

İmmün Sistem ve İskelet Sistemi Arasındaki Etkileşimlerde RANK ve RANK Ligandın Rolü ve Klinik Yansımalar

The Role of RANK and RANKL in the Interplay Between the Skeletal System and Immune System and Clinical Reflections: Review

Dr. Ömür ARDENİZ^a

^aAlerji ve Klinik İmmünoloji BD,
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

Geliş Tarihi/Received: 20.01.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 07.04.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Ömür ARDENİZ
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Alerji ve Klinik İmmünoloji BD, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
tanmehomu@yahoo.com

ÖZET Çok sayıda otoimmün ve inflamatuvar hastalıkta gözlemlenebilen immün sistem ve iskelet sistemi arasındaki karşılıklı etkileşimi vurgulayan "osteoinmünoloji" ifadesi ilk kez 2000 yılında literatürde yerini almıştır. Kemik hücreleri ile immün efektör hücrelerin orijini kemik iliğidir. B lenfositlerin ve osteoklastların ortak bir progenitörden köken aldığı anlaşılmıştır. Lenfoid hücreler sekrete ettikleri sitokinler aracılığı ile kemik metabolizmasını etkilerken, osteoblast ve osteoklastik hücreler de lenfoid organ gelişimi ve lenfositler hücre diferansiyasyon ve matürasyonunu yönlendirmektedir. Çalışmalar, çok sayıda sitokin, kemokin ve transkripsiyon faktörünün her iki sistem tarafından da paylaşıldığını ortaya koymuştur. Çok sayıda otoimmün, inflamatuvar hastalığın yanı sıra malign hastalıkların seyrinde de osteoporoz geliştiği bilinmektedir. Tümör nekrozis faktör (TNF) reseptör ailesi üyesi olan "receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin (OPG) aksına ait işlev bozuklukları, sadece kemik mineral dansite anomalilerinde değil, çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların etiopatogenezinde rol oynamaktadır. RANK/RANKL sistemi, proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınımını uyarmaktadır. İmmün ve kemik hücreleri arasındaki yakın etkileşimin anlaşılması, yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır ve bu tedaviler, yakın dönemde postmenopozal osteoporoz, romatoid artrit ve metastatik tümörler gibi çok sayıda hastalıkta başarıyla uygulanmıştır. Hiper-immünglobulin (Ig)M ve hiper-IgE sendromu gibi çeşitli immün yetmezlik sendromlarına osteopeni/osteoporoz eşlik etmektedir. Osteoinmünolojideki gelişmeler, bu olgularda gözlenen lenfoid ve dendritik hücre fonksiyon bozukluklarının etiopatogenezine de ışık tutacak ve yeni tedavi seçeneklerine zemin hazırlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: RANK ligandı ; immün sistem; osteoporoz; otoimmünite

ABSTRACT The term "osteoinmünology" was first used in the year 2000 which underlies the interplay between the immune system and skeletal system that can explain the abnormalities in bone metabolism observed in many autoimmune and inflammatory disorders. Bone cells and immune effector cells are originated from same site known as bone marrow. B lymphocytes and osteoclasts share a common progenitor. While lymphoid cells have the capability of influencing the bone metabolism, osteoclasts and osteoblasts can direct the lenfoid organ development, lymphoid cell differentiation and maturation. Many cytokines, chemokines and transcription factors have been demonstrated to be shared by both skeletal and immune system cells. Osteoporosis has been found to develop in many autoimmune, inflammatory and malign disorders. The abnormalities regarding the receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin (OPG) which are known as tumor necrosis factor (TNF) receptor family members do not only account for the disruption of bone mineral density, but also etiopathogenesis of many autoimmune and inflammatory diseases. RANKL/RANK system stimulates several pro-inflammatory cytokines and chemokines. The understanding of the close interaction between immune and bone cells also provides the development of new treatment strategies which have already been tried and proved to be successful in postmenopausal osteoporosis, rheumatoid arthritis and metastatic malign disorders. Osteoporosis and osteopenia accompany to several immunodeficiency syndromes such as hyper-IgM syndrome and hyper-immunoglobuline (Ig)E syndrome. The development in the field of osteoinmünology may also shed a light on the etiopathogenesis of the abnormal lymphoid and dendritic cell functions observed in these syndromes and provide development of new therapies.

Key Words: RANK ligand; immune system; osteoporosis; autoimmunity

İMMÜN SİSTEM VE İSKELET SİSTEMİ ARASINDAKİ ETKİLEŞİM VE KLİNİK YANSIMALARI

Kemik homeostazisi, kemik yapımında görevli osteoblastlar ve kemik rezorbsiyonunda görevli osteoklastlar arasındaki hassas denge ile düzenlenmektedir.¹ Osteoblastlar ve stromal hücreler, osteoklastogenezin temel regülatörüdürler. Osteoklast aracılı kemik kaybı, romatoid artrit, diabetes mellitus, sistemik lupus eritematozus (SLE), kronik viral enfeksiyonlar (HIV) gibi çok sayıda hastalıkta gözlenmektedir.^{1,2} Otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda açıkça gözlenebilen, immün sistem ve iskelet sistemi arasındaki yakın, karşılıklı etkileşimi vurgulayan “osteoimmünoloji” ifadesi ilk kez 2000 yılında literatürde yerini almıştır.³

RANK/RANKL/OPG VE İMMÜN SİSTEM

Osteoblastlar, “receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)” eksprese etmektedir ve bu ligandın osteoklast prekürsörlerinde bulunan “receptor activator of NF- κ B (RANK)” ile etkileşimi osteoklastogenezini indüklemektedir.^{4,6} Osteoblastların, hematopoietik kök (stem) hücre nişlerinin gelişiminde ve devamlılığında da önemli rol oynadığı belirlenmiştir.⁷⁻⁹

Tümör nekrozis faktör (TNF) ailesinin üyesi olan RANKL'nin protein ve mRNA'sı kemik, beyin, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, bağırsak, iskelet kası, meme, plasenta, dalak, timus ve testis gibi çok sayıda dokuda ve aktif T-lenfositlerinde gösterilmiştir.^{5,10} Bu da, RANKL'nin çok sayıda fonksiyonu olduğuna işaret etmektedir, ancak, en önemli işlevi, osteoklastogenez indüksiyonudur.¹¹ RANKL, TNF-ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL) ve FasL ile yakın ilişki ve benzerlik göstermektedir.² RANKL'nin 3 izoformu tanımlanmıştır; RANKL1 ve 2 transmembran formları iken, RANKL3 solubl forma karşılık gelmektedir.¹² Membrana bağlı RANKL'nin solubl formundan daha etkin olduğu belirlenmiştir.¹³

Yine TNF ailesine üye olan RANK ise osteoklast öncü hücreleri ve matür osteoklastlar haricinde, B lenfositlerde, T lenfositlerde ve en yoğun olarak da dendritik hücrelerde eksprese edilmektedir.^{11,14,15}

