



Les anticorps monoclonaux dans le traitement de l'ostéoporose: bientôt déjà dans la pratique quotidienne?

Kurt Lippuner

Poliklinik für Osteoporose der Medizinischen Fakultät und des Inselspitals der Universität, Bern

Quintessence

● Le Receptor Activator du NF- κ B (RANK) est exprimé à la surface des ostéoclastes et de leurs cellules précurseurs. Le RANK-Ligand (RANKL) est nécessaire à la formation, à la fonction et la survie des ostéoclastes. Il augmente la résorption de l'os et diminue la densité minérale ainsi que la masse osseuse. Dans des essais précliniques, l'inhibition du RANKL a freiné la résorption du tissu osseux et augmenté la densité, le volume et la solidité de l'os. L'ostéoprotégérine (OPG) – un récepteur soluble des cytokines – est l'inhibiteur endogène naturel du RANKL auquel il se lie, en compétition avec le RANK. En neutralisant ainsi le RANKL, l'OPG freine la résorption osseuse. Dans l'expérimentation animale, une carence en OPG s'est avérée augmenter la résorption et diminuer la densité osseuse, favorisant ainsi la fragilité de l'os et les fractures.

● Le denosumab est un anticorps monoclonal entièrement humain qui se lie avec une forte spécificité au RANKL. Il imite donc l'activité de l'OPG au niveau du RANKL. Dans l'étude de phase II chez des femmes post-ménopausiques qui avaient une densité osseuse faible, le denosumab a freiné la résorption osseuse et entraîné une augmentation de la densité minérale de l'os dans l'ensemble des sites importants du squelette. Le profil de sécurité et la tolérance du denosumab se sont révélés bons. L'étude de phase III actuellement en cours nous en apprendra davantage en ce qui concerne les effets du denosumab sur l'incidence des fractures dans l'ostéoporose post-ménopausique.

Summary

A new point of attack in osteoporosis treatment: soon available in practice?

● *RANK, the receptor for RANK ligand (RANKL), has been identified on the surface of osteoclasts at several stages of differentiation, including pre-fusion osteoclasts and mature osteoclasts. RANKL is essential for osteoclast formation, function and survival. RANKL increases bone resorption and decreases bone mineral density. RANKL inhibition – as shown in preclinical studies – suppresses bone resorption, resulting in increased bone density, volume and strength. Osteoprotegerin (OPG) is a naturally occurring protein – a soluble cytokine receptor – which competes with RANK to bind RANKL, thus sequestering RANKL and neutralising its bone resorptive effects. As shown in OPG knock-out mice, lack of OPG results in increased bone resorption, decreased bone density and fragility fractures.*

● *Denosumab is a fully human monoclonal antibody which inhibits RANKL with high specificity, mimicking the effects of OPG on RANKL. In a phase II study in postmenopausal women with low bone density, denosumab lowered bone resorption and increased bone mineral density (BMD) at all relevant skeletal sites. Denosumab appeared to be well tolerated and no safety concerns were evident. Further clinical studies (phase III) are under way to evaluate fracture risk under denosumab treatment in humans.*

Introduction: le turnover osseux et le maintien de la forme et de la fonction du squelette

Pour remplir ses missions – fonctions à la fois biomécanique et métabolique –, l'os a besoin d'un système de régulation capable de répondre aux variations des stimuli physiques (augmentation ou diminution de la charge) et des signaux hormonaux (par exemple, augmentation de la parathormone en cas de menace d'hypocalcémie) en adaptant ses activités de synthèse et de résorption aux différentes situations. Ces processus sont gérés par l'interaction étroite et complexe des ostéoclastes et des ostéoblastes. Chez les jeunes adultes en bonne santé, l'activité ostéoclastique et l'activité ostéoblastique sont en équilibre: l'ancienne substance osseuse résorbée et éliminée est remplacée en permanence par de la nouvelle. La quantité nette de tissu osseux reste toutefois constante (fig. 1 [1]). Dans l'ostéoporose, le déséquilibre entre résorption et synthèse de l'os induit une perte de masse osseuse avec destruction de sa microarchitecture.

