

# СИСТЕМА RANK/RANKL/OPG ПРИ МЕТАСТАЗАХ И ПЕРВИЧНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ КОСТЕЙ

**Н.Е. Кушлинский**, член-корреспондент РАМН, профессор,  
**Ю.А. Тимофеев, Е.С. Герштейн**, доктор биологических наук, профессор  
*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*  
**E-mail:** biochimia@mtu-net.ru

*Система RANK/RANKL/OPG — ключевое звено гомеостаза костной ткани. В обзоре рассматриваются основные принципы функционирования данной системы, известные генетические аномалии, затрагивающие ее компоненты, а также описываются клинические состояния, ассоциированные с патологией системы RANK/RANKL/OPG. Обсуждается роль указанной системы в развитии метастазов в кости и при первичных новообразованиях костей.*

**Ключевые слова:** RANK, RANKL, OPG, опухоль, метастазы, кости

## RANK/RANKL/OPG SYSTEM IN BONE METASTASES AND PRIMARY BONE TUMORS

*N.E. Kushlinskii, Yu.A. Timofeev, E.S. Gershtein*  
*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow*

*RANK/RANKL/OPG system — is a key element in bone homeostasis. In this review we depict the basic principles of functioning of this system and known genetical anomalies affecting its components. Also we describe a number of pathological states associated with disorders in RANK/RANKL/OPG system and consider the role of this system in development of bone metastases and in primary bone tumors.*

**Key words:** RANK, RANKL, OPG, tumors, metastases, bones

Система RANK/RANKL/OPG — ключевой регулятор гомеостаза костной ткани. Кость — динамическая ткань, которая постоянно преобразуется под воздействием механических стрессов и гормональных изменений [1]. Нарушения системы RANK/RANKL/OPG участвуют в развитии ряда патологических процессов, связанных с ремоделированием костной ткани, а также онкологическими процессами.

Клетками, отвечающими за контроль костного ремоделирования, являются остеобласты, ответственные за производство нового костного вещества, и остеокласты — специализированные клетки гемopoэтического происхождения, отвечающие за резорбцию неорганического и органического костного матрикса. Функции остеобластов и остеокластов в нормальной костной ткани скоординированы.

Активность остеокластов регулируется множеством цитокинов, включая интерлейкины (ИЛ) 1, 6 и 11, колониестимулирующими факторами, кальцитропными гормонами, в том числе паратиреоидным гормоном (PTH), 1,25-дигидроксивитамином D<sub>3</sub>, кальцитонином [2].

Относительно недавно было показано, что ключевым молекулярным звеном в формировании, функционировании и выживании остеокластов является система рецептора активатора ядерного транскрипционного фактора каппа В (RANK), его лиганда RANKL и остеопротегерина (OPG) [3]. RANKL яв-

ляется членом суперсемейства лигандов фактора некроза опухолей (ФНО; TNF), а RANK — рецептором, родственным рецептору ФНО (TNFR) [4].

Взаимодействие RANKL, экспрессируемого костными стромальными клетками остеобластной линии, и RANK, экспрессируемого предшественниками остеокластов миелоидного происхождения, необходимо для дифференцировки, выживания и активации остеокластов. В экспериментах на моделях подавление как RANK, так и RANKL приводило к значительному остеопетрозу в результате недостаточности остеокластов, а также нарушению резорбции кости [5]. Взаимодействие между RANK и RANKL стимулирует остеокластогенез посредством активации ряда транскрипционных факторов [6, 7].

Другой член суперсемейства TNFR — OPG экспрессируется остеобластами, способен связывать RANKL и, таким образом, является рецепторной ловушкой для данного лиганда. OPG — это растворимый рецептор. Решающая его роль в остеокластогенезе и ремоделировании костной ткани впервые показана на модели трансгенных мышей с чрезмерной экспрессией OPG, у которых наблюдалось увеличение массы костной ткани в результате снижения количества остеокластов. Следовательно, взаимодействие RANKL и OPG ингибирует пролиферацию остеокластов, их дифференцировку, что в конечном

итоге предотвращает резорбцию костной ткани. Механизм действия системы RANK/RANKL/OPG отображен на рис. 1.

Сохранение точного и сбалансированного взаимодействия RANK, RANKL и OPG критично для остеокластогенеза и, как следствие, поддержания гомеостатического ремоделирования костной ткани. Полагают, что данный сигнальный путь может быть нарушен в ходе таких процессов, как остеопороз или опухольиндуцированное разрушение костной ткани.

### СЫВОРОТОЧНЫЙ OPG И РАСТВОРИМАЯ ФОРМА RANKL (SRANKL)

OPG является гликопротеином, который циркулирует в крови в форме мономера или гомодимера и может быть связан с RANKL. Он продуцируется различными тканями и органами, включая костную ткань, кожу, желудок, кишечник, легкие, сердце и плаценту [8], поэтому сывоточные концентрации OPG могут неточно отражать его уровень в пораженной кости. Стандартные иммуноферментные тест-системы обнаруживают все формы циркулирующих фрагментов OPG [9]. В свою очередь, методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), способны выявлять только гомодимерные формы OPG [10].