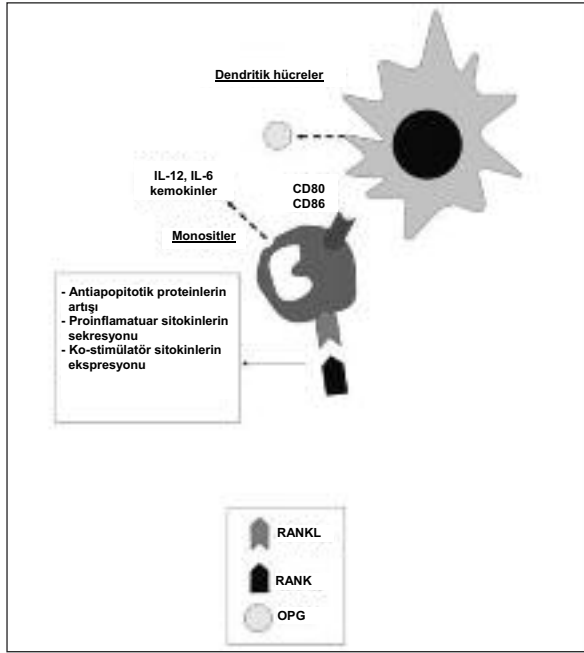
1997 yılında, transgenik farede osteopetrotik fenotip gelişimine neden olan bir proteinin varlığı tespit edilmiş ve izleyen çalışmalarda, preosteoblastlar ve stromal hücrelerce sekrete edilen ve osteoklast gelişim ve aktivasyonunu inhibe eden bu protein, kemik koruyucu özelliği nedeni ile osteoprotegerin (OPG) olarak adlandırılmıştır.² OPG, RANKL ile RANK'a bağlanma aşamasında yarışmaya girer.^{16,17} OPG de TNF ailesine üyedir, ancak transmembran ve sitoplazmik domenden yoksundur. OPG, akciğer, kalp, karaciğer, beyin, böbrek, mide, bağırsak, düz kas, spinal kord, kemik ve tiroid bezi gibi çok sayıda dokuda ve lenfoid hücrelerde eksprese edilmektedir ve bu nedenle multipl fonksiyona sahip olması muhtemeldir.^{2,4}

RANKL'nin RANK ile bağlanması, “TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6)” aracılığı ile sinyalizasyona neden olur.² TRAF6, NF- κ B ve “mitogen-activated kinases (MAPK)”ların aktivasyonuna neden olmaktadır.¹³ TRAF6, osteoklastogenezde elzem bir moleküldür ve TRAF6 yoksun fareler osteopetrotik fenotipe sahiptir.⁵ “Activator protein 1 (AP-1)”de osteoklastogenezde elzem bir transkripsiyon faktörü olarak belirlenmiştir.¹³

RANK/RANKL/OPG aksına ait anomalilerin, postmenopozal osteoporoz, steroid ile indüklenen osteoporoz, romatoid artrit, multipl miyeloma, ateroskleroz gibi hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığı belirlenmiştir.¹ RANKL/OPG oranı, osteoklastogenezin regülasyonunda en önemli temel belirleyici olarak ortaya konmuştur.⁴

RANK/RANKL sistemi, proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınımını uyarmaktadır. RANKL'nin monosit aktivasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 1).^{18,19} RANK ekspresyonu insan periferik kanından izole edilen monositlerde de belirlenmiştir ve RANKL ile uyarı sonrası “up-regule” olmaktadır. RANKL monositlerin T lenfositlere antijen sunumunu uyarmaktadır.¹⁹

RANKL/RANK sisteminin, dendritik hücre fonksiyonlarında da önemli etkilerde bulunduğu belirlenmiştir. RANK, matür dendritik hücrelerde yüksek oranda eksprese edilmektedir ve RANKL, dendritik hücrelerde antiapoptotik *Bcl-xL* “up-regulation” yoluyla apoptozu önlemektedir.²⁰ Matür



ŞEKİL 1: RANKL, RANK ve OPG ile dendritik hücreler ve monositler arasındaki etkileşim.

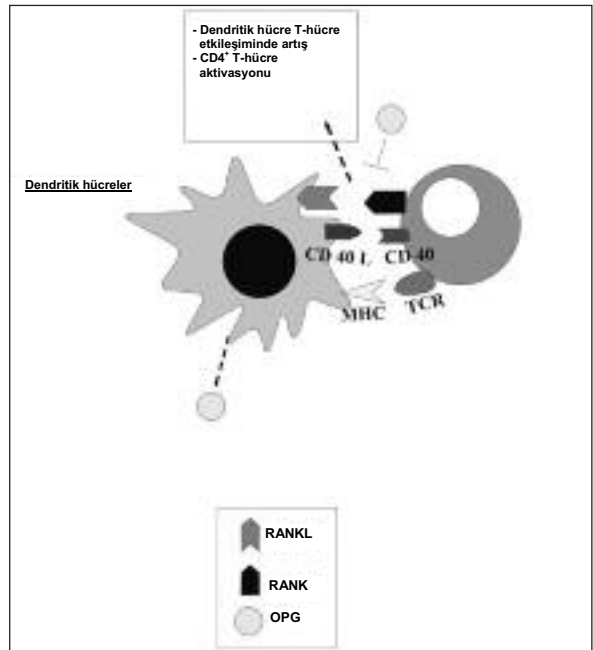
dendritik hücrelerin, solubl RANKL ile muamelesinin, interlökin (IL)-12, IL-1, IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir.²¹ RANKL'nin antijen spesifik T-hücre yanıtını ve interferon-gama (IFN- γ) üretimini uyardığı, drene eden lenf nodlarında ise dendritik hücre sayısının arttığı belirlenmiştir.²¹ Dendritik hücrelerde, CD40 ligasyonu sonrası, RANK ve OPG'nin "up-regule" olduğu gösterilmiştir ve dendritik hücre aracılı T-hücre aktivasyonu aşamasında, OPG'nin T-hücre yanıtlarının modülasyonunda negatif düzenleyici bir molekül olduğu ileri sürülmüştür (Şekil 2).²² İnflamatuar bağırsak hastalıkları (İBH)'nda gözlenen RANKL/OPG düzeylerindeki anomalilerin, dendritik hücre aktivasyonu ile yakın ilişkisi belirlenmiş ve İBH zemininde gelişen osteopeni/osteoporoz gelişiminde rolü olabileceği savunulmuştur.^{23,24}

Lipopolisakkarid (LPS) ile indüklenen mürin endotoksik şok modelinde, RANKL fonksiyonlarının in vivo olarak bloke eden solubl reseptör olan RANK-Fc'nin etkisi analiz edilmiştir.¹⁹ Bu farelerde, RANK-Fc uygulamasının, septik şok aracılı ölüme anlamlı oranda azalttığı belirlenmiştir. Çeşitli deneysel artrit modellerinde, RANKL inhibisyonu-

nun, inflamasyon üzerinde minimum etkide bulunduğu rapor edilmekle birlikte, yine bir deneysel mürin artrit modelinde, RANK-Fc uygulamasının, artrit bulgularında kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda düzelme sağladığı bildirilmiştir.^{11,25-27}

