



Monoklonale Antikörper in der Osteoporose-Behandlung: schon bald in der Praxis?

Kurt Lippuner

Poliklinik für Osteoporose der Medizinischen Fakultät und des Inselspitals der Universität, Bern

Quintessenz

● Der Receptor Activator of NF- κ B (RANK) wird auf Osteoklasten und deren Vorläuferzellen exprimiert. Der RANK-Ligand (RANKL) ist für Bildung, Funktion und Überleben der Osteoklasten erforderlich. Er erhöht die Knochenresorption und reduziert die Knochenmineraldichte und -masse. In präklinischen Studien unterdrückt die Hemmung des RANKL die Knochenresorption und führt zu einer Zunahme der Knochendichte, des -volumen und der -festigkeit. Osteoprotegerin (OPG) – ein löslicher Zytokin-Rezeptor – ist der natürliche endogene Inhibitor des RANKL, an den es kompetitiv zu RANK bindet. Durch Neutralisierung des RANKL unterdrückt OPG die Knochenresorption. Im Tiermodell fördert ein OPG-Mangel den Knochenabbau und führt zur Abnahme der Knochendichte und zu Fragilitätsfrakturen.

● Denosumab ist ein vollständig humaner monoklonaler Antikörper und bindet mit hoher Spezifität an den RANKL. Damit ahmt er die Wirkung von OPG auf den RANKL nach. In der Phase-II-Studie bei postmenopausalen Frauen mit niedriger Knochendichte hemmte Denosumab die Knochenresorption und bewirkte einen Anstieg der Knochenmineraldichte an allen relevanten Skelettlokalisationen. Sicherheits- und Verträglichkeitsprofil von Denosumab waren gut. In der laufenden Phase-III-Studie wird sich zeigen, ob und in welchem Ausmass Denosumab die Frakturinzidenz bei der postmenopausalen Osteoporose senkt.


Summary

A new point of attack in osteoporosis treatment: soon available in practice?

● *RANK, the receptor for RANK ligand (RANKL), has been identified on the surface of osteoclasts at several stages of differentiation, including pre-fusion osteoclasts and mature osteoclasts. RANKL is essential for osteoclast formation, function and survival. RANKL increases bone resorption and decreases bone mineral density. RANKL inhibition – as shown in preclinical studies – suppresses bone resorption, resulting in increased bone density, volume and strength. Osteoprotegerin (OPG) is a naturally occurring protein – a soluble cytokine receptor – which competes with RANK to bind RANKL, thus sequestering RANKL and neutralising its bone resorptive effects. As shown in OPG knockout mice, lack of OPG results in increased bone resorption, decreased bone density and fragility fractures.*

● *Denosumab is a fully human monoclonal antibody which inhibits RANKL with high specificity, mimicking the effects of OPG on RANKL. In a phase II study in postmenopausal women with low bone density, denosumab lowered bone resorption and increased bone mineral density (BMD) at all relevant skeletal sites. Denosumab appeared to be well tolerated and no safety concerns were evident. Further clinical studies (phase III) are under way to evaluate fracture risk under denosumab treatment in humans.*

Einleitung: der Knochenumbau und die Erhaltung der Form und Funktion des Skeletts

Zur Erfüllung seiner Aufgaben – sowohl der biomechanischen als auch der Stoffwechselfunktion – benötigt der Knochen ein adaptives System, das in der Lage ist, einerseits aufgrund physikalischer Reize (Mehr- bzw. Minderbelastung), andererseits aufgrund humoraler Signale (Parathormonanstieg bei drohender Hypokalzämie) seine An- und Abbautätigkeit den wechselnden Erfordernissen anzupassen. Diese Umbauvorgänge werden durch ein komplexes, konzertiertes Zusammenspiel von Osteoklasten und Osteoblasten bewerkstelligt. Bei gesunden jungen Erwachsenen halten sich die Aktivitäten der Osteoklasten und Osteoblasten die Waage: Alte Knochensubstanz wird entfernt und durch neue ersetzt, die Nettomenge an Knochen bleibt jedoch konstant (Abb. 1 ) [1]. Bei der Osteoporose führt ein Ungleichgewicht zwischen Knochenresorption und Knochenneubildung zum Verlust an Knochenmasse und zur Zerstörung der Mikroarchitektur.

