

Skelettproteinet osteokalcin även endokrint hormon

Kan ha betydelse för typ 2-diabetes och metabola syndromet

ULF H LERNER, professor i oral cellbiologi, medicinska fakulteten, Umeå universitet
ulf.lerner@odont.umu.se
CLAES OHLSSON, professor i klinisk farmakologi

DAN MELLSTRÖM, professor i geriatrik; de båda sistnämnda Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet

Osteoblaster betraktas traditionellt som de celler som bildar benmatrix och mineraliserar denna, dvs bildar vårt skelett, men de har flera andra viktiga funktioner. Osteoblaster bildar bl a stora mängder av tillväxtfaktorerna insulin-liknande tillväxtfaktor (IGF-1, IGF-2) och transformerande tillväxtfaktor β (TGF- β), som inkorporeras i skelettet och som sedan frisätts under remodelering och då fungerar som autokrina stimulatorer av osteoblasters anabola aktiviteter.

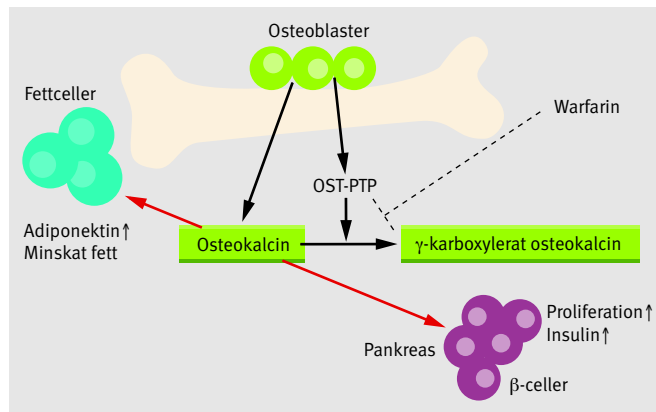
Osteoblasterna kontrollerar också via parakrin aktivitet bildning av flerkärniga, benresorberande osteoklaster från enkärniga hematopoetiska prekursorceller genom syntes av RANKL (receptor activator of NF- κ B-ligand). Den senast upptäckta aktiviteten är högst sensationell och innebär att osteoblaster kan vara en endokrin körtecell och att hormonet är osteokalcin med effekter på energimetabolismen.

Att det skulle kunna finnas ett samband mellan energimetabolism och fett har tidigare indikerats av bl a observationer som att fetma skyddar mot osteoporos. Detta samband har dock nyligen ifrågasatts, eftersom ett omvänt samband mellan fett och bentäthet rapporterats i en studie där man kontrollerat för belastning och muskelmassa.

Fettceller bildar flera endokrina faktorer, och sådana hormoner benämns adipokiner. Gerhard Karsenty och medarbetare har visat att fettcellshormonet leptin kan hämma osteoblasters förmåga att bilda ben [1]. I efterföljande rapporter har samma grupp visat att denna effekt medieras centralt av leptinreceptorpositiva kärnor i hypothalamus, skilda från dem som är involverade i aptitreglering och energimetabolism, och sedan perifert via sympatiska nervbanor och β -adrenerga receptorer på osteoblaster [2]. Andra grupper har dock senare visat att leptins effekter på skelettet är mer komplexa. Även om tidigare studier sålunda har visat på en effekt av fettceller på ben, har nu den första studien som visat att skelettet kan påverka fett- och energimetabolism publicerats [3].

Högt serum-osteokalcin uttryck för hög benomsättning

Osteokalcin är ett benmatrixprotein som bildas av osteoblaster och som är ett av de mycket få proteiner som är helt specifika



Figur 1. Osteoblaster bildar osteokalcin, ett benspecifikt protein som återfinns i cirkulation och som nu visats kunna fungera som ett endokrint hormon med effekter på fettceller och β -celler i pankreas. Osteokalcin minskar antalet fettceller och ökar specifikt fettcellshormonet adiponektin, som har effekter på många cellers känslighet för insulin. Osteokalcin kan också stimulera mängden β -celler och insulin i pankreas. Dessa effekter är mer uttalade när osteokalcin inte är γ -karboxylerat, en process som i likhet med koagulationsfaktorerna är K-vitaminberoende. Karboxyleringsgraden är på något sätt också beroende av ett enzym hos möss, vilket finns endast i osteoblaster och testiklar. Möss som har för mycket av detta enzym endast i osteoblaster får förändringar i glukos- och fettmetabolismen som är identiska med de som möss som saknar osteokalcin drabbas av.

för ben (Figur 1). Cirkulerande osteokalcin representerar framför allt »överskott« från aktivt benbildande osteoblaster, snarare än degradationsprodukter från bennedbrytning, och används därför i kliniska studier som en markör för anabol aktivitet i skelettet.

