

System osteoprotegeryna, receptor aktywujący jądrowy czynnik κ B oraz ligand dla receptora aktywującego jądrowy czynnik κ B a zmiany kostne u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit

Osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor κ B and receptor activator of nuclear factor κ B ligand and bone mineralization in children with inflammatory bowel diseases

Agnieszka Jankowska¹, Anna Korzon-Burakowska², Barbara Kamińska¹

¹Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Klinika Nadciśnienia i Diabetologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Przegląd Gastroenterologiczny 2011; 6 (4): 213–217

DOI: 10.5114/pg.2011.24303

Słowa kluczowe: nieswoiste zapalenia jelit, osteoprotegeryna, dzieci.

Key words: inflammatory bowel diseases, osteoprotegerin, children.

Adres do korespondencji: dr n. med. Agnieszka Jankowska, Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Nowe Ogrody 1-6, 80-803 Gdańsk, tel./faks: +48 58 302 25 91, e-mail: ajankowska@gumed.edu.pl

Streszczenie

W ostatnich latach zwiększa się zapadalność na nieswoiste zapalenia jelit wśród dzieci. Ze względu na złożoną etiopatogenezę tych chorób, w której znaczącą rolę odgrywają mechanizmy autoimmunologiczne, ich leczenie jest nadal głównie przyczynowe. Przewlekły proces zapalny oraz stosowana terapia wiążą się z wieloma powikłaniami. Jednym z nich są zaburzenia mineralizacji kości. Duże nadzieje związane z odkryciem osteoprotegeryny (OPG), receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B (RANK) i liganda dla RANK. Cytokiny te są obecne w licznych tkankach i odgrywają kluczową rolę w procesach tworzenia i resorpcji kości, a także są istotne dla prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. Wraz z rozwojem wiedzy na temat tych białek pojawiły się nowe możliwości terapeutyczne chorób, w których patomechanizm są one zaangażowane.

W ostatnich latach odnotowuje się zwiększenie zachorowalności na nieswoiste zapalenia jelit (NZJ) w populacji pediatrycznej. Choroby te rozpoznaje się już u dzieci w wieku przedszkolnym, a nawet u niemowląt [1, 2]. Szacuje się, że ok. 2% stanowią dzieci poniżej 10. roku życia, natomiast 30% to dzieci i młodzież w wieku 10–19 lat [3]. Badania epidemiologiczne z ostatnich lat wykazują znaczny wzrost zachorowań na chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC) przy stosunkowo stałej

Abstract

Morbidity of inflammatory bowel diseases (IBD) has been increasing in children recently. The pathogenesis of these autoimmune diseases still remains unknown, so the therapy of IBD is mainly symptomatic. Chronic inflammation and applied treatment involve many complications, among which impaired bone mineralization is quite common. Great expectations arose when three cytokines were explored: osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor κ B (RANK) and receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL). These molecules were identified in many cells and play a key role in bone formation and resorption, as well as in the immune system. Due to increasing knowledge about these cytokines there are new possibilities for treatment of the diseases in which OPG, RANK and RANKL are engaged.

częstości występowania wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) [4].

Etiopatogeneza NZJ nadal nie jest w pełni poznana. U osób predysponowanych genetycznie w powstawaniu zmian zapalnych w jelitach bierze się pod uwagę udział m.in. procesów immunologicznych, środowiskowych i bakteryjnych [5, 6].

Na podstawie badań genetycznych stwierdzono, że do wystąpienia WZJG szczególnie predysponowane są

osoby z obecnością mutacji w genach chromosomów 2 i 6, natomiast do ChLC – w obrębie chromosomu 16. Liczne badania dowodzą, że w przebiegu NZJ dochodzi do zaburzeń regulacji procesów immunologicznych, z przewagą aktywacji limfocytów T o fenotypie CD4+. W zależności od czynnika wywołującego następuje polaryzacja odpowiedzi w kierunku Th1 bądź Th2. W ChLC przeważają cytokiny związane z Th1 – interferon γ (IFN- γ) i interleukina 12 (IL-12). W WZJG natomiast profil cytokin nie jest tak wyraźny, wydaje się jednak, że przeważa reakcja Th2-zależna z udziałem IL-10 oraz IL-5. Obok wyżej wymienionych cytokin duże znaczenie mają mediatory reakcji zapalnej, takie jak: IL-1 β , czynnik martwicy nowotworu α (*tumour necrosis factor α* – TNF- α) oraz IL-6 [7].

