活动性没有影响^[63]。其他类似的临床试验也报道了相似的结论^[59,64-65]。

地诺单抗还能用于治疗甲状旁腺功能亢进病人体内高水平的甲状旁腺激素刺激 RANKL 释放引起的骨吸收^[66-67]。除了这些疾病,地诺单抗还被报道用于其他一些罕见疾病,例如血管钙化^[68]、慢性肾脏疾病相关骨病、器官移植相关性骨病、成骨不全、肥大细胞增多症、神经纤维瘤病、放射性骨坏死、多系统萎缩、杜氏(Duchenne)肌肉营养不良症、脊髓损伤相关骨丢失、神经性厌食症、低磷酸酯酶症、妊娠或哺乳相关性骨质疏松症以及假体周围骨溶解等^[69]。

五、地诺单抗的安全性

绝大多数病人对地诺单抗具有良好的耐受性,但仍有一定概率产生副作用。例如颌骨坏死,皮肤湿疹、腹胀、蜂窝织炎以及血清钙或磷降低等^[1,70]。在一项长期给予地诺单抗治疗乳腺癌及前列腺癌安全性的 III 期临床研究中,研究人员报道的地诺单抗引起的不良反应包括恶心、贫血、疲劳、背痛、虚弱、关节痛、感染、颌骨坏死及低钙血症^[71]。在一项研究中,295 例病人接受大于 3 年的地诺单抗治疗,发生颌骨坏死的概率为 1.9%,低钙血症的概率为 4.3%,但颌骨坏死的发生率会随着给药时间的增加而增加。且在将唑来膦酸替换为地诺单抗后,不会出现新的不良反应。有报道^[72]认为已接受地诺单抗治疗的病人可以长期使用地诺单抗治疗,在部分临床研究中,地诺单抗的使用时间可长达 10 年^[73-74],但地诺单抗停药后可能会出现撤药综合征,表现为骨转换增加并超过治疗前状态,快速骨丢失及椎体骨折等^[72]。在另一项研究中,绝经后妇女接受小剂量地诺单抗治疗,停药后骨转换标志物在两年内恢复到了治疗前水平^[40]。因此有研究建议在最后一次注射地诺单抗后,应在 6 个月内开始替代抗吸收治疗^[72]。此外在地诺单抗治疗之前给予唑来膦酸也可以减轻地诺单抗停药的反跳现象^[72]。相比于唑来膦酸,地诺单抗治疗轻度或中度慢性肾病病人的有效性和安全性没有差异,这表明地诺单抗的安全性和有效性与肾功能无关^[75]。而二者在严重感染、心血管疾病和骨质疏松骨折风险方面具有相似的安全性^[76]。总体来说,地诺单抗是一种安全有效的,可长期使用的药物。

六、结语

RANKL/RANK/OPG 信号通路是体内成骨、破骨平衡的关键通路,RANKL 与 RANK 结合激活破骨细胞并促进破骨;OPG 是 RANKL 的诱饵受体,抑制 RANKL/RANK 通路并促进成骨。OPG 与 RANKL 的比值决定体内或局部的净骨形成或净骨吸收。靶向 RANKL/RANK/OPG 信号通路的药物在骨科疾病中有巨大的应用潜力。地诺单抗是临床上已经广泛应用的抗 RANKL 抗体药物,已被批准用于治疗骨质疏松和肿瘤相关骨丢失。此外,临床数据显示地诺单抗在恶性肿瘤骨转移的治疗中也有巨大的应用价值,同时,地诺单抗在适应证外的应用也逐渐被报道。有许多新兴治疗方式的机制也涉

及到 RANKL/RANK/OPG 通路,例如脉冲电磁场促进成骨^[77],厄贝沙坦治疗糖尿病肾病^[78]等。但地诺单抗仍有一些不良反应,这些不良反应限制了地诺单抗的使用。探索地诺单抗的不良反应机制能为开发更具特异性和安全性的新 RANKL 抑制剂提供方向。目前关于 RANKL/RANK/OPG 通路药物的开发仍较为局限,未来还需开发更多的 RANKL/RANK/OPG 通路药物。

