

Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA)
<http://hdl.handle.net/11245/2.100066>

File ID uvapub:100066
Filename Everts_et_al_NTvCB_02-2009_6e.pdf
Version final

SOURCE (OR PART OF THE FOLLOWING SOURCE):

Type article
Title Osteoclastdiversiteit
Author(s) V. Everts, I. Jansen, T. de Vries
Faculty ACTA
Year 2009

FULL BIBLIOGRAPHIC DETAILS:

<http://hdl.handle.net/11245/1.316964>

Copyright

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content licence (like Creative Commons).

Osteoclastdiversiteit

Recente klinische bevindingen tonen aan dat het skelet plaatselijk verschillend reageert op medicamenten die de activiteit van osteoclasten beïnvloeden. De ene osteoclast is dus de andere niet, terwijl daar tot voor kort nog van uitgegaan werd. Onlangs werd aangetoond dat osteoclasten in verschillende botten in vele opzichten van elkaar verschillen. Niet alleen de grootte maar ook de wijze waarop resorptie plaatsvindt, blijkt wezenlijk anders te zijn. Zo gebruiken osteoclasten van het schedeldak andere proteolytische enzymen om botmatrixcomponenten af te breken dan die van het pijpbeen en brengen ze bovendien veel meer tartraatresistente zure fosfatase (TRACP) tot expressie. Ook worden verschillende ionpompen tot expressie gebracht bij de verzuring tijdens het resorptieproces. Bij muizen die deficiënt zijn voor bepaalde eiwitten die een rol spelen bij de activiteit van de osteoclast, kunnen bepaalde botten osteopetrotisch zijn en andere niet. Functionele verschillen tussen osteoclastpopulaties bieden mogelijkheden om uiteindelijk botspecifiek te interfereren met de activiteit van deze cellen. (Ned Tijdschr Calcium Botstofwisseling. 2009;7(2):33-36.)

Vincent Everts, Ineke Jansen en Teun de Vries

Afdeling Orale Celbiologie en afdeling Parodontologie, Academisch Centrum voor Tandheelkunde Amsterdam (ACTA), Universiteit van Amsterdam en Vrije Universiteit, Amsterdam
Onderzoeksinstituut MOVE, Van der Boechorststraat 7, 1081 BT Amsterdam

Klinische relevantie

Afbraak van bot geschiedt door een unieke cel, de osteoclast. Onder pathologische omstandigheden kan de activiteit van deze cel leiden tot botverlies, maar dit kan plaatselijk verschillen. Bij osteoporosepatiënten is het botverlies van de schedel vaak minder sterk dan van de extremiteiten. Als ze bisfosfonaten gebruiken, kan osteonecrose optreden in de kaak terwijl andere botten gespaard blijven. Mogelijk hangt dit samen met verschillen in cellen naar botlocatie. In dit overzichtsverhaal wordt belicht in hoeverre dit geldt voor osteoclasten.

Wat betekent dit voor de huisartspraktijk?

Botafbraak geschiedt door een daartoe gespecialiseerde cel, de osteoclast. Klinische bevindingen laten zien dat deze cel niet in alle botten eenzelfde activiteit vertoont. Ook laboratoriumonderzoek heeft aangetoond dat er botgerelateerde verschillen bestaan tussen osteoclasten. Dit zou in de toekomst gevolgen kunnen hebben voor de behandeling.

