

维生素 D 与代谢性骨病专题

· 综述 ·

骨硬化症的诊疗现状

蒋洁 徐潮 赵家军

山东大学齐鲁医学院附属省立医院内分泌科, 山东省糖尿病与代谢疾病临床医学研究中心, 山东省内分泌与脂代谢重点实验室, 山东省内分泌与代谢性疾病防治工程实验室, 济南 250021

通信作者: 徐潮, Email: doctorxuchao@163.com; 赵家军, Email: jjzhao@sdu.edu.cn

【摘要】 骨硬化症是一种罕见的遗传代谢性骨病, 临床表现呈显著异质性, 从无症状到表现为致命性临床特征。骨硬化症的诊断主要根据临床表现和影像学诊断相结合, 基因检测有助于分型和制定个体化治疗方案。造血干细胞治疗是部分类型骨硬化症的根治方法, 但可能出现致死性并发症。基因治疗有望作为造血干细胞治疗的根治方法, 目前仅限于临床前研究。本文将结合近年来国内外研究, 对骨硬化症的诊治现状进行总结, 以供参考。

【关键词】 骨硬化症; 诊断; 治疗

基金项目: 国家自然科学基金项目(81974124); 泰山学者计划专项资金项目(tsqn20161071)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn121383-20220207-02003

Diagnosis and treatment of osteosclerosis Jiang Jie, Xu Chao, Zhao Jiajun. Department of Endocrinology, Shandong Provincial Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University; Shandong Clinical Research Center of Diabetes and Metabolic Diseases; Shandong Key Laboratory of Endocrinology and Lipid Metabolism; Shandong Prevention and Control Engineering Laboratory of Endocrine and Metabolic Diseases, Jinan 250021, China

Corresponding author: Xu Chao, Email: doctorxuchao@163.com; Zhao Jiajun, Email: jjzhao@sdu.edu.cn

【Abstract】 Osteopetrosis is a rare hereditary metabolic bone disease with significant clinical heterogeneity, and the clinical feature of osteopetrosis ranges from asymptomatic to fatal. The diagnosis of osteopetrosis is mainly decided according to the combination of clinical manifestations and imaging examinations. In addition, genetic testing is helpful for the confirming of the classification of osteopetrosis and more individualized treatment strategies for specified patient. Hematopoietic stem cell therapy(HSCT) is the radical cure for part of osteopetrosis, while fatal complications may occur. Gene therapy is a promising replacement therapy for HSCT, but it is limited to preclinical research currently. This article summarizes the status of diagnosis and treatment of osteopetrosis for reference by combining the domestic and foreign research in recent years.

【Keywords】 Osteopetrosis; Diagnosis; Treatment

Fund program: Project of National Natural Science Foundation of China(81974124); Special Funds for Taishan Scholar Project(tsqn20161071)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn121383-20220207-02003

骨硬化症(osteopetrosis)是一种罕见的遗传代谢性骨病,由德国放射学家 Albers-Schönberg 于 1904 年首次报道,故又称“Albers-Schönberg 病”^[1]。“osteopetrosis”源于希腊语“osteo”和“petros”,分别代表“骨骼”和“石头”,因患者骨量增加、硬化似石而得名^[2]。

1 骨硬化症的发病机制

生理状态下,正常骨密度依赖于成骨细胞的骨形成与破骨细胞的骨吸收间的动态平衡。病理状态下,骨稳态被打破导致骨代谢异常,如成骨细胞功能缺陷可致成骨不全,功能亢进可致硬化性骨病;破骨细胞数目减少或功能障碍可致骨硬化

症^[3]。破骨细胞是已知唯一有骨吸收作用的细胞,来源于骨髓造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)谱系,是由单核-巨噬细胞分化融合而成的大型多核细胞^[3]。骨硬化症分为破骨细胞数目减少型和破骨细胞数目正常功能缺陷型。破骨细胞的分化和成熟受核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL)和巨噬细胞集落刺激因子调节,其基因缺陷可致破骨细胞数目减少型骨硬化症^[3]。成熟破骨细胞表达一系列分子标志物,如抗酒石酸酸性磷酸酶、氯离子第7通道蛋白(chloride channel 7, CLCN7)等,任一分子功能缺陷均导致破骨细胞数目正常伴功能缺陷型骨硬化症^[1]。