Die Koordination der Umbauvorgänge erfolgt über ein fein ansprechendes Kommunikationssystem zwischen den verschiedenen Zellverbänden. Die knochenbiologische Erforschung der Kopplungssignale zwischen Osteoklasten und Osteoblasten stand über Jahrzehnte im Fokus verschiedener Forschungsgruppen. Es wurde gezeigt, dass zahlreiche Botenstoffe, einschliesslich Hormone, Zytokine, Sterole sowie Wachstumsfaktoren die Aktivität des Knochenumbaus direkt oder indirekt beeinflussen. Die entsprechenden Rezeptoren wurden jedoch nicht bei den Osteoklasten sondern bei den *Osteoblasten* gefunden. Diese und verschiedene weitere Beobachtungen implizierten, dass das Zusammenspiel zwischen Osteoblasten und Osteoklasten durch erstere koordiniert wird und dass der Kopplungsfaktor an die Osteoblastenoberfläche gebunden ist oder von Osteoblasten sezerniert wird [2].

Erst vor zehn Jahren gelang der Einblick in die spezifischen Aspekte des Kopplungsmechanismus. Von verschiedenen wissenschaftlichen Perspekti-

ven ausgehend, trugen vier unabhängig voneinander arbeitende Gruppen Wesentliches zur Entdeckung des Kopplungssystems bei, was heute als «Rezeptor-Aktivator von NF- κ B Ligand (RANK/RANKL) Osteoprotegerin (OPG) Pfad» bekannt ist [3–6]. Tabelle 1 zeigt die Standardnomenklatur und erläutert die Begriffe [7].

Die Interaktion zwischen RANKL und RANK ist Voraussetzung für die Differenzierung der Osteoklasten aus den Vorläuferzellen sowie für die Proliferation und Aktivierung reifer Osteoklasten. OPG wiederum verkürzt die Überlebenszeit der Osteoklasten durch Blockade von RANKL, welcher seinerseits die Apoptose (Zelltod) hemmt. Abbildung 2 illustriert das RANK/RANKL/OPG Konzept [8].

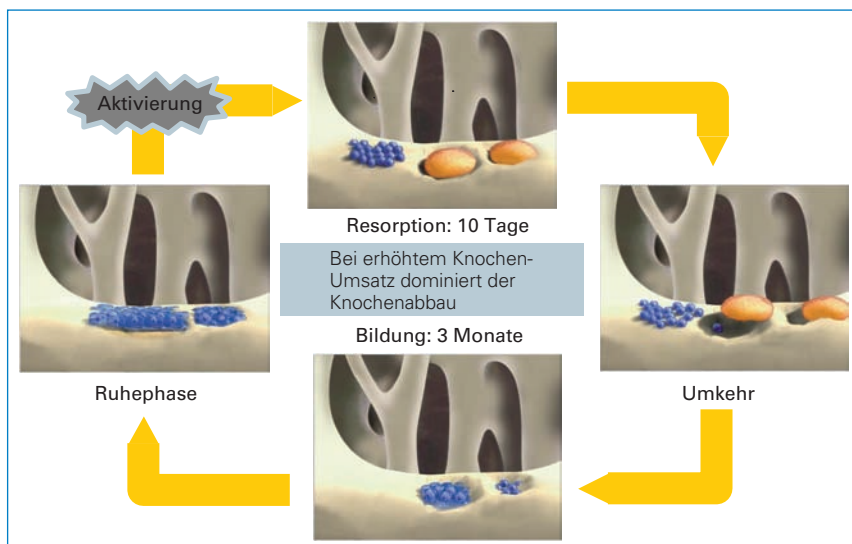


Abbildung 1

Der Knochenumbau.

