
Orsaken till osteoporos – ligger svaret i generna?

CHRISTINE LAINE OCH OUTI MÄKITIE

Osteoporos (benskörhet) karakteriseras av låg bentäthet (BMD) och benkvalitet. Individens BMD, som påverkas starkt av ärftliga faktorer, är den viktigaste riskfaktorn för benbrott. I och med ökad medellivslängd och stora åldersklasser i medelåldern skulle redskap för screening och prevention av benskörhet vara av stort kliniskt och finansiellt värde, men trots intensiv forskning har inga genetiska markörer för kliniskt bruk ännu identifierats. Många underliggande gener har en måttlig inverkan på BMD och dessa gener interagerar med varandra, vilket gör identifikationen av betydande ärftliga varianter svår. Just nu är forskningen mest intensiv kring vissa signalsystem som kontrollerar tillväxt och nedbrytning av benvävnad, t.ex. Wnt-signalsystemet och dess receptor LRP5, vars olika mutationer kan orsaka både nedsatt och förhöjd bentäthet. Målet för forskningen är att hitta pålitliga markörer för kliniskt bruk samt nya möjligheter för utveckling av osteoporosmediciner.

Inledning

Osteoporos (benskörhet) karaktäriseras av minskad benmassa och försämrad benkvalitet som leder till nedsatt benstyrka och en ökad risk för frakturer (1). Upp till 400 000 finländare beräknas ha osteoporos och antalet tenderar att stiga i och med ökad medellivslängd i den finländska befolkningen och vår demografiska struktur (2).

Osteoporos definieras som en bentäthet (BMD, bone mineral density) som underskrider medeltalet i BMD hos unga friska

kontrollpersoner med minst 2,5 standarddeviationer (T-score $\leq -2,5$) (3). Hos barn jämförs resultaten med BMD hos friska barn av samma kön och ålder; då kallas skillnaden Z-score.

Den största delen av benmassan ansamlas under tonåren och toppnivån nås i 20-årsåldern (4). Benmassan minskar därefter gradvis, med en snabbare minskning hos kvinnor efter klimakteriet. Genetiska faktorer spelar en stor roll vid uppkomsten av osteoporos; ärftliga komponenter beräknas förklara upp till 80 procent av variationen i den åldersspecifika bentätheten (5). Kroniska sjukdomar och viss medicinering, t.ex. kortison och antiepileptika, kan försvaga benbyggnaden avsevärt, medan östrogenpreparat fördröjer förlusten av benmassa efter klimakteriet. Faktorer som kan förebygga benskörhet är adekvat intag av kalcium och D-vitamin, fysisk aktivitet och rökfrihet (4, 6).

BMD anses vara den starkaste prognostiska faktorn för frakturrisik. Å andra sidan uppstår upp till två tredjedelar av alla frakturer vid trauma till följd av ett lätt trauma hos patienter som inte fyller osteoporoskriterierna (7). Själva frakturrisiken påverkas även av andra faktorer än BMD, som benkvalitet, fysisk kondition och balans (8). Frakturrisik har påvisats vara en självständig ärftlig variabel; nedärvda drag i benbyggnadens geometri kan alltså påverka benstyrkan trots att BMD inte nöd-

FÖRFATTARNA

ML **Christine Laine** specialiserar sig i invärtes medicin och endokrinologi och arbetar nu vid Folkhälsans genetiska institut på sin doktorsavhandling om ärftlighet inom osteoporos.

Outi Mäkitie är docent i pediatrik vid Helsingfors universitet och överläkare vid Barnendokrinologiska kliniken vid HUCS. Hon leder sjukhusets metaboliska benklinik och hennes forskningsgrupp utreder kliniska och genetiska faktorer vid pediatrika bensjukdomar och osteoporos.

Tabell I.
Kandidatgener för osteoporosbenägenhet
(anpassad från Ralston et Crombrugge, Genes
Dev. 2006 Sep 15;20(18):2492-506).