Сывороточный уровень OPG и RANKL зависит также от ряда физиологических факторов, таких, как время суток, возраст, пол, менопаузный статус, что влияет на интерпретацию результатов определения данного фактора [11]. Некоторые исследователи по-

казали, что уровень OPG в сыворотке крови увеличивается с возрастом как у женщин, так и у мужчин [12]. Уровень OPG у женщин с остеопорозом выше, чем в контрольной группе (обследованные такого же возраста и пола без остеопороза) [13, 14]. Уровень OPG может быть значительно повышен у пациентов, находящихся на хроническом гемодиализе. В свою очередь, гормональные изменения в течение беременности и лактации приводят к снижению концентрации OPG в сыворотке крови и могут обуславливать ускоренное ремоделирование костной ткани в данных физиологических условиях [15]. При этом какими бы ни были ассоциации между сывоточным OPG и RANKL, изменения их уровня противоположны по характеру [16, 17].

В целом клиническое значение определения OPG и RANKL может быть ограничено методологическими сложностями, в результате чего уровень данных факторов в сыворотке может не отражать таковой в ткани. С другой стороны, определение OPG и RANKL в сыворотке крови может применяться для исследований различных групп патологий, в то время как их значимость для обследования отдельных пациентов еще предстоит исследовать [18].

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ RANK/RANKL/OPG

Мутации гена, кодирующего OPG, могут приводить к аномалиям связывания RANKL, в результате чего развиваются заболевания с рядом специфических фенотипических проявлений [19]. Например, ювенильная болезнь Педжета (JPD) – редкое аутомно-рецессивное заболевание, проявляющееся в раннем детстве деформациями костной ткани, нарушениями слуха, аномалиями развития зубов разной выраженности. Данная патология может быть следствием инактивирующей мутации в гене, кодирующем OPG – *TNFRSF11B*, локализованном в хромосоме 8q24.2. В результате мутации, наблюдаемой в наиболее тяжелых случаях, аминокислотные остатки цистеина в OPG предположительно взаимодействуют с лигандсвязывающим доменом. При менее тяжелых формах JPD могут присутствовать мутации, связанные с другими аминокислотными остатками, кроме цистеина. В свою очередь, делеции и инсерции 5 экзона данного гена наблюдаются при мягких формах данной патологии [20].

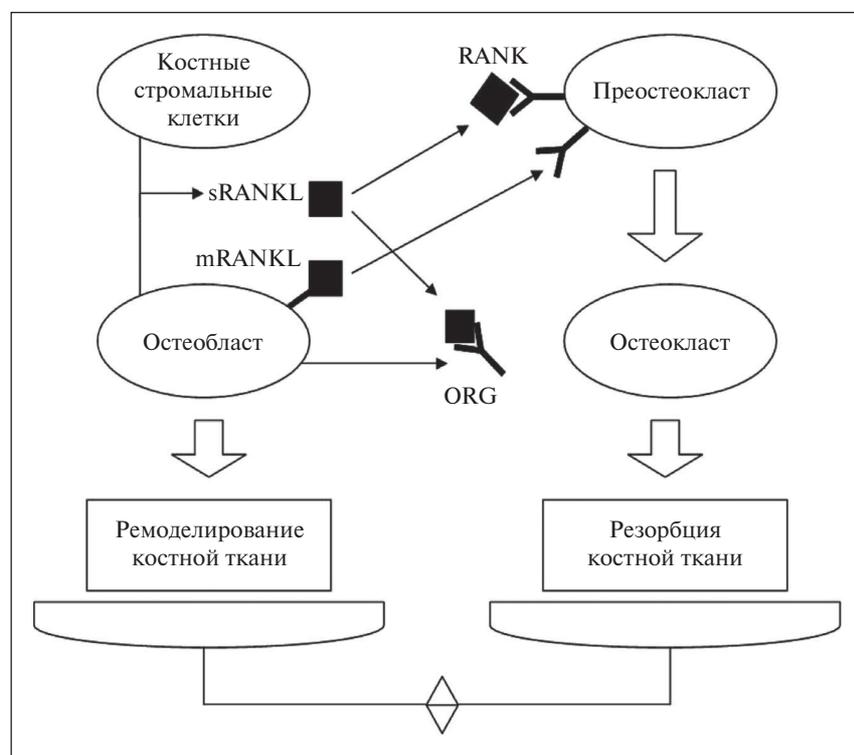


Рис. 1. Схема действия системы RANK/RANKL/OPG

RANK кодируется геном *TNFRSF11A*, локализованным в 18 хромосоме. Мутации данного гена могут поражать сигнальный пептидный участок белка RANK, в результате в структуре пептида происходит усиление сигнальной функции данного рецептора [21]. Описываемая активирующая мутация может проявляться в следующих патологических состояниях:

1) ранняя костная болезнь Педжета (PDB2) – гетерогенное аутосомно-доминантное нарушение скелета, которое характеризуется деформацией костей, нарушениями слуха, стоматологическими проблемами. Скелетные проявления могут манифестировать в возрасте до 10 лет и прогрессировать в течение всей жизни. Генетическая природа этой патологии заключается в наличии тандемной дупликации 27-bp в гене *TNFRSF11A*;

2) экспансильная (расширяющаяся) скелетная гиперфосфатемия – аутосомно-доминантное нарушение, проявляющееся ранними дефектами развития зубов, болью в костях в результате ускоренного обновления костной ткани, а также эпизодической гиперкальциемией [22]. Скелетные симптомы начинаются в пубертатном периоде и прогрессируют до среднего возраста. Генетическая причина данного состояния заключается в наличии тандемной дупликации 15-bp в гене *TNFRSF11A*, кодирующем RANK [23];

3) семейный экспансильный остеолит – аутосомно-доминантное заболевание, которое проявляется с раннего детства до раннего зрелого возраста нарушениями слуха. Остеопения и аномалии зубов наблюдаются при данной патологии реже. Генетической причиной данной аномалии является активирующая мутация, заключающаяся в тандемной дупликации 18-bp в гене, кодирующем RANK [24].