Zmiany zachodzące w bakteryjnej florze jelitowej mają duże znaczenie w inicjacji oraz podtrzymywaniu stanu zapalnego w błonie śluzowej jelita. Szczególną rolę przypisuje się bakteriom redukującym siarkę (*sulphur reducing bacteria* – SRB) [8]. Nie bez znaczenia jest wpływ diety, zwłaszcza obecność dodatków funkcjonalnych do żywności i nadmierne spożycie kwasów tłuszczowych omega-6. Pierwotne uszkodzenie błony śluzowej jelita prowadzi w efekcie do zmiany jej funkcji i rozwoju procesu zapalnego.

Z uwagi na złożoną i nieznaną etiopatogenezę leczenia NZJ ma nadal głównie charakter objawowy i zależy od stopnia nasilenia zmian. W terapii stosuje się przede wszystkim leczenie przeciwzapalne oparte na stosowaniu pochodnych kwasu 5-aminosalicylowego (5-ASA), glikokortykosteroidów (GKS), a także innych leków immunomodulujących, najczęściej azatiopryny i cyklosporyny.

Najnowsze metody terapeutyczne wykorzystują osiągnięcia biologii molekularnej, co daje szansę leczenia przyczynowego. Obecnie mają zastosowanie monoklonalne przeciwciała klasy G₁ wiążące TNF- α : chimeryczne mysio-ludzkie – infliksymab, oraz całkowicie humanizowane – adalimumab. Rzadziej w leczeniu stosuje się etanercept oraz certolizumab [9].

Przebieg NZJ wiąże się z licznymi powikłaniami. Wśród nich występują m.in. zmiany w obrębie układu pokarmowego (ropnie, przetoki, szczeliny, niedrożności jelit, choroby wątroby i dróg żółciowych), a także: choroby nerek (szczególnie przewlekła choroba nerek), zaburzenia rozwoju fizycznego (niedobór masy ciała i wzrostu), zaburzenia hematologiczne (niedokrwistość), zmiany skórne i stawowe (zapalenia stawów) oraz zmiany onkologiczne (rak jelita grubego) [10].

Jednym z częstszych objawów towarzyszących NZJ zarówno u dorosłych, jak i dzieci są zaburzenia mineralizacji kości o złożonym i nadal nie do końca wyjaśnionym mechanizmie powstawania [11]. U podłoża tego zjawiska leży z pewnością wiele przyczyn wynikających

z samej choroby (złe odżywienie, zaburzenia wchłaniania jelitowego i związane z tym niedobory wapnia i witaminy D₃, przewlekły stan zapalny, ograniczona aktywność fizyczna, nierzadko opóźnione dojrzewanie płciowe) oraz ze stosowanego leczenia [12]. Osteopenia oraz osteoporoza zajmują znaczące miejsce wśród wielu działań niepożądanych długotrwałej steroidoterapii [13]. Należy zaznaczyć, że nie potwierdzono jednoznacznie związku pomiędzy występowaniem zaburzeń mineralizacji kości a dawką kumulacyjną i okresem podawania steroidów czy charakterem i czasem trwania choroby zasadniczej.

Poznanie mechanizmów przyspieszonego niszczenia tkanki kostnej, które towarzyszy niektórym przewlekłym chorobom zapalnym o podłożu autoimmunologicznym, takim jak NZJ, chorobom nowotworowym i wielu innym patologiom, przyczyniło się do narodzin nowej gałęzi medycyny, jaką jest osteoimmunologia. Po raz pierwszy termin ten został użyty w 2000 r. przez Arrona i wsp., którzy podkreślili istnienie związku między układem odpornościowym i kostnym [14]. Od tego czasu obserwuje się bardzo dynamiczny rozwój tej dziedziny nauki, dzięki czemu coraz więcej wiadomo na temat biologii tkanki kostnej.