2 骨硬化症的诊断

2.1 临床表现与分型 呈显著异质性,从无症状到表现出致命性临床特征。骨硬化症为遗传代谢性骨病,结合临床表现及遗传方式可分为:(1)恶性常染色体隐性遗传性骨硬化症(autosomal recessive osteopetrosis, ARO)又称恶性婴儿型骨硬化症(malignant infant osteopetrosis, MIOP),包括经典型、神经性、伴肾小管酸中毒型。(2)中间型 ARO 又称中间型骨硬化症(intermediate osteopetrosis, IOP)。(3)良性常染色体显性遗传性骨硬化症

(autosomal dominant osteopetrosis, ADO)包括 I ~ II 型。(4)X 染色体连锁骨硬化症(表 1)^[4]。

2.2 辅助检查 骨硬化症临床诊断主要依靠 X 线,特征性表现有:(1)烧瓶样畸形:管状骨致密,骨髓腔缩窄或消失,干骺端呈烧瓶样。(2)夹心椎:椎体上下缘密度高,中间密度低,形似三明治。(3)骨中骨:多见于掌指小关节,为边界明显的致密骨岛。(4)颅骨病变以颅底为著,骨质增生明显。(5)骨盆密度增高,髂翼可见浓淡相间的晕轮样致密带^[9]。由于不同类型骨硬化症的血清生化标志物变化不一致,因而仅用作辅助诊断。2017 年发行的《骨硬化症工作组共识指南:骨硬化症的诊断和管理》指出,建议在骨硬化症临床及影像学诊断明确后行基因检测。目前已知的骨硬化症的致病基因超过 10 种(表 1),基因检测有助于区分骨硬化症亚型,预测可能出现的并发症,并指导后期个体化治疗^[9]。

3 骨硬化症的治疗

骨硬化症的治疗需多学科团队参与,包括内分泌科、眼科、口腔科、骨科、神经科、耳鼻喉科、血液科、肾内科及感染科等,以确定最佳个体化治疗方案^[9]。随着对骨硬化症发病机制的逐步了解和治疗方法的探索,目前部分亚型的骨硬化症治疗已取得显著成效,除对症治疗外,部分亚型的骨硬化症患者

表 1 骨硬化症临床表现与分型

| 临床分型 | 亚型 | 致病基因 | 临床表现 | 治疗措施 |
|------|----------|----------------|---|-----------|
| MIOP | 经典型 | <i>TCIRG1</i> | 起病早,病情重,进展快,预后差,多于 10 岁前死亡。骨硬化表现最典型,全身骨密度弥漫性增加;早期贫血,后期可致全血细胞减少,髓外造血增加伴继发性肝脾肿大;可伴巨头畸形或佝偻病;颅骨硬化致鼻后孔狭窄并脑积水,亦可压迫颅神经孔致失明或耳聋;牙齿萌出障碍或迟缓,颌骨骨髓炎多发 ^[5-6] | HSCT |
| | | <i>CLCN7</i> | | HSCT |
| | | <i>OSTM1</i> | | 无 |
| IOP | 神经性 | <i>RANKL</i> | 胎儿期发病,致死率高,预后差。骨硬化表现典型,伴中枢神经系统并发症,包括智力发育迟缓、抽搐及神经性耳聋 ^[4] | 无 |
| | | <i>RANK</i> | | HSCT |
| | | <i>FERMT3</i> | | HSCT |
| ADO | 伴肾小管酸中毒型 | <i>SNX10</i> | 婴幼儿期起病,恶性程度稍低,疾病进展较慢。骨硬化表现典型,伴肾小管酸中毒和脑钙化 ^[7] | HSCT |
| | | <i>CAII</i> | | HSCT |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗/HSCT |
| XLO | I 型 | <i>PLEKHM1</i> | 多于儿童期起病,恶性程度较低,病程发展缓慢。临床表现相对较轻,可伴颅神经压迫症状和颜面部改变 ^[6] | 对症治疗 |
| | | <i>LRP5</i> | | 对症治疗 |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗 |
| XLO | II 型 | <i>CLCN7</i> | 完全外显型,骨硬化表现轻微,造血功能正常 ^[5] | 对症治疗 |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗 |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗 |
| XLO | II 型 | <i>CLCN7</i> | 外显率不全,约 66%,从无症状到致死性表型。造血功能多正常,可伴病理性骨折、颌骨骨髓炎,约 5%伴视力和听力减退 ^[8] | 对症治疗 |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗 |
| | | <i>CLCN7</i> | | 对症治疗 |
| XLO | II 型 | <i>CLCN7</i> | 又称 XL-EDA-ID 综合征,表现为中度骨硬化,以淋巴水肿、无汗性外胚层发育不良和免疫缺陷为特征 ^[4-5] | HSCT |
| | | <i>CLCN7</i> | | HSCT |
| | | <i>CLCN7</i> | | HSCT |