Генетические нарушения в системе RANK/RANKL/OPG отображены в табл. 1.

#### КЛИНИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ИЗМЕНЕНИЕМ СИСТЕМЫ RANK/RANKL/OPG

Существует ряд состояний, при которых данная система играет значительную роль в патогенезе. Первое из таких состояний – **постменопаузальный остеопороз**. В экспериментах *in vitro* на клеточных линиях человеческих остеобластов получено зависимое от дозы и времени воздействия увеличение мРНК OPG в ответ на введение  $17\beta$ -эстрадиола [25]. Показано, что применение OPG способно предотвращать потерю костной массы у крыс с удаленными яичниками [26]. Кроме того, повышенная экспрессия RANKL выявлена в костной ткани женщин в постменопаузе, не получавших заместительную терапию (в сравнении с таковой при проведении терапии эстрогенами) [27].

Критическая роль системы RANK/RANKL/OPG при **глюкокортикоидиндуцированном остеопорозе** показана в клинических исследованиях у пациентов с болезнью Крона и гломерулонефритом, леченных глюкокортикоидами. Соотношение RANK/OPG в сыворотке крови у них было достоверно повышено, и эти изменения коррелировали с повышением уровня сывороточных маркеров костной резорбции и соответствующих маркеров в моче [28, 29].

Дисбаланс системы RANK/RANKL/OPG может быть вовлечен и в процессы кальцификации при атеросклерозе [30]. У мышей с отключенным геном OPG выявлены накопления кальция в аорте и почечных артериях. С другой стороны, повышенная экспрессия RANK и RANKL обнаружена в кальцифицированных артериях на моделях млекопитающих. Согласно некоторым авторам [31], возрастание сывороточной концентрации OPG в старшем возрасте может являться адаптивным механизмом, с помощью которого осуществляется контроль кальцификации сосудов.

Система RANK/RANKL/OPG также вовлечена в развитие ревматоидного артрита. Показано [32], что

Таблица 1

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С СИСТЕМОЙ RANK/RANKL/OPG

Заболевание	Генетическая природа	Клинические проявления
Ювенильная болезнь Педжета (JPD)	Аутосомно-рецессивный тип наследования. Хромосома 8q24.2. Делеция в гене <i>TNFRSF11B</i>	Нарушения слуха, остеопения длинных костей, нарушения крупной моторики, деформация костей, гиперкальциурия
Ранняя костная болезнь Педжета (PDB2)	Аутосомно-доминантный тип наследования. Хромосома 18q21-22. Инсерционная мутация 27-bp в <i>TNFRSF11A</i>	Аномалии развития зубов, нарушения слуха в раннем возрасте, боль и деформации в области таза, гиперкальциемия
Экспансильная скелетная гиперфосфатемия	Аутосомно-доминантный. Хромосома 18q21-22. Инсерционная мутация 15-bp в <i>TNFRSF11A</i>	Ранняя глухота, ранняя потеря зубов, деформации лица, генерализованные боли в скелете, деформации пальцев, эпизодическая гиперкальциемия
Экспансильный семейный остеолит	Аутосомно-доминантный. Хромосома 18q21-22. Инсерционная мутация 18-bp в <i>TNFRSF11A</i>	Глухота в детстве, дефекты зубов, боль в области костей, деформации

в синовиальной жидкости пациентов с этим заболеванием Т-лимфоциты способны экспрессировать RANKL в местах резорбции костей. Повышенный уровень растворимого лиганда sRANKL и OPG выявлен и в сыворотке крови больных ревматоидным артритом, при этом он нормализовался после проведения анти-ФНО-терапии [33].

#### РОЛЬ СИСТЕМЫ RANK/RANKL/OPG В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И МЕХАНИЗМАХ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Нарушения баланса костного ремоделирования и формирования остеокластов лежат в основе патологических процессов, ассоциированных с опухолевым ростом, таких, как разрушение костей, развитие метастазов, прогрессирование опухоли и т.д. Сигналы, нарушающие баланс RANKL/OPG, могут быть крайне разнообразными и зависеть от типа опухоли, поражающей кость, а также от индивидуальных особенностей конкретной опухоли [34]. При этом все многообразие сигналов в итоге приводит к усилению остеокластогенеза и разрушению костной ткани в результате активности RANKL-сигнального пути. Различные цитокины и молекулярные факторы, такие, как ИЛ1 $\beta$ , 6, 8, 11, 17, макрофагальный воспалительный протеин 1 $\alpha$ , ФНО $\alpha$ , РТНгР, простагландин Е, способны усиливать продукцию RANKL стромальными клетками костного микроокружения, включая клетки остеобластов. В свою очередь, продукция опухолью рецептора OPG, выполняющего функцию ловушки для RANKL, может быть понижена путем уменьшения синтеза данного рецептора или активации его деградации [35].

Некоторые факторы при метастатическом поражении костей могут оказывать двойной эффект на соотношение RANKL/OPG. РТНгР, ИЛ1, простагландин Е<sub>2</sub> способны стимулировать активность остеокластов в костной строме как путем усиления действия RANKL, так и за счет снижения уровня OPG. Источником RANKL при костных метастазах могут также служить Т-лимфоциты [36, 37]. Например, клетки множественной миеломы могут индуцировать усиление продукции RANKL Т-лимфоцитами [38]. Однако немногочисленные доказательства влияния Т-лимфоцитов на развитие метастатического поражения костей получены только на предклинических моделях. Увеличение содержания RANKL, которое ведет к опухольиндуцируемому остеокластогенезу, не лимитируется клетками иммунной системы.