"Knock-out" (NO) fare modelleri aracılığı ile RANKL/RANK aksının sadece kemik metabolizması değil, organogenezde ve lenfoid hücre gelişiminde de önemli roller üstlendiği anlaşılmıştır.^{28,29} RANKL NO farede, osteopetrotik fenotip yanı sıra, diş erüpsiyonu anomalileri, lenf bezi ve meme bezi gelişimi yanı sıra lenfositler hücre gelişiminde de anomaliler belirlenmiştir. Bu fareler tüm lenf nodlarından yoksundur, ancak splenik ve Peyer's plakları normal kompozisyona sahiptir. RANKL NO farelerde ayrıca, T-hücre/dendritik hücre etkileşimleri de defektiftir.^{28,29} RANKL'nin, erken timosit gelişiminde de regülatör role sahip olduğu belirlenmiştir.³⁰ RANKL NO farelerde, timik selülaritenin ve timik boyutun belirgin oranda azaldığı gösterilmiştir.³⁰

RANK "knock out" farenin ise, normal timus gelişimine ve boyutuna sahip olduğu, ancak RANKL bulunmayan fareye benzer şekilde lenf nodlarından yoksun olduğu ve osteopetrozis ve diş



ŞEKİL 2: RANKL, RANK, OPG ile dendritik hücreler ve T lenfositler arasındaki etkileşim.

gelişim anomalileri sergilediği belirlenmiştir.³¹

OPG “knock-out” fare modelinde, öncü B seri hücrelerin (pro-B), yabancıl (wild) tip fareye kıyasla daha yüksek oranda proliferasyon gösterdiği belirlenmiştir.³² T-hücre bağımlı antijenlere in vivo antikor yanıtı değerlendirilmiş ve OPG yokluğunun, IgG izotip değişimini etkileyebileceği gösterilmiştir (Tablo 1).³²

TİMİK GELİŞİM VE SANTRAL TOLERANS GELİŞİMİNDE RANKL

RANKL, farede timik epitel hücre aktivitesini (hücre proliferasyonu, hücre yaşam süresini uzatan ölüm regülatuar gen ekspresyonunun modülasyonu) uyarılmaktadır.³³ RANKL, timik epitelde, *Bcl-2* ve *Bcl-xL* gibi antiapoptotik genlerin transkripsiyonunu arttırmaktayken; proapoptotik gen *Bax*'ı ise baskılamaktadır.³³ RANKL, timositlerin timik epitel hücreleri ile etkileşiminde önemli rol oynamaktadır.³³ RANKL muamelesi sonrası, timik epitel hücrelerince hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) adezyon moleküllerinin ekspresyonu artmakta ve timositlerin timik epitele adezyonu artış göstermektedir.

RANKL, erken timosit prekürsörlerinde eksprese edilmektedir.¹⁴ RANKL'nin timik rejenerasyonu uyardığı belirlenmiştir. Ayrıca timik rejenerasyon aşamasında, timik epitelde RANKL ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir ve bu da timik yenilenme safhasında T-hücre gelişiminde rolü olduğunu düşündürmektedir.³⁴ Timik epitel hücrelerince üretilen IL-7, timositlerin yaşam ve proliferasyonu üzerinde önemli role sahiptir.³⁵ IL-7, T-hücre rekonstitüsyonunu ve timik rejeneras-

yonu uyarılmaktadır.³⁶ RANKL'nin, timosit proliferasyonu ve diferansiyasyonunda önemli olan IL-7 ve “granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)” ekspresyonunu arttırdığı belirlenmiştir.³³

CD4⁺ CD3⁻ hücrelerden kaynaklanan RANKL-RANK sinyallerinin, timik medullada, “autoimmune regulator (Aire)” eksprese eden timik epitelyal hücre gelişimini regüle ettiği gösterilmiştir.³⁷ Kortikal epitel hücrelerince pozitif seleksiyon sonrası, timositler medullaya göç eder ve burada negatif seleksiyona uğrarlar.³⁸ Timik medullar hücreler, self-doku antijenleri [self-tissue restricted antigens (TRA)] eksprese ederler ve bu antijenlerin ekspresyonu Aire tarafından regüle edilmektedir.³⁹ Aire ekspresyonundaki defekt, otoimmün poliendokrinopati, kandidiyazis, ektodermal distrofi [autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED)] olarak bilinen bir sendroma neden olmaktadır.⁴⁰ RANKL'nin, Aire(-) progenitörlerden Aire(+) medüller timik epitel hücre gelişimini uyardığı belirlenmiştir ve timik epitelyal hücrelerde, RANKL eksikliğinin otoimmüniteyi uyardığı vurgulanmıştır.³⁷ Bu verilerden, RANKL'in santral tolerans gelişiminde anahtar rol oynadığı anlaşılmaktadır.

SİTOKİNLER VE OSTEOKLASTOGENEZ REGÜLASYONU

IL1-alfa, IL1-beta, IL-17, “macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)” ve TNF-alfa osteoklastogenezi indüklemektedir.⁴ Bu sitokinler, osteoblastlarca RANKL ekspresyonunu uyarılmaktadır.^{11,41-43} IL1 ve TNF-alfa, RANKL yokluğunda da, osteoklast prekürsörlerini direkt etkileyerek osteoklast diferansiyasyonunu uyarabilmektedir.⁵

TABLO 1: RANK/RANKL/OPG “knock out” fare modellerinde gözlenen özellikler.

RANKL NO fare	RANK NO fare	Osteoprotegerin NO fare
Osteopetrozis ve diş gelişim anomalileri	Osteopetrozis ve diş gelişim anomalileri	Osteoporoz
Lenf bezi ve meme bezi gelişim anomalileri	Lenf nodu gelişim anomalisi	B-hücre seri gelişimde defekt
Timik selülarite kaybı ve timik boyutta azalma	Normal timüs gelişimi ve boyutu	Dendritik hücrelerce T-hücre uyarısında belirgin artış
Lenfositler hücre gelişim defekti, B-hücre öncüllerinin gelişiminde defekt.	Kemik iliği selülaritesinde belirgin azalma	T-hücre bağımlı antijen uyarısına defektif antikor yanıtı
T-hücre/dendritik hücre etkileşiminde defekt	B-hücre sayısında azalma	Antikor izotip değişiminde defekt

Açıklama:: NO: “Knock out”, RANKL: Receptor activation of NF-κB ligand, RANK: Receptor activation of NF-κB, OPG: Osteoprotegerin.

