

Η παθογένεια της απώλειας οστικής μάζας στις φλεγμονώδεις αρθροπάθειες

Ν.Γ. ΓΑΛΑΝΟΠΟΥΛΟΣ
Ι.Α. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ
Γ.Π. ΚΑΜΠΑΚΗΣ
Κ. ΜΠΛΑΜΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι φλεγμονώδεις αρθροπάθειες αποτελούν ρευματικά νοσήματα στα οποία η φλεγμονή συνοδεύεται από σκελετική παθολογία. Μελέτες σε ανθρώπους, αλλά και σε πειραματόζωα με προκληθείσα αρθρίτιδα, έχουν αναδείξει την οστεοκλάστη ως το κυρίαρχο κύτταρο που μεσολαβεί στην παρατηρούμενη στα νοσήματα αυτά απώλεια οστικής μάζας. Πολλές από τις κυτταροκίνες και τους αυξητικούς παράγοντες που εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις διεργασίες των ρευματικών νοσημάτων έχει διαπιστωθεί ότι επηρεάζουν επίσης τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοκλαστών, είτε άμεσα, δρώντας στα κύτταρα της οστεοκλαστικής σειράς, είτε έμμεσα, επιδρώντας σε άλλα κύτταρα και ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό την έκφραση του κύριου οστεοκλαστογενετικού παράγοντα RANKL (receptor activator of nuclear factor κB ligand) ή/και του αναστολέα του, της οστεοπροτεγερίνης (OPG). Περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών των υπεύθυνων για την προκαλούμενη μέσω φλεγμονής οστική απώλεια θα οδηγήσει πιθανόν στη δημιουργία νέων προληπτικών θεραπευτικών στρατηγικών στα νοσήματα αυτά. Στην παρούσα ανασκόπηση περιγράφουμε τα κύτταρα, τους μεσολαβητές της φλεγμονής και τους μηχανισμών που εμπλέκονται στην οστική απώλεια των φλεγμονωδών αρθροπαθειών.

Ελληνική Ρευματολογία 2007, 18(1):60-75

Όροι ευρετηρίου: φλεγμονώδεις αρθροπάθειες, οστική μάζα, οστεοκλάστη, οστεοβλάστης, Τ λεμφοκύτταρα, κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, RANK, RANKL, οστεοπροτεγερίνη, συν-διεγερτικές οδοί μεταβίβασης σήματος, αντιρρευματικά φάρμακα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε σημαντικό αριθμό μελετών έχει φανεί ότι ασθενείς με φλεγμονώδεις αρθροπάθειες (ΦΑ), κυρίως με ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ) και οροαρνητικές σπονδυλαρθροπάθειες (αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα - ΑΣ, ψωριασική αρθρίτιδα - ΨΑ), εμφανίζουν οστική απώλεια με τη μορφή των παραρθρικών οστικών διαβρώσεων (ΟΔ) καθώς και της περιαρθρικής ή και της γενικευμένης μείωσης της οστικής μάζας (ΟΜ). Η γνώση των παθογενετικών μηχανισμών της οστικής απώλειας στις ΦΑ είναι αναγκαία για την κλινική διερεύνηση, αλλά και την αντιμετώπιση των συνεπειών αυτής της διεργασίας. Το ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών θα επικεντρωθεί στα παρακάτω:

- Στο ρόλο των οστεοκλαστών (Ocs) ως κεντρικών κυττάρων στη διεργασία της οστικής απώλειας και στη διαδικασία δημιουργίας τους από προγονικά κύτταρα (προ-Ocs), γνωστή με τον όρο οστεοκλαστογένεση (Oc-γένεση),
- Στις συν-διεγερτικές οδούς διαβίβασης σημάτων, οι οποίες είναι καθοριστικές στην ολοκλήρωση της Oc-γένεσης, μετά από τον ερεθισμό των προ-Ocs από ποικίλους παράγοντες,
- Στο ρόλο των συμμετεχόντων στην αρθρική φλεγμονή κυττάρων, όπως των T-λεμφοκυττάρων (Tc), των B-λεμφοκυττάρων (Bc), των μονοκυττάρων/μακροφάγων (Mo/Mφ), των δενδριτικών κυττάρων (Δκ) και των ινοβλαστοειδών κυττάρων του αρθρικού υμένα (IkAY), καθώς και στην έκκριση από αυτά κυτταροκινών και άλλων αυξητικών παραγόντων με σημαντικό ρόλο στην Oc-γένεση,
- Στο ρόλο των παθογενετικών μηχανισμών των ΡΑ, ΑΣ και ΨΑ, καθώς και της χορηγούμενης αντιρρευματικής θεραπείας στην απώλεια οστού,
- Στις πιθανές, με βάση τη γνώση των μηχανισμών αυτών, μελλοντικές θεραπευτικές παρεμβάσεις για την αποτελεσματική και ορθολογικά κατευθυνόμενη πρόληψη της απώλειας οστού.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΙΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΑΡΘΡΟΠΑΘΕΙΕΣ

Έχει διαπιστωθεί η παρουσία κυττάρων τύπου

Oc στο όριο οστού-ranpus, καθώς και στο υποχόνδριο οστό ασθενών με ΡΑ ή ΨΑ¹⁻⁵. Σε πειραματόζωα με προκληθείσα αρθρική φλεγμονή, τέτοια κύτταρα βρέθηκαν σε θέσεις οστικών διαβρώσεων (ΟΔ)^{6,7}. Φαίνεται ότι η παρουσία τους είναι σημαντική από τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης των ΟΔ^{8,9}. Σε καλλιέργειες αρθρικού υμένα ασθενών με ΡΑ αναφέρθηκε η παρουσία πολυπύρηνων κυττάρων της σειράς των Ocs¹⁰⁻¹³. Σε πειραματόζωα που στερούνται τους αναγκαίους για την έναρξη και ολοκλήρωση της Oc-γένεσης μηχανισμούς, η ανάπτυξη αρθρίτιδας δεν οδήγησε στην εμφάνιση ΟΔ^{14,15}, ενώ σε ασθενείς με ΦΑ έχει αναφερθεί αυξημένος αριθμός Ocs στην κυκλοφορία, που σχετίζεται με την ανάπτυξη ΟΔ¹⁶. Για τη διαρκή όμως ανάπτυξη ΟΔ και την παρατηρηθείσα σε ασθενείς και σε πειραματόζωα γενικευμένη απώλεια ΟΜ υπάρχει η ανάγκη διαρκούς προσφοράς Ocs από την αποθήκη των προγονικών μορφών (προ-Ocs). Για την ωρίμανση και τη λειτουργία τους, σημαντικοί είναι μια σειρά από παράγοντες, όπως ο RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor κB) και ο συνδέτης του RANKL (RANK Ligand), ο M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor), αυξητικοί παράγοντες, όπως ο TGF-β (Transforming Growth Factor β), ο GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor), καθώς και κυτταροκίνες, όπως οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-15, IL-17, IL-18, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων TNF-α, οι ιντερφερόνες IFN-β, IFN-γ, κ.ά. Καθοριστικός είναι, επίσης, ο ρόλος της οστεοπροτεγερίνης (OPG), ενός παραπλανητικού υποδοχέα του RANKL, που αποτρέπει τη σύνδεσή του με τον RANK και την πυροδότηση της Oc-γένεσης (πίνακας 1). Σπουδαίο ρόλο έχουν επίσης κάποιες συν-διεγερτικές οδοί μεταβίβασης σήματος, αναγκαίες στη διαδικασία της Oc-γένεσης.