Högt serum-osteokalcin är på grund av kopplingsfenomen mellan osteoklasternas resorption och osteoblasternas benbildning relaterat till låg bentäthet och ökad risk för osteoporos. Högt serum-osteokalcin ses därför kliniskt som ett uttryck för hög benomsättning. Studier har visat att osteokalcin är en av bentäthet oberoende riskfaktor, om än svag, för framtida frakturer.

Behandling med resorptionshämmare (bisfosfonat) minskar osteokalcin med upp till 75 procent. Serum-osteokalcin används kliniskt mest av osteoporosspecialister, eftersom osteokalcin i serum är ett fastprov som påverkas av kost.

Utslagen osteokalcinen gav ökad benmassa

Osteokalcin benämns också ibland bone γ -carboxyglutamic acid protein (bone Gla protein, BGP), eftersom det, i likhet med ett antal koagulationsfaktorer, genomgår en unik posttranslational modifiering bestående av K-vitaminberoende γ -karboxylering av tre glutaminsyraenheter. Detta leder till att proteinet blir mycket surt med hög affinitet till hydroxiapatitkristaller. Osteokalcin har därför antagits ha betydelse för mineralisering av benmatrix.

Denna hypotes förkastades dock när Karsenty och medarbetare i mitten på 1990-talet genererade möss där de genetiskt

■ SAMMANFATTAT

Det benspecifika matrixprotein osteokalcin har sedan tidigare misstänkts vara viktigt för mineralisering av skelettet.

Osteokalcin har nu visats vara betydelsefullt som endokrint hormon med effekter på glukos- och fettmetabolism.

»Den senast upptäckta aktiviteten är högst sensationell och innebär att osteoblaster kan vara en endokrin körtelcell och att hormonet är osteokalcin med effekter på energimetabolismen.«

slagit ut osteokalcinengen; det visade sig att mössen inte fick mindre benmassa eller sämre mineraliserat ben utan tvärtom ökad benmassa [4].

De noterade dessutom att mössen hade ökad mängd visceralt fett utan att närmare utreda detta bifynd.

Detaljerad karakterisering av möss med osteokalcinbrist

I en nu detaljerad karakterisering har man funnit att möss som saknar båda allelerna för osteokalcin har förhöjt blodsocker, minskade mängder cirkulerande insulin, minskad känslighet för insulin och minskat mRNA-uttryck av insulinberoende gener i muskler och lever [3]. Hypoinsulinemi beror på att mössens insulinproducerande öar i pankreas är mindre på grund av minskat antal β -celler, i sin tur inte beroende på minskad proliferation utan på ökad apoptos. Ökad mängd fett beror på att antalet fettceller är större, och detta är också associerat med ökad mängd triglycerider i serum. Intressant är att mRNA för det insulinsensitiserande hormonet adiponektin var minskat i fettcellerna utan att andra adipokiner som leptin och resistin var påverkade.

För att få en insikt i om fenotypen hos mössen med osteokalcinbrist var en direkt eller indirekt effekt av osteokalcin gjorde man akuta försök med samodling av osteoblaster tillsammans med antingen β -celler eller fettceller. Dessa försök visade att mogna osteoblaster som frisätter osteokalcin, men inte omogna osteoblaster eller fibroblaster, stimulerar mRNA-uttrycken av insulin i β -celler och adiponektin i fettceller. Om rekombinantframställt osteokalcin sattes till fibroblasterna eller om omogna osteoblaster genom transfektion tvingades att överuttrycka osteokalcin, stimulerades också insulin och adiponektin.