Literatürde, öncü B-hücrelerin gelişimi ve diferansiyasyon aşamasında kritik öneme sahip bir sitokin olan IL-7'nin, RANKL gibi T-hücre kökenli sitokinleri uyarmak yoluyla osteoklastogenezi indüklediği bilgisi hakimdir.⁵ Normal farelerin sistemik IL-7 ile muamelesi, B 220⁺ pro-B-hücre proliferasyonunu, osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu uyarmaktadır.⁴⁴ IL-7 aşırı eksprese eden fareler ise, pre-B hücrelerde ekspansiyonla beraber artmış kemik yıkımı sergilemektedir.⁴⁵ Bununla birlikte, IL-7 reseptörü bulunmayan farelerin kullanıldığı bir deneysel modelde, IL-7'nin in vivo olarak antiosteoklastogenik etkisi bulunduğu sonucuna varılmıştır.⁴⁶

IFN-alfa/beta, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13 ve IL-18 osteoklast gelişimini inhibe etmektedir.⁴⁷ Literatürde aktif T-hücrelerce sekrete edilen IFN- γ 'nın, Stat-1 aracılığı ile TRAF-6'yı baskılayarak, RANKL sinyalizasyonunu inhibe ettiği ve böylece de osteoklastogenezi baskıladığı bilgisi hakimdir.⁴⁸⁻⁵⁰ Öte yandan, IFN- γ 'nın, östrojen eksikliği, enfeksiyon ve inflamasyon gibi patolojik koşullarda, TNF-alfa ve RANKL gibi sitokinlerin üretimini uyarmak yoluyla, proosteoklastogenik etkide de bulunabileceği vurgulanmaktadır.⁵¹

Kemik hücrelerinde "Toll-like receptor (TLR)" ekspresyonu belirlenmiştir ve TLR aktivasyonu TRAF-6 üzerinden sinyal yolağını harekete geçirecek, NF- κ B ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini uyarmakta ve proinflamatuvar sitokin sekresyonuna neden olmaktadır.⁵²⁻⁵⁴ TLR aktivasyonunun etkileri, osteoklastik hücrenin diferansiyasyon derecesine bağlı olarak değişmektedir. Öncü prekürsör hücrelerde osteoklastogenezi inhibe ederken; osteoklastik hücreye diferansiye olmak üzere farklılaşma aşamasındaki hücrelerde ise osteoklastogenezi uyarmaktadır.⁴⁷

B VE T LENFOSİTLER

Çalışmalar ortaya koymuştur ki, gerek B, gerekse de T lenfositler, bazal pik kemik kitle kazanımında kritik role sahiptir.

B Lenfositler

RANKL ekspresyonu yoluyla direkt olarak, ya da IL-7 sekresyonu üzerinden indirekt olarak osteok-

lastogenezi de rol alabilirler.⁴ B lenfositlerinin, overektomi aracılı kemik kaybında rol aldığı ileri sürülmüştür.⁴⁴ Diğer yandan, in vitro insan modelinde, periferik kan B-hücrelerinin osteoklast gelişimini, osteoklast apoptozunu indükleyen TGF- β sekresyonu yoluyla inhibe ettiği rapor edilmiştir.⁵⁵⁻⁵⁷ B-hücre deplesyonunun, in vivo olarak, bir periodontit modelinde kemik kaybını artırdığı rapor edilmiştir.⁵⁸ B lenfositten yoksun farelerde osteoporozun gözlemlendiği ve B-hücre rekonstitüsyonunun bu tabloyu geri çevirdiği bildirilmiştir.⁴

Kemik iliğinde bulunan plazma hücreleri, hücre başına OPG üretimini en yüksek olduğu hücreler olarak belirlenmiştir ve bunu matür B lenfositler izlemektedir.⁴ B-hücre prekürsörlerinin ve immatür B-hücrelerin ise sadece düşük düzeylerde OPG sekrete ettiği saptanmıştır.⁴ B seri hücreler, kemik iliği kökenli total OPG üretimini en önemli kaynağı gibi durmaktadır.

Çok sayıda rapor, B-hücre diferansiyasyonunda rol oynayan moleküllerdeki değişimlerin, ayrıca osteoblast ve/veya osteoklast diferansiyasyonunda da değişikliklere neden olduğunu ifade etmektedir.⁵ Özel koşullar altında osteoklastlar ve B-hücrelerin ortak bir progenitörü paylaştıkları görüşü mevcuttur.⁵ B lenfositler ve osteoklastlar, ortak reseptörler ve akış-aşağı (downstream) sinyal yollarını paylaşmaktadır.⁵ B lenfositlerinin gelişiminde görevli olan ve pro-B aşamasından matür B-hücre aşamasına kadar B lenfositlerce eksprese edilen PAX5 transkripsiyon faktörünün yokluğunda, pro-B-hücrelerinin, M-CSF ve RANKL varlığında, osteoklastlara diferansiyasyon gösterebildiği belirlenmiştir.⁵⁹ PAX5 NO farelerin anlamlı derecede osteopenik oldukları gösterilmiştir.⁵ Özetle, B-hücre gelişimini kontrol eden transkripsiyon faktörleri aynı zamanda iskelet sistemi üzerinde de önemli etkilerde bulunmaktadır.

Osteopetrozis/osteopetrozis (op/op) mutasyonuna sahip farelerin, makrofaj ve osteoklastlardan yoksun oldukları ve bu farelerde B-hücre prekürsörlerinin de anlamlı oranda düşük olduğu rapor edilmiştir.^{60,61} Bu farelerde, osteoklastların yanı sıra makrofajlar da mevcut değildir ve

günlük M-CSF enjeksiyonları osteopetrozisi düzeltmektedir.⁵

RANKL “knock-out” farede, B-hücre gelişiminde anomaliler bildirilmiştir ve splenik B220⁺ B-hücre sayısı, yaklaşık %60 oranında azalmıştır.³⁰ B220⁺ CD25⁻ pro-B-hücrelerden, B220⁺ CD25⁺ pre-B-hücelere diferansiyasyonda duraklama belirlenmiştir. Bu farelerde, kemik iliği hücreleri ile rekonstitüsyon sağlandığında, B-hücre gelişimi normale gelmektedir. Bu bilgi, RANKL'nin, B-hücre prekürsör gelişiminde öneme sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, RANK yoksun farede de osteopetrozis yanı sıra, B-hücre sayısında azalma dikkat çekmektedir (Tablo 1).³¹

OPG “knock out” fareler ise, RANKL/RANK-/- fareden farklı olarak, artmış osteoklast aktivitesi nedeni ile ciddi osteoporoz sergiler ve pro-B-hücre sayıları yüksektir.^{62,63} OPG NO fareler, yabancı tip fareye kıyasla, IL-7'ye yanıt olarak daha iyi proliferasyon yanıtı sergiler.³² Bu veriler ışığında, OPG'nin pro-B-hücre çoğalması üzerinde negatif düzenleyici rolü bulunduğu kanısına varılmıştır.³² Ancak, RANKL -/- fareden farklı olarak, OPG NO farelerde, pro-B-hücrelerin pre-B-hücelere diferansiyasyonunun etkilenmediği gözlenmiştir. Ayrıca, OPG NO farelerde, T-bağımlı antijen ile uyarı sonrası spesifik antikor yanıtında defekt belirlenmiştir.³² Özetle, OPG sadece B-hücre gelişimi aşamasında değil, etkin bir antikor yanıtının elde edilmesinde de önemli görünmektedir (Tablo 1).³²

T Lenfositler

Kemik metabolizması üzerinde farklı yönlerde etkilerde bulunabileceği, çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur. Aktif T-hücreler, östrojen yetmezliği ve inflammatuar patolojilerde, RANKL ve TNF-alfa kaynağı olarak, kemik destrüksiyonunu uyurabilir.^{25,64} Adjuvan artritinde, aktif T-hücrelerinin osteoklastik aktiviteyi indükleyici etkisinin, RANKL/RANK/OPG aksisi üzerinden olduğu gösterilmiştir.¹¹ Romatoid artritli hastaların sinovyumunda, kemik erimesinin gözleendiği bölgede, RANKL mRNA'sının aşırı düzeyde eksprese olduğu rapor edilmiştir.⁶⁵