Συνοπτικά θα αναφερθούμε στη διαδικασία της Oc-γένεσης, βήμα αναγκαίο για να κατανοήσουμε τους παθογενετικούς μηχανισμούς απώλειας οστού στις ΦΑ. Οι Ocs προέρχονται από προγονικά κύτταρα (προ-Ocs) της αιμοποιητικής σειράς του

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΑΡΘΡΟΠΑΘΕΙΕΣ: ΔΡΑΣΗ ΟΣΤΕΟΤΡΟΠΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ
IFN-γ	Μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα	Αναστολή
IFN-α/β	Πρόδρομοι οστεοκλάστες	Αναστολή
IL-1	Μακροφάγα	Προαγωγή
IL-6	Μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα, οστεοβλάστες	Προαγωγή
IL-7	Μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα	Προαγωγή
IL-11	Οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα	Προαγωγή
IL-15	Μακροφάγα αρθρικού υμένα, ενδοθηλιακά	Προαγωγή
IL-17	Τc, οστεοβλάστες, μονοκύτταρα	Προαγωγή
IL-18	Μακροφάγα, οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα	Αναστολή
M-CSF	Οστεοβλάστες, μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα	Προαγωγή
OPG	Ενδοθηλιακά, υμενικά κύτταρα, οστεοβλάστες	Αναστολή
PGE2	Οστεοβλάστες, μακροφάγα, χονδροκύτταρα	Προαγωγή
PTHrP	Οστεοκλάστες, οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα	Προαγωγή
RANKL	Οστεοβλάστες, Τ λεμφοκύτταρα	Προαγωγή
TNF-α	Ενεργοποιημένα μακροφάγα αρθρικού υμένα	Προαγωγή

μυελού των οστών, μέσω της επίδρασης σειράς παραγόντων με καθοριστική σημασία, όπως είναι ο RANK, ο RANKL, ο M-CSF και η OPG. Στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, η επίδραση των RANKL και M-CSF, που παράγονται από κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς, οδηγεί σε ενεργοποίηση του RANK και c-fos αντίστοιχα στην επιφάνεια των προ-Ocs και την έναρξη της Ocs-γένεσης. Η σύνδεση της OPG με το RANKL αποτρέπει τη σύνδεσή του με το RANK, ρυθμίζοντας έτσι τη διαδικασία αυτή. Η ισορροπία μεταξύ RANKL και OPG έχει καθοριστική σημασία στη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής (bone turnover) που σκοπό έχει τη διαρκή ανανέωση της οστικής μάζας, αποκαθιστώντας φθορές του

οστού και καθιστώντας το ικανό να αντέξει σε ποικίλες δυνάμεις που ασκούνται καθημερινά επάνω του (εικόνα 1). Αξίζει να αναφερθεί ότι το 2% περίπου των μονοκύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος, αν ερεθιστούν κατάλληλα, μπορούν να διαφοροποιηθούν σε Ocs. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν στην επιφάνειά τους CD11b, CD14, CD51/CD61 και RANKL, δείκτες της σειράς των Ocs. Επίσης, τα CD14+Mo, μετά από έκθεσή τους σε RANKL και M-CSF, μπορούν να διαφοροποιηθούν σε Ocs¹⁷⁻²².

Σε ΦΑ όπως στη ΨΑ έχει αναφερθεί υψηλός αριθμός Ocs στην κυκλοφορία, που σχετίζεται με την ανάπτυξη ΟΔ¹⁶. Η ελάττωση του αριθμού τους συνοδεύτηκε από ελάττωση των ΟΔ, ακόμη και

χωρίς την υποχώρηση της αρθρικής φλεγμονής, όχι όμως και από ελάττωση της βλάβης του αρθρικού χόνδρου, καθότι φαίνεται να είναι διαφορετικοί οι μηχανισμοί ανάπτυξης ΟΔ από εκείνους της προσβολής του χόνδρου^{23,24}.

Μια σειρά παραγόντων (αυξητικοί παράγοντες, κυτταροκίνες) ασκούν δράση στα οστά μέσω του συστήματος RANK/RANKL/OPG (πίνακας 2). Κάποιοι όμως, όπως ο TNF-α και η IL-1, ασκούν και άμεση δράση στους προ-Ocs, ανεξάρτητα του συστήματος RANK/RANKL/OPG. Παράγοντες, επίσης, όπως ο RANKL, η OPG, ο TNF-α, η IL-1, κ.ά., επιδρούν στη λειτουργία των ώριμων Ocs και καθορίζουν το χρόνο ζωής τους, επεμβαίνοντας στη διαδικασία απόπτωσής τους. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι ορισμένοι παράγοντες παρεμβαίνουν στους οστεοβλάστες (Obs), ερεθίζοντάς τους για παραγωγή παραγόντων αναγκαίων για την Oc-γένεση, αλλά και ευοδώνοντας την απόπτωσή τους, περιορίζοντας με τον τρόπο αυτό το χρόνο ζωής τους. Το ερώτημα, λοιπόν, που εύλογα προκύπτει είναι αν όλοι αυτοί οι παράγοντες έχουν εντοπιστεί στην κυκλοφορία, στους αρθρικούς ή και περιαρθρικούς ιστούς ή στις ΟΔ των ασθενών με ΦΑ:

1. Έχει διαπιστωθεί, πράγματι, η παρουσία του RANKL στα ινοβλαστοειδή κύτταρα του αρθρικού υμένα και στα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα²⁵⁻²⁷, καθώς και στις περιοχές των ΟΔ, σε ασθενείς με ΦΑ και σε πειραματόζωα με προκληθείσα αρθρίτιδα^{1,8,28-31}. Επιπρόσθετα, η χορήγηση OPG, του παραπλανητικού υποδοχέα του RANKL, συνοδεύτηκε από πρόληψη της ανάπτυξης ΟΔ σε πειραματικά μοντέλα αρθρίτιδας^{32,33}.

2. Στον αρθρικό υμένα ασθενών με ΦΑ έχει διαπιστωθεί η παραγωγή μιας σειράς παραγόντων όπως M-CSF, TNF-α, IL-1, IL-6, IL-7, IL-15, IL-17, IL-18, IFN-γ, καθώς και οστεοποντίνης, μιας πρωτεΐνης της θεμελίου ουσίας των οστών αναγκαίας για τη δράση των Ocs στα οστά και της PGE2 από τα Mφ, τα ενεργοποιημένα Tcs και τα IκAY^{1,8,10,28,34,35}. Αυξημένη παρουσία τέτοιων παραγόντων έχει αναφερθεί και στην κυκλοφορία, αλλά και στο αρθρικό υγρό αυτών των ασθενών^{8,28,34}.

3. Σημαντικός είναι και ο ρόλος, όπως έχει δια-

πιστωθεί, των ενεργοποιημένων Tcs που εκκρίνουν ή επηρεάζουν την έκκριση σημαντικών ποσοτήτων RANKL, TNF-α, IL-1, IL-6, IL-7 κ.ά.^{8,25-28,36-38}. Σημαντική είναι η έκκριση TNF-α, IL-1, IL-6 και IFN-γ από CD3+/CD56+ και CD8+/CD56+ Tcs, ο αριθμός των οποίων συσχετίστηκε ισχυρά με χαμηλή οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ^{39,40}. Σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα διαπιστώθηκε αυξημένο πηλίκιο CD4+/CD8+ Tcs, συγκριτικά με την ομάδα των μαρτύρων^{41,42}. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αναφέρθηκε, επίσης, υψηλότερο πηλίκιο CD4+/CD8+ Tcs, γεγονός που δείχνει να συσχετίζεται με τη χαμηλή οστική πυκνότητα που παρατηρείται σε αυτές⁴³. Ο TGF-β παράγοντας δρα κατασταλτικά στη δράση των Tcs⁴⁴. Βαρύνοντα ρόλο στη διαδικασία της Oc-γένεσης έχουν, επίσης, οι οστεοβλάστες, εκκρίνοντας σημαντικές ποσότητες RANKL και M-CSF -και η έκκριση αυτή ενισχύεται από την επίδραση της IL-7⁴¹. Στην επιφάνεια των δενδριτικών κυττάρων, μετά από την επίδραση παραγόντων όπως TNF-α, GM-CSF, IL-4 και IL-3, από τα ενεργοποιημένα Tcs, εκφράζονται υποδοχείς για το RANKL⁴¹. Η σύνδεσή τους οδηγεί στην επαγωγή της έκκρισης από τα ΔΚ προφλεγμονωδών και αυξητικών των Tcs παραγόντων, όπως IL-1, IL-6, IL-12 και IL-15^{45,46}. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι ο RANKL έχει επίδραση όχι μόνο στην οστική ανακατασκευή, αλλά και στην ανοσιακή απόκριση, μέσα από την επίδραση που ασκεί στα ΔΚ και μέσω αυτών στα Tcs.