Экспрессия RANKL обнаружена при раке молочной железы (РМЖ), раке предстательной железы (РПЖ), почки и множественной миеломе. Продуцируемый опухолевыми клетками RANKL способен усиливать процессы остеокластогенеза *in vitro* [39], что позволяет предположить возможность прямого влияния опухолевых клеток, локализованных в костной ткани, на остеокластогенез. Повышение уров-

ня RANKL наблюдали в клеточных линиях опухоли предстательной железы, обработанных TGF- $\beta$  [40]. Связь между высокой экспрессией RANKL при первичных опухолях и уровнем метастазирования описана для пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой [41]. Высокое соотношение RANKL/OPG в сыворотке крови у пациентов с множественной миеломой соответствовало более значительному метастатическому поражению костей, что может говорить как о повышенной продукции RANKL клетками опухоли, так и о системной природе данного заболевания [42].

Изучение функциональных связей RANKL и опухольиндуцированных поражений костей проводили в экспериментальных исследованиях на крысах с помощью ингибиторов RANKL – таких, как OPG и RANK-Фс. Ингибирование RANKL было изучено на моделях различных типов опухолей (множественная миелома, РМЖ, РПЖ, рак легких, ободочной кишки и т.д.); практически во всех случаях было отмечено уменьшение очагов опухольиндуцированного поражения костей. Блокада RANKL также снижала выраженность других связанных с опухолью состояний, таких, как боль в костях [43] и гиперкальциемия [44]. Ингибирование RANKL у животных с костными метастазами приводило к уменьшению опухольассоциированного воспаления, снижению пролиферации опухолевых клеток, усилению апоптоза, а также увеличению сроков выживаемости [45, 46].

В эксперименте на животных также довольно хорошо изучена роль RANKL в развитии отдаленных метастазов, причем не только костных. Так, ингибирование RANKL посредством RANK-Фс приводило к снижению частоты образования спонтанных метастазов в легкие у трансгенных мышей MMTV-neu [47]. Снижение метастазирования в кости и легких описано у животных с RANK-позитивной меланомой. Описан также и противоположный эффект; он наблюдался у мышей с повышенным уровнем RANKL и трансплантированными опухолевыми клетками (RANKL-позитивный человеческий РМЖ, полученный от мышей MMTV-neu) [48].

Анализ экспрессии RANK и воздействие с помощью RANKL на клетки *in vitro* показали наличие функциональной экспрессии этого рецептора на поверхности клеток РПЖ, РМЖ, меланомы, а также остеосаркомы. В большинстве подобных исследований RANKL не увеличивал пролиферативную активность RANK-экспрессирующих клеток [49], однако при РМЖ наблюдали увеличение количества клеток в результате защиты от индуцированной повреждением ДНК (в результате химиотерапии или  $\gamma$ -излучения) клеточной смерти [50].

Взаимосвязь системы RANK/RANKL/OPG с другими клеточными системами отображена на рис. 2.

Примечательно, что воздействие RANKL на некоторые клеточные линии приводит к активации факторов, ответственных за миграцию, инвазию и

метастазирование. Так, воздействие RANKL на вызванные РМЖ остеолитические поражения приводило к индукции таких факторов, как матриксные металлопротеиназы 1 и 9; фактор, индуцирующий матриксные металлопротеиназы EMMPRIN/CD47; ICAM-1, ИЛ6, ИЛ8, а также фактор роста эндотелия – VEGF [51]. В свою очередь, воздействие RANKL на клетки костных метастазов РПЖ способствовало снижению экспрессии супрессора метастазов serpin 5b/maspin [52].

RANKL-зависимое усиление миграции и инвазии опухолевых клеток, наблюдавшееся в описанных выше экспериментах, может приводить и к развитию отдаленных метастазов *in vivo*. В то же время усиление экспрессии RANK линиями опухолевых клеток не является обязательным условием для их метастазирования в кости у экспериментальных животных. Точные механизмы, при которых уменьшаются показатели метастазирования при ингибировании RANKL, до сих пор изучены недостаточно.

Целенаправленное воздействие на RANKL для ингибирования опухолиндуцированных остеокластов на предклинических моделях открывает некоторые возможности для лечения скелетных осложнений злокачественных опухолей, включая метастазирование в кости. Для выяснения действия ингибиторов остеокластов полезна оценка фармакодинамики маркеров костной резорбции, таких, как N-телопептид коллагена I типа (NTX), повышенный уровень которого ассоциируется с более значительным риском метастазирования в кости и более высокой смертностью пациентов [53].

Одним из первых антагонистов RANKL является рекомбинантный OPG (Fc-OPG, Amgen). Впервые эффект этого ингибитора RANKL продемонстрирован у пациентов с множественной миеломой и РМЖ, осложненными поражением костей. В ходе лечения отмечали снижение уровня биомаркеров резорбции (включая uNTX/Cr), однако дальнейшее клиническое использование Fc-OPG не получило развития из-за сравнительно короткого периода полураспада препарата, а также возможного риска активации иммунного ответа на эндогенный OPG [54]. Был разработан другой препарат OPG – CEP-37251 (Cephalon), однако и его исследование I фазы не увенчалось успехом [55].