Th1 hücrelerin yanı sıra IL-17 sekrete eden Th 17 hücrelerin de, osteoklastogenezi uyardığı gösterilmiştir.⁶⁶

Bu hücreler, Th1 ve Th2 hücelere kıyasla daha yüksek oranda RANKL eksprese etmektedir ve daha düşük oranda, antiosteoklastogenik sitokin IFN- γ sekrete etmektedir. Ayrıca Th17 hücreler, RANKL ekspresyonunu uyarma potansiyeline sahip TNF-alfa gibi proinflammatuar sitokinler sekrete etmektedir.⁴⁷ Romatoid artritli eklemden IL-17'nin arttığı rapor edilmiştir.¹³ IL-17'nin mezenşimal hücrelerde RANKL ekspresyonunu uyardığı belirlenmiştir.¹³

Diğer taraftan, T lenfositler kemik metabolizması üzerinde olumlu etkilerde de bulunabilirler. CD8⁺ T lenfositlerinin, antiosteoklastogenik etkileri rapor edilmiştir.^{67,68} T lenfositler, IFN- γ sekrete ederek, bir yandan makrofajlarca proinflammatuar sitokin üretimini uyarmak yoluyla RANKL ekspresyonunu artırırken; diğer yandan, TRAF-6'nın yıkımı yoluyla, osteoklastogenezi baskılayabilir.⁴¹ Özetle, T-hücrelerinin osteoklastogenezi üzerindeki etkilerinin, T-hücrelerce sekrete edilen pozitif ve negatif regülatörler arasındaki denge ile belirlendiği düşünülebilir.

Regülatuar T-hücreler (Treg) hücreler ise, IL-4, IL-10 ve TGF-beta gibi antiinflammatuar sitokin sekresyonları aracılığı ile osteoklastogenezi süprese etmektedir.⁶⁹⁻⁷¹ Öte yandan, osteoklast gelişim inhibisyonunda, hücre kontakt mekanizmasının daha ön planda olduğu gösterilmiştir.⁷¹ “Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA 4)”ün osteoklast formasyonunu, doza bağımlı yolla inhibe ettiği belirlenmiştir ve CTLA 4'ün nötralizasyonu, Treg hücrelerin osteoklastlar üzerindeki süpresif etkisini ortadan kaldırmaktadır.⁷¹

Özellikle aktif T lenfositlerince eksprese edilen CD40 ligandının (CD40L), B-hücrelerde CD40 ile ligasyonu neticesi, B-hücrelerden OPG üretimini uyardığı gösterilmiştir.⁴ Kısaca, CD40L/CD40 ko-stimülatör sistem, aktif T-hücrelerce üretilen RANKL'nin kemik homeostazisi üzerindeki negatif etkisini, B-hücrelerce OPG üretiminin arttırılması yoluyla tamponlamaktadır.⁴

Bununla birlikte, inflamasyonun arttığı patolojik koşullarda, aktif T-hücrelerince üretilen yoğun sitokin yükü, B-hücre kökenli OPG üretiminin koruyucu etkisini alt edemeyerek, dengenin oste-

oklastogenez yönüne kaymasına neden olabilir.⁴ Dahası, östrojen eksikliği, multipl miyeloma ve hayvansal periodontal hastalık modelindeki gibi patolojik koşullarda, B-hücrelerinin kendisi önemli bir RANKL kaynağı olabilir.⁷²⁻⁷⁴ Bazal koşullarda, B ve T lenfositlerinin %20'si RANKL kaynağı iken, periodontal hastalıklı dokuda, B-hücrelerinin %50, T-hücrelerinin %90'ı RANKL üretiminden sorumlu bulunmuştur.⁷²

Öte yandan, son çalışmalarda, B ve T lenfositlerinin, in vivo olarak, birlikte hareket etmesiyle, bazal kemik yıkımı üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu vurgulanmaktadır.⁴ B lenfositleri ve T lenfositleri arasındaki karşılıklı etkileşim, B lenfositlerinden kemik metabolizmasında rol oynayan sitokinlerin üretimini regüle edebilir. B-hücrelerinin, Th1 sitokinlerle uyarıldıklarında osteoklastogenezini süprese ettikleri, öte yandan Th2 sitokinlerle uyarıldıklarında ise osteoklastogenezini uyardıkları belirlenmiştir.⁷⁵

RANKL/RANK ve OPG'nin özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

YENİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

OPG-Fc füzyon proteini, postmenopozal kadınlarda, miyelomada ve metastatik meme kanserinde denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmış, ancak otoantikor gelişimi nedeni ile etkinliğinin kaybolduğu rapor edilmiştir.^{76,77} Romatoid artrit, postme-

nopozal osteoporoz ve metastatik tümörlerde, RANKL spesifik antikor tedavileri uygulanmıştır.⁷⁸⁻⁸⁰ Tedavi denenen grupta enfeksiyon ve malignite gelişiminde anlamlı artış bildirilmemiştir. RANKL antikorları, "bacillus calmette guérin (BCG)" enfeksiyonuna yanıtı etkilememektedir.¹¹ Her ne kadar deneysel artrit modellerinde, RANK yolağının blokajının immün efektör hücre fonksiyonları üzerinde anlamlı etkide bulunmadığı ifade edilmekteyse de, RANK/RANKL yolağının timosit gelişimi, monosit ve dendritik hücrelerin antijen sunma fonksiyonları, B lenfosit matürasyon ve diferansiyasyonu gibi çok sayıda aşamada oynadığı etkin rol dikkate alındığında, bu tedavilerin olası etkilerinin belirlenmesinde, daha geniş kapsamlı ve uzun vadeli çalışmaların düzenlenmesi gerekliliği mevcuttur.

İMMÜN EKSİKLİKLERDE GÖZLENEN KEMİK METABOLİZMASI ANOMALİLERİ

Çeşitli humoral immün eksikliklere osteoporoz veya osteopeninin eşlik ettiği bilinmektedir. Burada, özellikle literatürde etiopatogeneze yönelik analizin mevcut olduğu immün eksiklik tabloları (X'e bağlı hiper IgM ve hiper IgE sendromları) üzerine yoğunluk verilmiştir.

Daha önce, kliniğimizde takip ettiğimiz, sık değişken immün eksiklik (CVID) tanılı 3 olgumuzda, osteopeni/osteoporoz gelişimine eşlik eden vitamin D eksikliği belirledik. İleri tetkiklerimizde, her

TABLO 2: RANKL, RANK ve OPG'nin özellikleri ve fonksiyonları.