Συνοπτικά η δράση των προαναφερθέντων παραγόντων που συμμετέχουν στην Oc-γένεση αναφέρεται παρακάτω:

1. Ο TNF-α επιδρά σημαντικά στην παραγωγή RANKL και M-CSF από τα κύτταρα του στρώματος του μυελού των οστών και της Ob σειράς. Σε επιτρεπτά επίπεδα RANKL, ο TNF-α ευοδώνει τη διαφοροποίηση των Mo/Mφ σε κύτταρα της Oc σειράς και κινητοποιεί τα πρώιμα στάδια των προ-Ocs (CD11b+hi) προς κύτταρα που, κάτω από την επίδραση του συστήματος RANKL/RANK, διαφοροποιούνται σε ώριμες Ocs. Δρα επίσης ευοδωτικά, ανεξάρτητα της παρουσίας του RANKL, αλλά παρουσία του M-CSF, στην Oc-γένεση^{1,8,23,47-}

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΔΡΑΣΗ ΟΣΤΕΟΤΡΟΠΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ RANKL/RANK/OPG

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	RANKL	OPG
Οιστραδιόλη	Αμετάβλητη	Αύξηση
Κορτικοστεροειδή	Αύξηση	Μείωση
Προσταγλανδίνη E2	Αύξηση	Μείωση
1,25(OH)₃ Vitamin D3	Αύξηση	Αύξηση
PTH	Αύξηση	Μείωση
PTHrP	Αύξηση	Μείωση
IGF-1	Αύξηση	Μείωση
IL-1	Αύξηση	Αύξηση
IL-6	Αύξηση	Αμετάβλητη
IL-11	Αύξηση	Αμετάβλητη
IL-17	Αύξηση	Μείωση
INF-γ	Αύξηση	Αύξηση
TNF-α	Αύξηση	Αύξηση
TGF-β	Μείωση	Αύξηση
CD-40L	Αύξηση	Άγνωστο
BMP-2	Άγνωστο	Αύξηση

⁵¹. Ο TNF-α σε πειραματόζωα σχετίζεται με την εμφάνιση οστικών διαβρώσεων και γενικευμένης απώλειας οστικής μάζας^{1,52-54}, ενώ η χορήγηση αντι-TNF-α μονοκλωνικών αντισωμάτων (infliximab, etanercept, adalimumab) συνοδεύεται από σημαντική υποχώρηση της αρθρικής φλεγμονής, των ΟΔ και της γενικευμένης απώλειας ΟΜ^{1,55-63}. Παρά το ότι ήταν θεωρητικά αναμενόμενο, η συχορήγηση αντι-TNF-α μονοκλωνικών αντισωμάτων και OPG (αναστολέας του RANKL) δεν οδήγησε σε αθροιστική δράση για τη συγκράτηση της απώλειας οστού⁶⁴. Ο TNF-α δρα, επίσης, ευοδωτικά στη δραστηριότητα των Ocs και αναστέλλει την απόπτωσή τους, παρατείνοντας τον χρόνο ζωής τους. Από την άλλη, ευοδώνει την απόπτωση των Obs ελαττώνοντας τον χρόνο ζωής τους, δηλαδή επιταχύνει σημαντικά την απώλεια οστού. Τέλος, δρώντας συνεργικά με την IL-1, έχει ακόμη μεγαλύτερη επίδραση στην ενεργοποίηση και την παράταση ζωής των Ocs και στην απόπτωση και τη μείωση της ζωής των Obs^{28,65-67}. Συνεργική δρά-

ση στην Οc-γένεση, μέσα από την επίδραση του συστήματος RANK/RANKL, φαίνεται να υπάρχει και μεταξύ TNF-α, IL-1, IL-6 και IL-17⁸.

2. Η IL-1, όπως προαναφέρθηκε, παράγεται από το φλεγμαινόντα αρθρικό υμένα (από ενεργοποιημένα Tcs, Mφ και ΙκΑΥ)^{1,68,69}. Η δράση της διαμεσολαβείται από τη σύνδεσή της στον υποδοχέα της (IL-R1a), δράση που μπορεί να ανασταλεί από τον ανταγωνιστή του υποδοχέα (αποτελεσματική καταστολή, απαιτείται δέσμευση >95% του αριθμού των IL-1R1a)⁷⁰. Υπερέκκριση IL-1 ή ανεπάρκεια του IL-1Ra μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη πολυαρθρίτιδας με παρουσία ΟΔ⁶⁹⁻⁷². Με την παρουσία του M-CSF δρα άμεσα στην ευόδωση της σύντηξης προ-Ocs σε Ocs, στην αναστολή της απόπτωσης των Ocs, στην παράταση της ζωής τους και στην ενίσχυση της λειτουργίας τους^{8,73,74}. Στους Obs, η IL-1, προκαλεί υπερέκφραση του RANKL⁷⁵, ενώ η επίδρασή της, όπως αναφέρεται, ενισχύεται από τη συνεργική δράση του TNF-α^{64,67}.

3. Η IFN- γ παράγεται από τα ενεργοποιημένα Tcs του φλεγμαίνοντος αρθρικού υμένα και εμφανίζει διφασική επίδραση στην Oc-γένεση. Σε υψηλές συγκεντρώσεις την αναστέλλει, ενώ σε χαμηλές την ευοδώνει, χωρίς αυτό να επηρεάζεται άμεσα από την παρουσία Ocs⁷⁶. Σε καλλιέργειες Obs, η IFN- γ ενισχύει την προκαλούμενη από την επίδραση της IL-1 και του TNF- α παραγωγή υπεροξειδίου του αζώτου (NO), κάτι που φαίνεται να ερμηνεύει την ανασταλτική δράση της στην Oc-γένεση σε υψηλές συγκεντρώσεις⁷⁷. Προάγει επίσης την παραγωγή NO από τις Ocs, καθώς και τη δημιουργία Ocs^{78,79}. Αναστέλλει την Oc-γένεση παρεμβαίνοντας ανασταλτικά σε συν-διεγερτικές οδούς διαβίβασης σήματος σε προ-Ocs που πυροδοτούνται από το RANKL⁸⁰. Παρεμβαίνει επίσης ανασταλτικά στη δράση του TRAF6 παράγοντα, που έχει επίσης ρόλο σημαντικό στην Oc-γένεση και στη λειτουργία των Ocs⁸⁰. Σε ποντικούς με ανεπάρκεια του υποδοχέα της IFN- γ , η πρόκληση αρθρίτιδας οδηγεί σε σημαντικότερη απώλεια οστικής μάζας από αυτή ποντικών χωρίς ανεπάρκεια^{81,8}. Στον φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα παράγεται επίσης IFN- β , η οποία, παρεμβαίνοντας σε οδούς διάδοσης σήματος από τη δράση RANKL (αναστολή έκφρασης c-fos), επεμβαίνει ανασταλτικά στην Oc-γένεση^{28,83}.

4. Η IL-4, επιδρώντας αρνητικά στην έκφραση του RANKL, επηρεάζει ανασταλτικά την Oc-γένεση. Αναφέρθηκε, όμως, ότι σε καλλιέργειες Μο περιφερικού αίματος την ευοδώνει, καθώς και ότι την καταστέλλει, αν στις καλλιέργειες αυτές απουσιάζουν τα Tcs^{84,85}. Εμφανίζει, δηλαδή, διττή επίδραση.

5. Η IL-7 παράγεται από τα ΙκΑΥ, μετά από τη δράση των TNF- α και IL-1, και ερεθίζει με τη σειρά της την παραγωγή TNF- α από τα Tcs και τα Μο του αρθρικού υμένα^{86,87}. Ερεθίζει, επίσης, την έκφραση του RANKL στους Obs⁴¹.

6. Η IL-15 εκκρίνεται από τα ΙκΑΥ και τα Μφ του αρθρικού υμένα και, δρώντας άμεσα (ανεξάρτητα από την παρουσία του TNF- α), αυξάνει τον αριθμό των Ocs, ερεθίζοντας επίσης την έκκριση του TNF- α από τα CD4+ Tcs^{86,88,89}.

7. Η IL-17 εκκρίνεται από τα Tcs μνήμης (CD4+/CD45Ro+) και βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στο

αρθρικό υγρό ασθενών με ΡΑ. Για την έκκρισή της απαιτείται η προηγούμενη δράση της IL-15. Η ευοδωτική της επίδραση στην Oc-γένεση απαιτεί την παρουσία RANK, ενώ η ίδια ευοδώνει την έκφραση της IL-1, της IL-6 και του TNF- α ^{90,94}.

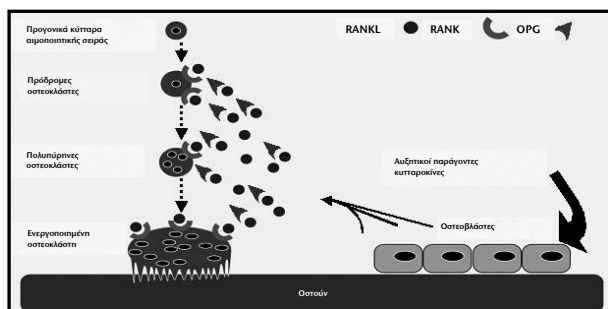
8. Η IL-18 βρέθηκε σε αυξημένα επίπεδα στο αρθρικό υγρό ασθενών με ΡΑ (ιδιαίτερα σε περιόδους ενεργότητάς της)⁹⁵. Έχει διαπιστωθεί έκφρασή της στους Obs, όπου επάγει την έκφραση του GM-CSF, παράγοντα που αναστέλλει την Oc-γένεση^{95,97}.

9. Στα ΙκΑΥ ασθενών με ΡΑ διαπιστώθηκε, επίσης, έκφραση οστεοποντίνης (OPN), πρωτεΐνης της θημελίου οστικής ουσίας που παίζει ρόλο στην πρόσδεση των Ocs στις προς λύση οστικές επιφάνειες και στην εξάπλωσή τους σε αυτές^{34,98}. Σε ποντίκια με ανεπάρκεια OPN, η πειραματικά προκληθείσα αρθρίτιδα συνοδεύτηκε από λιγότερο έντονη ανάπτυξη οστικών διαβρώσεων, συγκριτικά με τα πειραματόζωα χωρίς αυτή την ανεπάρκεια⁹⁹.