Hoe een toevallige bevinding tot een nieuw inzicht heeft geleid

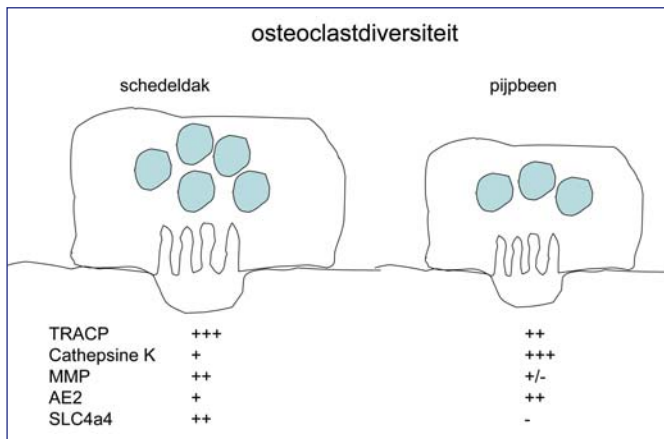
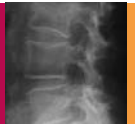
Enige jaren geleden deden we een verrassende vondst bij muizen die resistent waren voor collagenase-gemedieerde afbraak van collageen type I. Het schedeldak van deze muizen bleek beduidend dikker en compacter te zijn dan dat van controlemuizen. De pijpbeentjes van deze muizen bleken echter geen afwijkingen te vertonen. Deze bevinding heeft de basis gevormd voor het daaropvolgend onderzoek en heeft geleid tot wat we nu weten:

de ene osteoclast is de andere niet.

De toegenomen botmassa van de calvariae bij de collagenaseresistente muizen kon of betekenen dat er iets fout was gegaan met de aanmaak van het bot, of dat de afbraak van het bot onvoldoende was geweest. Aangezien wij in het verleden hadden aangetoond dat osteoclastische afbraak van calvariabot mede afhankelijk is van metalloproteïnases, een klasse van enzymen waar ook collagenase toe behoort, lag het voor de hand te veronderstellen dat de botafbraak verstoord was.^{1,2} Dit zou dan tevens impliceren dat de botafbraak bij de pijpbeentjes niet verstoord was en dat die afbraak niet afhankelijk zou zijn van metalloproteïnases. Om dit idee verder uit te werken, hebben we pijpbeentjes en calvariae gekweekt in aanwezigheid van selectieve remmers van metalloproteïnases. Deze experimenten toonden inderdaad aan dat osteoclasten van pijpbeen het bot af kunnen breken zonder gebruik te maken van deze metalloproteïnases terwijl calvaria-osteoclasten dit type enzym wel nodig bleken te hebben.³ Dit verschil in enzymmachinerie, die nodig is voor het afbreken van de verschillende bottypen, was de basis voor de veronderstelling dat de ene osteoclast de andere niet is. Sindsdien zijn er aanzienlijk meer aanwijzingen gevonden die deze veronderstelling ondersteunen en die zullen in dit overzicht de revue passeren.

De ene osteoclast is de andere niet (figuur 1)

De vergelijking van de verschillende bottypen en de enzymen die nodig zijn voor de osteoclastische botafbraak heeft aangetoond dat osteoclasten van het calvaria zowel metalloproteïnases als cysteineproteïnases gebruiken om de matrixcomponenten van het bot af te breken. De pijpbeenosteoclast gebruikt geen matrixmetalloproteïnases (MMP's) en is in staat het bot af te breken met behulp van uitsluitend cysteineproteïnases. Welk metalloproteïnase een rol bij de afbraak speelt is nog niet bekend. MMP-9 wordt vrij hoog door osteoclasten tot expressie gebracht, maar studies waarbij gebruikgemaakt werd van mui-



Figuur 1. De osteoclast van het schedeldak vergeleken met die aanwezig in pijpbeenderen. De verschillen zoals die tot op heden zijn beschreven, hebben betrekking op de omvang van de cellen en de expressie van enige eiwitten die betrokken zijn bij de afbraak van het bot. TRACP: tartraatresistente zure fosfatase; MMP: matrixmetalloproteïnase; Ae2: 'anion exchanger 2'; SLC4a4: 'sodium-dependent co-transporter 4'.