RANKL	RANK	OPG
TNF süper ailesi üyesi	TNF reseptör süper ailesi üyesi	TNF reseptör süper aile üyesi, ancak transmembran ve sitoplazmik domenden yoksun
Osteoblastlar, T lenfositler, B lenfositler ve sinovyal fibroblastlarca üretilir	RANKL'nin aktif reseptörü	RANKL ile RANK'a bağlanma aşamasında yarışmaya girer
Osteoklast yapımını uyarır	İntraselüler domeni TNF-TRAF'a bağlanır	Preosteoblastlar, stromal hücreler, lenfoid hücreler ve plazma hücrelerinde ekspresyon edilir
Monosit aktivasyonu ve antijen sunumunda artış	Osteoklastlar, B lenfosit, T lenfosit ve dendritik hücrelerce ekspresyon edilir	CD40-CD40L etkileşimi ile B-hücrelerde üretimi uyarılır
Dendritik hücrelerin proinflamatuvar sitokin sekresyon artışı	Santral tolerans gelişimi	B-hücre gelişiminde ve etkin antikor yanıtında rol oynar
Timik rejenerasyon ve lenfoid organ gelişiminde görevli	Lenfoid organ gelişiminde görevli	Osteoklast gelişim ve aktivasyonunu önler

RANKL: Receptor activation of NF-κB ligand, RANK: Receptor activation of NF-κB, OPG: Osteoprotegerin, TNF: Tümör nekrozis faktör, TRAF: TNF reseptör ilişkili faktör.

3 olguda da periferik kan mononükleer hücrelerde ve saç teli örneklerinde, vitamin D reseptör gen ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda düşük olduğunu gözlemledik ve bu gözlemimizi yayınladık.⁸¹ 1,25 dihidroksi vitamin D (1,25 (OH)₂ D₃) ve vitamin D reseptörleri, immün sistem regülasyonunda önemli roller üstlenmiştir.⁸² Vitamin D, OPG üretimini etkilemektedir.⁸³ Vitamin D yoksun fareler, osteoblast sayısında, kemik yapım ve volümünde ve serum alkalin fosfataz düzeylerinde artış sergilemektedir.⁸⁴ Buna ek olarak, RANKL üretiminde azalma ve OPG üretiminde artış nedeni ile osteoklast sayısında azalma gözlenmektedir.⁸⁴

Vitamin D reseptörleri, TLR'ler ve NF-κB yolu gibi proinflamatuvar sitokin üretiminde kritik rol oynayan sinyal yollarıyla yakın iş birliği içinde çalışmaktadır.⁸² Bu veriler ışığında, immün eksiklik zemininde gelişen kemik metabolizması anomalilerinin etiopatogenezinin açıklığa kavuşması, özellikle genetik temeli hala çözümlenememiş CVID başta olmak üzere, çok sayıda immün eksiklik tablosunun immünopatogenezinin anlaşılmasına da yardımcı olacaktır.

X'E BAĞLI HİPER-İMMÜNGLOBULİN M SENDROMU

CD40L defektinin gözleendiği bir immün yetmezlik sendromu olan X'e bağlı hiper-IgM sendromu [X-linked Hyper-IgM Syndrome (XHIM)], T-hücre immünitesinde defekt nedeni ile hayatın erken döneminde kendini gösteren fırsatçı enfeksiyonlar yanı sıra hepatobilyer manifestasyonlar ve malignite eğilimi ile birliktedir.⁸⁵ Bu tabloya klinik açıdan ciddi morbidite nedeni olabilecek osteopeni eşlik edebilmektedir.⁸⁵ T-hücre yoksun, CD40L yoksun ve CD40 yoksun farelerin osteoporotik oldukları ve kemik iliği kökenli OPG sekresyonunun düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu gözlem, daha önce de ifade dildiği gibi, CD40L-CD40 etkileşiminin, B-hücrelerden osteoprotektif OPG üretimini uyardığı bilgisiyle örtüşmektedir.⁴

Aktive edilmiş, CD40L yoksun T lenfositlerinin, miyeloid seri hücrelerde, osteoklast diferansiyasyonunu güçlü olarak uyardığı belirlenmiştir.⁸⁵ Aktive CD40L yoksun T lenfositlerinde,

RANKL ekspresyonu normaldir ve bu lenfositlerde IFN-γ üretimi yapılamamaktadır.⁸⁵ Aktive CD40L yoksun lenfositlerin, IFN-γ ile kültüre edilmesi halinde, osteoklastogenik kapasitesinin belirgin oranda azaldığı gösterilmiştir.⁸⁵ Daha önce de vurgulandığı gibi, IFN-γ sinyalizasyonu, TRAF-6'nın proteozomal yıkımına neden olarak, RANK aracılı intraselüler sinyalizasyonunu ve osteoklast aktivitesini inhibe etmektedir.⁵⁰ Tüm bu bulgular, CD40L'nin osteoklastogenezde önemli bir düzenleyici rolü olduğunu vurgulamaktadır.

HİPER İMMÜNOGLOBÜLİN E SENDROMU (JOB SENDROMU)

Osteoporozun gözleendiği bir diğer immünyetmezlik sendromu da aşırı IgE üretimiyle karakterize olan ve sistemik çok sayıda bulgunun eşlik ettiği hiper IgE sendromudur. Hiper IgE sendromu (HIES)'nda, karakteristik yüz görünümü, skolyoz, eklemlerde hiperekstensibilite, diş gelişiminde anomaliler, kraniyosinostoz, koroner arter anevrizmaları, vaskülit, osteoporoz ve patolojik kırıklar bildirilmektedir.^{86,87} Olgularda minimum travma ile kot ve uzun kemik kırıkları gelişebilmektedir. HIES'de osteoporoz gelişimi, değişmiş sitokin çevresiyle açıklanmıştır.^{88,89}

Yakın dönemde yapılan çalışmalar, olguların büyük bölümünde "signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)" mutasyonu belirlemiştir.⁹⁰ STAT3, IL-6, IL-11 gibi çeşitli sitokinlerin sinyal iletiminde rol oynamakta ve IL-10, IL-17, IL-21, IL-22 ve IL-23 direkt veya indirekt yollarından STAT3'ü kullanmaktadır.⁹⁰ HIES tanılı olgularda, antiinflamatuvar IL-10 sinyalizasyonundaki defekt, proinflamatuvar sitokin çevresine katkıda bulunuyor olabilir.⁹⁰ IL-6 ailesi sitokinler, osteoblast hücre proliferasyon regülasyonunda çok önemli role sahiptir.⁹¹ Osteoklastlar IL-6 reseptörü eksprese etmektedir ve bu bilgi de, STAT3'ün osteoklastogenez üzerinde direkt etkisi olabileceğini vurgulamaktadır.⁹² Hematopoietik dokularda STAT3 defekti olan fare modellerinde, osteoklastogenezde artış, kemik dansite kaybının yanı sıra, IFN-γ ve TNF-alfa düzeylerinde artış bildirilmiştir.^{93,94}