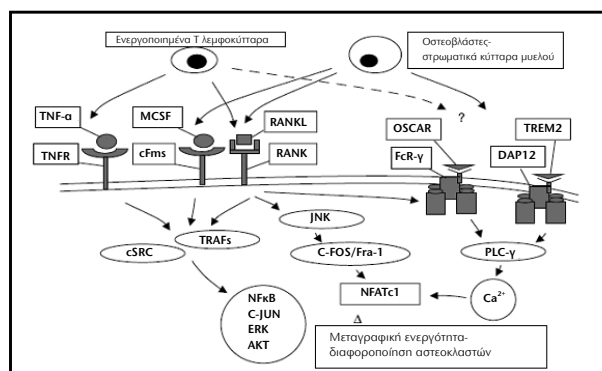
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝ-ΔΙΕΓΕΡΤΙΚΩΝ ΟΔΩΝ ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΩΝ

Μετά από τη σύνδεση του RANK με τον συνδέτη του, RANKL, πυροδοτείται μια σειρά συν-διεγερτικών οδών μεταβίβασης σήματος στο εσωτερικό των προ-Ocs, με σκοπό την έναρξη και την ολοκλήρωση της διαδικασίας ωρίμανσής τους σε Ocs. Ο αριθμός των μεταγραφικών μορίων που εκφράζεται στις προ-Ocs και Ocs είναι ιδιαίτερα μεγάλο^{28,100-102}. Εκτός των οδών αυτών, αναγκαία είναι και η παρουσία και λειτουργία μίας σειράς υποδοχέων και προσαρμοστών (adapters), πρωτεϊνών στη μεμβράνη των παραπάνω κυττάρων^{28,41,101,103}. Οι σημαντικότερες από αυτές τις οδούς και τους υποδοχείς με σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της Oc-γένεσης αναφέρονται συνοπτικά στην εικόνα 2:

1. Οι ITAM (immunotyrosine-based activating motif) υποδοχείς είναι συμμετοχοί στον ερεθισμό των RANKL και c-fms υποδοχέων των RANKL και M-CSF, αντίστοιχα¹⁰³. Έχουν ρόλο στη διαφοροποίηση των προγονικών Ocs του μυελού των οστών και συμμετέχουν στην έκφραση άλλων, σημαντικών στη διαδικασία της Oc-γένεσης, μο-



Εικόνα 1. Θεμελιώδης ρόλος του συστήματος RANKL/RANK/OPG στην οστεοκλαστογένεση.



Εικόνα 2. Συν-διεγερτικές οδοί μεταβίβασης σήματος στην οστεοκλαστογένεση.

ρίων, όπως των DAP12 και FcRγ^{101,104,105}. Ο DAP12 και FcRγ αποτελούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που συνδέονται με μια σειρά από διαμεμβρανικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των προ-Ocs και των ώριμων Ocs όπως: α) τους Ig-domain τύπου 1 διαμεμβρανικούς υποδοχείς TREMsC (triggering receptors on myeloid cells), β) τους υποδοχείς SIRP-6 (signal regulatory protein-6) με 3 Ig-domain εξωκυττάριο τμήμα, και γ) τους MDL-1 (myeloid DAP12 associated lectin) και NKG2B, τύπου II μεμβρανικές πρωτεΐνες με εξωκυττάρια τμήματα στις επιφάνειες των προ-Ocs.

Επίμυες ανεπαρκείς σε DAP-12/FcRγ εμφανίζουν σοβαρή δυσλειτουργία στη διαδικασία της Oc-γένεσης, με ανάπτυξη οστεοπέτρωσης^{101,104}. Άνθρωποι με ανεπάρκεια DAP-12 αναπτύσσουν πολλαπλές οστικές κύστες και απομετάλλωση του φλοιώδους οστού, με ανάπτυξη πρώιμης σοβαρής οστεοπόρωσης¹⁰⁶. Οι ITAM υποδοχείς συμμετέχουν επίσης στην επαγωγή του σημαντι-

κού στην Oc-γένεση παράγοντα NFATc1 (nuclear factor of activated Tc1). Χρησιμοποιούνται, επίσης, από υποδοχείς των Tcs και Bcs και συμμετέχουν στην ενεργοποίηση επαγωγικών λειτουργιών τους (έκφραση παραγόντων αναγκαίων στην Oc-γένεση), διαμεσολαβώντας σε ενδοκυττάρια σήματα μέσω των τυροσινικών κινάσων της οικογένειας SYK, μετά από παρέμβαση των κινάσων της οικογένειας SRC^{28,101,107}.

2. Σημαντικό ρόλο παίζει ο μεταφραστικός παράγοντας NF-κB (nuclear factor κB), ο οποίος σε μη διεγερθέντα κύτταρα εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των προ-Ocs, συνδεδεμένος με IκB πρωτεΐνες (IκBα, IκBβ, IκBγ) που εμποδίζουν τη δράση του. Η επίδραση παραγόντων, όπως TNF-α και IL-1β, οδηγεί στη φωσφοριλίωση των IκBs και στην απελευθέρωση του NF-κB που, μεταφερόμενος στον πυρήνα, ασκεί τη δράση του επεμβαίνοντας στη λειτουργία γονιδίων υπεύθυνων για την παραγωγή IL-1, IL-6, IL-8, MIP-1α (macrophage inflammatory protein-1α) και TNF-α. Η παραγωγή TNF-α και IL-1β, με τη σειρά της, ενεργοποιεί τη δράση του NF-κB, δημιουργώντας έτσι μια αγκύλη δι-αντίδρασης NF-κB, TNF-α και IL-1β¹⁰⁸. Σημαντικό διαβιβαστή εναλλακτικής οδού του NF-κB αποτελεί η κινάση NIK (NF-κB inducine kinase). Σε ποντίκια με ή χωρίς τη παρουσία γονιδίων υπεύθυνων για τη σύνθεση NIK (NIK^{-/-} και NIK^{+/+}), η πρόκληση αρθρίτιδας οδήγησε σε μικρότερο βαθμό ανάπτυξης οστικών διαβρώσεων σε αυτά χωρίς NIK (NIK^{-/-})¹⁰⁹.

3. Οι συν-διεγερτικές οδοί που ενεργοποιούνται από τους υποδοχείς OSCAR (Oc-associated receptors) ή TREMS (triggering receptors of myeloid cells 1, 2, 3) ασκούν τη δράση τους μέσω του DAP12 και σημάτων που έχουν να κάνουν με το ενδοκυττάριο ασβέστιο. Ευοδώνουν την Oc-γένεση σε συνεργασία με τον RANKL¹¹⁰.

4. Μετά από την επίδραση του RANKL στα Mφ που εξαρτώνται από την επίδραση του M-CSF, ενεργοποιείται μια σειρά οδών, όπως των JNK (c-Jun terminus kinase), MAPK-38 (p38 mitogen-activated protein tyrosine kinase), ErK (extracellular regulated kinase) και NF-κB, οι οποίες είναι οδοί αναγκαίες στην ολοκλήρωση της Oc-γένεσης.

5. Οι παράγοντες TRAFs (TNF receptor-associated factors 2, 3, 5, 6), για τους οποίους υπάρχουν ειδικές θέσεις σύνδεσης στο ενδοκυττάριο τμήμα του RANK, έχουν σημαντικό ρόλο στην Οc-γένεση, καθώς και στη λειτουργία των ωρίμων Οcs, και είναι απαραίτητοι για την ενεργοποίηση του NF-κB^{108,111-115}. Ασκούν τη δράση τους μέσω της δι-αντίδρασής τους με το RANK. Ιδιαίτερη σημασία έχει ο TRAF6 και λιγότερο οι υπόλοιποι¹⁰⁸.

6. Οι μεταγραφικός παράγοντας NFATc1 συμμετέχει στην παραγωγή μιας σειράς παραγόντων αναγκαίων στην Οc-γένεση, μεταξύ των οποίων και του υποδοχέα της βιτρονεκτίνης (ιντεγκρίνη ανβ3) που συμμετέχει στην πρόσδεση των Οcs στις πρόσδεση οστικές επιφάνειες¹¹⁶. Επίμυες στους οποίους επαλείφθηκαν τα γονίδια σύνθεσης του υποδοχέα αυτού ανέπτυξαν οστεοπέτρωση¹¹⁶.