Kandidatgener för osteoporos

Hormoner, cytokiner och receptorer

Androgenreceptor
Aromatas
Calcium-receptor
Calcitonin-receptor
Fibroblast growth factor (FGF)
Interleukin (IL)-1 α och β
IL-1 receptor antagonist
IL-6
PTH (bisköldkörtelhormon)
PTH-receptor (PTHr1)
PTH-relaterat protein (PTHrP)
Tumor necrosis factor (TNF) och receptor 2
Vitamin D-receptor (VDR)*
Östrogenreceptor α och β

Reglering av osteoblaster och osteoklaster

Bone morphogenic protein (BMP) 2, 4, 5 och 7
BMP antagonist (NOG)
Cathepsin K (CATK)
Kloridkanal 7 (CLCN7)
Leptin
Lipoprotein-relaterade receptorer (LRP) 5* och 6*
Osteoprotegerin (OPG)*
Osterix (OSX)
Receptor activator of nuclear factor κ B (RANK)*
RANK-ligand (RANKL)*
RUNX2
Sclerostin (SOST)
Transforming growth factor β (TGF β)
Wingless (WNT)-gener 3a, 5a, 7a, 14

Matrixkomponenter och övriga

Klotho
Kollagen typ 1 α I (COL1A1)*
Osteocalcin

* Gener som nämns i artikeln är märkta med asterisk i tabellen.

vändigtvis är nedsatt (9, 10). Detta försvårar identifikationen av patienter i riskgruppen för fragilitetsfrakturer. Utöver BMD-mätningar kunde information om ärftliga egenskaper i framtiden hjälpa vid screening av patienter och vid vårdbeslut. Ett annat mål för den genetiska forskningen är att hitta nya gener och signalsystem som påverkar benbyggnadens metabolism och därmed möjliggöra utveckling av nya osteoporosmediciner.

Genetiska faktorer bakom osteoporos

Osteoporos är en komplex sjukdom, d.v.s. uppkomsten påverkas av många olika underliggande gener. Tvillingstudier har påvisat att 65 till 80 procent av etiologin är genetisk (5, 10). Dessutom har jämförelser av DNA-analyser och kliniska data från stora befolkningkohorter avslöjat ett flertal kromosomregioner som associerar med nedsatt BMD och/eller ökad frakturnrisk. Den genetiska bakgrunden till osteoporos i befolkningen i gemen är dock ännu relativt okänd. Markörer för kliniskt bruk har inte hittats, vilket kan bero på att analyserna försvåras av interaktioner mellan många olika gener och skillnader mellan olika etniska grupper. Till en viss del ligger dessutom olika gener bakom ärftlighet av BMD och ärftlighet av frakturnrisk; därmed varierar resultaten i analyserna beroende på vilka slutpunkter som väljs (9, 10).

Den genetiska koden undersöks i dag huvudsakligen med hjälp av s.k. enkelbasvariationer (single nucleotide polymorphisms: SNP), som utgör den största delen av normalvariationen i människans arvs massa. Genom att analysera vilka enskilda (eller kombinationer av) SNP som förekommer hos individer med en viss fenotyp, kan man härleda information om var i genomet anlag för olika sjukdomar ligger. Enkelbasvariationer som stör avläsningen av den genetiska koden och orsakar sjukdomar kallas för mutationer.

Genom forskning i monogena sjukdomar med anknytning till osteoporos har ett antal kandidatgener identifierats. Exempelvis *osteogenesis imperfecta* orsakas av olika mutationer i genen som kodar för kollagen I (COL1A1, COL1A2) och D-vitaminresistent raktis av mutationer i D-vitaminreceptorn (VDR). Olika polymorfismer i dessa gener har även förknippats med variation i BMD i befolkningen i gemen (11–13). Andra kandidatgener har utvalts för att de reglerar kalciummetabolismen eller funktioner hos benrelaterade celler. I Tabell I anges de

kandidatgener som antas påverka risken för osteoporos.

