

骨硬化蛋白抗体的临床研究进展

梁婷婷 郭吕华*

广州医科大学附属口腔医院 广州口腔病研究所 口腔医学重点实验室 广东 广州 510140

[摘要] 骨硬化蛋白(sclerostin)是骨形成的负性调节因子,通过抑制 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路,抑制成骨细胞的成骨作用。骨硬化蛋白抗体(sclerostin monoclonal antibody, Scl-Ab)则通过拮抗其对骨形成的负向调节作用而保证 Wnt/ β -catenin 信号通路的正常传导。相比其他促骨形成的药物, Scl-Ab 在促进新骨形成的同时,避免刺激破骨活动。目前已经研制出多种 Scl-Ab,其中最具代表性的 Romosozumab 已经完成了临床Ⅲ期实验,证明其可以显著促进骨形成,降低骨吸收。但其临床疗效和安全性仍在探讨,还需进一步的长期研究。本文对 Scl-Ab 的临床研究进行综述,以期对相关实验研究和临床治疗提供理论基础。

[关键词] 骨硬化蛋白抗体 Romosozumab 骨再生

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671—7651(2019)12—1119—03

[doi] 10.13701/j.cnki.kqxyj.2019.12.004

Research Progress on Sclerostin Antibody. LIANG Tingting, GUO Lvhu*. Key Laboratory of Oral Medicine, Guangzhou Institute of Oral Disease, Stomatology Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510140, China.

[Abstract] Sclerostin is a negative regulator of bone formation and inhibits bone formation by inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway. Sclerostin antibody (Scl-Ab) ensures the transmission of the Wnt/ β -catenin signaling pathway by antagonizing the negative regulation of sclerostin on bone formation. Compared to other osteogenic drugs, Scl-Ab can stimulate osteogenic activity without stimulating osteoclast activity. A variety of Scl-Ab have been developed. Romosozumab, the most representative antibody, has completed clinical phase III trials, demonstrating that it can significantly promote bone formation and inhibit bone resorption. However, clinical efficacy and safety of Scl-Ab is still unclear and requires further investigation and discussion. Therefore, this review was conducted in order to provide theoretical basis for experimental research and clinical treatment.

[Key words] sclerostin antibody Romosozumab bone regeneration

骨硬化蛋白(sclerostin)是一种由 SOST 基因编码的分泌型糖蛋白,由埋藏于骨基质中的成熟骨细胞分泌,表达仅限于骨细胞。它可以与低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low density lipoprotein receptor-related protein, LRP5/6) 结合以阻止 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路的传递,并抑制由成骨细胞介导的骨形成作用,该特性使 sclerostin 能作为抗骨质疏松药物的作用靶点。骨硬化蛋白抗体(sclerostin monoclonal antibody, Scl-Ab)能够特异性抑制 sclerostin,促进成骨细胞分化及表达,从而提高骨量、促进骨形成、抑制骨吸收。相比其他促骨形成的药物如特立帕肽(临床少数应用的促骨形成药物), Scl-Ab 不仅能刺激成骨活动,而且不会刺激破骨活动。目前,围绕 Scl-Ab 已经进行了

许多基础研究和临床研究,但其临床疗效和安全性的研究数据尚不足。本文就针对 Scl-Ab 的结构、作用机制、实验及临床研究作一综述。

1 Scl-Ab 的组成

Scl-Ab 是一种高度均一,仅针对 sclerostin 特定抗原表位的抗体^[1]。它通过与骨细胞分泌的 sclerostin 特异性结合,从而拮抗 sclerostin 对成骨的抑制作用。Li 等^[2]最早将 Scl-Ab 应用于去势大鼠模型,结果表明 Scl-Ab 可以显著提高大鼠骨密度和骨形成速率。

2 Scl-Ab 在骨组织中的作用机制

sclerostin 是骨形成的负性调节因子^[3,4],它通过与 Wnt/ β -catenin 信号通路中的 LRP5/6 结合来抑制成骨细胞的成骨作用^[5,6]。Scl-Ab 通过与 sclerostin 特异性结合,拮抗其作用,从而维持骨含量,提高骨密度及骨强度。在使用了 Scl-Ab 治疗的绝经后女性的数据显示,成骨标志物有增长的趋势,破骨标志物降低并始终低于正常女性。这表明 Scl-Ab 的作用机制是促进成骨的合成代谢并拮抗破骨作