Dessa försök visar att osteokalcin kan påverka β -celler och fettceller direkt. När osteokalcin injicerades på möss fick dessa hyperinsulinemi och sänkt blodglukos 30–120 minuter efter injektion.

Den noggranna genomgången av möss med osteokalcinbrist stimulerades av fynd gjorda hos möss där genen *Esp* (också kallad *Ptprv*) slagits ut. Denna gen kodar för fosfataset OST-PTP som finns endast i osteoblaster och i Sertoli-celler i testiklarna. Möss där *Esp*-genen i osteoblaster specifikt slagits ut blir hypoglykemiska under amningen och dör. Detta beror på att de hade ökat antal β -celler i pankreas, ökad insulinmängd i serum, ökad känslighet för insulin och ökat uttryck av adiponektin. Mössen blev också magrare, men de hade inga förändringar i skelettet, vilket indikerar att osteoblasternas OST-PTP inte har någon funktion vid skelettbildning eller benresorption utan i stället är involverat i en endokrin effekt.

När möss utan OST-PTP fick en fetthaltig kost blev de till skillnad från de normala mössen inte feta och uppvisade inga tecken på glukosintolerans eller insulinokänslighet. När *Esp* överuttrycktes specifikt i osteoblaster med transgen teknik blev fenotypen den motsatta; mössen blev feta, utvecklade hyperglykemi, hypoinsulinemi och minskad känslighet för insulin utan några förändringar i skelettet. Dessa möss hade således en fenotyp som i allt var identisk med den som mössen med osteokalcinbrist hade.

Osteokalcin – ett osteoblastiskt endokrint hormon

Möss utan osteokalcin har alltså patologiska förändringar som

är rakt motsatta dem hos möss som saknar OST-PTP, vilket skulle kunna bero på att brist på OST-PTP i osteoblaster leder till ökad endokrin aktivitet av osteokalcin.

Man parade därför *Esp*-knockoutmöss med möss som saknade den ena allelen för osteokalcin, och nu blev mössen helt normala. Detta visar att osteokalcin fungerar som ett osteoblastiskt endokrint hormon och att aktiviteten regleras av fosfataset OST-PTP i osteoblaster. Under normala förhållanden har enzymet en hämmande effekt på osteokalcin, men avsaknad leder till ökad aktivitet.

Det faktum att möss som saknar OST-PTP har normala mRNA-nivåer av osteokalcin i osteoblaster och normala nivåer cirkulerande osteokalcin tyder på att det primärt inte är mängden som regleras av fosfataset utan osteokalcinets aktivitet som endokrint hormon.

Det låg närmast till hands att tro att detta i sin tur är beroende på graden av γ -karboxylering. Förenligt med denna teori visade man att osteokalcin från möss utan OST-PTP har sämre förmåga att binda hydroxiapatit i provrörsförsök (indikerande minskad γ -karboxylering), att osteoblaster som behandlats med warfarin (en hämmare av K-vitaminberoende γ -karboxylering) inducerar adiponektin bättre än icke-warfarinbehandlade kontrollosteoblaster och att icke-karboxylerat osteokalcin, till skillnad från karboxylerat osteokalcin, kunde inducera adiponektin i fettceller och insulin i β -celler.

De fenotypiska förändringarna i möss utan OST-PTP beror således sannolikt på en posttranslatorisk effekt och därmed ökat icke- γ -karboxylerat osteokalcin i relation till den γ -karboxylerade fraktionen.

Mest sensationella inom fältet på många år

Dessa data tyder alltså på att icke- γ -karboxylerat osteokalcin har en endokrin effekt som länkar samman skelettet med energimetabolismen och att fosfataset OST-PTP genom att stimulera γ -karboxyleringen ökar mängden endokrint aktivt osteokalcin. Dessa fynd är förstas av oerhört stort potentiellt intresse för humanfysiologin och eventuellt också för patofysiologin vid t ex metabola syndromet och typ 2-diabetes.

Det finns ingen direkt human motsvarighet till OST-PTP, men det finns mer än 100 olika PTP i det humana genomet så det är inte osannolikt att ett liknande enzym kan ha motsvarande aktivitet hos människa.