Wnt-signalsystemet: LRP5 och LRP6

Wnt-signalsystemet och dess komponenter reglerar benvävnadens tillväxt. Ko-receptorerna LRP5 och LRP6 (low-density lipoprotein-related receptor 5 och 6) bildar tillsammans med Frizzled ett receptorkomplex på cellmembranen. När Wnt binds vid detta komplex aktiveras β -katenin intracellulärt och ökar expressionen av gener som stimulerar bentillväxt. Wnt-signalsystemets roll inom benmetabolismen avslöjades år 2001 när Gong *et al* sammanknöt homozygota mutationer i *LRP5* med syndromet osteoporos-pseudogliom, en allvarlig recessiv sjukdom karakteriserad av grav osteoporos och blindhet (14). Även heterozygoter för dessa mutationer har avvikande låg BMD och förhöjd frakturrisik (14,15). En del mutationer i samma gen är intressant nog aktiverande och orsakar en fenotyp med hög BMD (16). Nyligen har även en mutation i genen för den andra ko-receptorn, *LRP6*, identifierats i en släkt med tidig osteoporos och kranskärlssjukdom (17).

Mutationer är dock sällsynta och i epidemiologiska studier vänds intresset mot association mellan vanligt förekommande SNP, vilka anses höra till normalvariationen i människans arvs massa, och kliniska fenotyper. Flera SNP i *LRP5*, i synnerhet A1330V, har påvisats associera med nedsatt BMD och ökad frakturrisik i befolkningen över lag (18). Riskökningen är dock relativt anspråkslös med ett odds på 1,28 för vertebral frakturrisik hos bärare av en kombination av två olika riskalleler (19).

RANK-RANKL-signalsystemet: OPG

RANK-RANKL-systemet (receptor activator of nuclear factor-kappaB, och dess ligand) inducerar differentieringen av osteoklaster. Faktorer som ökar nedbrytningen av ben (t.ex. ökad insöndring av bisköldkörtelhormonet PTH eller medicinering med kortikosteroider) ökar uttrycket i och insöndringen av RANKL från osteoblaster. Detta får till stånd en aktivering av RANK i osteoklaster, vilket leder till ökad proliferation och differentiering. Osteoprotegerin (OPG), som även den insöndras av osteoblaster, fungerar som en blockerande receptor för RANKL och förlångsamar därmed nedbrytningen av benmassan. OPG upptäcktes 1997 och sedan dess har flera polymorfismer i *OPG* påvisats associera med bentätheten hos äldre kvinnor

(20–22). En del resultat är dock motstridiga; betydelsen av polymorfismerna varierar mellan olika populationer och dessutom verkar polymorfismerna interagera med förändringar i *RANKL*-genen. Kunskap om RANK-RANKL-systemet används inom utvecklingen av nya osteoporosmediciner.