基金项目 广东省科技计划项目(编号:2017A050501041)

作者简介 梁婷婷(1993~),女,广东江门人,硕士,研究方向:3D 打印技术对成骨的研究与应用。

*** 通信作者** 郭吕华, E-mail:562210919@qq.com

用^[7]。该机制在废用性骨萎缩的小鼠模型和脊髓损伤的大鼠模型中也得以验证^[8,9]。目前, Scl-Ab 已作为治疗人骨质疏松药物进入临床试验阶段^[10,11], 关于长期使用此药物的安全性也正在研究中。

3 Scl-Ab 的临床研究进展

3.1 Romosozumab (AMG785, 人源性 Scl-Ab) Padhi 等^[12]进行 Romosozumab 的临床 I 期试验, 共有 72 例健康的男性和绝经后女性参与, 试验中无死亡和治疗终止事件发生。与安慰剂组比较, Romosozumab 组患者骨密度显著增加。该实验结果表明 Romosozumab 能促进骨生成, 抑制骨吸收, 并且有很好的耐受性。

Romosozumab 的临床 II 期试验在 419 例骨质疏松的绝经后女性中进行, 结果显示, 相比于对照组, Romosozumab 治疗组注射部位不良反应的发生率有增加的趋势, 其安全性不能充分评估^[13]。尽管如此, Romosozumab 仍有较好的临床应用前景^[14]。

Romosozumab 的 III 期临床试验结果显示, 治疗组注射部位不良反应的发生率已接近安慰剂组, 虽然在 Romosozumab 治疗组发生数量极少的下颌骨坏死和不典型股骨骨折、严重的超敏反应, 但不排除个体差异。在绝经后骨质疏松女性患者中, 使用 Romosozumab 治疗 1 年可使骨密度显著增加, 并且临床骨折的概率低于安慰剂组^[7]。

3.2 Blosozumab (人源性 IgG4 Scl-Ab) McColm 等^[15]第 1 次将 Blosozumab 应用于绝经后骨质疏松女性患者的临床试验中, I 期临床试验结果显示, 患者对 Blosozumab 有很好的耐受性和剂量依赖性, 能促进骨生成, 抑制骨吸收。实验中无安全事件发生。

Blosozumab 的 II 期临床试验共有 120 例低骨密度的绝经后妇女参与, 52 周后检测结果显示, 与对照组比较, 治疗组治疗效果呈明显的剂量依赖性, 骨密度显著增加^[16]。Blosozumab 治疗终止 1 年后再次对参与试验的女性进行检测, 结果显示, 终止 Blosozumab 的治疗会导致骨密度下降, 但仍高于治疗前的基线水平, 成骨和破骨标志物浓度变化较小^[17]。在治疗期间和治疗后 1 年内, 未发生因 Blosozumab 治疗引起的不良事件。

3.3 SOST-Fc Wang 等^[18]用 SOST 的 1 个片段 (Pro-Asn-Ala-Ile-Gly) 与 IgG 的 Fc 段合成 SOST-Fc, 它能够明显降低血清中 SOST 的表达和聚集, 增加血清中成骨标记因子骨钙蛋白表达, 并减少骨吸收标志因子——I 型胶原交联 C 端肽 (C-telepeptide type I collagen, CTX-1) 和抗酒石酸酸性磷酸酶 5b (tartrate-resistant acid phosphatase 5b, TRAP5b), 明显缓解因雌激素缺乏导致的骨密度降低、骨小梁的骨形态改变、股骨的机械性能降低等症状, 削弱 sclerostin 在成骨中的抑制作用, 平衡骨矿化和吸收过程, 治疗因雌激素缺乏导致的骨质疏松。这项研究将使 SOST-Fc 有望成为预防骨质疏松疾病的新的治疗手段。