KAYNAKLAR

1. Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. CLINICAL Review #: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(12):4514-21.
2. Rauner M, Sipos W, Pietschmann P. Osteoimmunology. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 143(1):31-48.
3. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000;408(6812):535-6.
4. Li Y, Toraldo G, Li A, Yang X, Zhang H, Qian WP, et al. B cells and T cells are critical for the preservation of bone homeostasis and attainment of peak bone mass in vivo. *Blood* 2007;109(9):3839-48.
5. Horowitz MC, Bothwell AL, Hesslein DG, Pflugh DL, Schatz DG. B cells and osteoblast and osteoclast development. *Immunol Rev* 2005;208:141-53.
6. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998;188(5): 997-1001.
7. Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. *Blood Rev* 2006;20(3):161-71.
8. Jung Y, Wang J, Havens A, Sun Y, Wang J, Jin T, et al. Cell-to-cell contact is critical for the survival of hematopoietic progenitor cells on osteoblasts. *Cytokine*. 2005;32(3-4):155-62.
9. Taichman RS, Emerson SG. The role of osteoblasts in the hematopoietic microenvironment. *Stem Cells* 1998;16(1):7-15.
10. Kartsogiannis V, Zhou H, Horwood NJ, Thomas RJ, Hards DK, Quinn JM, et al. Localization of RANKL (receptor activator of NF kappa B ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskeletal tissues. *Bone* 1999;25(5): 525-34.
11. Fouque-Aubert A, Chapurlat R. Influence of RANKL inhibition on immune system in the treatment of bone diseases. *Joint Bone Spine* 2008;75(1):5-10.
12. Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M, Hirokawa K. Determination of three isoforms of the receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and their differential expression in bone and thymus. *Endocrinology* 2001;142(4):1419-26.
13. Nakashima T, Takayanagi H. The dynamic interplay between osteoclasts and the immune system. *Arch Biochem Biophys* 2008;473(2): 166-71.
14. 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.
15. Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;253(2): 395-400.
16. 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.
17. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89(2): 309-19.
18. Li P, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Ma L, Boyce BF, Xing L. RANK signaling is not required for TNFalpha-mediated increase in CD11(hi) osteoclast precursors but is essential for mature osteoclast formation in TNFalpha-mediated inflammatory arthritis. *J Bone Miner Res* 2004;19(2):207-13.
19. Seshasayee D, Wang H, Lee WP, Gribling P, Ross J, Van Bruggen N, et al. A novel in vivo role for osteoprotegerin ligand in activation of monocyte effector function and inflammatory response. *J Biol Chem* 2004;279(29):30202-9.
20. 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.
21. Bachmann MF, Wong BR, Josien R, Steinman RM, Oxenius A, Choi Y. TRANCE, a tumor necrosis factor family member critical for CD40 ligand-independent T helper cell activation. *J Exp Med* 1999;189(7):1025-31.
22. Green EA, Flavell RA. TRANCE-RANK, a new signal pathway involved in lymphocyte development and T cell activation. *J Exp Med* 1999;189(7):1017-20.
23. Ashcroft AJ, Cruickshank SM, Croucher PI, Perry MJ, Rollinson S, Lippitt JM, et al. Colonic dendritic cells, intestinal inflammation, and T cell-mediated bone destruction are modulated by recombinant osteoprotegerin. *Immunity* 2003;19(6):849-61.
24. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Ludwiczek O, Gabriel M, Obrist P, et al. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss. *Gut* 2005;54(4):479-87.
25. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402(6759):304-9.
26. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, Müller R, Goldring SR, Choi Y, et al. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol* 2001;159(5):1689-99.
27. Redlich K, Hayer S, Maier A, Dunstan CR, Tohidast-Akrad M, Lang S, et al. Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum* 2002;46(3):785-92.
28. Wong BR, Besser D, Kim N, Arron JR, Volodgskaya M, Hanafusa H, et al. TRANCE, a TNF family member, activates Akt/PKB through a signaling complex involving TRAF6 and c-Src. *Mol Cell* 1999;4(6):1041-9.
29. Martin TJ, Gillespie MT. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL): another link between breast and bone. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12(1):2-4.
30. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397(6717):315-23.
31. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999;13(18):2412-24.
32. Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, Rafferty KL, Marshall AJ, Moon JJ et al. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 2001;166(3):1482-91.
33. Lee HW, Park HK, Na YJ, Kim CD, Lee JH, Kim BS, et al. RANKL stimulates proliferation, adhesion and IL-7 expression of thymic epithelial cells. *Exp Mol Med* 2008;40(1):59-70.
34. Lee HW, Kim BS, Kim HJ, Lee CW, Yoo HJ, Kim JB, et al. Upregulation of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand expression in the thymic subcapsular, paraseptal, perivascular, and medullary epithelial cells during thymus regeneration. *Histochem Cell Biol* 2005;123(4-5):491-500.
35. Aspinall R, Henson S, Pido-Lopez J, Ngom PT. Interleukin-7: an interleukin for rejuvenating the immune system. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:116-22.
36. Alpdogan O, Schmaltz C, Muriglan SJ, Kappel BJ, Perales MA, Rotolo JA, et al. Administration of interleukin-7 after allogeneic bone marrow transplantation improves immune reconstitution without aggravating graft-versus-host disease. *Blood* 2001;98(7):2256-65.