Η ΑΠΩΛΕΙΑ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΤΙΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΑΡΘΡΟΠΑΘΕΙΕΣ

Όπως αναφέρθηκε, στις ΦΑ διαπιστώθηκε έντονη Οc-γένεση, παρουσία RANKL και M-CSF, στις θέσεις των οστικών διαβρώσεων, στο υποχόνδριο οστό και στην περιοχή οστού-ραμπνυς, καθώς και έκφραση μιας σειράς προφλεγμονωδών ουσιών στον φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα που συμμετέχουν στην απώλεια οστού^{8,17,28}. Στην περιοχή οστού-ραμπνυς διαπιστώθηκε η παρουσία Μο/Μφ που, υπό την επίδραση των εκφραζόμενων στη περιοχή αυτή RANKL/M-CSF, μπορούν να μετατραπούν σε Οcs¹¹⁷⁻¹²¹. Αναφέρθηκε, επίσης, η έκφραση NF-ATc1, αναγκαίου στην Οc-γένεση και στην ανάπτυξη οστικών διαβρώσεων¹²². Στον φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα ασθενών με ΡΑ έχει διαπιστωθεί η παραγωγή καθεψίνης από τα ΙκΑΥ και τα Μφ, ενός ενζύμου που συμμετέχει στην πρόκληση οστικών διαβρώσεων^{123,124}. Όπως αναφέρθηκε, σε καλλιέργειες κυττάρων αρθρικού υμένα ασθενών με ΡΑ, διαπιστώθηκε η παρουσία πολυπύρηνων κυττάρων φαινοτυπικά παρόμοιων των κυττάρων της Οcs σειράς¹¹⁻¹³. Έντονη είναι, επίσης, η έκφραση TNF-α, IL-1, IL-6, IL-17, IL-18, κ.ά., στον φλεγμαίνοντα υμένα των ασθενών με ΡΑ^{1,8,10,28,35}. Οι Gradaigh και συν.¹²⁵, σε ασθενείς με ΡΑ, διαπί-

στωσαν ότι ο TNF-α, παρουσία RANKL, προάγει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Οcs, αλλά και, απουσία RANKL, μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση Οcs κατά τρόπο εξαρτώμενο από τη συνεργική του δράση με την IL-1.

Σε παιδιά με νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα RANKL^{126,127}, ωστόσο αυτό δεν αναφέρεται από όλους τους ερευνητές. Οι Masi και συν.¹²⁸ διαπίστωσαν ελαττωμένα επίπεδα RANKL και αυξημένο πηλίκο ΟΡG/RANKL, όπως επίσης και συσχέτιση ΤΤ πολυμορφισμού στο γονίδιο της ΟΡG με χαμηλότερη οστική πυκνότητα στην ομάδα παιδιών που μελέτησαν.

Σε ασθενείς με ΨΑ, και ιδιαίτερα σε αυτούς με ακτινογραφικά διαπιστούμενες οστικές διαβρώσεις, παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα TNF-α στο αρθρικό υγρό και έντονη έκφρασή του στον αρθρικό υμένα¹²⁹⁻¹³¹. Σε παρόμοιους ασθενείς διαπιστώθηκε, επίσης, η παρουσία αυξημένου αριθμού προ-Οcs και Οcs στο περιφερικό αίμα που σχετίζονταν με την παρουσία των οστικών διαβρώσεων¹⁷. Σε καλλιέργειες Μο περιφερικού αίματος χωρίς εξωγενή προσθήκη RANKL/M-CSF αναφέρθηκε η παραγωγή Οcs που την ανέστειλε η προσθήκη ΟΡG ή αντι-TNF-α μονοκλωνικών αντισωμάτων, ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε και αυξημένη έκκριση TNF-α από τα Μο¹⁷. Ιστοχημικά παρατηρήθηκε έκφραση RANKL στα Μο περιαγγειακά στον αρθρικό υμένα/υποχόνδριο οστό, έκφραση RANK ιδιαίτερα στο καλυπτήριο επιθήλιο του και ΟΡG στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι ερευνητές προτείνουν την παρακάτω διαδοχή των γεγονότων: α) δημιουργία Οcs από Μο του περιφερικού αίματος μετά από την επίδραση TNF-α, β) μετανάστευσή τους στον αρθρικό υμένα/υποχόνδριο οστό, και γ) ενεργοποίηση από τα υψηλά επίπεδα TNF-α και RANKL που υπάρχουν στις περιοχές αυτές. Τη διαδικασία αυτή φαίνεται ότι βοηθά η αυξημένη αγγειοβρίθεια του φλεγμαίνοντος αρθρικού υμένα της ΨΑ¹³⁴. Στον αρθρικό υμένα παρατηρήθηκε, επίσης, εντόνου βαθμού έκφραση RANKL και TNF-α, ενώ η έκφραση της ΟΡG περιοριζόταν στα ενδοθηλιακά κύτταρα^{17,132}. Αναφέρθηκαν, επίσης, υψηλά επίπεδα IL-8 στο αρθρικό υγρό και τον ορό ασθενών με ΨΑ, την

παραγωγή της οποίας πυροδοτούσε η επίδραση της IL-1 και του TNF-α¹³³.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΡΡΕΥΜΑΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΩΛΕΙΑ ΟΣΤΟΥ

Η έγκαιρη χορήγηση τροποποιητικών της νόσου φαρμάκων ή αντι-TNF-α βιολογικών παραγόντων μπορεί να συγκρατήσει την απώλεια οστικής μάζας και την ανάπτυξη οστικών διαβρώσεων σε ασθενείς με ΦΑ. Θα αναφερθούμε συνοπτικά στο ρόλο της μεθοτρεξάτης, της λεφλουνομίδης και των κορτικοστεροειδών (η χορήγησή τους συνοδεύεται από απώλεια ΟΜ).

Η μεθοτρεξάτη, μέσα από την αναστολή που προκαλεί στην έκκριση της IL-1, φαίνεται να συμμετέχει στην εντονότερη συγκράτηση της ανάπτυξης οστικών διαβρώσεων όταν συγχρηγείται με αντι-TNF-α παράγοντες¹³⁴. Σε καλλιέργειες Μο περιφερικού αίματος ασθενών με ΡΑ, αυτή και άλλα τροποποιητικά της νόσου φάρμακα, όπως η σουλφασαλαζίνη, αλλά όχι η υδροξυκλωροκίνη, μπορούν να αναστείλουν την Οc-γένεση, ελαττώνοντας την έκφραση του mRNA του RANK και αυξάνοντας την έκφραση της ΟΡG¹³⁵. Σε άλλη μελέτη φάνηκε ότι, *in vitro*, η μεθοτρεξάτη δεν φαίνεται να επιδρά στον πολλαπλασιασμό ή τη διαφοροποίηση κυττάρων της Οb σειράς¹³⁶.

Η προσθήκη λεφλουνομίδης σε καλλιέργειες Μο/Μφ του ΜΟ, με την επίδραση RANKL και M-CSF, οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της επαγωγής του NF-ATc1, αναστέλλοντας έτσι τη σύνθεση πυριμιδίνης και τη λειτουργία των οδών διαβίβασης σημάτων στο εσωτερικό των κυττάρων, που πυροδοτεί ο RANKL στην επιφάνεια αυτών των κυττάρων, προκειμένου να διαφοροποιηθούν σε ώριμες Οcs¹²².

Η κυκλοσπορίνη, θεωρητικά, παρεμβαίνοντας στο σύστημα σήμανσης της καλσινευρίνης, που έχει να κάνει με το ενδοκυττάριο ασβέστιο και τη λειτουργία οδών διαβίβασης σημάτων πυροδότησης από τον RANKL στην επιφάνεια κυττάρων που πρόκειται να διαφοροποιηθούν σε Οcs, αναμένεται να αναστέλλει την Οc-γένεση και την απώλεια οστού^{137,138}. Έχει, εντούτοις,

αναφερθεί η ανάπτυξη οστεοπενίας μετά από τη χορήγησή της¹³⁸.

Τα κορτικοστεροειδή ενισχύουν ισχυρά την έκφραση RANKL και ελαττώνουν την έκφραση ΟΡG¹³⁹⁻¹⁴¹. Σε καλλιέργειες κυττάρων της Οb σειράς, η προσθήκη τους οδηγεί σε ελάττωση της έκφρασης mRNA της ΟΡG, σε συνδυασμό με αυξημένη έκφραση mRNA του RANKL¹⁴². Η δράση τους φαίνεται ότι ασκείται σε επίπεδα μεταγραφικών παραγόντων που συμμετέχουν στην παραγωγή των παραπάνω παραγόντων¹⁴³.