参 考 文 献

- [1] Zhang N, Zhang ZK, Yu Y, et al. Pros and cons of denosumab treatment for osteoporosis and implication for RANKL aptamer therapy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 325.
- [2] Ono T, Hayashi M, Sasaki F, et al. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond [J]. *Inflamm Regen*, 2020, 40: 2.
- [3] Sobacchi C, Menale C, Villa A. The RANKL-RANK axis: a bone to thymus round trip [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 629.
- [4] Martin T, Gooi JH, Sims NA. Molecular mechanisms in coupling of bone formation to resorption [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2009, 19(1): 73-88.
- [5] Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, et al. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(5): 401-419.
- [6] Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473(2): 139-146.
- [7] Nagy V, Penninger JM. The RANKL-RANK story [J]. *Gerontology*, 2015, 61(6): 534-542.
- [8] van Dam PA, Verhoeven Y, Trinh XB, et al. RANKL/RANK signaling inhibition may improve the effectiveness of checkpoint blockade in cancer treatment [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019, 133: 85-91.
- [9] Tomoyasu A, Goto M, Fujise N, et al. Characterization of monomeric and homodimeric forms of osteoclastogenesis inhibitory factor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245(2): 382-387.
- [10] Ko YJ, Sohn HM, Jang Y, et al. A novel modified RANKL variant can prevent osteoporosis by acting as a vaccine and an inhibitor [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(3): e368.
- [11] Luo J, Yang Z, Ma Y, et al. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption [J]. *Nat Med*, 2016, 22(5): 539-546.
- [12] Spohn G, Schwarz K, Maurer P, et al. Protection against osteoporosis by active immunization with TRANCE/RANKL displayed on virus-like particles [J]. *J Immunol*, 2005, 175(9): 6211-6218.
- [13] Yuan H, Qian H, Liu S, et al. Therapeutic role of a vaccine targeting RANKL and TNF- α on collagen-induced arthritis [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(32): 8177-8185.
- [14] Sims NA, Martin TJ. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit [J]. *Bonekey Rep*, 2014, 3: 481.
- [15] Bone HG, Wagman RB, Brandt ML, et al. 10 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the phase 3 randomised FREEDOM trial and open-label extension [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(7): 513-523.
- [16] Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(8): 756-765.