Антитела к RANKL – ALX-0141 (Ablynx) были протестированы в клиническом исследовании I фазы у здоровых женщин в постменопаузе [56], а полностью

человеческие антитела к RANKL – Denosumab (AMG 162), обладающие высокой селективностью к человеческому RANKL, в ходе клинического исследования I фазы приводили к снижению маркеров костной резорбции (uNTX/Cr), а также не вызвали серьезных побочных эффектов. Исследования II фазы препарата Denosumab показали его эффективность и безопасность у больных РМЖ, осложненным поражением костей, а также при костных метастазах РПЖ и множественной миеломе [57].

В ряде исследований для лечения пациентов с метастатическим поражением костей при РМЖ [58], РПЖ [59], множественной миеломе [60] применяли золедроновую кислоту (ZA), сравнивая ее с препаратом Denosumab. Во всех 3 исследованиях выживаемость пациентов в группах, получавших Denosumab и ZA, оказалась практически одинаковой. Почти не различался также уровень побочных эффектов, однако проявления, потенциально связанные с нефротоксичностью, чаще встречались у больных, получавших ZA, а при применении Denosumab чаще наблюдалась гипокальциемия.

#### СИСТЕМА RANK/RANKL/OPG ПРИ ПЕРВИЧНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ КОСТЕЙ

Первичные и вторичные опухоли костей – крайне серьезная и трудная в диагностике и лечении группа новообразований, патогенез которых связан с уникальными особенностями костной ткани и параметрами костной микросреды. Система RANK/RANKL/OPG как ключевой регулятор костного ремоделирования открывает новую эру в изучении опухолей костей.

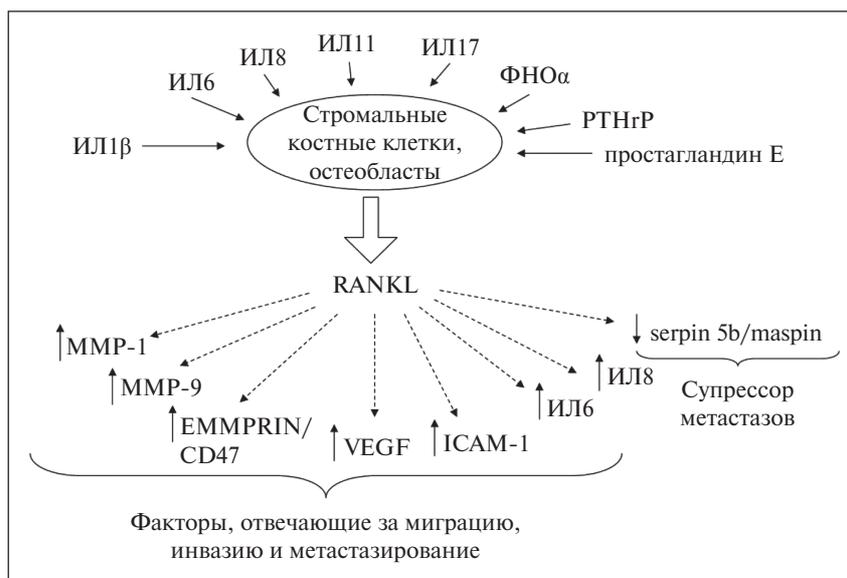


Рис. 2. Взаимосвязь системы RANK/RANKL/OPG с другими молекулярными факторами

Остеосаркома — одна из самых распространенных злокачественных опухолей костей, поражающая людей молодого возраста и характеризующаяся крайне неблагоприятным прогнозом. Роль системы RANK при остеосаркоме изучена недостаточно, однако влияние клеток последней на функцию остеокластов позволяет предположить тесную связь между агрессивностью остеосаркомы и активностью остеокластов.

В культуре клеток остеосаркомы MG63 выявлена высокая экспрессия факторов, отвечающих за остеокластогенез — M-CSF и RANKL. Примечательно, что клетки линии MG63 продемонстрировали способность паракринно индуцировать остеокластогенную активность. Понимание механизмов, лежащих в основе данного явления, может быть раскрыто в процессе изучения системы RANK/RANKL/OPG [61].

На мышиных моделях показано влияние OPG на развитие остеосаркомы. Введение OPG способствовало снижению роста опухоли и ассоциированного с опухолью воспаления, причем опухолевые клетки, использованные в данных экспериментах, экспрессировали RANKL [62]. Впоследствии те же авторы проанализировали профиль экспрессии мРНК и белков в клетках остеогенной саркомы человека *in vitro* с использованием полученных *ex vivo* патологических тканей для оценки функциональной активности молекулярных путей, модулируемых RANKL. С помощью реакции ОТ-ПЦР, а также иммуногистохимического окрашивания была показана экспрессия RANK в линиях человеческой остеосаркомы MNNG/HOS, Saos-2 и MG-63, однако в клетках остеосаркомы линии U-2 она отсутствовала. При анализе биоптатов больных остеосаркомой обнаружена также экспрессия RANK. Проведенный затем иммуноблоттинг показал значительную функциональную активность RANK, выразившуюся в индукции в клетках остеосаркомы под действием RANKL фосфорилирования таких внутриклеточных сигнальных белков, как ERK1/2, p38, IκB. Подобные изменения выявлены в RANK-позитивных клетках остеосаркомы и являются свидетельством вовлеченности системы RANK/RANKL/OPG в патогенез первичных новообразований костей [63].