La coordination des processus du turnover est assurée par un système de communication très finement réglé entre les différentes populations de cellules. La recherche biologique portant sur les signaux de couplage des ostéoclastes et des ostéoblastes a occupé de nombreux groupes de chercheurs durant des décennies. Il a notamment été montré que de nombreuses substances messagères, dont des hormones, des cytokines, des stéroïdes et des facteurs de croissance, influencent directement ou indirectement les processus du turnover de l'os. Les récepteurs correspondants n'ont cependant pas été trouvés sur les ostéoclastes, mais bien sur les *ostéoblastes*. Ces observations et quelques autres impliquent que les interactions entre les ostéoblastes et les ostéoclastes sont coordonnées par les premiers, et que le facteur de couplage se situe à la surface des ostéoblastes ou est sécrété par eux [2].

Ce n'est qu'il y a une dizaine d'années qu'on a pu mieux comprendre certains aspects spécifiques de ce mécanisme de couplage. Partant de pers-

pectives scientifiques différentes, quatre groupes travaillant de façon complètement indépendante ont apporté des contributions essentielles à la découverte du système de couplage connu aujourd'hui sous le nom de «voie de l'activateur du récepteur du ligand NF- κ B (RANK/RANKL) ostéoprotégérine (OPG)» [3-6]. Le tableau 1 [4] donne un aperçu de la nomenclature standard et fournit quelques explications relatives à la terminologie [7].

L'interaction entre le RANKL et le RANK est indispensable à la différenciation des ostéoclastes à partir des cellules précurseurs, ainsi qu'à la prolifération et à l'activation des ostéoclastes matures. L'OPG raccourcit la survie des ostéoclastes par le blocage du RANKL qui inhibe pour sa part leur apoptose (mort cellulaire). La figure 2 [5] représente schématiquement le concept du système RANK/RANKL/OPG [8].

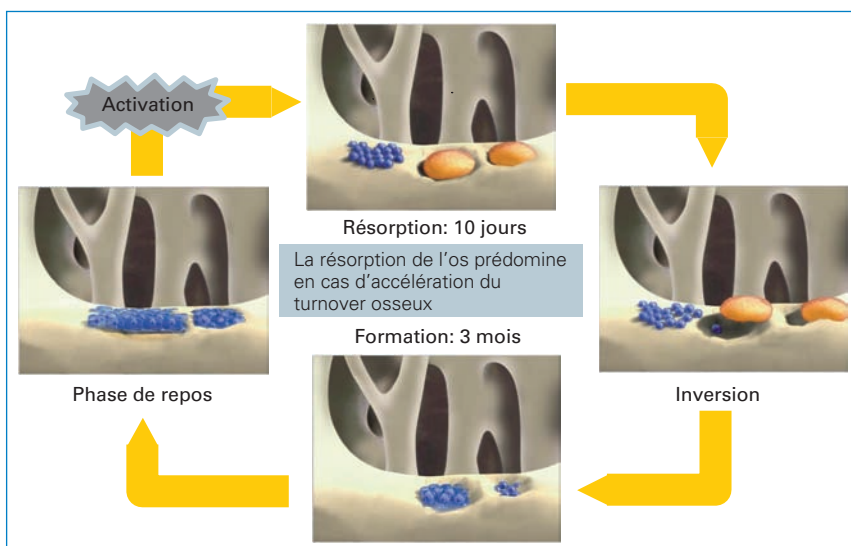


Figure 1

Le turnover osseux.

Pendant la phase de résorption, les ostéoclastes dissolvent aussi bien les composants minéraux qu'organiques de la matrice osseuse en créant un microenvironnement acide entre la cellule et l'os. Durant la phase d'inversion, les ostéoclastes disparaissent par apoptose, et des ostéoblastes sont amenés à la surface osseuse. Dans la phase de néoformation (synthèse) osseuse, les ostéoblastes déposent de l'ostéoïde fraîche qui sera ensuite minéralisée. D'après [1].

Tableau 1. Le concept RANK/RANK-Ligand/OPG: nomenclature des facteurs de type TNF régulant la résorption osseuse [7].