- [17] Saag KG, Pannacciulli N, Geusens P, et al. Denosumab versus risedronate in glucocorticoid-induced osteoporosis: final results of a twenty-four-month randomized, double-blind, double-dummy trial [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71(7): 1174-1184.
- [18] Voskaridou E, Ntanasis-Stathopoulos I, Papaefstathiou A, et al. Denosumab in transfusion-dependent thalassemia osteoporosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind phase 2b clinical trial [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(21): 2837-2847.
- [19] Tsai JN, Lee H, David NL, et al. Combination denosumab and high dose teriparatide for postmenopausal osteoporosis (DATA - HD): a randomised, controlled phase 4 trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(10): 767-775.
- [20] Miyaoka D, Inaba M, Imanishi Y, et al. Denosumab improves glomerular filtration rate in osteoporotic patients with normal kidney function by lowering serum phosphorus [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(11): 2028-2035.
- [21] Sisay M, Mengistu G, Edessa D. The RANK/RANKL/OPG system in tumorigenesis and metastasis of cancer stem cells: potential targets for anticancer therapy [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 3801-3810.
- [22] Wong SK, Mohamad NV, Giaze TR, et al. Prostate cancer and bone metastases: the underlying mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2587.
- [23] Infante M, Fabi A, Cognetti F, et al. RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: involvement in breast cancer and clinical perspectives [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 12.
- [24] Takayama K, Inoue T, Narita S, et al. Inhibition of the RANKL/RANK signaling with osteoprotegerin prevents castration-induced acceleration of bone metastasis in castration-insensitive prostate cancer [J]. *Cancer Lett*, 2017, 397: 103-110.
- [25] De Castro J, García R, Garrido P, et al. Therapeutic potential of denosumab in patients with lung cancer: beyond prevention of skeletal complications [J]. *Clin Lung Cancer*, 2015, 16(6): 431-446.
- [26] Fizazi K, Carducci M, Smith M, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study [J]. *Lancet*, 2011, 377(9768): 813-822.
- [27] Smith MR, Saad F, Coleman R, et al. Denosumab and bone-metastasis-free survival in men with castration-resistant prostate cancer: results of a phase 3, randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2012, 379(9810): 39-46.
- [28] Peters S, Danson S, Hasan B, et al. A randomized open-label phase III trial evaluating the addition of denosumab to standard first-line treatment in advanced NSCLC: The European thoracic oncology platform (ETOP) and European organisation for research and treatment of cancer (EORTC) splendour trial [J]. *J Thorac Oncol*, 2020, 15(10): 1647-1656.
- [29] Coleman R, Finkelstein DM, Barrios C, et al. Adjuvant denosumab in early breast cancer (D-CARE): an international, multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(1): 60-72.
- [30] Chen SC, Kuo PL. Bone metastasis from renal cell carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(6): 987.
- [31] Lipton A, Fizazi K, Stopeck AT, et al. Superiority of denosumab to zoledronic acid for prevention of skeletal-related events: a combined analysis of 3 pivotal, randomised, phase 3 trials [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(16): 3082-3092.
- [32] Menshaway A, Mattar O, Abdulkarim A, et al. Denosumab versus bisphosphonates in patients with advanced cancers-related bone metastasis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Support Care Cancer*, 2018, 26(4): 1029-1038.