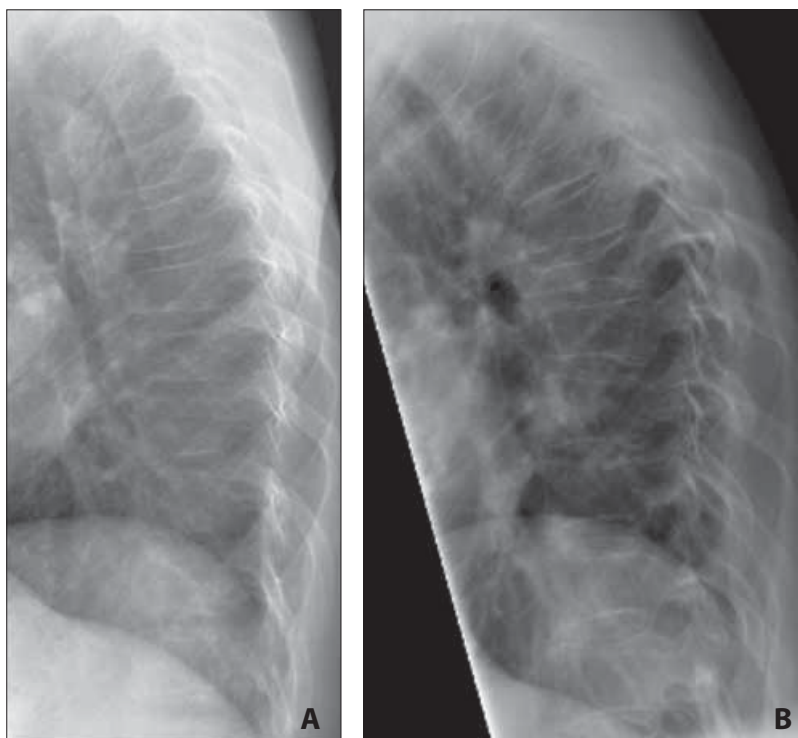
Typ 1-kollagen (*COL1A1*)

Typ 1-kollagen är det huvudsakliga proteinet i benbyggnaden och ger benet elasticitet. Mutationer i *COL1A1* orsakar *osteogenesis imperfecta*, som karakteriseras av lindrig till svår benskörhet och nedsatt BMD. En SNP i intron 1 har dessutom påvisats inverka på bentätheten hos befolkningen i allmänhet. Denna SNP, som ligger i ett bindningsställe för transkriptionsfaktor Sp1, påverkar BMD, frakturrisik och bengeometri samt ökar risken för kompressionsfraktur med upp till 40 procent per riskallel (23, 24).

Diskussion

Över ett decennium har förflutit sedan de första riskallelerna för osteoporos identifierades (12). Sedan dess har framstegen inom området visat att en myriad av gener inverkar på bentätheten och benkvaliteten, var och en dock endast i liten utsträckning. Dessutom inverkar levnadsvanor, medicinering och övriga sjukdomar på benbyggnaden, vilket gör det ännu svårare att urskilja de ärftliga komponenternas andel. Eftersom frakturrisiken hos en individ inte till fullo anknyter till BMD, kunde genetiska tester hjälpa vid identifikationen av patienter i riskgruppen för fragilitetsfrakturer. Genetiska tester skulle även möjliggöra fokuserad tidig prevention av osteoporoskomplikationer. Fler studier av stora befolkningsgrupper är nödvändiga för att identifiera definitiva riskalleler.

Det faktum att så få betydande gener har identifierats trots starkt belägg för ärftlig etiologi pekar på att de viktigaste generna ännu inte har hittats. Utöver SNP-alleler som är associerade med risk för benskörhet existerar det även olika monogena former av autosomalt dominant nedärvd osteoporos vars underliggande gener ännu inte lokaliserats (Figur 1 A och B). Segregationsanalyser av osteoporosfamiljer samt enstaka genetiska kopplingsstudier av familjematerial stödjer detta antagande, och identifikationen av *LRP5* och *LRP6* är konkreta exempel (9, 14,



Figur 1.
Två symptomfria patienter ur en finsk släkt med monogen primär osteoporos.
A. Ett tolvårigt barn med kompressionsfrakturer grad 2a¹ i ThVI - ThIX.
B. En 35-årig man med grava kompressionsfrakturer grad 3B².

- 1 Mäkitie O, et al. Radiographic vertebral morphology: A diagnostic tool in pediatric osteoporosis. *J Pediatr* 2005;146:395-401.
- 2 Genant HK, et al. Vertebral fracture assessment using a semi-quantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993;8:1137-48

17, 25–27). Heterozygoter för mutationer i dessa gener är sannolikt relativt sällsynta, och därför har associationen inte kommit fram i stora kohortstudier. Kopplingsstudier av familjematerial kommer i framtiden att klargöra en del av de genetiska orsakerna.