zen die MMP-9 niet tot expressie konden brengen, lieten zien dat dit enzym van belang is bij de migratie van de osteoclast, maar niet bij de botafbraak.^{4,5} Veel meer is bekend geworden over de rol van cysteineproteïnases bij de botafbraak. Dit is in het bijzonder mogelijk geworden door onderzoek bij patiënten die lijden aan de vrij zeldzame osteopetroseachtige ziekte pycnodysostosis. Bij deze patiënten bleken de osteoclasten wel in staat te zijn het bot te ontkalken, maar niet in staat de matrix af te breken. Ter hoogte van de borstelzoom van de cel werden grote hoeveelheden niet-afgebroken botmatrix aangetroffen.⁶ Tevens bleken deze cellen het niet-afgebroken botcollageen te internaliseren, leidend tot een stapeling van dit materiaal in het lysosomale apparaat.⁶ Deze fenomenen konden in vitro worden nagebootst door botjes te kweken in aanwezigheid van specifieke remmers van cysteineproteïnases.⁷ Het uiteindelijke bewijs voor de betrokkenheid van cysteineproteïnases is door genetisch onderzoek aan het licht gebracht. Het enzym dat bij pycnodysostosispatiënten deficiënt was bleek cathepsine K te zijn.⁸ Recent onderzoek heeft aangetoond dat naast dit belangrijke cathepsine K ook nog andere cysteineproteïnases een rol spelen bij de matrixafbraak door osteoclasten. Welke deze precies zijn, is onbekend, maar het is onwaarschijnlijk dat bekende vertegenwoordigers uit deze klasse van enzymen, zoals de cathepsines B en L, een rol van grote betekenis spelen.⁹ Naast de verschillen in proteolytische enzymen blijkt er ook een markant verschil in de expressie van het lysosomale enzym TRACP te zijn tussen verschillende populaties osteoclasten. De expressie van dit enzym door calvaria-osteoclasten blijkt vele malen hoger te zijn dan de expressie door pijpbeen-osteoclasten.¹⁰ Verondersteld wordt dat het enzym van belang is bij de defosforylering van enige niet-collagene eiwitten van de botmatrix.¹¹ Gegeven de recente bevindingen dat er grote verschillen bestaan tussen de matrixsamenstelling van het bot van pijpbeen en van calvaria, is het niet onwaarschijnlijk dat

deze andere compositie een aangepaste set aan enzymen behoeft.¹²

Heeft elk bot een unieke set van specifiek aangepaste osteoclasten?

Er blijken niet alleen verschillen te zijn tussen osteoclasten van verschillende botlocaties, maar ook tussen osteoclasten die binnen eenzelfde bot andere delen van dat bot bevolken. Onderzoekers van de groep van Andersson uit Zweden toonden aan dat er verschil bestaat tussen de excretie van TRACP tussen osteoclasten van het schachtbot in vergelijking met deze gelegen tegen trabeculair bot.¹³ Tevens hebben deze onderzoekers laten zien dat deze beide populaties van elkaar verschillen in celgrootte.¹⁴ Een dergelijk verschil was ook al geconstateerd tussen osteoclasten van pijpbeen en calvaria bij pycnodysostosispatiënten, waar de calvaria-osteoclasten ongeveer tweemaal zo groot zijn en ook twee keer zo veel kernen bevatten.¹⁵ Grotere osteoclasten blijken efficiënter bot af te bereken dan hun kleinere soortgenoten, maar in hoeverre dit ook geldt voor de verschillende osteoclastsubpopulaties, zoals hier geschetst, is nog niet bekend.^{16,17} Genoemde bevindingen vormen een sterke steun voor de hypothese dat er verschillende osteoclasten bestaan; deze situatie zou vergelijkbaar kunnen zijn met de weefsel-specificiteit van macrofagen, cellen die qua ontogenie verwant zijn aan de osteoclast. De macrofaag in de lever (Kupffer-cel) is wezenlijk anders qua functie dan de macrofaag voorkomend in de milt of longen. Het is onbekend hoe de veronderstelde diversiteit aan osteoclasten ontstaat. Het ligt voor de hand te veronderstellen dat het botmicromilieu bepaalt wat voor soort osteoclast ontstaat. Is het botsubstraat verschillend, verschillen de osteoclastvoorlopercellen of is er sprake van een andere aansturing van osteoclastogenese door de osteoblasten/botrandcellen? In de volgende paragrafen worden deze drie mogelijkheden nader belicht.

Diversiteit door ander botsubstraat?