3.4 其他 Scl-Ab Yao 等^[19]合成 SOST-scFv, 是一种相对分子质量小、具有完全抗原结合位点的最小抗体片段。倪杰

等^[20]将大鼠去卵巢, 建立骨质疏松模型, 并制作骨折模型后连续给药 12 周, 发现骨折处的骨密度和骨体积分数均明显增加。Scl-Ab 相对分子质量大, 免疫原性强, 生产价值高, 不易于临床推广。SOST-scFv 相对分子质量小, 组织穿透性强, 易于进入局部发挥作用, 有较强的结合力, 同时其结构简单, 可批量生产, 易于推广。

Florio 等^[21]研究结果表明, 以骨硬化蛋白和 DKK-1 (另一种分泌型 Wnt 拮抗剂, 抑制 Wnt 蛋白与 LRP5/6 结合) 为靶点的双克隆抗体, 比 Scl-Ab 和 DKK-1 抗体的单一治疗能更明显地促进骨生成, 增加骨量和骨强度。AbD09097 可以识别 sclerostin 的 1 个抗原表位, 通过抑制 sclerostin 与 LRP6 的结合而发挥作用, 能高效地阻碍 sclerostin 对骨生成抑制作用^[21]。

4 Scl-Ab 治疗口腔疾病的前景

近年来, 有多篇文献证实健康的牙龈、牙周膜、牙槽骨和牙骨质内有不同程度的 sclerostin 阳性表达。在健康牙周组织与 sclerostin 的研究中, Napimoga 等^[22]发现, 与牙周健康者比较, 慢性牙周炎患者患牙周周围的牙龈组织 sclerostin 水平明显较高。Kuchler 等^[23]建立敲除 SOST 的小鼠模型, 发现牙骨质厚度和牙槽骨骨量增加, 牙周膜宽度减小。Lehnen 等^[24]发现在小鼠出生 4 周后, 在其靠近根方的细胞牙骨质中存在着 sclerostin 的表达, 8 周龄小鼠的根尖牙骨质细胞中的 sclerostin 表达增加, 并且发现牙周膜细胞 sclerostin 表达也增加。证明 sclerostin 参与了牙骨质和牙周膜的矿化过程。在此基础上, 学者们开始思考能否通过 Scl-Ab 治疗牙周疾病。Taut 等^[25]建立大鼠牙周炎模型, 全身应用 Scl-Ab 治疗后发现大鼠的牙槽骨体积分数和组织骨密度增高, 牙周炎骨吸收状态得到逆转。Han 等^[26]在牙周缺损处局部注射 Scl-Ab, 发现在牙周缺损处有大量牙骨质生成并附着有排列规则的牙周纤维。值得一提的是, 目前临床进行牙周组织再生的方法已有很多, 但牙周炎导致的大面积骨缺损再生尚未解决, 植骨和引导性骨再生类方法的骨再生能力还有待研究。目前还没有其他可以使破坏的牙周膜结构得到恢复的手术或药物治疗方法。应用 Scl-Ab 治疗, 能够促进牙槽骨成骨和恢复牙槽骨高度, 修复牙周膜形态, 对此类疾病的治疗有巨大的应用前景。

5 展望

综上所述, Scl-Ab 不仅能显著、快速地促进骨生成, 还能抑制骨吸收, 在骨代谢中表现出双重协同作用作为治疗骨质疏松症提供了新方向。Scl-Ab 于 2010 年 2 月申请专利并成功投产, 但因缺乏足够的临床资料, 如对长时间用药的观察数据和暂时无法证实是否有引发骨肉瘤的风险及局部骨质硬化的风险及能否对男性骨质疏松也有作用等, 其代表药物 Romosozumab 在 2018 年被美国食品药品监督管理局拒绝上市。随着对 Scl-Ab 的成骨机制、用药风险深入研究, Scl-Ab 有望成为治疗骨质疏松的新方法, 并有望应用于口腔临床医疗中。已经有研究结果表明, Scl-Ab 在牙周病导致的牙槽骨吸收、骨质疏松症患者种植初期稳定性、骨缺损等骨量不足疾