Förståelsen av de underliggande faktorerna bakom olika sjukdomar möjliggör utvecklingen av nya mediciner. Ett exempel är upptäckten av Wnt-signalsystemet bl.a. tack vare studierna av patienter med hög bentäthet, och ett annat insikterna i RANK-RANKL-signalsystemet samt de lovande resultaten efter behandling av osteoporos med den monoklonala antikroppen denosumab, som binder till RANK som en falsk ligand (28, 29).

Sammanfattningsvis kan vi konstatera att ärftliga faktorer spelar en viktig roll vid uppkomsten av osteoporos, men kunskapen om de underliggande generna och deras interaktioner är fortfarande bristfällig. Oberoende av vilka gener vi bär på kan vi alltid stödja vår benbyggnad med hjälp av en hälsosam livsstil, och det lönar sig att göra det ända från barnsben.

ML Christine Laine
Folkhälsans genetiska institut
Biomedicum Helsinki/C314a
Haartmansgatan 8
00290 Helsingfors
christine.laine@helsinki.fi

Docent Outi Mäkitie
Folkhälsans genetiska institut
outi.makitie@helsinki.fi

Referenser

1. 1993 Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94:646-650.
2. Alhava E 2004 [Epidemiology of osteoporosis in Finland]. *Duodecim* 120:2149-50
3. 2001 Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *Jama* 285:785-795.
4. Bailey DA, McKay HA, Mirwald RL, Crocker PR, Faulkner RA 1999 A six-year longitudinal study of the relationship of physical activity to bone mineral accrual in growing children: the university of Saskatchewan bone mineral accrual study. *J Bone Miner Res* 14:1672-9.
5. Howard GM, Nguyen TV, Harris M, Kelly PJ, Eisman JA 1998 Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: a twin study. *J Bone Miner Res* 13:1318-27.