Tkanka kostna jest zróżnicowaną tkanką łączną charakteryzującą się dużą wytrzymałością i wysoką aktywnością metaboliczną. Dzięki tym właściwościom pełni ona funkcję mechaniczną – stanowi „rusztowanie” ciała, funkcję ochronną dla narządów wewnętrznych, a także krwiotwórczą. Jest ponadto rezerwuarem związków mineralnych, przede wszystkim wapnia i fosforanów. Wyróżnia się dwa typy tkanki kostnej – korową (zbitą) oraz beleczkowatą (gąbczastą). Kość korowa charakteryzuje się wysoką wytrzymałością mechaniczną, kość beleczkowatą natomiast cechuje blisko 8-krotnie większa od kości korowej aktywność metaboliczna. W związku z tym w jej obrębie najwcześniej będą widoczne zarówno zmiany patologiczne dotyczące metabolizmu kostnego, jak i efekty prowadzonego leczenia.

Przebudowa kości odbywa się przez całe życie osobnicze i opiera się na dwóch przeciwstawnych procesach – tworzeniu i resorpcji kości. Pierwszy z nich zależy od aktywności osteoblastów – komórek wywodzących się z mezenchymalnych komórek szpiku kostnego. Za niszczenie kości odpowiedzialne są natomiast osteoklasty – wielojądrowe komórki wywodzące się z macierzystej komórki hematopoetycznej. W okresie wzrostu organizmu lub podczas procesów adaptacyjnych (np. po urazach) przeważa synteza tkanki kostnej, dzięki czemu możliwy jest właściwy wzrost i kształtowanie kości. Proces ten nazywa się modelacją (*modeling*), natomiast trwająca całe życie przebudowa wewnętrzna kości – remodelacją (*remodelling*) ma charakter ciągły, odbywa

się w ściśle określonych miejscach kości i zapewnia utrzymanie masy kostnej szkieletu i homeostazy wapniowo-fosforanowej [15].

Dzięki sprzężeniu procesów resorpcji i tworzenia dochodzi do usuwania starej i tworzenia w jej miejsce nowej kości. W okresie rozwojowym umożliwia to osiągnięcie szczytowej masy kostnej (*peak bone mass* – PBM), a także zapewnia odbudowę i utrzymanie funkcji tkanki kostnej na właściwym poziomie. Zaburzenie równowagi między tymi dwoma procesami może doprowadzić do nadmiaru masy kostnej – osteopetrozy, lub jej ubytku – osteopenii czy osteoporozy.

Już w 1981 r. Rodan i Martin wysunęli hipotezę, że w procesie osteoklastogenezy istotną rolę odgrywają osteoblasty. Potwierdzono następnie, że do zainicjowania różnicowania komórek hematopoetycznych w kierunku osteoklastów niezbędny jest ich bezpośredni kontakt z innymi komórkami tkanki kostnej – komórkami zrębu lub osteoblastami [16].

Wyniki badań przeprowadzonych w następnych latach wykazały, że w procesie właściwego dojrzewania i funkcjonowania osteoklastów ogromną rolę odgrywa szlak, którego głównymi elementami są: osteoprotegeryna (*osteoprotegerin* – OPG), receptor aktywujący jądrowy czynnik κB (*receptor activator of nuclear factor κB* – RANK) oraz ligand dla RANK (*receptor activator of nuclear factor κB ligand* – RANKL) [17, 18].

Jest to jedno z najistotniejszych odkryć końca ubiegłego wieku, które nie tylko doprowadziło do poznania istotnych mechanizmów metabolizmu tkanki kostnej, lecz także otworzyło nowe możliwości przyczynowego leczenia wielu dotąd niewyleczalnych chorób układu kostnego (leczenie biologiczne). Szczegółowe poznanie zaburzeń funkcjonowania nowo odkrytych związków i ich wzajemnej zależności ma ogromne znaczenie dla wyjaśnienia etiopatogenezy wielu chorób tkanki kostnej [19].