- [33] Thosani S, Hu MI. Denosumab: a new agent in the management of hypercalcemia of malignancy [J]. *Future Oncol*, 2015, 11(21): 2865-2871.
- [34] Hu MI, Glezerman IG, Leboulleux S, et al. Denosumab for treatment of hypercalcemia of malignancy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(9): 3144-3152.
- [35] Terpos E, Christoulas D, Gavriatopoulou M. Biology and treatment of myeloma related bone disease [J]. *Metabolism*, 2018, 80: 80-90.
- [36] Raje N, Terpos E, Willenbacher W, et al. Denosumab versus zoledronic acid in bone disease treatment of newly diagnosed multiple myeloma: an international, double-blind, double-dummy, randomised, controlled, phase 3 study [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(3): 370-381.
- [37] Huang SY, Yoon SS, Shimizu K, et al. Denosumab versus zoledronic acid in bone disease treatment of newly diagnosed multiple myeloma: an international, double-blind, randomized controlled phase 3 study-asian subgroup analysis [J]. *Adv Ther*, 2020, 37(7): 3404-3416.
- [38] Anderson K, Ismaila N, Flynn PJ, et al. Role of bone-modifying agents in multiple myeloma: american society of clinical oncology clinical practice guideline update [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(8): 812-818.
- [39] Miki H, Nakamura S, Oura M, et al. Correlation between high serum alkaline phosphatase levels and denosumab-related hypocalcemia in patients with multiple myeloma [J]. *Br J Haematol*, 2019, 186(2): 355-358.
- [40] Pan KS, Boyce AM. Denosumab treatment for giant cell tumors, aneurysmal bone cysts, and fibrous dysplasia-risks and benefits [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2021, 19(2): 141-150.
- [41] Ueda T, Morioka H, Nishida Y, et al. Objective tumor response to denosumab in patients with giant cell tumor of bone: a multicenter phase II trial [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(10): 2149-2154.
- [42] Chawla S, Henshaw R, Seeger L, et al. Safety and efficacy of denosumab for adults and skeletally mature adolescents with giant cell tumour of bone: interim analysis of an open-label, parallel-group, phase 2 study [J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(9): 901-908.
- [43] Rutkowski P, Gaston L, Borkowska A, et al. Denosumab treatment of inoperable or locally advanced giant cell tumor of bone - Multicenter analysis outside clinical trial [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2018, 44(9): 1384-1390.
- [44] Traub F, Singh J, Dickson BC, et al. Efficacy of denosumab in joint preservation for patients with giant cell tumour of the bone [J]. *Eur J Cancer*, 2016, 59: 1-12.
- [45] Li H, Gao J, Gao Y, et al. Denosumab in giant cell tumor of bone: current status and pitfalls [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 580605.
- [46] Traub F, Singh J, Dickson BC, et al. Efficacy of denosumab in joint preservation for patients with giant cell tumour of the bone [J]. *Eur J Cancer*, 2016, 59: 1-12.
- [47] Rutkowski P, Ferrari S, Grimer RJ, et al. Surgical downstaging in an open-label phase II trial of denosumab in patients with giant cell tumor of bone [J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(9): 2860-2868.
- [48] Dehesi BM, Jaffer SN, Griffin AM, et al. Joint salvage for pathologic fracture of giant cell tumor of the lower extremity [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2007, 459: 96-104.
- [49] Errani C, Tsukamoto S, Leone G, et al. Denosumab may increase the risk of local recurrence in patients with giant-cell tumor of bone treated with curettage [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2018, 100