注:MIOP:恶性婴儿型骨硬化症;IOP:中间型骨硬化症;ADO:常染色体显性遗传性骨硬化症;XLO:X 染色体连锁骨硬化症;*TCIRG1*:T 细胞免疫调节蛋白 1 基因;*CLCN7*:氯离子第 7 通道蛋白;*OSTM1*:骨硬化相关跨膜蛋白 1;*RANKL*:核因子 κ B受体活化因子配体;*RANK*:核因子 κ B受体活化因子;*FERMT3*:整合素结合性信号分子 3;*SNX10*:分选连接蛋白 10;*CAII*:碳酸酐酶 II;*PLEKHM1*:包含 RUN 结构域的普列克底物蛋白同源家族 M1;*LRP5*:低密度脂蛋白受体相关蛋白 5;*IKBKG*:B 细胞 κ 轻链基因增强子抑制因子;HSCT:造血干细胞治疗

者可通过造血干细胞治疗(hematopoietic stem cell therapy, HSCT)获益(表 1)。

3.1 HSCT HSCT 是根治破骨细胞功能缺陷型 MIOP 的唯一手段。破骨细胞来源于骨髓 HSCs, 通过 HSCT 补充正常破骨细胞, 恢复骨吸收功能。HSCT 主要指征为骨髓衰竭和小于 1 岁^[9]。对于伴肾小管酸中毒及神经性 ARO, 不建议行 HSCT^[1]。IOP 行 HSCT 指征不明确, 部分 IOP 患者病情可能逐渐进展并危及生命, HSCT 可能获益^[10]。Stepensky 等^[10]对 6 例 IOP 患者行 HSCT, 随访期间所有患者症状和生活质量均显著改善。

根据供受体人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)配型, HSCT 可分为 HLA 相合及 HLA 半相合两类。MIOP 患者行 HLA 相合 HSCT 后 5 年无病生存率可达 80%~88%, 而 HLA 半相合 HSCT 仅 66%^[11]。尽管近年来以氟达拉滨为基础的清髓疗法和 T 细胞耗竭的 HLA 半相合 HSCT 显著改善了预后和总体生存期, 但 HLA 配型十分困难, 特别是少数民族及独生子女家庭^[11]。HSCT 细胞来源主要为骨髓 HSCs, 脐血干细胞因并发症较多且远期生存率较低而不再推荐^[1]。

年龄也是影响 HSCT 疗效的重要因素。年龄越大, 骨骼异常及继发性肾脏、神经损害越严重, 疗效越差, 风险可能多于获益。因此一旦确诊, 应尽早评估并行 HSCT。小于 10 个月行 HSCT 几乎可实现全部存活和完全植入, 而大于 10 个月行 HSCT 出现排异反应和受体造血重建概率明显增加并需行二次 HSCT^[5]。在 *Tcirl1* 敲除的 *oc/oc* 骨硬化症小鼠中已通过宫内 HSCT 改善小鼠预后^[1]。HSCT 后发生移植物相关死亡概率很高, 主要原因为移植物抗宿主病、造血重建不良、静脉阻塞疾病、肺动脉高压和特发性肺炎或严重感染^[5]。

3.2 对症治疗及并发症治疗 针对无 HSCT 指征及配型失败的患者, 主要予以对症治疗及并发症治疗, 包括应用钙剂和骨化三醇改善低钙血症, 输血和促红细胞生成素纠正贫血, 手术治疗骨折、骨髓炎等并发症等^[4]。若患者血钙正常时出现发育迟缓或癫痫发作, 表明可能为神经性 ARO, 应行神经学评估, 如颅脑磁共振成像(MRI)和脑电图^[4]。患者出现视神经压迫症状时, 需行眼科检查, 如视觉诱发电位^[4]。骨硬化症患者应定期行口腔护理以及保持口腔卫生以预防相关并发症^[4]。干扰素 γ -1 β 对部分 MIOP 患者有效, 可使骨小梁减少, 改

善贫血并减少感染, 可作为 HSCT 前的过渡治疗^[12]。糖皮质激素可能对部分患者的骨骼及血液改变有效, 但不作为常规用药^[9]。

3.3 基因治疗 由于部分 MIOP 患者病情严重且无 HSCT 指征或配型失败, 且少数 IOP 及 ADO 患者也可危及生命, 因而需要探索新的替代治疗方案, 基因治疗可能为首选治疗方法。基因治疗无须配型, 可通过基因编辑自体细胞后回输体内, 也可直接通过载体将正常基因导入体内, 分别称为间接体内(*ex vivo*)和直接体内(*in vivo*)基因治疗^[13]。