Целенаправленное воздействие на данную систему изучали на моделях млекопитающих [64], используя в качестве ингибитора RANKL малые интерферирующие РНК (Rkl-siRNA), которые тестировали на моделях остеосаркомы на иммунокомпетентных и бестимусных мышах. Внутриопухолевое введение siRNA в комбинации с катионной липосомой RPR209120/DOPE обуславливало локальное и системное снижение продукции RANKL и защиту костной ткани от ассоциированного с опухолью остеолитического действия. В то же время отдельное введение siRNA не оказывало значимого эффекта на развитие опухоли в изучаемых моделях. Однако при использовании комбина-

ции siRNA с ифосфамидом наблюдалось значимое снижение прогрессирования опухоли по сравнению с ситуацией при изолированном введении ифосфамида. Таким образом, siRNA, доставляемые посредством катионных липосом, способны ингибировать продукцию RANKL на экспериментальных моделях остеосаркомы [64], однако эти данные нуждаются в основательной клинической проверке.

J. Lee и соавт. изучена связь экспрессии RANKL с эффективностью лечения больных остеосаркомой высокой степени злокачественности. В исследовании участвовали 40 пациентов с локализованной высокозлокачественной остеосаркомой, у которых были взяты образцы тканей до лечения. У 75% больных наблюдали экспрессию RANKL в опухоли, причем у 50% она достигала высокой степени ( $\geq 4$ ). При этом ее уровень не был связан с возрастом и полом пациентов, локализацией опухоли, ее объемом и морфологическим типом, однако выявлена достоверная связь между высоким уровнем экспрессии RANKL и слабым ответом на последующую неоадьювантную химиотерапию. Кроме того, высокий уровень экспрессии RANKL был связан с более низкой 5-летней выживаемостью [65].

Другим новообразованием, при котором изучали роль системы RANK/RANKL/OPG, была саркома Юинга — первичная злокачественная мелкокруглоклеточная опухоль кости, способная вызывать быстрый и интенсивный остеолитический процесс. Клеточные механизмы, лежащие в основе данного явления, до сих пор остаются малоизученными. В исследовании, проведенном R. Taylor и соавт. [66] на культуре клеток саркомы Юинга, показано, что лакунарная резорбция обусловлена не CD99-положительными опухолевыми клетками, а CD68-положительными макрофагами и остеокластоподобными клетками, причем в отсутствие RANKL. Иммуногистохимически и с помощью ОТ-ПЦР показано, что клетки саркомы Юинга способны экспрессировать собственный RANKL, а также макрофагальный колониестимулирующий фактор M-CSF, вырабатывая, таким образом, аутокринно 2 основных остеокластогенных фактора. Эти данные позволяют предположить, что клетки саркомы Юинга не оказывают резорбционного действия на костную ткань напрямую, а усиливают формирование остеокластов посредством активации системы RANKL.

Экспрессия RANKL и RANK в тканях человеческой хондросаркомы выше, чем в неизменной хрящевой ткани. На культуре клеток хондросаркомы JJ012 получены данные, согласно которым RANKL отвечает за миграцию клеток хондросаркомы, а также за повышение экспрессии  $\beta 1$ -интегрина на клеточной поверхности. В свою очередь введение ингибиторов MAP-киназы (MEK) — PD98059 или U012 — приводило к ингибированию RANKL-опосредованной миграции. Стимуляция клеток хондросаркомы с помощью RANKL обуславливала усиление фос-

форилирования ключевых молекул клеточных сигнальных путей – МЕК и ERK. На основании этого можно предполагать, что в клетках хондросаркомы RANKL действует через MAP-киназный сигнальный путь, который в свою очередь активирует ИКК $\alpha/\beta$  и NF $\kappa$ B. Происходящая в результате этого активация  $\beta$ 1-интегрин в конечном счете и усиливает миграцию клеток хондросаркомы [67]. Повышенную экспрессию RANKL, OPG и RANK также наблюдали в многоядерных гигантских клетках аневризальной костной кисты [68].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система RANK/RANKL/OPG – важное звено ряда патологических процессов, в том числе и онкологических заболеваний, сопровождающихся поражением костной ткани. Изучение роли данной системы при первичных новообразованиях костей остается актуальной задачей для исследования на клиническом материале, а также открывает перспективы для разработки новых методов диагностики и молекулярно-направленного химиотерапевтического лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