ΠΙΘΑΝΕΣ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ

Η χορήγηση ΟΡG-Fc σε πειραματόζωα οδήγησε σε σημαντική ελάττωση του αριθμού των Οcs, σε συνδυασμό με περιορισμό των οστικών διαβρώσεων και της απώλειας της οστικής μάζας που προκαλούσε η πειραματικά προκληθείσα αρθρίτιδα⁵²⁻⁵³. Μια έγχυσή της στην έναρξη της πρόκλησης αρθρίτιδας συνοδεύτηκε από πρόληψη της ανάπτυξης οστικών διαβρώσεων για τις επόμενες 6-7 ημέρες, ενώ εγχύσεις της, από την έβδομη έως τη δεκάτη τετάρτη ημέρα, οδήγησαν σε πρόληψη αυτής της ανάπτυξης έως και 26 ημέρες μετά από την τελευταία έγχυση¹⁴⁴. Η χορήγησή της σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οδήγησε σε σημαντική μείωση των επιπέδων των N-τελοπεπτιδίων του κολλαγόνου τύπου I (βιοχημικού δείκτη οστικής απορρόφησης) που διήρκεσε αρκετές εβδομάδες¹⁴⁵. Η χορήγηση, επίσης, μικρού μεγέθους μορίων, που μιμούνται τη δράση της ΟΡG ή που τροποποιούν την έκφραση του mRNA της ΟΡG, ανέστειλε την απώλεια της οστικής μάζας σε ωθηκετομηθέντα πειραματόζωα ή πειραματόζωα στα οποία προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθροπάθεια¹⁴⁶. Σε ό,τι αφορά στην παρέμβαση σε συν-διεγερτικές οδούς μεταβίβασης σήματος, αναγκαίες στην ολοκλήρωση της Οc-γένεσης, διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση αναστολέων του p38-MAPK σε πειραματικά προκληθείσα αρθρίτιδα οδηγεί στην ελάττωση της έκκρισης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών που ευοδώνουν την Οc-γένεση και στην ελάττωση του αριθμού των

Οcs και των οστικών διαβρώσεων¹⁴⁷. Μάλιστα, η χορήγηση αναστολέων της φωσφορυλίωσης των κινασών που δεσμεύουν τον NFκB, αποτρέποντας τη μεταφορά του στον πυρήνα όπου παίζει τον ρόλο του στην Οc-γένεση, οδήγησε σε ελάττωση της αρθρικής φλεγμονής και των οστικών διαβρώσεων σε πειραματικά μοντέλα αρθρίτιδας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στις φλεγμονώδεις αρθροπάθειες έχει διαπιστωθεί η έκφραση, τόσο στον αρθρικό υμένα όσο και στο υποχόνδριο οστό, μιας σειράς παραγόντων (RANK, RANKL, M-CSF, TGF-β, GM-CSF, IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-15, IL-17, IL-18, TNF-α, IFN-β, IFN-γ, OPG) με ρόλο, μετά από πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους, την ευόδωση της οστεοκλαστογένεσης και την ανάπτυξη οστικών διαβρώσεων και γενικευμένης απώλειας οστικής μάζας. Η συσσώρευση πολύτιμης γνώσης αναφορικά με τους παθογενετικούς μηχανισμούς που διαδραματίζονται ίσως να επιτρέψει μελλοντικά την παραγωγή φαρμάκων για την πρόληψη της ανάπτυξης των οστικών διαβρώσεων και της απώλειας της οστικής μάζας που συνοδεύουν φλεγμονώδεις αρθροπάθειες, με τις λιγότερες δυνατές παρενέργειες.

ABSTRACT

The pathogenesis of bone loss in inflammatory arthropathies

N. Galanopoulos, J.Papadopoulos, G.Kampakis, K. Blamis

Outpatients department of Rheumatology - General Hospital of Alexandroupolis; Rheumatology Department - General Hospital of Kavala

Inflammatory arthropathies are rheumatic diseases in which inflammation is associated with skeletal pathology. Studies in humans and in animal models have defined that the osteoclast is the predominant cell type mediating bone loss in arthritis. Many cytokines and growth factors are implicated in the inflammatory process and have also been demonstrated to have an impact

on osteoclast differentiation and function, either directly by acting on cells of the osteoclast-lineage, or indirectly by acting on other cells to modulate expression of the key osteoclastogenic factor receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL) and/or its inhibitor, osteoprotegerin. Further elucidation on the mechanisms responsible for inflammation-induced bone loss will potentially lead to the identification of novel therapeutic strategies for bone-loss prevention in such diseases. In the current review we provide an overview of the cell types, the inflammatory mediators and their implicated mechanisms of bone loss in inflammatory arthropathies.

Hellenic Rheumatology 2007; 18(1):60-75

Key words: *inflammatory arthropathies, bone mass, osteoclast, osteoblast, T lymphocytes, cytokines, growth factors, RANK, RANKL, OPG, anti-rheumatoid drugs.*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Walsh NC, Gravallesse EM. Bone loss in inflammatory arthritis: mechanisms and treatment strategies. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16:419-427.
- Bromley M, Woolley DE. Chondroclasts and osteoclasts at subchondral sites of erosion in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum* 1984; 27:968-75.
- Gravallese EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 1998; 152:943-51.
- Gravallese EM, Manning C, Tsay A, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum* 2000; 43:250-8.
- Ritchlin CT, Haas-Smith SA, Li P et al. Mechanisms of TNF-α and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis. *J Clin Invest* 2003; 111:821-831.
- Kuratani T, Nagata K, Kukita T, et al. Induction of abundant osteoclast-multinucleated giant cells in adjuvant arthritic rats with accompanying disordered high bone turnover. *Histol Histopathol*

- 1998; 13:751-759.
7. Suzuki Y, Nishikaku F, Nakatuka M, Koga Y. Osteoclast-like cells in murine collagen induced arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25:1154-60.
 8. Enange Romas. The prevention and Treatment of inflammation-Induced Bone Loss: Can it Be Done? In: *Osteoporosis and the Osteoporosis of Rheumatic Diseases. A Companion to Rheumatology*. Lane NE, Sambrook PN (eds). Mosby 2006.
 9. Lubberts E, Oppers-Walgrren B, Pettit AR et al. Increases of RANK at sites of bone erosions correlates with progression of inflammation in evolving collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:3055-64.
 10. Goldring SR. Pathogenesis of bone erosions in Rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumat* 2002; 14:406-10.
 11. Chang IS, Quinn JM, Demaziere A, et al. Bone resorption by cells isolated from rheumatoid synovium. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:1223-1229.
 12. Fushikawa Y, shingu M, Torisu T, et al. Bone resorption by tartrate-resistant acid phosphatase-positive multinuclear cells isolated from rheumatoid synovium. *Br J Rheumatol* 1996; 35:213-217.
 13. Suzuki Y, Tsutsumi Y, Nakagawa M, et al. Osteoclast like cells in an in vitro model of bone destruction by rheumatoid synovium. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:673-682.
 14. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, et al. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol* 2001; 159:1689-99.
 15. Redlich K, Hayer S, Maier A, et al. Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum* 2002; 46:785-92.
 18. Suda T et al. 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
 19. Fujikawa Y, Sabokbar A, Neale S, Athanasou NA. Human osteoclast formation and bone resorption by monocytes and synovial macrophages in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1996; 55:816-822.
 20. Quinn JM, Elliott J, Gillespie MT, Martin TJ. A combination of osteoclast differentiation factor and macrophage-colony stimulating factor is sufficient for both human and mouse osteoclast formation in vitro. *Endocrinology* 1998;139:4424-4427.
 21. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, et al. Activated human T cells directly induces osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2001; 44:1003-12.
 22. Nicholson GC et al. Induction of osteoclasts from CD14-positive human peripheral blood mononuclear cells by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL). *Clin Sci* 2000; 99:133-40.
 23. Romas E, Gillespie MT, Martin TJ. Involvement of RANKL and TNF- α in bone destruction in rheumatoid arthritis. *Bone* 2002; 30:340-346.
 24. Goldring SR. Bone and joint destruction in rheumatoid arthritis. What is really happening? *J Rheumatol Suppl* 2002; 65:44-48.
 25. Takayanagi H, Kim S, Matsuo K, et al. RANKL maintains bone homeostasis through c-fos dependent induction of interferon beta. *Nature* 2002; 416:744-749.
 26. Wyzga N, Varghese S, Wikel S, et al: Effects of activated T-cells on osteoclastogenesis depend on how they are activated. *Bone* 2004; 35:614-20.
 27. Lam J, Takeshita S, Barker JE, et al. TNF- α induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANKL. *J Clin Invest* 2000; 106:1481-88.
 28. Humphrey MB, Nakamura MC. Pathogenesis of Inflammation Induced Bone Loss. In: *Osteoporosis and the Osteoporosis of Rheumatic Diseases. A Companion to Rheumatology*. Lane NE, Sambrook PN (eds). Mosby 2006.
 29. Gravallesse EM, Golgring SR. Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:2143-51.
 30. Dougall WC, Claccum M, Charier K, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Gene Dev* 1999; 13:2312-24.
 31. Pettit AR, Walsh NC, Manning C, et al. RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2006; 45:1068-1076.
 32. Romas E, Sims E, Hards DK, et al. Osteoprotegerin reduces osteoclast numbers and prevents bone