Während der Resorptionsphase lösen die Osteoklasten sowohl mineralische als auch organische Bestandteile aus der Knochenmatrix, indem sie eine saure Mikroumgebung zwischen der Zelle und dem Knochen schaffen. Während der Umkehrphase fallen die Osteoklasten der Apoptose anheim und Osteoblasten werden an die Knochenoberfläche geholt. In der Knochenbildungsphase lagern die Osteoblasten frisches Osteoid ab, welches später mineralisiert wird. Adaptiert nach [1].

Tabelle 1. Das RANK/RANK-Ligand/OPG-Konzept: Nomenklatur der TNF-verwandten Faktoren, welche die Knochenresorption regulieren [7].

Faktor	Funktion
RANK Receptor Activator of Nuclear factor κ B	Membrangebundener Rezeptor, der auf Osteoklastenpräkursoren, reifen Osteoklasten und T-Zellen vorkommt. Dieses Mitglied der TNF-Familie der regulatorischen Proteine ist das Rezeptor-Protein für den RANKL.
RANKL Receptor Activator of Nuclear factor κ B - Ligand	Transmembrangebundenes Protein, welches auf Osteoblasten und dendritischen Zellen vorkommt und an RANK bindet. Es existiert auch eine lösliche Form von RANKL.
OPG Osteoprotegerin	Lösliches Protein ohne Transmembransegment; wird von Osteoblasten sezerniert. Durch Bindung an RANKL hemmt es dessen Interaktion mit RANK. OPG dient als «Abfang-Rezeptor» und steuert dadurch sowohl die Intensität als auch die Dauer der RANKL-induzierten Osteoklastenfunktion.

Die Entdeckung von OPG und RANKL

Die entscheidende Rolle des RANK/RANKL/OPG-Pfades in der skeletalen Entwicklung und Gesundheit wurde in einer Reihe von Studien an transgenen Tieren deutlich (Abb. 3). OPG-Knockout-Mäuse (mit Zerstörung oder Inaktivierung des Gens und daraus resultierendem OPG-Mangel) zeigten eine schwere Osteopenie und erlitten Frakturen [9]. Im Gegensatz dazu entwickelten Mäuse mit genetisch fehlendem RANK und RANKL eine sehr hohe Knochendichte. Ähnliches war bei Mäusen zu beobachten, bei welchen aufgrund eines zusätzlich eingefügten OPG-Gens ein Überschuss an OPG auftrat [3, 10]. Diese Studien an Mäusen zeigten, dass das Verhältnis von OPG zu RANK entscheidend für die Osteoklastenaktivität ist.

Verschiedene Modulatoren des Knochenmetabolismus wirken über eine Veränderung im Gleichgewicht zwischen OPG und RANK-Ligand. Das RANK/RANKL/OPG-System ist bei zahlreichen Knochenkrankheiten involviert (Tab. 2).

Therapeutische Wirkung der RANKL-Inhibition am Knochen: tierexperimentelle Daten

Tierexperimentelle Studien mit rekombinantem oder an Immunglobulin Fc-Fragmente gekoppeltem OPG (wodurch die Halbwertszeit von OPG verlängert wird) waren sehr ermutigend. Bei Mäusen konnte eine durch OPG-Mangel verursachte Osteopenie durch Verabreichung von OPG-Fc-Fusionsprotein oder durch Wiedereinführung des OPG-Gens mittels Adenovirusexpressionsvektor geheilt werden [11].