- (6): 496-504.
- [50] Agarwal MG, Gundavda MK, Gupta R, et al. Does denosumab change the giant cell tumor treatment strategy? Lessons learned from early experience [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2018, 476(9): 1773-1782.
- [51] Kurucu N, Akyuz C, Ergen FB, et al. Denosumab treatment in aneurysmal bone cyst: evaluation of nine cases [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2018, 65(4).
- [52] Skubitz KM, Peltola JC, Santos ER, et al. Response of aneurysmal bone cyst to denosumab [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2015, 40(22): E1201-E1204.
- [53] Majoor BCJ, Papapoulos SE, Dijkstra PDS, et al. Denosumab in patients with fibrous dysplasia previously treated with bisphosphonates [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(12): 6069-6078.
- [54] Whyte MP. Paget's disease of bone and genetic disorders of RANKL/OPG/RANK/NF- κ B signaling [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1068: 143-164.
- [55] Appelman-Dijkstra NM, Papapoulos SE. Paget's disease of bone [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2018, 32(5): 657-668.
- [56] Ralston SH, Langston AL, Reid IR. Pathogenesis and management of Paget's disease of bone [J]. *Lancet*, 2008, 372(9633): 155-163.
- [57] Reid IR, Sharma S, Kalluru R, et al. Treatment of Paget's disease of bone with denosumab: case report and literature review [J]. *Calcif Tissue Int*, 2016, 99(3): 322-325.
- [58] Polyzos SA, Singhellakis PN, Naot D, et al. Denosumab treatment for juvenile Paget's disease: results from two adult patients with osteoprotegerin deficiency ("Balkan" mutation in the TNFRSF11B gene) [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(3): 703-707.
- [59] Deodhar A, Dore RK, Mandel D, et al. Denosumab-mediated increase in hand bone mineral density associated with decreased progression of bone erosion in rheumatoid arthritis patients [J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2010, 62(4): 569-574.
- [60] Schett G, Gravalles E. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8(11): 656-664.
- [61] Fang Q, Zhou C, Nandakumar KS. Molecular and cellular pathways contributing to joint damage in rheumatoid arthritis [J]. *Mediators Inflamm*, 2020: 3830212.
- [62] Papadaki M, Rintotas V, Violitzi F, et al. New insights for RANKL as a proinflammatory modulator in modeled inflammatory arthritis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 97.
- [63] Takeuchi T, Tanaka Y, Ishiguro N, et al. Effect of denosumab on Japanese patients with rheumatoid arthritis: a dose-response study of AMG 162 (Denosumab) in patients with Rheumatoid arthritis on methotrexate to Validate inhibitory effect on bone Erosion (DRIVE)-a 12-month, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial [J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(6): 983-990.
- [64] Cohen SB, Dore RK, Lane NE, et al. Denosumab treatment effects on structural damage, bone mineral density, and bone turnover in rheumatoid arthritis: a twelve-month, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(5): 1299-1309.
- [65] Sharp JT, Tsuji W, Ory P, et al. Denosumab prevents metacarpal shaft cortical bone loss in patients with erosive rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2010, 62(4): 537-544.
- [66] Sun P, Wang M, Yin GY. Endogenous parathyroid hormone (PTH) signals through osteoblasts via RANKL during fracture healing to affect osteoclasts [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525(4): 850-856.
- [67] Leere JS, Karmisholt J, Robaczyk M, et al. Denosumab and cinacalcet for primary hyperparathyroidism (DENOCINA): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(5): 407-417.
- [68] Eller-Vainicher C, Rossi DS, Guglielmi G, et al. Chiodini Prompt clinical and biochemical response to denosumab in a young adult patient with craniofacial fibrous dysplasia [J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2016, 13(3): 253-256.
- [69] Polyzos SA, Makras P, Tournis S, et al. Off-label uses of denosumab in metabolic bone diseases [J]. *Bone*, 2019, 129: 115048.
- [70] Zhang H, Li C, Liu J, et al. Safety and pharmacokinetics of a biosimilar of denosumab (KN012): phase 1 and bioequivalence study in healthy Chinese subjects [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(2): 185-192.
- [71] Stopeck AT, Fizazi K, Body JJ, et al. Safety of long-term denosumab therapy: results from the open label extension phase of two phase 3 studies in patients with metastatic breast and prostate cancer [J]. *Support Care Cancer*, 2016, 24(1): 447-455.
- [72] Tsourdi E, Zillikens MC, Meier C, et al. Fracture risk and management of discontinuation of denosumab therapy: a systematic review and position statement by ECTS [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020: dgaa756.
- [73] Ferrari S, Libanati C, Lin CJF, et al. Relationship between bone mineral density t-score and nonvertebral fracture risk over 10 years of denosumab treatment [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(6): 1033-1040.
- [74] Dempster DW, Brown JP, Fahrleitner-Pammer A, et al. Effects of long-term denosumab on bone histomorphometry and mineralization in women with postmenopausal osteoporosis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(7): 2498-2509.
- [75] Broadwell A, Chines A, Ebeling PR, et al. Denosumab safety and efficacy among participants in the freedom extension study with mild to moderate chronic kidney disease [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(2): 397-409.
- [76] Choi NK, Solomon DH, Tsacogianis TN, et al. Comparative safety and effectiveness of denosumab versus zoledronic acid in patients with osteoporosis: a cohort study [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(3): 611-617.
- [77] Catalano A, Loddo S, Bellone F, et al. Pulsed electromagnetic fields modulate bone metabolism via RANKL/OPG and Wnt/ β -catenin pathways in women with postmenopausal osteoporosis: a pilot study [J]. *Bone*, 2018, 116: 42-46.
- [78] Chen XW, Du XY, Wang YX, et al. Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by suppressing the RANKL-RANK-NF- κ B pathway in type 2 diabetic db/db mice [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 1405924.

(收稿日期: 2021-06-09)

(本文编辑: 龚哲妮)

引用格式

陈天洪, 李景峰. RANKL/RANK 通路及其靶向药物地诺单抗在骨科疾病中的应用 [J]. *骨科*, 2022, 13(2): 181-187. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2022.02.0018.