- erosion in collagen induced arthritis. *Am J Pathol* 2002; 161:1419-27.
33. Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402:304-9.
 34. Gradaigh DO, Compston JE. T-cell involvement in osteoclast biology: implications for rheumatoid bone erosion. *Rheumatology* 2004; 43:122-130.
 35. Bezerra MC, Carvalho JF, Prokopowitschand AS, Pereira RMR. RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2005; 38:161-170.
 36. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, et al. Activated human T cells directly induces osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2001; 44:1003-12.
 37. McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, et al. Interleukin-15 mediates T-cell dependent regulation of TNF- α production in rheumatoid arthritis. *Nat Med* 1997; 3:189-95.
 39. Hustmyer FG, et al. Cytokine production and surface antigen expression by peripheral blood mononuclear cells in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1993; 8:51-9.
 40. Abrahamsen B, Bendtzen K, Beck-Nielsen H. Cytokines and T-lymphocyte subsets in healthy post-menopausal women: estrogen retards bone loss without affecting the release of IL-1 or IL-1ra. *Bone* 1997; 20:251-258.
 41. Clowes JA, Riggs BL, Khosla S. The role of the immune system in the pathophysiology of osteoporosis. *Immunological Reviews* 2005; 208(1):207-227.
 42. Fujita T, Matsui T, Nakao Y, Watanabe S. T lymphocyte subsets in osteoporosis. Effect of 1-alpha hydroxyvitamin D3. *Miner Electrolyte Metab* 1984; 10:375-378.
 43. Rosen CJ, Usiskin K, Owens M, Barlaschini CO, Belsky M, Adler RA. T lymphocyte surface antigen markers in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1990; 5:851-855.
 44. Weitzmann MN, Pacifici R. The role of T lymphocytes in bone metabolism. *Immunological Reviews* 2005; 208(1):154-168.
 45. Josien R, Wong BR, Li HL, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. *J Immunol* 1999; 162:2562-2568.
 46. Josien R, 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.
 47. Pincus T, Feraccioli G, Sokka T, et al. Evidence from clinical trials and long term observation studies that DMARDs slow radiographic progression in RA: updating a 1983 review. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41:1346-56.
 48. Fuller K, Murphy C, Kirstein B, Fox SW, Chambers TJ. TNF-Potently Activates Osteoclasts, through a Direct Action Independent of and Strongly Synergistic with RANKL. *Endocrinology* 2002; 143(3):1108-18.
 49. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF-induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* 2000; 106:1481-88.
 50. Komine M, Kukita A, Kukita T, Ogata Y, Hotokebuchi T, Kohashi O. Tumor necrosis factor- cooperates with receptor activator of nuclear factor -B ligand in generation of osteoclasts in stromal cell-depleted rat bone marrow cell culture. *Bone* 2001; 28:474-83.
 51. Li P, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Ma L, Boyce BF, Xing L. RANK signaling is not required for TNF α -mediated increase in CD11 (hi) osteoclast precursors but is essential for mature osteoclast formation in TNF α -mediated inflammatory arthritis. *J Bone Miner Res* 2004; 19:207-213.
 52. Redlich K, Hayer S, Maier A, et al. Tumor necrosis factor alpha mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum* 2002; 46:785-92.
 53. Schett G, et al. Osteoprotegerin protects against generalized bone loss in tumor necrosis factor-transgenic mice. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2042-2051.
 54. Keffer J, et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J* 1991; 10:4025-4031.
 55. Elliott MJ, et al. Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1994; 344:1105-1110.
 56. Maini R, et al. Infliximab (chimeric antitumour

- necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group. *Lancet* 1999; 354:1932–1939.
57. Lipsky PE, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343:1594–1602.
 58. Breedveld FC, et al. Infliximab in active early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:149–55.
 59. Weinblatt ME, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999; 340:253–259.
 60. Kremer JM, et al. Etanercept added to background methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis: continued observations. *Arthritis Rheum* 2003; 48:1493–1499.
 61. Den Broeder AA, et al. Long term antitumor necrosis factor alpha monotherapy in rheumatoid arthritis: effect on radiological course and prognostic value of markers of cartilage turnover and endothelial activation. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:311–318.
 62. Den Broeder A, et al. A single dose, placebo controlled study of the fully human antitumor necrosis factor-alpha antibody Adalimumab (D2E7) in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29:2288–98.
 63. Weinblatt ME, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48:35–45.
 64. Zwerina J, et al. Single and combined inhibition of TNF- α , IL-1, and RANKL pathways in TNF induced arthritis: effects on synovial inflammation bone erosion, and cartilage destruction. *Arthritis Rheum* 2004; 50(1):277–90.
 65. Jimi E, et al. Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts stromal cells. *Exp Cell Res* 1999; 247:84–93.
 66. R Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF- α induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* 2000; 106:1481–1488.
 67. Tsuboi M, Kawakami A, Nakashima T, et al. TNF- α and IOL-1 increases the Fas-mediated apoptosis of human osteoblasts. *J Lab Clin Med* 1999; 134:222–31.
 68. Danning CL, Illei GG, Hitchon C, Greer MR, Boumpas DT, McInnes IB. Macrophage derived cytokine and nuclear factor kappaB p65 expression in synovial membrane and skin of patients with psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1244–1256.
 69. Niki Y, et al. Macrophage- and neutrophil dominant arthritis in human IL-1 alpha transgenic mice. *J Clin Invest* 2001; 107:1127–1135.
 70. Abramson SB, Amin A. Blocking the effects of IL-1 in rheumatoid arthritis protects bone and cartilage. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41:972–980.
 71. Niki Y, et al. Membrane-associated IL-1 contributes to chronic synovitis and cartilage destruction in human IL-1alpha transgenic mice. *J Immunol* 2004; 172:577–584.
 72. Horai R, et al. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J Exp Med* 2000; 191:313–320.
 73. Jimi E, et al. Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/ stromal cells. *Exp Cell Res* 1999; 247:84–93.
 74. Suda T, Kobayashi K, Jimi E, Udagawa N, Takahashi N. The molecular basis of osteoclast differentiation and activation. *Novartis Found Symp* 2001; 232:235–250.
 75. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factoralpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25:255–259.
 76. Hattersley G et al. Human M-CSF inhibits bone resorption by osteoblasts disaggregated from rat bone. *J cell Physiol* 1988; 137:199–203.
 77. Ralston SH et al. Nitric oxid: A cytokine-induced regulator of bone resorption. *J Bone Miner Res* 1995; 10:1040–9.
 78. Key LL et al. Long-term treatment of osteopetrosis with recombinant human interferon – gamma.

- N Engl J Med 1995; 332:1594-99.
79. Vignery A et al. Recombinant murine interferon-gamma inhibits the fusion of mouse alveolar macrophages in vitro but stimulates the formation of osteoclast-like cells on implanted synergic bone particles in mice in vivo. *J Bone Miner Res* 1990; 5:637-644.
 80. Takayanagi H, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signaling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature* 2000; 408:600-605.
 81. Vermeire K, Heremans H, VandePutte M, Huang S, Billiau A, Matthys P. Accelerated collagen-induced arthritis in IFN-gamma receptor deficient mice. *J Immunol* 1997; 158:5507-13.
 82. Manoury-Schwartz B, Chiochia G, Bessis N et al. High susceptibility to collagen-induced arthritis in mice lacking IFN-gamma receptors. *J Immunol* 1997; 158:5501-6.
 83. Takayanagi H, et al. RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon-beta. *Nature* 2002; 416:744-749.
 84. Lubberts E, Joosten LAB, Chabaud M et al. IL-4 gene therapy for collagen arthritis suppresses synovial IL-17 and osteoprotegerin ligand and prevents bone erosion. *J Clin Invest* 2000; 105:1697-710.
 85. Scopes J, Massey HM, Ebrahim H, Horton M, Flanagan AM. Interleukin-4 and interleukin-13: bidirectional effects on human osteoclast formation. *Bone* 2001; 29:203-8.
 86. Harada S, Yamamura M, Okamoto H et al. Production of interleukin-7 and interleukin-15 by fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1508-16.
 87. Van Roon JAG, Glaudemans KAFM, Bijlsma JWJ, Lafeber FPJG. Interleukin 7 stimulates tumor necrosis factor and Th 1 cytokine production in joints of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:113-9.
 88. McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, Field M, Liew FY. Interleukin-15 mediates T-cell dependent regulation of tumor necrosis factor alpha production in rheumatoid arthritis. *Nat Med* 1997; 3:189-95.
 89. Ogata Y, Kukita A, Kukita T et al. A novel role of IL-15 in the development of osteoclasts: inability to replace its activity with IL-2. *J Immunol* 1999; 162:2754-60.
 90. Ziolkowska M, Koc A, Luszczkiewicz G et al. High levels of IL-17 in rheumatoid arthritis patients: IL-15 triggers in vitro IL-17 production via cyclosporin A-sensitive mechanism. *J Immunol* 2000; 164:2832-8.
 91. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, Flores-Romo L, Ait-Yahia S, Maat C. T-cell interleukin 17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 1996; 183:2593-603.
 92. Chabaud M, Durand JM, Buchs N et al. Human interleukin-17: a T-cell-derived proinflammatory cytokine produced by the rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 1999; 42:963-70.
 93. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 1999; 103:1345-52.
 94. Jovanovic DV, di Battista JA, Martel-Pelletier J et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines IL-1 beta and TNF-alpha by human macrophages. *J Immunol* 1998; 160:3513-21.
 95. Gracie JA, Forsey RJ, Chan WL et al. A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999; 104:1393-401.
 96. Udagawa N, Horwood NJ, Elliot J et al. Interleukin-18 (interferon-inducing factor) is produced by osteoblasts and acts via granulocyte/macrophage colony stimulating factor and not via interferon to inhibit osteoclast formation. *J Exp Med* 1997; 185:1005-12.
 97. Horwood NJ, Udagawa N, Elliot J et al. Interleukin-18 inhibits osteoclast formation via T-cell production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *J Clin Invest* 1998; 101:595-603.
 98. Petrow PK, Hummel KM, Schedel J et al. Expression of osteopontin mRNA and protein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1597-605.
 99. Yumoto K, Ishijima M, Rittling SR, et al. Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:4556-61.
 100. Sakae Tanaka, Kozo Nakamura, Naoyuki Takahashi, Tatsuo Suda. Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting the RANKL-RANK signaling system. *Immunological Reviews* 2005; 208:30-49.
 101. Koga T, et al. Costimulatory signals mediated by