Bei Ratten konnte der Knochenverlust nach Ovariektomie durch Verabreichung des OPG-Fc-Fusionsproteins verhindert bzw. geheilt werden. Die Behandlung hemmte die Indizes der Knochenresorption rasch und nachhaltig – bei histologisch normalem Knochenaspekt – und führte zu einer signifikanten Verbesserung der Knochenfestigkeit [12]. Bei gesunden weiblichen *Cynomolgus-Affen* bewirkte die Behandlung mit OPG-Fc über sechs Monate eine Suppression des im Urin gemessenen Knochenresorptions-Markers, N-Telopeptid, um rund 90% [13]. Mittels quantitativem CT konnte dabei eine Zunahme der trabekulären und kortikalen Knochenmasse des distalen Radius und der proximalen Tibia sowie eine Zunahme des kortikalen Durchmessers dieser Knochen gemessen werden. Letztere ist das Ergebnis einer gleichzeitig abnehmenden endostalen und periostalen Resorption unter OPG. Diese Wirkung auf den kortikalen Knochen scheint substantiell grösser zu sein, als die bisher unter anderen antiresorptiven Substanzen beobachtete. Ob die Wirkung beim Menschen in ähnlichem Ausmass auftritt und ob sie sich in der erhofften Senkung der nichtvertebralen Frakturinzidenz niederschlägt, werden die laufenden klinischen Studien zeigen.

Klinische Erfahrungen mit der Hemmung von RANKL

Für den klinischen Einsatz wurde ein vollständig humaner monoklonaler IgG2-anti-RANKL-Antikörper entwickelt. Dieser Antikörper, neulich *Denosumab* genannt (zuvor AMG 162), bindet spe-

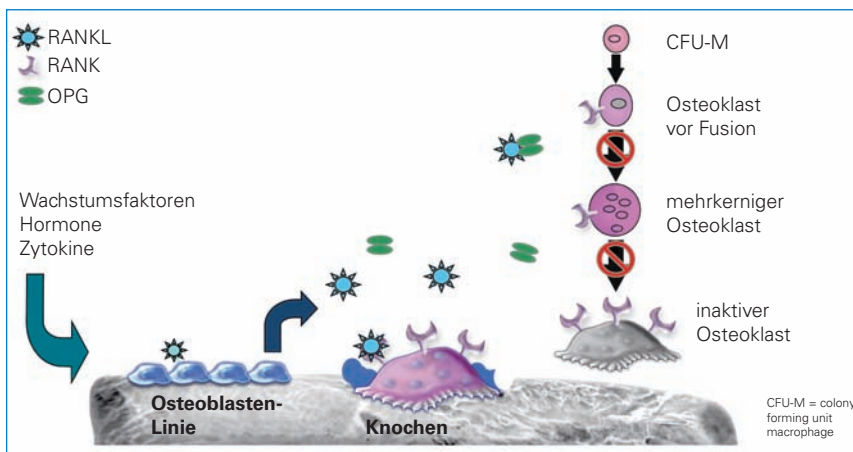


Abbildung 2

Das RANK/RANKL/OPG-Konzept.

Der RANK-Ligand (RANKL) ist Hauptvermittler für die Entstehung, Funktion und das Überleben von Osteoklasten. Die Reifung von Präosteoklasten im Stadium vor der Fusion zu mehrkernigen Osteoklasten und schliesslich zu aktivierten Osteoklasten wird eingeleitet, wenn sich der RANKL an RANK bindet. OPG wird ebenso wie der RANKL von Osteoblasten gebildet. OPG agiert als löslicher Rezeptor, der den RANKL abfängt und damit dessen Wirkungen neutralisiert, wodurch die Entstehung und Aktivierung von Osteoklasten gehemmt und das Überleben bereits vorhandener Osteoklasten verkürzt wird. Adaptiert nach [8].