6. Bailey DA, Martin AD, McKay HA, Whiting S, Mirwald R 2000 Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 15:2245-50.
7. Stone KL, Seeley DG, Lui LY, Cauley JA, Ensrud K, Browner WS, Nevitt MC, Cummings SR 2003 BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res* 18:1947-54.
8. Genant HK, Delmas PD, Chen P, Jiang Y, Eriksen EF, Dalsky GP, Marcus R, San Martin J 2007 Severity of vertebral fracture reflects deterioration of bone microarchitecture. *Osteoporos Int* 18:69-76.
9. Deng HW, Livshits G, Yakovenko K, Xu FH, Conway T, Davies KM, Deng H, Recker RR 2002 Evidence for a major gene for bone mineral density/content in human pedigrees identified via probands with extreme bone mineral density. *Ann Hum Genet* 66:61-74.
10. Andrew T, Antoniadou L, Scurrah KJ, Macgregor AJ, Spector TD 2005 Risk of wrist fracture in women is heritable and is influenced by genes that are largely independent of those influencing BMD. *J Bone Miner Res* 20:67-74.
11. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH 1996 Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 14:203-205.
12. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA 1994 Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367:284-287.
13. Howard G, Nguyen T, Morrison N, Watanabe T, Sambrook P, Eisman J, Kelly PJ 1995 Genetic influences on bone density: physiological correlates of vitamin D receptor gene alleles in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2800-5.
14. Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakos G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, Batch JA, Beighton P, Black GC, Boles RG, Boon LM, Borrone C, Brunner HG, Carle GF, Dallapiccola B, De Paepe A, Floege B, Halfhide ML, Hall B, Hennekam RC, Hirose T, Jans A, Juppner H, Kim CA, Keppeler-Noreuil K, Kohlschuetter A, LaCombe D, Lambert M, Lemyre E, Letteboer T, Peltonen L, Ramesar RS, Romanengo M, Somer H, Steichen-Gersdorf E, Steinmann B, Sullivan B, Superti-Furga A, Swoboda W, van den Boogaard MJ, Van Hul W, Vikkula M, Votruba M, Zabel B, Garcia T, Baron R, Olsen BR, Warman ML 2001 LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 107:513-523.
15. Hartikka H, Makitie O, Mannikko M, Doria AS, Daneman A, Cole WG, Ala-Kokko L, Sochett EB 2005 Heterozygous mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with primary osteoporosis in children. *J Bone Miner Res* 20:783-789.
16. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, Dupuis J, Osborne M, Folz C, Manning SP, Swain PM, Zhao SC, Eustace B, Lappe MM, Spitzer L, Zweier S, Braunschweiger K, Benckroun Y, Hu X, Adair R, Chee L, FitzGerald MG, Tulig C, Caruso A, Tzellas N, Bawa A, Franklin B, McGuire S, Nogues X, Gong G, Allen KM, Anisowicz A, Morales AJ, Lomedico PT, Recker SM, Van Eerdewegh P, Recker RR, Johnson ML 2002 A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 70:11-9.
17. Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, Mani A, Mani MA, Nelson-Williams C, Carew KS, Mane S, Najmabadi H, Wu D, Lifton RP 2007 LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science* 315:1278-82.
18. Saarinen A, Valimaki VV, Valimaki MJ, Loytyniemi E, Auro K, Uusen P, Kuris M, Lehesjoki AE, Makitie O 2007 The A1330V polymorphism of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene (LRP5) associates with low peak bone mass in young healthy men. *Bone* 40:1006-12.
19. van Meurs JB, Trikalinos TA, Ralston SH, Balcells S, Brandi ML, Brixen K, Kiel DP, Langdahl BL, Lips P, Ljunggren O, Lorenc R, Obermayer-Pietsch B, Ohlsson C, Pettersson U, Reid DM, Rousseau F, Scollen S, Van Hul W, Agueda L, Akeson K, Benevolenskaya LI, Ferrari SL, Hallmans G, Hofman A, Husted LB, Kruk M, Kaptoge S, Karasik D, Karlsson MK, Lorentzon M, Masi L, McGuigan FE, Mellstrom D, Mosekilde L, Nogues X, Pols HA, Reeve J, Renner W, Rivadeneira F, van Schoor NM, Weber K, Ioannidis JP, Uitterlinden AG 2008 Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis. *Jama* 299:1277-90.
20. Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS 2000 Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 192:463-474.
21. Ominsky MS, Li X, Asuncion FJ, Barrero M, Warmington KS, Dwyer D, Stolina M, Geng Z, Grisanti M, Tan HL, Corbin T, McCabe J, Simonet WS, Ke HZ, Kostenuik PJ 2008 RANKL inhibition with osteoprotegerin increases bone strength by improving cortical and trabecular bone architecture in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 23:672-682.
22. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell S, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ 1997 Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89:309-319.
23. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH 2001 A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 107:899-907.
24. Mann V, Ralston SH 2003 Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone* 32:711-717.
25. Cardon LR, Garner C, Bennett ST, Mackay IJ, Edwards RM, Cornish J, Hegde M, Murray MA, Reid IR, Cundy T 2000 Evidence for a major gene for bone mineral density in idiopathic osteoporotic families. *J Bone Miner Res* 15:1132-7.
26. Spotila LD, Rodriguez H, Koch M, Adams K, Caminis J, Tenenhouse HS, Tenenhouse A 2000 Association of a polymorphism in the TNFR2 gene with low bone mineral density. *J Bone Miner Res* 15:1376-83.
27. Vidal C, Galea R, Brinca M, Anastasi AX 2007 Linkage to chromosome 11p12 in two Maltese families with a highly penetrant form of osteoporosis. *Eur J Hum Genet* 15:800-809.
28. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, Peacock M, Miller PD, Lederman SN, Chesnut CH, Lain D, Kivitz AJ, Holloway DL, Zhang C, Peterson MC, Bekker PJ 2006 Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 354:821-831.
29. Baron R, Rawadi G 2007 Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology* 148:2635-43.