Zoals hierboven al aangeduid is er sprake van grote verschillen in de samenstelling van de botmatrix wanneer pijpbeen met calvariabot wordt vergeleken.¹² Van den Bos en medewerkers toonden aan dat er aanzienlijk meer collagene eiwitten in calvariabot aanwezig zijn dan in de botmatrix van pijpbeen. Tevens werden grote verschillen in compositie en type van niet-collagene eiwitten aangetroffen. Deze verschillen kunnen een reden zijn dat er andere enzymen noodzakelijk zijn om het bot te kunnen afbreken. Eerder onderzoek toonde echter aan dat het palet aan proteolytische enzymen van de osteoclast niet wordt beïnvloed door de verschillende substraten. Osteoclasten van het ene bottype uitgezet op een ander type bot bleken nog steeds dezelfde proteolytische enzymen te gebruiken als op het originele bot het geval was.³ Dit sluit niet uit dat de vorming van de osteoclasten wel kan worden beïnvloed door het bottype waar ze op gevormd worden; een mogelijkheid die nog nader onderzocht dient te worden.



Diversiteit door verschil in voorlopercellen?

Cellen van de monocytlijn vormen de voorlopercellen voor osteoclasten. Deze cellen bevinden zich zowel in de bloedbaan als in de mergholten van de verschillende botten. Vrij algemeen wordt aangenomen dat osteoclasten worden gevormd door de cellen die uit het bloed worden gerekruteerd en niet uit het beenmerg. Maar zeer recent onderzoek heeft aangetoond dat beenmerg van de verschillende botten vrij grote aantallen voorlopercellen bevat en dat deze cellen eenvoudig aan te zetten zijn tot osteoclastvorming. Vervolgonderzoek zal moeten uitwijzen of osteoclasten gegenereerd uit beenmerg van de verschillende botten verschillend zijn.

Kaakosteonecrose ook een gevolg van osteoclastdiversiteit?

Diversiteit door verschillende osteoblasten/botrandcellen?

Bij de vorming van osteoclasten spelen osteoblasten, of beter botrandcellen, een cruciale rol. Deze cellen rekruteren de voorlopercellen door uitscheiding van chemokinen. De voorlopercellen hechten zich aan de botrandcellen door binding van ICAM-1 aan LFA-1, waarna de botrandcel RANK-L tot expressie brengt. Interactie van RANK-L met RANK aan de membraan van de osteoclastvoorlopercel zet een cascade aan activiteiten in werking, wat uiteindelijk leidt tot terugtrekking van de botrandcel van het botoppervlak, migratie van de voorlopercel naar het vrijgemaakte oppervlak en de fusie van voorlopercellen zodat een osteoclast wordt gevormd.

In hoeverre er botgerelateerde verschillen zijn tussen botrandcellen, is onbekend. Wel is bekend dat de botvormende osteoblasten verschillend kunnen zijn, waardoor, zoals hiervoor vermeld, verschillen kunnen optreden in de samenstelling van het bot. Dat de ene botrandcel niet gelijk is aan de andere, is niet onwaarschijnlijk. Er blijkt namelijk een botspecifiek verschil te zijn in gevoeligheid voor hormonen. Bij een te laag calciumgehalte zal resorptie van bepaalde delen van het skelet (bijv. pijpbeenderen) plaatsvinden, terwijl andere delen (bijv. calvaria) grotendeels gespaard blijven. De meeste hormonen worden door de osteoblasten/botrandcellen herkend en niet door de osteoclast. Verschil in respons bij een laag calciumgehalte is mogelijkterug te voeren op verschil in hormoongevoeligheid van calvaria- dan wel pijpbeenbotrandcellen.

Geconcludeerd kan worden dat er bottype-specifieke osteoclasten zijn en dat de verschillen hoogstwaarschijnlijk samenhangen met plaatsspecifieke vorming van deze cellen.

Osteopetrose en de osteoclastdiversiteit

Uiterst boeiende waarnemingen die feitelijk nog nauwelijks aandacht hebben gekregen zijn gedaan bij diermodellen waarbij er sprake was van een lokale inactiviteit van osteoclasten met als gevolg lokale osteopetrose.