Osteoprotegeryna została odkryta w 1997 r. przez trzy niezależne grupy badawcze. Simonet i wsp. zidentyfikowali białko o nieznanym wówczas funkcji, wykazujące wysoką homologię z rodziną receptorów dla czynnika martwicy nowotworów (*tumour necrosis factor receptor* – TNFR). Wkrótce okazało się, że jest ono identyczne z białkiem hamującym aktywność osteoklastów [20].

Niezależnie od grupy Simoneta, Tsuda i Wong wykazali, że biologiczna funkcja OPG może się wiązać ze zwiększeniem tworzenia kości lub z hamowaniem jej resorpcji. Ochronna rola wobec kości była podstawą do nadania temu białku nazwy osteoprotegeryna [21, 22]. Badacze ci potwierdzili, że należy ono do nadrodziny TNFR i jest jedynym znanym dotychczas pierwotnie rozpuszczalnym receptorem dla TNF.

Osteoprotegeryna zbudowana jest z 401 aminokwasów o łącznej masie cząsteczkowej 55 kDa, a geny ją

kodujące znajdują się w regionie 8q24 chromosomu ludzkiego. Syntezę OPG reguluje wiele czynników. Jej stężenie zwiększa się pod wpływem m.in.: witaminy D₃, estradiolu, transformującego czynnika wzrostu β (*transforming growth factor β* – TGF- β), TNF- α oraz IL-1. Przeciwny efekt wywołują natomiast parathormon (PTH), GKS, prostaglandyna E (PGE 2) i inne.

Prowadzone ponad 20 lat temu badania nad dojrzewaniem, różnicowaniem i aktywacją osteoklastów wskazywały na istnienie czynnika związanego z powierzchnią komórek podścieliska lub osteoblastów, niezbędnego do prawidłowego przebiegu osteoklastogenezy. W ostatnich lat zidentyfikowano ten czynnik i nazwano ligandem dla OPG (*osteoprotegerin ligand* – OPGL) [21, 23]. Okazał się on identyczny z naturalnym ligandem dla receptora aktywującego czynnik jądrowy κB . W celu ujednoczenia nomenklatury powszechnie używana jest nazwa RANKL.

Ligand dla RANK, będący glikoproteiną, należy do rodziny białek TNF. Gen dla RANKL zlokalizowano w genomie ludzkim na chromosomie 13q14. Białko zbudowane jest z 317 aminokwasów i ma masę cząsteczkową 45 kDa. Ekspresję RANKL stwierdzono na osteoblastach, w obwodowych węzłach chłonnych, wątrobie płodu, komórkach mięsaka kościopochodnego oraz w innych narządach i tkankach. Ekspresja genów jest regulowana m.in. przez 1,25-dihydroksywitaminę D₃, czynniki wzrostu i peptydy, np.: TGF- β 1, czynnik wzrostu fibroblastów 2 (*fibroblast growth factor 2* – FGF2), PTH, IL-1 β i IL-11 [25]. RANKL wraz z M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) inicjują powstawanie osteoklastów z komórek śledziony, nawet bez współdziałania osteoblastów. Proces ten jest całkowicie hamowany przez OPG [19]. Kong i wsp. potwierdzili, że RANKL jest czynnikiem niezbędnym w procesie dojrzewania osteoklastów i jednocześnie wykazali jego udział w dojrzewaniu tymocytów [26]. Ujawniono w ten sposób nową aktywność RANKL w różnicowaniu limfocytów T.

W 1998 r. zidentyfikowano kolejne białko należące do rodziny receptorów dla TNF – RANK, będący funkcjonalnym receptorem dla RANKL [24].

RANK jest również glikoproteiną, zbudowaną z 616 aminokwasów o masie cząsteczkowej 90 kDa. Geny dla białka ludzkiego zlokalizowano na chromosomie 18q22.1. Receptor ten wykazuje swoistość do łączenia się z RANKL [18, 27].

Ekspresję RANK stwierdzono na powierzchni wielu komórek: linii makrocytarno-makrofagowej, preosteoklastach i osteoblastach, limfocytach B i T, komórkach dendrytycznych, fibroblastach, tymocytach, chondrocytach, komórkach śródbłonna naczyniowego, wątroby, śledziony, a także w innych tkankach. Liczne badania, prowadzone głównie na myszach pozbawionych genów

dla RANK i/lub RANKL, potwierdziły kluczową rolę, jaką układ RANKL/RANK odgrywa w różnicowaniu i dojrzewaniu osteoklastów. Wykazano ponadto, że glikoproteiny te mają wpływ na apoptozę już dojrziałych osteoklastów [28].