- the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature* 2004; 428:758–763.
102. Humphrey MB, et al. The signaling adapter protein DAP12 regulates multinucleation during osteoclast development. *J Bone Miner Res* 2004; 19:224–34.
 103. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423:337–42.
 104. Mocsai A, et al. The immunomodulatory adapter proteins DAP12 and Fc receptor gamma-chain (FcRgamma) regulate development of functional osteoclasts through the Syk tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:6158–6163.
 105. Bakker AB et al. Myeloid DAP12-associated lectin(MDL)-1 is a cell surface receptor involved in the activation of myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:9793–6.
 106. Paloneva J et al. Loss of function mutations in TYROBP(DAP12) result in a presenile dementia with bone cysts. *Nat Genet* 2000; 25:357–61.
 107. Takayanagi H, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002; 3:889–901.
 108. Eijiro J, Sankar G. Role of nuclear factor-kB in the immune system and bone. *Immunological Reviews* 2005; 208:80–7.
 109. Aya K, Alhawagri M, Hagen-Stapleton A, Kitaura H, Kanagawa O, Veis Novack D. NF-κB-inducing kinase controls lymphocyte and osteoclast activities in inflammatory arthritis. *Journal of Clin Invest* 2005; 115:1848–54.
 110. Koga T, et al. Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature* 2004; 428:758–763.
 111. Ye H, et al. Distinct molecular mechanism for initiating TRAF6 signalling. *Nature* 2002; 418:443–7.
 112. Armstrong AP, Tometsko ME, Glaccum M, Sutherland CL, Cosman D, Dougall WC. A RANK/TRAF6-dependent signal transduction pathway is essential for osteoclast cytoskeletal organization and resorptive function. *J Biol Chem* 2002; 277:44347–56.
 113. Liu W, et al. Functional identification of three receptor activator of NF-κB cytoplasmic motifs mediating osteoclast differentiation and function. *J Biol Chem* 2004; 279:54759–54769.
 114. Darnay BG, Haridas V, Ni J, Moore PA, Aggarwal BB. Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NFκB (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF-κB and c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem* 1998; 273:20551–20555.
 115. Wong BR, Josien R, Lee SY, Vologodskaia M, Steinman RM, Choi Y. The TRAF family of signal transducers mediates NF-κB activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem* 1998; 273:28355–28359.
 116. NFATc1 directly induces the human β3 integrin gene in osteoclast differentiation. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005; 5(4):335–37.
 117. Moll JM, Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1973; 3:55–78.
 118. Arnett FC, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31:315–324.
 119. Shalhoub V, et al. Characterization of osteoclast precursors in human blood. *Br J Haematol* 2000; 111:501–512.
 120. Ritchlin C, Haas-Smith SA. Expression of interleukin 10 mRNA and protein by synovial fibroblastoid cells. *J Rheumatol* 2001; 28:698–705.
 121. Gravallesse EM, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum* 2000; 43:250–258.
 122. Urushibara M. The antirheumatic drug leflunomide inhibits osteoclastogenesis by interfering with receptor activator of NF-κB ligand-stimulated induction of nuclear factor of activated T cells c1. *Arthritis Rheum* 2004; 50(3):794–804.
 123. Myers DE, et al. Expression of functional RANK on mature rat and human osteoclasts. *FEBS Lett* 1999; 463:295–300.
 124. Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-κB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. *Am J Pathol* 2000; 156:761–767.
 125. O’Gradaigh D, Ireland D, Bord S, Compston JE. Joint erosion in rheumatoid arthritis: interactions between tumor necrosis factor α, interleukin 1, and receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL) regulate osteoclasts. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:354–359.

126. Varsani H, Patel A, van Kooyk Y, Woo P, Wedderburn LR. Synovial dendritic cells in juvenile idiopathic arthritis (JIA) express receptor activator of NF-kappaB (RANK). *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42:583-90
127. Chan N, Ching J, Bissessar M, Silverman E, Ohashi P, Yeung R. The role of osteoprotegerin ligand in juvenile rheumatoid arthritis [abstract]. *Arthritis Rheum* 2000; 43 Suppl:S82.
128. Masi L, Simonini G, Piscitelli E, et al. Osteoprotegerin (OPG)/RANK-L system in juvenile idiopathic arthritis: is there a potential modulating role for OPG/RANK-L in bone injury? *J Rheumatol* 2004; 31:986-91.
129. Ritchlin C, et al. Patterns of cytokine production in psoriatic synovium. *J Rheumatol* 1998; 25:1544-52.
130. Partsch G, et al. T cell derived cytokines in psoriatic arthritis synovial fluids. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:691-3.
131. Danning CL, et al. Macrophage-derived cytokine and nuclear factor kappa B p65 expression in synovial membrane and skin of patients with psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1244-1256.
133. Reddy P. Interleukin-18: recent advantages. *Curr Opin Hematol* 2004; 11:405-10.
134. Reece RJ, Canete JD, Parsons WJ, Emery P, Veale DJ. Distinct vascular patterns of early synovitis in psoriatic, reactive, and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1481-4.
134. Pincus T et al. Methotrexate as the anchor drug for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:S179-85.
135. Chang-Keun L, et al. Effects of DMARDs and anti-inflammatory cytokines on human osteoclastogenesis through interaction with receptor activator of NFkB, osteoprotegerin, and RANKL. *Arthritis Rheum* 2004; 50(12):3831-43.
136. Minaur NJ, et al. Methotrexate in the treatment of RA. I. In vitro effects on cells of the osteoclast lineage. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41:735-40.
137. Takayanagi H, Kim S, Koga T, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002; 3:889-901.
138. Buchinsky FJ, Ma YF, Mann GN, et al. Bone mineral metabolism in T-lymphocyte deficient and T-lymphocyte replete strains of rat. *J Bone Miner Res* 1995; 10:1556-65.
139. Holstead Jones D, Kong YY, Penninger JM. Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(Suppl II):ii32-ii39.
140. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, 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; 95:3597-602.
141. Vidal ON, Sjogren K, Eriksson BI, Ljunggren O, Ohlsson C. Osteoprotegerin mRNA is increased by interleukin-1 alpha in the human osteosarcoma cell line MG-63 and in human osteoblast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 248:696-700.
142. Brandstrom H, et al. Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280:831-35.
143. Kodaira K, et al. Cloning and characterization of the gene encoding mouse osteoclast differentiation factor. *Gene* 1999; 1445:134-141.
144. Campagnuolo G, et al. Kinetics of bone protection by recombinant osteoprotegerin therapy in Lewis rats with adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1926-36.
145. Bekker PJ, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001; 16:348-60.
146. Chang X, et al. Disabling of RANK receptor complex by novel osteoprotegerin like peptidomimetics restores bone loss in-vivo. *J Biol Chem* 2003; 279:8269-77.
147. Badger AM, et al. Disease modifying activity of SB 242235, a selective inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase, in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:175-83.