3.3.1 *Ex vivo* 基因治疗 目前骨硬化症基因治疗以临床前研究为主, 部分已取得显著疗效。最早使用的是携带 *Tcirl1* 基因的逆转录病毒(retrovirus, RV)载体, 可改善 *oc/oc* 小鼠的表型, 然而 RV 存在诱发白血病的风险^[14]。针对 RV 的安全性问题, 慢病毒应运而生, 慢病毒可整合到宿主染色体并稳定表达, 而不会导致插入诱变。有学者用慢病毒-*Tcirl1* 转染骨硬化症患者的 CD34⁺ 细胞并移植到严重免疫缺陷小鼠体内, 19 周后筛选人源 CD34⁺ 细胞并诱导出有骨吸收作用的破骨细胞; 后将慢病毒-*Tcirl1* 转染小鼠胎肝 HSCs, 逆转了 *oc/oc* 小鼠的骨硬化症表型^[14-16]。ARO 患者骨髓腔十分狭窄而难以获得足量骨髓 HSCs, 研究者改造了 *Tcirl1* 突变患者的外周血 HSCs, 并在体外验证了其向其破骨细胞分化和骨吸收的能力, 同时可在 NSG 小鼠中定植^[1]。诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)因具有多系统分化潜能也成为基因治疗的候选细胞。Okur 等^[17]将不同基因突变患者的骨髓来源间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)诱导为 iPSCs; Hennig 等^[18]将 *CLCN7* 突变患者的外周血单核细胞诱导为 iPSCs; Chen 等^[19]将 *Tcirl1* 基因突变患者的成纤维细胞重编程为 iPSCs 并诱导出有吸收活性的破骨细胞, 为后续治疗提供了研究基础。iPSCs 可在体内引起 NSG 小鼠畸胎瘤而显著限制其临床应用^[5]。破骨细胞起源于 HSCs, HSCs 易获取、清除和回输体内等特性使其更适合进行基因改造。HSCs 可自我更新且能产生包括破骨细胞在内的所有类型成熟血细胞, 是细胞和基因治疗的首选细胞。目前以慢病毒为载体的 HSCT 为破骨细胞功能缺陷型骨硬化症基因治疗的首选方案。

3.3.2 *In vivo* 基因治疗 RANKL 由骨髓来源 MSCs 分泌, 因而 HSCT 对 RANKL 缺陷的 MIOP 患者

无效。Penna 等^[1]将 RANKL 注射给 RANKL 缺失小鼠,治疗 1 个月内即可改善骨表型,但由于 RANKL 在小鼠体内表达过量可致呼吸衰竭,限制了其临床转化。有研究者将 MSCs 置于特定生物技术设备并植入皮下,释放可溶性 RANKL 促进破骨细胞生成,有望实现 RANKL 可控性表达,防止 RANKL 过量引起的不良反应^[1]。ADO 最常见致病基因为 *CLCN7*,应用小干扰 RNA 靶向突变 *CLCN7* 基因,可使 *CLCN7* 基因突变的 ADO 小鼠骨吸收增加,且安全性较好^[20]。然而,小干扰 RNA 需多次给药且难以准确靶向破骨细胞。