Spostrzeżenia wielu autorów wskazują, że białka te pełnią istotną funkcję nie tylko w chorobach metabolicznych kości, lecz także w innych procesach patologicznych. Najwięcej badań nad triadą omawianych glikoprotein dotyczy osób dorosłych. Udowodniono ich udział w chorobach zapalnych, o podłożu immunologicznym, w nowotworach i schorzeniach układu sercowo-naczyniowego [29–31]. W piśmiennictwie niewiele jest danych określających wartości referencyjne stężeń omawianych glikoprotein w surowicy osób dorosłych. Nie ma ich również dla grupy w wieku rozwojowym.

Chociaż w ostatnich latach prowadzone są badania nad OPG i RANKL w populacji dziecięcej, nadal jednak dostępne są pojedyncze doniesienia na ten temat, a otrzymywane wyniki są dyskusyjne. W kręgu zainteresowań badaczy znalazły się takie schorzenia, jak: młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, cukrzyca typu 1, przewlekła choroba nerek, nerczak zarodkowy, histiocytoza, choroba Kawasaki, a ostatnio NZJ [32–34].

Szczególnie interesujące wydaje się powiązanie układu OPG/RANK/RANKL z zaburzeniami mineralizacji kości u dzieci z NZJ. Udowodniona rola tych białek w funkcjonowaniu układu immunologicznego była podstawą hipotezy (dotąd jeszcze nieudowodnionej) o ich udziale w patogenezie NZJ [35]. Korzystając z metody reakcji łańcuchowej polimerazy poprzedzonej reakcją odwrotnej transkrypcji (*reverse transcription ploymerase chain reaction* – RT-PCR), wykazano, że w bioptatach błony śluzowej okrężnicy obecne były produkty transkrypcji RANK, RANKL i OPG, a stężenie OPG korelowało ze stężeniami cytokin pro- i przeciwzapalnych. Na komórkach błony śluzowej jelita i – w mniejszym stopniu – komórkach warstwy podśluzowej stwierdzono ekspresję OPG, RANKL i RANK [35].

Dotychczasowa terapia chorób tkanki kostnej (głównie osteoporozy) opierała się na dwóch grupach leków – o działaniu antykatabolicznym oraz anabolicznym. Skuteczność takiego leczenia jest jednak niezadowolająca i różne są efekty u poszczególnych pacjentów. Efektem badań i doświadczeń nad skuteczniejszą terapią okazały się: rekombinowane OPG i RANK w połączeniu z fragmentami Fc immunoglobuliny IgG (Fc-OPG) oraz przeciwciała anty-RANKL, czyli denosumab [36, 37]. Denosumab jest całkowicie ludzkim monoklonalnym przeciwciałem, należącym do immunoglobulin klasy IgG₂. Charakteryzuje się wysokim powinowactwem i specyficznością wobec RANKL. Denosumab działa podobnie jak natywna osteoprotegeryna. Poprzez związanie RANKL uniemożli-

wia interakcję liganda z receptorem komórkowym (RANK). Tym samym zmniejsza się różnicowanie, aktywacja i przeżycie osteoklastów, a więc i resorpcja kości [37]. Dane kliniczne o skuteczności i bezpieczeństwie stosowania denosumabu w leczeniu osteoporozy są niezwykle obiecujące [36–38].

Być może kolejne lata badań nad OPG, RANK i RANKL w patologii układu kostnego u dzieci z NZJ przyczynią się do opracowania nowych możliwości diagnostycznych i zweryfikują stosowane obecnie, jeszcze nie w pełni doskonałe, metody terapeutyczne dotyczące NZJ u dzieci.