Osteopetrose wordt gekenmerkt door een te grote hoeveelheid bot, meestal ontstaan door verminderde afbraak. In de meest extreme vorm wordt er helemaal geen bot afgebroken, wat in pijpbeenderen onder andere leidt tot het ontbreken van mergholten. Inmiddels zijn er al vrij veel genen beschreven die belangrijk blijken te zijn voor de activiteit van de osteoclast en bij afwezigheid/mutatie van deze genen leidt dit tot inactieve osteoclasten ofwel osteopetrose. De meeste van deze genen coderen voor eiwitten die een rol spelen bij de verzuring van de resorptielacune. Zo is aangetoond dat deficiëntie van V-ATPase, CICN-7 of koolzuuranhydrase-II ertoe leidt dat de osteoclast geen bot meer kan afbreken doordat de vorming en uitscheiding van H^+ niet kan plaatsvinden. Deze osteoclasten komen in normale of verhoogde aantallen voor en ze worden gekenmerkt door een afwezigheid van de borstelzoom. De aanhechting aan het bot vindt wel plaats, maar er treedt geen resorptie op. Naast de hiervoor genoemde vorm van osteopetrose zijn er ook vormen waarbij de osteoclast zich niet kan hechten of waarbij de osteoclast niet gevormd kan worden door afwezigheid van cytokinen zoals M-CSF of RANK-L.

Een milde vorm van osteopetrose wordt waargenomen bij muizen deficiënt voor cathepsine K; een model voor het ziektebeeld pycnodyostosis.^{18,19} Opvallend is dat de pijpbeenderen inderdaad een hoge botdichtheid laten zien, zoals karakteristiek is voor osteopetrose. Het schedeldak is echter normaal en ook de tanden en kiezen kunnen normaal doorbreken.¹⁸ Deze en ook andere studies laten zien dat de osteoclasten van het schedeldak en de kaak minder afhankelijk zijn van cathepsine K dan die van de pijpbeenderen.⁹

Ook bij deficiëntie van andere eiwitten zijn het of de botten van het schedeldak (connexine-43 en MMP-2) of de botten van de extremiteiten (TRAF6, NFATc1, Ihh, HIF α , Ae2) die aangedaan zijn.²⁰⁻²⁵

De bevindingen tot op heden ondersteunen het idee dat er verschillen bestaan tussen osteoclasten die actief zijn op verschillende locaties. Het is zelfs denkbaar dat elk bot een unieke set aan osteoclasten heeft met eigenschappen optimaal geschikt voor die locatie. Indien we in de toekomst in staat zijn deze hypothese te bevestigen, zal een volgende stap zijn medicamenten te ontwikkelen die de activiteit van een bepaald type osteoclasten kunnen beïnvloeden. Wellicht dat dan een fenomeen als osteonecrose van de kaak bij gebruik van bisfosfonaten voorkomen kan worden.

Literatuur

- 1 Everts V, Delaisse JM, Korper W, Beertsen W. Cysteine proteinases and matrix metalloproteinases play distinct roles in the subosteoclastic resorption zone. *J Bone Miner Res.* 1998;13:1420-30.
- 2 Everts V, Delaisse JM, Korper W, et al. Degradation of collagen in the bone-resorbing compartment underlying the osteoclast involves both cysteine-proteinases and matrix metalloproteinases. *J Cell Physiol.* 1992;150:221-31.
- 3 Everts V, Korper W, Jansen DC, et al. Functional heterogeneity of osteoclasts: matrix metalloproteinases participate in osteoclastic resorption of calvarial bone but not in resorption of long bone. *FASEB J.* 1999;13:1219-30.
- 4 Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, et al. Matrix metalloproteinase 9 and vascular en-

- dothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol.* 2000;151:879-89.
- 5 Vu TH, Shipley JM, Bergers G, et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell.* 1998;93:411-22.
 - 6 Everts V, Aronson DC, Beertsen W. Phagocytosis of bone collagen by osteoclasts in two cases of pycnodysostosis. *Calcif Tissue Int.* 1985;37:25-31.
 - 7 Everts V, Beertsen W, Schroder R. Effects of the proteinase inhibitors leupeptin and E-64 on osteoclastic bone resorption. *Calcif Tissue Int.* 1988;43:172-8.
 - 8 Gelb BD, Shi GP, Chapman HA, Desnick RJ. Pycnodysostosis, a lysosomal disease caused by cathepsin K deficiency. *Science.* 1996;273:1236-8.
 - 9 Everts V, Korper W, Hoeben KA, et al. Osteoclastic bone degradation and the role of different cysteine proteinases and matrix metalloproteinases: differences between calvaria and long bone. *J Bone Miner Res.* 2006;21:1399-408.
 - 10 Perez-Amodio S, Jansen DC, Schoenmaker T, et al. Calvarial osteoclasts express a higher level of tartrate-resistant acid phosphatase than long bone osteoclasts and activation does not depend on cathepsin K or L activity. *Calcif Tissue Int.* 2006;79:245-54.
 - 11 Suter A, Everts V, Boyde A, et al. Overlapping functions of lysosomal acid phosphatase (LAP) and tartrate-resistant acid phosphatase (Acp5) revealed by doubly deficient mice. *Development.* 2001;128:4899-910.
 - 12 Bos T van den, Speijer D, Bank RA, Bromme D, Everts V. Differences in matrix composition between calvaria and long bone in mice suggest differences in biomechanical properties and resorption: Special emphasis on collagen. *Bone.* 2008;43:459-68.
 - 13 Zenger S, Hollberg K, Ljusberg J, et al. Proteolytic processing and polarized secretion of tartrate-resistant acid phosphatase is altered in a subpopulation of metaphyseal osteoclasts in cathepsin K-deficient mice. *Bone.* 2007;41:820-32.
 - 14 Hu Y, Ek-Rylander B, Karlstrom E, Wendel M, Andersson G. Osteoclast size heterogeneity in rat long bones is associated with differences in adhesive ligand specificity. *Exp Cell Res.* 2008;314:638-50.
 - 15 Everts V, Hou WS, Rialland X, et al. Cathepsin K deficiency in pycnodysostosis results in accumulation of non-digested phagocytosed collagen in fibroblasts. *Calcif Tissue Int.* 2003;73:380-6.
 - 16 Lees RL, Sabharwal VK, Heersche JN. Resorptive state and cell size influence intracellular pH regulation in rabbit osteoclasts cultured on collagen-hydroxyapatite films. *Bone.* 2001;28:187-94.
 - 17 Trebec DP, Chandra D, Gramoun A, et al. Increased expression of activating factors in large osteoclasts could explain their excessive activity in osteolytic diseases. *J Cell Biochem.* 2007;101:205-20.
 - 18 Gowen M, Lazner F, Dodds R, et al. Cathepsin K knockout mice develop osteopetrosis due to a deficit in matrix degradation but not demineralization. *J Bone Miner Res.* 1999;14:1654-63.
 - 19 Saftig P, Hunziker E, Wehmeyer O, et al. Impaired osteoclastic bone resorption leads to osteopetrosis in cathepsin-K-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:13453-8.
 - 20 Lecanda F, Warlow PM, Sheikh S, et al. Connexin43 deficiency causes delayed ossification, craniofacial abnormalities, and osteoblast dysfunction. *J Cell Biol.* 2000;151:931-44.
 - 21 Inoue K, Mikuni-Takagaki Y, Oikawa K, et al. A crucial role for matrix metalloproteinase 2 in osteocytic canalicular formation and bone metabolism. *J Biol Chem.* 2006;281:33814-24.
 - 22 Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, et al. TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling. *Genes Dev.* 1999;13:1015-24.
 - 23 Aliprantis AO, Ueki Y, Sulyanto R, et al. NFATc1 in mice represses osteoprotegerin during osteoclastogenesis and dissociates systemic osteopenia from inflammation in cherubism. *J Clin Invest.* 2008;118:3775-89.
 - 24 Chung UI, Kawaguchi H, Takato T, Nakamura K. Distinct osteogenic mechanisms of bones of distinct origins. *J Orthop Sci.* 2004;9:410-4.
 - 25 Wang Y, Wan C, Deng L, et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development. *J Clin Invest.* 2007;117:1616-26.