通过对骨硬化症发病机制、临床特点及治疗方法的探索,逐步加深了对破骨细胞分化及骨吸收分子机制的理解,并为研究其他破骨细胞相关疾病的发病机制提供了生物学和生物技术研究基础。骨硬化症治疗的挑战主要是对严重 ARO 及其并发症的治疗,HSCT 不适用于所有类型的骨硬化症,且可能出现致命的并发症。期望不久的将来,基因治疗能够取得实质性进展,为骨硬化症患者及家属带来希望。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Penna S, Villa A, Capo V. Autosomal recessive osteopetrosis: mechanisms and treatments[J]. Dis Model Mech, 2021, 14(5): dmm048940. DOI: 10. 1242/dmm. 048940.
- [2] Stark Z, Savarirayan R. Osteopetrosis[J]. Orphanet J Rare Dis, 2009, 4: 5. DOI: 10. 1186/1750-1172-4-5.
- [3] Kim JM, Lin C, Stavre Z, et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis[J]. Cells, 2020, 9(9): 2073. DOI: 10. 3390/cells9092073.
- [4] Charoenngam N, Cevik MB, Holick MF. Diagnosis and management of pediatric metabolic bone diseases associated with skeletal fragility[J]. Curr Opin Pediatr, 2020, 32(4): 560-573. DOI: 10. 1097/MOP. 0000000000000914.
- [5] Teti A, Econs MJ. Osteopetroses, emphasizing potential approaches to treatment[J]. Bone, 2017, 102: 50-59. DOI: 10. 1016/j. bone. 2017. 02. 002.
- [6] Gregson CL, Duncan EL. The genetic architecture of high bone mass[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11: 595653. DOI: 10. 3389/fendo. 2020. 595653.
- [7] Shaik NA, Bokhari HA, Masoodi TA, et al. Molecular modelling and dynamics of CA2 missense mutations causative to carbonic anhydrase 2 deficiency syndrome[J]. J Biomol Struct Dyn, 2020, 38(14): 4067-4080. DOI: 10. 1080/07391102. 2019. 1671899.
- [8] Li L, Lv SS, Wang C, et al. Novel *CLCN7* mutations cause autosomal dominant osteopetrosis type II and intermediate autosomal recessive osteopetrosis[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(6): 5030-5038. DOI: 10. 3892/mmr. 2019. 10123.
- [9] Wu CC, Econs MJ, DiMeglio LA, et al. Diagnosis and Management of Osteopetrosis: Consensus Guidelines From the Osteopetrosis Working Group[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2017, 102(9): 3111-3123. DOI: 10. 1210/je. 2017-01127.
- [10] Stepensky P, Grisariu S, Avni B, et al. Stem cell transplantation for osteopetrosis in patients beyond the age of 5 years[J]. Blood Adv, 2019, 3(6): 862-868. DOI: 10. 1182/bloodadvances. 2018025890.
- [11] Capo V, Penna S, Merelli I, et al. Expanded circulating hematopoietic stem/progenitor cells as novel cell source for the treatment of TCIRG1 osteopetrosis[J]. Haematologica, 2021, 106(1): 74-86. DOI: 10. 3324/haematol. 2019. 238261.
- [12] Sabir AH, Cole T. The evolving therapeutic landscape of genetic skeletal disorders[J]. Orphanet J Rare Dis, 2019, 14(1): 300. DOI: 10. 1186/s13023-019-1222-2.
- [13] Jensen TL, Götzsche CR, Woldbye DPD. Current and future prospects for gene therapy for rare genetic diseases affecting the brain and spinal cord[J]. Front Mol Neurosci, 2021, 14: 695937. DOI: 10. 3389/fnmol. 2021. 695937.
- [14] Moscatelli I, Almaraz E, Schambach A, et al. Gene therapy for infantile malignant osteopetrosis: review of pre-clinical research and proof-of-concept for phenotypic reversal[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2020, 20: 389-397. DOI: 10. 1016/j. omtm. 2020. 12. 009.
- [15] Moscatelli I, Löfvall H, Schneider Thudium C, et al. Targeting NSG mice engrafting cells with a clinically applicable lentiviral vector corrects osteoclasts in infantile malignant osteopetrosis[J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(8): 938-949. DOI: 10. 1089/hum. 2017. 053.
- [16] Löfvall H, Rothe M, Schambach A, et al. Hematopoietic stem cell-targeted neonatal gene therapy with a clinically applicable lentiviral vector corrects osteopetrosis in oc/oc mice[J]. Hum Gene Ther, 2019, 30(11): 1395-1404. DOI: 10. 1089/hum. 2019. 047.
- [17] Okur FV, Cevher İ, Özdemir C, et al. Osteopetrosis induced pluripotent stem cells derived from patients with different disease-associated mutations by non-integrating reprogramming methods[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 211. DOI: 10. 1186/s13287-019-1316-8.
- [18] Hennig AF, Rössler U, Boiti F, et al. Generation of a human induced pluripotent stem cell line (BIHi002-A) from a patient with *CLCN7*-related infantile malignant autosomal recessive osteopetrosis[J]. Stem Cell Res, 2019, 35: 101367. DOI: 10. 1016/j. scr. 2018. 101367.
- [19] Chen W, Twaroski K, Eide C, et al. TCIRG1 transgenic rescue of osteoclast function using induced pluripotent stem cells derived from patients with infantile malignant autosomal recessive osteopetrosis[J]. J Bone Joint Surg Am, 2019, 101(21): 1939-1947. DOI: 10. 2106/JBJS. 19. 00558.
- [20] Maurizi A, Capulli M, Patel R, et al. RNA interference therapy for autosomal dominant osteopetrosis type 2. Towards the preclinical development[J]. Bone, 2018, 110: 343-345. DOI: 10. 1016/j. bone. 2018. 02. 031.

(收稿日期: 2022-02-07)