Piśmiennictwo

1. Mamula P, Telega GW, Markowitz JE, et al. Inflammatory bowel disease in children 5 years of age and younger. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2005-10.
2. Ruemmele FM, El Khoury MG, Talbotec C, et al. Characteristics of inflammatory bowel disease with onset during the first year of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43: 603-9.
3. Büller HA. Problems in diagnosis of IBD in children. *Neth J Med* 1997; 50: S8-11.
4. Cosgrove M, Al-Atia RF, Jenkins HR. The epidemiology of paediatric inflammatory bowel disease. *Arch Dis Child* 1996; 74 (3 Suppl): 460-1.
5. Bartnik W. Inflammatory bowel disease. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 205-10.
6. Blumberg RS. Prospects for research in inflammatory bowel disease. *JAMA* 2001; 285: 643-7.
7. Kmiec Z, Kartanowicz D, Wierzbicki P. Rola odpowiedzi immunologicznej w patogenezie chorób przewodu pokarmowego. *Pediatr Współ Gastroenterol Hepatol Żyw Dziecka* 2004; 6: 417-22.
8. Kamińska B, Landowski P, Korzon M i wsp. Zależność pomiędzy składem beztlenowej flory bakteryjnej jelita grubego a stopniem aktywności nieswoistych zapaleń jelit u dzieci. *Pediatr Współ Gastroenterol Hepatol Żyw Dziecka* 2003; 5: 113-6.
9. Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001; 121: 1088-94.
10. Loftus Jr EV. Epidemiology and risk factors for colorectal dysplasia and cancer in ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35: 517-31.
11. Pigot F, Roux C, Chaussade S, et al. Low bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 1396-403.
12. Issenman RM. Bone mineral metabolism in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 192-9.
13. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther* 2002; 96: 23-43.
14. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000; 408: 535-6.
15. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anatom Rec* 1990; 226: 414-22.

16. Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, et al. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology* 1988; 123: 2600-2.
17. Khosla S. Mini-review: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001; 142: 5050-5.
18. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev* 2008; 29: 155-92.
19. 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 U S A* 1998; 95: 3597-602.
20. Kwon BS, Wang S, Udagawa N, et al. TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. *FASEB J* 1998; 12: 845-54.
21. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234: 137-42.
22. Wong BR, Rho J, Arron J, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 25190.
23. Yasuda H. Osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF). *Seikagaku* 1998; 70: 386-90.
24. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997; 390: 175-9.
25. Jones DH, Kong Y, Penninger JM. Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 (Suppl. 2): ii32-9.
26. Kong Y, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315-23.
27. Schneeweis LA, Willard D, Milla ME. Functional dissection of osteoprotegerin and its interaction with receptor activator of NF-kappa B ligand. *J Biol Chem* 2005; 280: 41155-64.
28. Lacey DL, Tan HL, Lu J, et al. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and in vivo. *Am J Pathol* 2000; 157: 435-48.
29. Skoumal M, Kolarz G, Haberhauer G, et al. Osteoprotegerin and the receptor activator of NF-kappa B ligand in the serum and synovial fluid. A comparison of patients with longstanding rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2005; 26: 63-9.
30. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, et al. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel diseases and relates to the state or bone loss. *Gut* 2005; 54: 479-87.
31. Mori K, Le Goff B, Berreur M, et al. Human osteosarcoma cells express functional receptor activator of nuclear factor-kappa B. *J Pathol* 2007; 211: 555-62.
32. Rouster-Stevens KA, Klein-Gitelman MS. Bone health in pediatric rheumatic disease. *Curr Opin Pediatr* 2005; 17: 703-8.
33. Galluzzi F, Stagi S, Salti R, et al. Osteoprotegerin serum levels in children with type 1 diabetes: a potential modulating role in bone status. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 879-85.
34. Franchimont N, Reenaers C, Lambert C, et al. Increased expression of receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL), its receptor RANK and its decoy receptor osteoprotegerin in the colon of Crohn's disease patients. *Clin Exp Immunol* 2004; 138: 491-8.
35. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260-8.
36. Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1059-66.
37. Lewiecki EM. RANK ligand inhibition with denosumab for the management of osteoporosis. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6: 1041-50.
38. Schwarz EM, Ritchlin CT. Clinical development of anti RANKL therapy. *Arthritis Res Ther* 2007; 9 (Suppl. 1). art. No S7.