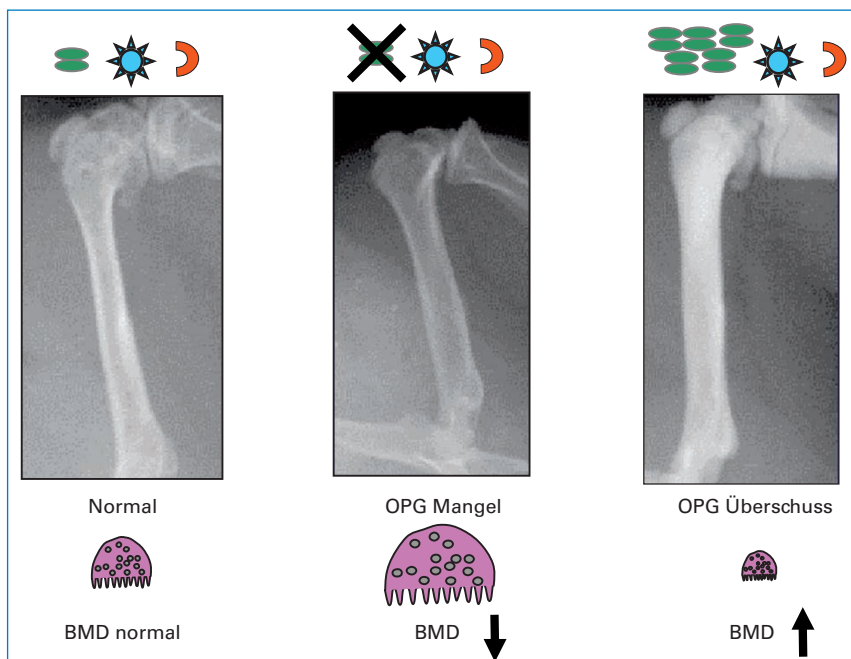


Abbildung 3

Die Rolle von OPG bei der Regulation des Mineralgehalts des Knochens.

Bei der OPG-Knockout-Maus entwickelt sich durch die erhöhte Osteoklastenaktivität eine Osteoporose [9]. Diese Mäuse zeigen bereits in einem frühen Lebensstadium Spontanfrakturen. Demgegenüber zeigen Mäuse mit transgener OPG-Überexpression aufgrund einer gestörten Osteoklastenbildung und -Reifung eine erhöhte Knochendichte [3]. Die Knochen dieser Mäuse haben eine normale Form, aber einen drastisch erhöhten Mineralgehalt. Radiographien der Maus-Femora mit freundlicher Genehmigung von AMGEN (Data on file).

zifisch mit sehr hoher Affinität an den RANKL und hemmt dessen Interaktion mit dem RANK. Anders als OPG bindet Denosumab jedoch nicht an andere Vertreter der Tumornekrosefaktor-(TNF-) Familie und ermöglicht dadurch die hochspezifische Hemmung der RANKL-Aktivität. Ausserdem schliesst die Anwendung eines Antikörpers anstelle von OPG zur RANKL-Hemmung die Gefahr einer Immunsensibilisierung gegen OPG aus. Und schliesslich erlaubt die Pharmakokinetik von Denosumab dessen Verabreichung in grösseren zeitlichen Abständen.

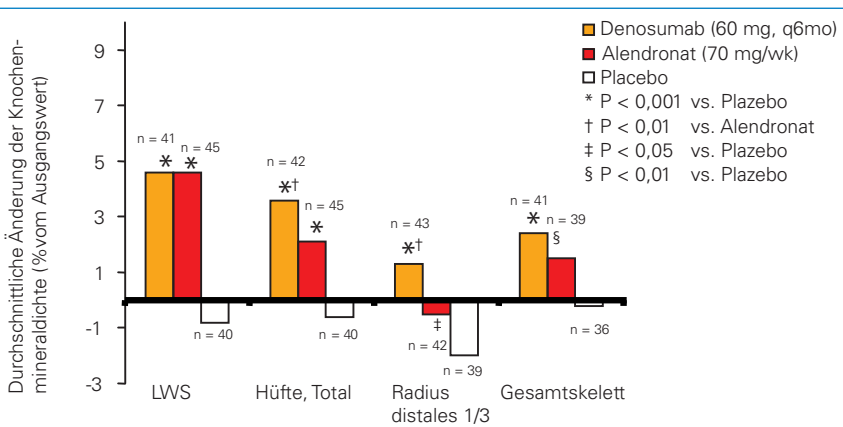
In einer Phase-I-Studie bei 49 gesunden, postmenopausalen Frauen wurden Einzeldosen von Denosumab von 0,01 bis 3,0 mg/kg subkutan verabreicht, um dessen Sicherheit, Pharmakokinetik und Wirkung auf die Knochenresorption zu studieren [14]. Letztere wurde dosisabhängig sehr rasch (innert zwölf Stunden) und stark (bis zu 84%) supprimiert. Der Antikörper wurde gut toleriert. Es wurden kein vermehrtes Auftreten und keine Dosisabhängigkeit von Infektionen, keine Veränderungen der Anzahl zirkulierender weisser Blutzellen, T- oder B-Lymphozyten, Immunglobuline oder Koagulationsfaktoren beobachtet.