Om osteokalcin har denna endokrina effekt, undrar man ju också hur proteinet påverkar β -celler och fettceller. Finns det en specifik receptor? Hur regleras osteokalcin och OST-PTP i osteoblaster? Vilken är länken här till energimetabolismen? Hur är skelettets kontroll av β -celler, glukos och fett kopplad till leptinets hypotalamiska kontroll av osteoblasternas benbildande förmåga? Vilken roll spelar osteokalcin i relation till många andra hormoner som är involverade i glukos- och fettmetabolismen?

Resultaten väcker många frågor, men de är inte desto mindre något av det mest sensationella inom fältet på många år. Om resultaten kan bekräftas i humana studier, skulle man kunna tänka sig att behandling med icke- γ -karboxylerat osteokalcin kan bli ett alternativ vid metabola syndromet och typ 2-diabetes och kanske för bevarande av β -celler initialt vid typ 1-diabetes. Karb-

»Om resultaten kan bekräftas i humana studier, skulle man kunna tänka sig att behandling med icke- γ -karboxylerat osteokalcin kan bli ett alternativ vid metabola syndromet och typ 2-diabetes ...«

oxyleringens betydelse aktualiserar också intresset för huruvida antikoagulationsbehandling med warfarin leder till ökad relativ mängd icke- γ -karboxylerat, endokrint aktivt osteokalcin och därmed möjligen också till förändrad metabol kontroll.

Osteoblasten förefaller alltså vara en cell med betydelse inte bara för benbildning utan också för många andra celler genom frisättning av auto-, para- och endokrina signalmolekyler, där det senaste fyndet tyder på att osteoblaster endokrint är involverade i glukos- och fettmetabolism.

■ **Potentiella bindningar eller jävsförhållanden:** Inga uppgivna.

■ **I ett uppföljande arbete har Karsenty och medarbetare visat att fetma hos möss som inducerats experimentellt antingen med fet diet eller genom att ledera hypotalamiska neuron kan kraftigt minskas om mössen behandlas med osteokalcin; dessa möss var också mindre glukosintoleranta och mer insulinkänsliga, vilket ytterligare bekräftar den potentiellt endokrina effekten av osteokalcin på fett- och glukosmetabolism. (Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(13):5266-70.)**

Kommentera denna artikel på lakartidningen.se

REFERENSER

1. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 2000;100:197-207.
2. Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, Starbuck M, Yang X, Liu X, et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature*. 2005; 434:514-20.
3. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007;130:456-69.
4. Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Smith E, et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*. 1996;382:448-52.

Läkartidningen

söker

Redigerare

Tillsvidareanställning, heltid, med 6 månaders provanställning

Du kommer att redigera debattartiklar och medicinskt vetenskapliga artiklar, skrivna av läkare/forskare. Det ställer stora krav på språkbehandling och noggrannhet samt förståelse av och ett kritiskt förhållningssätt till vetenskaplig text. Du gör själv tabeller och underlag för diagram och andra illustrationer.

Du ska ha erfarenhet av textredigering samt akademisk utbildning och/eller erfarenhet av att arbeta med vetenskapligt material. Det är en fördel om du kan QuarkXpress eller motsvarande layoutprogram.

Reporter

Vikariat 6 månader, heltid, med ev möjlighet till tillsvidareanställning

Arbetet innebär att skriva såväl nyhetsartiklar som reportage inom ämnen av intresse för läkarkåren, som läkarfackliga frågor, yrkesfrågor, hälso- och sjukvårdspolitik samt medicinsk vetenskap.

Du ska ha erfarenhet av arbete som reporter. Dessutom ser vi gärna att du har erfarenhet av och/eller intresse för hälso- och sjukvårdsfrågor inklusive utbildning och forskning samt av att skriva om medicinskt/vetenskapligt material.

Tillträde för båda tjänsterna: Snarast.

Mejla ansökan, senast den 3 september, till karin.bergqvist@lakartidningen.se

Frågor om tjänsterna besvaras av redaktionschef Karin Bergqvist, tel 08-790 34 91, och fackliga frågor av journalistklubbens ordförande Jan Lind, tel 08-790 34 84.