病中能促进骨生成,抑制骨吸收。Scl-Ab 有望作为调节骨代谢的新型药物,在未来具有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Opar A. Late-stage osteoporosis drugs illustrate challenges in the field [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(10): 757-758.
- [2] Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis [J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(4): 578-588.
- [3] Yakar N, Guncu GN, Akman AC, et al. Evaluation of gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG [J]. *Cytokine*, 2019, 113: 433-439.
- [4] Jacobsen CM. Application of anti-Sclerostin therapy in non-osteoporosis disease models [J]. *Bone*, 2017, 96:18-23.
- [5] Liu YS, Liu XB, Qiu YY, et al. Molecular mechanism of Wnt signal pathway in multiple myeloma cell line H929 cell autophagy [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(11): 3327-3332.
- [6] Choi J, Lee K, Kang M, et al. In silico discovery of quinoxaline derivatives as novel LRP5/6-sclerostin interaction inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(6): 1116-1121.
- [7] Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, et al. Romosozumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(16): 1532-1543.
- [8] Qin W, Li X, Peng Y, et al. Sclerostin antibody preserves the morphology and structure of osteocytes and blocks the severe skeletal deterioration after motor-complete spinal cord injury in rats [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(7):1482.
- [9] Spatz JM, Ellman R, Cloutier AM, et al. Sclerostin antibody inhibits skeletal deterioration due to reduced mechanical loading [J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(4):865-874.
- [10] Hay E, Bouaziz W, Funck-Brentano T, et al. Sclerostin and bone aging: a mini-review [J]. *Gerontology*, 2016, 62(6): 618-623.
- [11] Herrero S, Pico Y. Treatments for post-menopausal osteoporotic women, what's new? How can we manage long-term treatment [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 779: 8-21.
- [12] Padhi D, Jang G, Stouch B, et al. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(1): 19-26.
- [13] McClung MR, Grauer A, Boonen S, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(5): 412-420.
- [14] Shah AD, Shoback D, Lewiecki EM. Sclerostin inhibition: a novel therapeutic approach in the treatment of osteoporosis [J]. *Int J Womens Health*, 2015, 7: 565-580.
- [15] McColm J, Hu L, Womack T, et al. Single- and multiple-dose randomized studies of blosozumab, a monoclonal antibody against sclerostin, in healthy postmenopausal women [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(4): 935-943.
- [16] Recker RR, Benson CT, Matsumoto T, et al. A randomized, double-blind phase 2 clinical trial of blosozumab, a sclerostin antibody, in postmenopausal women with low bone mineral density [J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(2): 216-224.
- [17] Recknor CP, Recker RR, Benson CT, et al. The Effect of Discontinuing Treatment With Blosozumab: Follow-up Results of a Phase 2 Randomized Clinical Trial in Postmenopausal Women With Low Bone Mineral Density [J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(9): 1717-1725.
- [18] Wang FS, Wu RW, Lain WS, et al. Sclerostin vaccination mitigates estrogen deficiency induction of bone mass loss and microstructure deterioration [J]. *Bone*, 2018, 112: 24-34.
- [19] Yao Q, Ni J, Hou Y, et al. Expression of sclerostin scFv and the effect of sclerostin scFv on healing of osteoporotic femur fracture in rats [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 69(2): 229-235.
- [20] 倪杰, 侯宇, 艾笛, 等. 骨硬化素单链抗体对去卵巢模型大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响 [J]. *中国药房*, 2013, 24(45): 4240-4242.
- [21] Florio M, Gunasekaran K, Stolina M, et al. A bispecific antibody targeting sclerostin and DKK-1 promotes bone mass accrual and fracture repair [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11505.
- [22] Napimoga MH, Nametala C, Da SF, et al. Involvement of the Wnt-beta-catenin signalling antagonists, sclerostin and dickkopf-related protein 1, in chronic periodontitis [J]. *J Clin Periodontol*, 2014, 41(6):550-557.
- [23] Kuchler U, Schwarze UY, Dobsak T, et al. Dental and periodontal phenotype in sclerostin knockout mice [J]. *Int J Oral Sci*, 2014, 6(2):70-76.
- [24] Lehen SD, Gotz W, Baxmann M, et al. Immunohistochemical evidence for sclerostin during cementogenesis in mice [J]. *Ann Anat*, 2012,194(5): 415-421.
- [25] Taut AD, Jin Q, Chung JH, et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis [J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(11): 2347-2356.
- [26] Han P, Ivanovski S, Crawford R, et al. Activation of the canonical Wnt signaling pathway induces cementum regeneration [J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(7):1160-1174.

[收稿日期:2019-09-28]

(本文编辑 关隽)