Basierend auf diesen Resultaten wurde eine multi-zentrische Phase-II-Studie an 412 postmenopausalen Frauen mit niedriger Knochenmineraldichte durchgeführt: Denosumab wurde in verschiedener Dosierung in Intervallen von drei oder sechs Monaten subkutan verabreicht. Zum Vergleich wurden eine Gruppe mit Placebo und eine weitere mit open-label Alendronat 70 mg, einmal wöchentlich, behandelt. Die 12-Monats-Resultate wurden 2006 im *New England Journal of Medicine* publiziert [15]: Ein signifikanter Anstieg der Knochenmineraldichte der LWS trat bei allen sechsmonatlich verabreichten Dosierungen von Denosumab (zwischen 14 und 210 mg) auf. Mit Ausnahme der niedrigsten Dosis waren die Antworten von einer ähnlichen Grössenordnung wie diejenige, die unter Alendronat beobachtet wurde. Die 60-mg-Dosis von Denosumab schien die maximale Wirkung bezüglich Knochendichte der Hüfte und des distalen Radius zu zeigen. Höhere Dosen brachten keinen weiteren Anstieg (Abb. 4). Obschon die Studie nicht dafür gepowert war, Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen aufzuzeigen, schien der Zugewinn an Knochendichte am kortikalen distalen Radius und an der Hüfte unter genannter Dosis Denosumab grösser als unter Alendronat 70 mg, einmal pro Woche p.o. Die Knochenresorptionsmarker zeigten unter Denosumab erneut den raschen Wirkungseintritt und eine anhaltende Suppression unter der 60 mg (oder höheren) Dosis, welche sich erst nach sechs Monaten abzuschwächen begann.

Die kürzlich publizierten Daten der Verlängerung dieser Studie über 24 Monate erhärten die Sicherheit und Wirksamkeit der Substanz [16].

Tabelle 2. OPG/RANKL/RANK-medierte metabolische und maligne Knochenkrankheiten.

Metabolische Knochenkrankheiten	
Postmenopausale Osteoporose	↑ RANKL-Expression durch Stromazellen und Lymphozyten bei Östrogendefizit ↑ Ansprechen der Osteoklasten auf RANK ↑ OPG-Sekretion von Osteoblasten durch Östrogenrezeptor-Agonisten
Glucocorticosteroid-induzierte Osteoporose	Aufregulation der RANKL-Expression und Hemmung der OPG-Sekretion durch Osteoblasten in vitro ↓ OPG-Serumspiegel in vivo
Hyperparathyreoidismus	Aufregulation der RANKL-Expression und Hemmung der OPG-Sekretion durch Osteoblasten in vitro
Sporadischer M. Paget	↑ RANKL-Expression durch Stromazellen ↑ Ansprechen der Osteoklasten auf RANK
Maligne Erkrankungen	
Multiples Myelom	↑ RANKL/OPG-Ratio in der Knochen-Mikro-Umgebung Expression von RANKL durch Myelomzellen Sequestration und lysosomale Degradation von OPG durch Myelomzellen
Osteolytische Knochenmetastasen	Expression von RANKL durch Tumorzellen Tumorzell-induzierte ↑ RANKL/OPG-Ratio in der Knochen-Mikro-Umgebung
Humorale Hyperkalzämie bei Malignom	PTH-related peptide medierte ↑ RANKL/OPG-Ratio in der Knochen-Mikro-Umgebung Sekretion von löslichem RANKL durch Tumorzellen

**Abbildung 4**

Effekt auf die Knochenmineraldichte nach zwölf Monaten einer s.c. Verabreichung von Denosumab, 60 mg, sechsmonatlich vs. Alendronat 70 mg p.o. einmal wöchentlich oder Placebo bei postmenopausalen Frauen mit Osteopenie.