- ASBMR Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral and metabolism. 6th ed. Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research. – 2008; 537.
- Suda T., Takahashi N., Martin T. Modulation of osteoclast differentiation // *Endocr. Rev.* – 1992; 13: 66–80.
- Dougall W. Molecular Pathways: Osteoclast-Dependent and Osteoclast-Independent Roles of the RANKL/RANK/OPG Pathway in Tumorigenesis and Metastasis // *Clin. Cancer Res.* – 2012; 18: 326–35.
- Kang Y., Siegel P., Shu W. et al. A multi-genic program mediating breast cancer metastasis to bone // *Cancer Cell.* – 2003; 3: 537–49.
- Manolagas S. Choreography from the tomb: an emerging role of dying osteocytes in the purposeful, and perhaps not so purposeful, targeting of bone remodeling // *BoneKey-Osteovision.* – 2006; 3: 5–14.
- Blair J., Zheng Y., Dunstan C. RANK ligand // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2007; 39: 1077–81.
- Hsu H., Lacey D., Dunstan C. et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999; 96: 3540–45.
- Simonet W., Lacey D., Dunstan C. et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density // *Cell.* – 1997; 89: 309–19.
- Hannon R., Eastell R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover // *Osteoporos. Int.* – 2001; 1 (Suppl. 6): 30–40.
- Furuya D., Kaneko R., Yagihashi A. et al. Immuno-PCR assay for homodimeric osteoprotegerin // *Clin. Chem.* – 2001; 47: 1475–77.
- Hawa G., Brinskele-Schmal N., Glatz K. et al. Immunoassay for soluble RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand) in serum // *Clin. Lab.* – 2003; 49: 461–63.
- Kudlacek S., Schneider B., Woloszczuk W. et al. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population // *Bone.* – 2003; 32: 681–86.
- Grigorie D., Neacsu E., Marinescu M., Popa O. Circulating osteoprotegerin and leptin levels in postmenopausal women with and without osteoporosis // *Rom. J. Intern. Med.* – 2003; 41: 409–15.
- Riggs B., Khosla S., Atkinson E. et al. Evidence that type I osteoporosis results from enhanced responsiveness of bone to estrogen deficiency // *Osteoporos. Int.* – 2003; 14: 728–33.
- Uemura H., Yasui T., Kiyokawa M. et al. Serum osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor during pregnancy and lactation and the relationship with calcium-regulating hormones and bone turnover markers // *J. Endocrinol.* – 2002; 174: 353–59.
- Jorgensen H., Kusk P., Madsen B. et al. Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the OPG promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios // *J. Bone Miner. Metab.* – 2004; 22: 132–38.
- Scheft G., Kiechl S., Redlich K. et al. Soluble RANKL and risk of nontraumatic fracture // *JAMA.* – 2004; 291: 1108–13.
- Vega D., Maalouf N., Sakhaee K. The Role of Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B (RANK)/RANK Ligand/Osteoprotegerin: Clinical Implications // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007; 92 (12): 4514–21.
- McKusick V. Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11B; TNFRSF11B. In: Online Mendelian inheritance in man. Baltimore, MD: Johns Hopkins University, 2007.
- Whyte M., Obrecht S., Finnegan P. et al. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease // *N. Engl. J. Med.* – 2002; 347: 175–84.
- Hughes A., Ralston S., Marken J. et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile-osteolysis // *Nat. Genet.* – 2000; 24: 45–8.
- Whyte M., Mills B., Reinus W. et al. Expansile skeletal hyperphosphatasia: a new familial metabolic bone disease // *J. Bone Miner. Res.* – 2000; 15: 2330–44.
- Whyte M., Hughes A. Expansile skeletal hyperphosphatasia is caused by a 15-base pair tandem duplication in TNFRSF11A encoding RANK and is allelic to familial expansile osteolysis // *J. Bone Miner. Res.* – 2002; 17: 26–9.
- Whyte M., Reinus W., Podgornik M., Mills B. Familial expansile osteolysis (excessive RANK effect) in a 5-generation American kindred // *Medicine.* – 2002; 81: 101–21.
- Jilka R. Cytokines, bone remodeling, and estrogen deficiency: a 1998 update // *Bone.* – 1998; 23: 75–81.
- Hofbauer L., Khosla S., Dunstan C. et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells // *Endocrinology.* – 1999; 140: 4367–70.
- Eghbali-Fatourehchi G., Khosla S., Sanyal A. et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women // *J. Clin. Invest.* – 2003; 111: 1221–30.
- von Tirpitz C., Epp S., Klaus J. et al. Effect of systemic glucocorticoid therapy on bone metabolism and the osteoprotegerin system in patients with active Crohn's disease // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2003; 15: 1165–70.
- Sasaki N., Kusano E., Ando Y. et al. Changes in osteoprotegerin and markers of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis // *Bone.* – 2002; 30: 853–58.
- Pennisi P., Signorelli S., Riccobene S. et al. Low bone density and abnormal bone turnover in patients with atherosclerosis of peripheral vessels // *Osteoporos. Int.* – 2004; 15: 389–95.
- Min H., Morony S., Sarosi I. et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis // *J. Exp. Med.* – 2000; 192: 463–74.
- Shigeyama Y., Pap T., Kunzler P. et al. Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* – 2000; 43: 2523–30.
- Ziolkowska M., Kurowska M., Radzikowska A. et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after antitumor necrosis factor treatment // *Arthritis Rheum.* – 2002; 46: 1744–53.
- Mundy G. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002; 2: 584–93.
- Roodman G., Dougall W. RANK ligand as a therapeutic target for bone metastases and multiple myeloma // *Cancer Treat. Rev.* – 2008; 34: 92–101.
- Anderson D., Maraskovsky E., Billingsley W. et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function // *Nature.* – 1997; 390: 175–9.
- Totsuka T., Kanai T., Nemoto Y. et al. RANK-RANKL signaling pathway is critically involved in the function of CD4+CD25+regulatory T cells in chronic colitis // *J. Immunol.* – 2009; 182: P. 6079–87.
- Giuliani N., Colla S., Sala R. et al. Human myeloma cells stimulate the receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) in T lymphocytes: a potential role in multiple myeloma bone disease // *Blood.* – 2002; 100: 4615–21.
- Zhang Y., Heulsmann A., Tondravi M. et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF) stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis via coupling of TNF type 1 receptor and RANK signaling pathways // *J. Biol. Chem.* – 2001; 276: 563–8.