37. Rossi SW, Kim MY, Leibbrandt A, Parnell SM, Jenkinson WE, Glanville SH, et al. RANK signals from CD4(+)/3(-) inducer cells regulate development of Aire-expressing epithelial cells in the thymic medulla. *J Exp Med* 2007; 204(6):1267-72.
38. Ueno T, Saito F, Gray DH, Kuse S, Hieshima K, Nakano H, et al. CCR7 signals are essential for cortex-medulla migration of developing thymocytes. *J Exp Med* 2004 ;200(4):493-505.
39. Derbinski J, Schulte A, Kyewski B, Klein L. Promiscuous gene expression in medullary thymic epithelial cells mirrors the peripheral self. *Nat Immunol* 2001;2(11):1032-9.
40. Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science* 2002;298(5597):1395-401.
41. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(7):3597-602.
42. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999;25(3):255-9.
43. O'Brien CA, Gubrij I, Lin SC, Saylor RL, Manolagas SC. STAT3 activation in stromal/osteoblastic cells is required for induction of the receptor activator of NF-kappaB ligand and stimulation of osteoclastogenesis by gp130-utilizing cytokines or interleukin-1 but not 1,25-dihydroxyvitamin D3 or parathyroid hormone. *J Biol Chem* 1999;274(27):19301-8.
44. Miyaura C, Onoe Y, Inada M, Maki K, Ikuta K, Ito M, et al. Increased B-lymphopoiesis by interleukin 7 induces bone loss in mice with intact ovarian function: similarity to estrogen deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(17):9360-5.
45. Valenzona HO, Pointer R, Ceredig R, Osmond DG. Prelymphomatous B cell hyperplasia in the bone marrow of interleukin-7 transgenic mice: precursor B cell dynamics, microenvironmental organization and osteolysis. *Exp Hematol* 1996;24(13):1521-9.
46. Lee SK, Kalinowski JF, Jastrzebski SL, Puddington L, Lorenzo JA. Interleukin-7 is a direct inhibitor of in-vivo osteoclastogenesis. *Endocrinology* 2003;144(8):3524-31.
47. J CL, H C, J E F. Osteoimmunology--the hidden immune regulation of bone. *Autoimmun Rev* 2009;8(3):250-5.
48. Takayanagi H, Sato K, Takaoka A, Taniguchi T. Interplay between interferon and other cytokine systems in bone metabolism. *Immunol Rev* 2005;208:181-93.
49. Fox SW, Chambers TJ. Interferon-gamma directly inhibits TRANCE-induced osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276(3):868-72.
50. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature* 2000;408(6812):600-5.
51. Gao Y, Grassi F, Ryan MR, Terauchi M, Page K, Yang X, et al. IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest* 2007; 117(1):122-132.
52. Bar-Shavit Z. Taking a toll on the bones: regulation of bone metabolism by innate immune regulators. *Autoimmunity* 2008;41(3):195-203.
53. Walsh MC, Kim N, Kadono Y, Rho J, Lee SY, Lorenzo J, et al. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism. *Annu Rev Immunol* 2006;24:33-63.
54. Hurst J, von Landenberg P. Toll-like receptors and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2008; 7(3):204-8.
55. Weitzmann MN, Cenci S, Haug J, Brown C, DiPersio J, Pacifici R. B lymphocytes inhibit human osteoclastogenesis by secretion of TGFbeta. *J Cell Biochem* 2000;78(2):318-24.
56. Chenu C, Pfeilschifter J, Mundy GR, Roodman GD. Transforming growth factor beta inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human marrow cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85(15):5683-7.
57. Hughes DE, Dai A, Tiffie JC, Li HH, Mundy GR, Boyce BF. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. *Nat Med* 1996;2(10):1132-6.
58. Klausen B, Hougen HP, Fiehn NE. Increased periodontal bone loss in temporarily B lymphocyte-deficient rats. *J Periodontol Res* 1989;24(6):384-90.
59. Nutt SL, Heavey B, Rolink AG, Busslinger M. Commitment to the B-lymphoid lineage depends on the transcription factor Pax5. *Nature* 1999;401(6753):556-62.
60. Felix R, Cecchini MG, Fleisch H. Macrophage colony stimulating factor restores in vivo bone resorption in the op/op osteopetrotic mouse. *Endocrinology* 1990;127(5):2592-4.
61. Tagaya H, Kunisada T, Yamazaki H, Yamane T, Tokuhisa T, Wagner EF, et al. Intramedullary and extramedullary B lymphopoiesis in osteopetrotic mice. *Blood* 2000;95(11):3363-70.
62. 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.
63. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247(3):610-5.
64. Cenci S, Weitzmann MN, Roggia C, Namba N, Novack D, Woodring J, et al. Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF-alpha. *J Clin Invest* 2000; 106(10):1229-37.
65. Shigeyama Y, Pap T, Kunzler P, Simmen BR, Gay RE, Gay S. Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43(11):2523-30.
66. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006;203(12):2673-82.
67. John V, Hock JM, Short LL, Glasebrook AL, Galvin RJ. A role for CD8+ T lymphocytes in osteoclast differentiation in vitro. *Endocrinology* 1996 ;137(6):2457-63.
68. Choi Y, Woo KM, Ko SH, Lee YJ, Park SJ, Kim HM, et al. Osteoclastogenesis is enhanced by activated B cells but suppressed by activated CD8(+) T cells. *Eur J Immunol* 2001;31(7):2179-88.
69. Kelchtermans H, Geboes L, Mitera T, Huskens D, Leclercq G, Matthys P. Activated CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit osteoclastogenesis and collagen-induced arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68(5):744-50.
70. Lan RY, Ansari AA, Lian ZX, Gershwin ME. Regulatory T cells: development, function and role in autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2005;4(6):351-63.
71. Zaiss MM, Axmann R, Zwerina J, Polzer K, Gückel E, Skapenko A, et al. Treg cells suppress osteoclast formation: a new link between the immune system and bone. *Arthritis Rheum* 2007;56(12):4104-12.
72. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Maki-hira S, Seki M, Karimbux NY, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 2006;169(3):987-98.
73. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003;111(8):1221-30.
74. Sezer O, Heider U, Jakob C, Eucker J, Possinger K. Human bone marrow myeloma cells express RANKL. *J Clin Oncol* 2002;20(1):353-4.
75. Choi Y, Kim JJ. B cells activated in the presence of Th1 cytokines inhibit osteoclastogenesis. *Exp Mol Med* 2003;35(5):385-392.

76. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001;16(2): 348-60.
77. Body JJ, Greipp P, Coleman RE, Facon T, Geurs F, Femand JP, et al. A phase I study of AMG-0007, a recombinant osteoprotegerin construct, in patients with multiple myeloma or breast carcinoma related bone metastases. *Cancer* 2003;97(3 Suppl):887-92.
78. 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.
79. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev* 2008;29(2):155-92.
80. Luo JL, Tan W, Ricono JM, Korchynskiy O, Zhang M, Gonias SL, et al. Nuclear cytokine-activated IKKalpha controls prostate cancer metastasis by repressing Maspin. *Nature* 2007;446(7136):690-4.
81. Ardeniz O, Avci CB, Sin A, Ozgen G, Gunzar F, Mete N, et al. Vitamin D deficiency in the absence of enteropathy in three cases with common variable immunodeficiency. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;147(1): 74-83.
82. Ardeniz Ö. [Vitamin D and the immune system: Medical education]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28(2):198-205.
83. Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250(3):776-81.
84. Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via a functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. *J Cell Biochem* 2003;89(4):771-7.
85. Lopez-Granados E, Temmerman ST, Wu L, Reynolds JC, Follmann D, Liu S, et al. Osteopenia in X-linked hyper-IgM syndrome reveals a regulatory role for CD40 ligand in osteoclastogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(12):5056-61.
86. Ling JC, Freeman AF, Gharib AM, Arai AE, Lederman RJ, Rosing DR, et al. Coronary artery aneurysms in patients with hyper IgE recurrent infection syndrome. *Clin Immunol* 2007;122(3):255-8.
87. Freeman AF, Holland SM. The hyper-IgE syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008;28(2):277-91
88. Cohen-Solal M, Prieur AM, Prin L, Denne MA, Launay JM, Graulet AM, et al. Cytokine-mediated bone resorption in patients with the hyperimmunoglobulin E syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;76(1 Pt 1):75-81.
89. Leung DY, Key L, Steinberg JJ, Young MC, Von Deck M, Wilkinson R, et al. Increased in vitro bone resorption by monocytes in the hyper-immunoglobulin E syndrome. *J Immunol* 1988;140(1):84-8.
90. Paulson ML, Freeman AF, Holland SM. Hyper IgE syndrome: an update on clinical aspects and the role of signal transducer and activator of transcription 3. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8(6):527-33.
91. Bellido T, Borba VZ, Roberson P, Manolagas SC. Activation of the Janus kinase/STAT (signal transducer and activator of transcription) signal transduction pathway by interleukin-6-type cytokines promotes osteoblast differentiation. *Endocrinology* 1997;138(9):3666-76.
92. Adebajo OA, Moonga BS, Yamate T, Sun L, Minkin C, Abe E, et al. Mode of action of interleukin-6 on mature osteoclasts. Novel interactions with extracellular Ca²⁺ sensing in the regulation of osteoclastic bone resorption. *J Cell Biol* 1998;142(5):1347-56.
93. Zhang Z, Welte T, Troiano N, Maher SE, Fu XY, Bothwell AL. Osteoporosis with increased osteoclastogenesis in hematopoietic STAT3-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328(3):800-7.
94. Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesselein DG, Yin Z, et al. STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: A critical role of STAT3 in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(4):1879-84.