Die Knochenmineraldichte nahm unter Denosumab an allen gemessenen Stellen signifikant gegenüber Placebo zu. Obschon die Studie nicht dafür gepowert war, Unterschiede zwischen einzelnen Behandlungsgruppen aufzuzeigen, wies Denosumab im Bereich der Hüfte (gesamt, «total Hip») sowie am distalen Drittel des Radius eine stärkere Knochendichtezunahme als Alendronat auf. Adaptiert nach [15], Supplementary Appendix.

Korrespondenz:
Prof. Dr. Kurt Lippuner
Universitätspoliklinik
für Osteoporose
Inselspital
CH-3010 Bern
kurt.lippuner@insel.ch

Aufgrund dieser vielversprechenden Datenlage wurden Phase-III-Studien initiiert, welche die Wirksamkeit von Denosumab zur Reduktion der Frakturinzidenz bei postmenopausalen Frauen mit Osteoporose sowie die präventive Wirksamkeit des Antikörpers zur Verhinderung der postmenopausalen Osteoporose untersuchen.

Die Tatsache, dass wir in weniger als einer Dekade von der Entdeckung des RANKL-OPG-Pfades bis zu Phase-III-Studien gelangt sind, stellt ein beeindruckendes Beispiel der heutigen Möglichkeiten und Kreativität der biomedizinischen Wissenschaften dar.

Literatur

- Baron R. General principles of bone biology. In: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Favus MJ (Ed.) 5th Edition. American Society for Bone and Mineral Research, Washington DC, 2003:1-8.
- Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, et al. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*. 1988;123(5):2600-2.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89(2):309-19.
- Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;234(1):137-42.
- Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature*. 1997;390(6656):175-9.
- Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li HL, Steinman RM, et al. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med*. 1997;186(12):2075-80.
- American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature. Proposed standard nomenclature for new tumor necrosis factor family members involved in the regulation of bone resorption. *The American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature. J Bone Miner Res*. 2000;15(12):2293-6.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-42.
- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*. 1998;12(9):1260-8.
- Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999;397(6717):315-23.
- Bolon B, Carter C, Daris M, Morony S, Capparelli C, Hsieh A, et al. Adenoviral delivery of osteoprotegerin ameliorates bone resorption in a mouse ovariectomy model of osteoporosis. *Mol Ther*. 2001;3(2):197-205.
- Kostenuik PJ, Capparelli C, Morony S, Adamo S, Shimamoto G, Shen V, et al. OPG and PTH-(1-34) have additive effects on bone density and mechanical strength in osteopenic ovariectomized rats. *Endocrinology*. 2001;142(10):4295-304.
- Ominsky MS, Kostenuik PJ, Cranmer P, Smith SY, Atkinson JE. The RANKL inhibitor OPG-Fc increases cortical and trabecular bone mass in young gonad-intact cynomolgus monkeys. *Osteoporos Int*. 2007;18:1073-82.
- Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, Murphy R, Martin SW, Leese PT, 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(7):1059-66.
- McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, et al. AMG 162 Bone Loss Study Group. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2006;354(8):821-31.
- Lewiecki EM, Miller PD, McClung MR, Cohen SB, Bolognese MA, Liu Y, et al. Two-year treatment with denosumab (AMG 162) in a randomized phase 2 study of postmenopausal women with low BMD. *J Bone Miner Res*. 2007;22(12):1832-41.