40. Zhang J., Lu Y., Dai J. et al. *In vivo* realtime imaging of TGF-beta-induced transcriptional activation of the RANK ligand gene promoter in intrasosseous prostate cancer // *Prostate*. – 2004; 59: 360–9.
41. Sasaki A., Ishikawa K., Haraguchi N. et al. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) expression in hepatocellular carcinoma with bone metastasis // *Ann. Surg. Oncol.* – 2007; 14: 1191–9.
42. Terpos E., Szydlo R., Apperley J. et al. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index // *Blood*. – 2003; 102: 1064–9.
43. Honore P., Luger N., Sabino M. et al. Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord // *Nat. Med.* – 2000; 6: 521–8.
44. Capparelli C., Kostenuik P., Morony S. et al. Osteoprotegerin prevents and reverses hypercalcemia in a murine model of humoral hypercalcemia of malignancy // *Cancer Res.* – 2000; 60: 783–7.
45. Miller R., Roudier M., Jones J. et al. RANK ligand inhibition plus docetaxel improves survival and reduces tumor burden in a murine model of prostate cancer bone metastasis // *Mol. Cancer Ther.* – 2008; 7: 2160–9.
46. Zheng Y., Zhou H., Brennan K. et al. Inhibition of bone resorption, rather than direct cytotoxicity, mediates the anti-tumour actions of ibandronate and osteoprotegerin in a murine model of breast cancer bone metastasis // *Bone*. – 2007; 40: 471–8.
47. Tan W., Zhang W., Strasner A. et al. Tumour-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling // *Nature*. – 2011; 470: 548–53.
48. Jones D., Nakashima T., Sanchez O. et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL // *Nature*. – 2006; 440: 692–6.
49. Armstrong A., Miller R., Jones J. et al. RANKL acts directly on RANK-expressing prostate tumor cells and mediates migration and expression of tumor metastasis genes // *Prostate*. – 2008; 68: 92–104.
50. Schramek D., Leibbrandt A., Sigl V. et al. Osteoclast differentiation factor RANKL controls development of progesterin-driven mammary cancer // *Nature*. – 2010; 468: 98–102.
51. Rucci N., Millimaggi D., Mari M. et al. Receptor activator of NF-kappaB ligand enhances breast cancer-induced osteolytic lesions through upregulation of extracellular matrix metalloproteinase inducer/CD147 // *Cancer Res.* – 2010; 70: 6150–60.
52. Luo J., Tan W., Ricono J. et al. Nuclear cytokine-activated IKKalpha controls prostate cancer metastasis by repressing Maspin // *Nature*. – 2007; 446: 690–4.
53. Coleman R., Major P., Lipton A. et al. Predictive value of bone resorption and formation markers in cancer patients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid // *J. Clin. Oncol.* – 2005; 23: 4925–35.
54. Body J., Greipp P., Coleman R. et al. A phase I study of AMG-007, a recombinant osteoprotegerin construct, in patients with multiple myeloma or breast carcinoma related bone metastases // *Cancer*. – 2003; 97: 887–92.
55. Clinical Trials. Gov. Bethesda (MD): NIH. Single ascending-dose study to characterize the safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of CEP-37251 in healthy postmenopausal women 2010 // Available from: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01159873>.
56. van de Wetering de Rooij J., Lyssens C., ten Holder S. et al. Safety, pharmacokinetics and efficacy of anti-RANKL nanobody ALX-0141 in healthy postmenopausal women // *Ann. Rheum. Dis.* – 2011; 70 (3): 136.
57. Fizazi K., Lipton A., Mariette X. et al. Randomized phase II trial of denosumab in patients with bone metastases from prostate cancer, breast cancer, or other neoplasms after intravenous bisphosphonates // *J. Clin. Oncol.* – 2009; 27: 1564–71.
58. Stopeck A., Lipton A., Body J. et al. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study // *J. Clin. Oncol.* – 2010; 28: 5132–9.
59. 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 randomized, double-blind study // *Lancet*. – 2011; 377: 813–22.
60. Henry D., Costa L., Goldwasser F. et al. Randomized, double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate cancer) or multiple myeloma // *J. Clin. Oncol.* – 2011; 29: 1125–32.
61. Costa-Rodrigues J., Teixeira C., Fernandes M. Paracrine-mediated osteoclastogenesis by the osteosarcoma MG63 cell line: is RANKL/RANK signalling really important? // *Clin. Exp. Metastasis*. – 2011; 29: 505–14.
62. Mori K., Ando K., Heymann D., Rédini F. Receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) stimulates bone-associated tumors through functional RANK expressed on bone-associated cancer cells? // *Histol. Histopathol.* – 2009; 24 (2): 235–42.
63. 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 (5): 555–62.
64. Rousseau J., Escriou V., Lamoureux F. et al. Formulated siRNAs targeting Rankl prevent osteolysis and enhance chemotherapeutic response in osteosarcoma models // *J. Bone Miner. Res.* – 2011; 26 (10): 2452–62.
65. Lee J., Jung J., Kim D. et al. RANKL expression is related to treatment outcome of patients with localized, high-grade osteosarcoma // *Pediatr. Blood Cancer*. – 2011; 56 (5): 738–43.
66. Taylor R., Knowles H., Athanasou N. Ewing sarcoma cells express RANKL and support osteoclastogenesis // *J. Pathol.* – 2011; 225 (2): 195–202.
67. Hsu C., Lin T., Kuo C. et al. Involvement of integrin up-regulation in RANKL/RANK pathway of chondrosarcomas migration // *J. Cell. Biochem.* – 2010 Sep 1; 111 (1): 138–47. doi: 10.1002/jcb.22677.
68. Liu B., Yu S., Li T. Multinucleated giant cells in various forms of giant cell containing lesions of the jaws express features of osteoclasts // *J. Oral. Pathol. Med.* – 2003; 32 (6): 367–75.