Facteur	Fonction
RANK Receptor Activator of Nuclear factor κ B	Récepteur membranaire présent sur les précurseurs des ostéoclastes, sur les ostéoclastes matures et sur les cellules T. Ce membre de la famille TNF des protéines régulatrices est la protéine réceptrice du RANKL.
RANKL Receptor Activator of Nuclear factor κ B – Ligand	Protéine transmembranaire présente sur les ostéoblastes et les cellules dendritiques et qui se lie au RANK. Il existe aussi une forme soluble de RANKL.
OPG Ostéoprotégérine	Protéine soluble sans segment transmembranaire, sécrétée par les ostéoblastes. Par sa liaison avec le RANKL, il inhibe l'interaction de ce dernier avec le RANK. L'OPG sert de «récepteur de captage» et régule par là aussi bien l'intensité que la durée de la fonction ostéoclastique induite par le RANKL.

La découverte de l'OPG et du RANKL

Le rôle essentiel de la voie RANK/RANKL/OPG dans le développement et la bonne santé du squelette osseux est clairement apparu dans une série d'études chez des animaux transgéniques (fig. 3 [6]). Les souris OPG-knockout (dont le gène codant pour l'OPG a été détruit ou inactivé, ce qui se traduit par une carence en OPG) présentaient une ostéopénie sévère et étaient victimes de fractures [9]. Les souris élevées spécialement avec une absence génétiquement déterminée de RANK et de RANKL présentaient à l'inverse une très forte densité osseuse. Des observations semblables ont été rapportées chez des souris qui avaient un excès d'OPG à la suite de l'introduction d'un gène d'OPG supplémentaire [3, 10]. Ces essais chez la souris ont montré que le rapport OPG/RANK est décisif pour l'activité ostéoclastique.

Différents modulateurs du métabolisme osseux développent leur action en modifiant l'équilibre entre l'OPG et le RANK-Ligand. Le système RANK/RANKL/OPG est impliqué dans de nombreuses maladies de l'os (tab. 2 [4]).

Effet thérapeutique de l'inhibition du RANKL au niveau de l'os: données issues de l'expérimentation animale

L'expérimentation animale avec de l'OPG recombinant ou lié à des fragments Fc d'immunoglobuline (ce qui allonge la demi-vie de l'OPG) a donné des résultats très encourageants. Chez la souris, on a ainsi pu guérir une ostéopénie secondaire à une carence en OPG en administrant la protéine de fusion OPG-Fc ou en réintroduisant le gène de l'OPG au moyen d'un adénovirus vecteur de l'expression [11].

Chez le rat, la perte de masse osseuse après ovariectomie a pu être atténuée ou même stoppée par l'administration de la protéine de fusion OPG-Fc. Le traitement a rapidement et durablement abaissé les indices de la résorption osseuse – avec un os histologiquement normal –, tout en améliorant significativement la solidité de l'os [12].

Chez des femelles de singes cynomolgus en bonne santé, le traitement d'OPG-Fc sur six mois a induit une suppression de l'ordre de 90% du N-télopeptide, un marqueur urinaire de la résorption osseuse [13]. Des examens par CT quantitatif ont de plus montré une augmentation de la masse osseuse aussi bien trabéculaire que corticale dans le radius distal et le tibia proximal, ainsi qu'une augmentation du diamètre cortical dans ces os. Cette dernière est le résultat de la diminution simultanée sous OPG de la résorption endostale et périostée. Cette action sur l'os cortical semble nettement plus marquée que celle observée jusqu'ici avec d'autres substances anti-résorption. Les essais cliniques en cours vont montrer si ces effets sont aussi convaincants chez l'homme et si ceux-ci se traduisent par la diminution espérée de l'incidence des fractures non vertébrales.

Expérience clinique avec l'inhibition du RANKL

Un anticorps monoclonal IgG2-anti-RANKL entièrement humain a été spécialement développé pour les essais cliniques. Cet anticorps, baptisé récemment denosumab (connu précédemment sous le nom d'AMG 162), se lie avec une forte affinité au RANKL et inhibe l'interaction de ce dernier avec

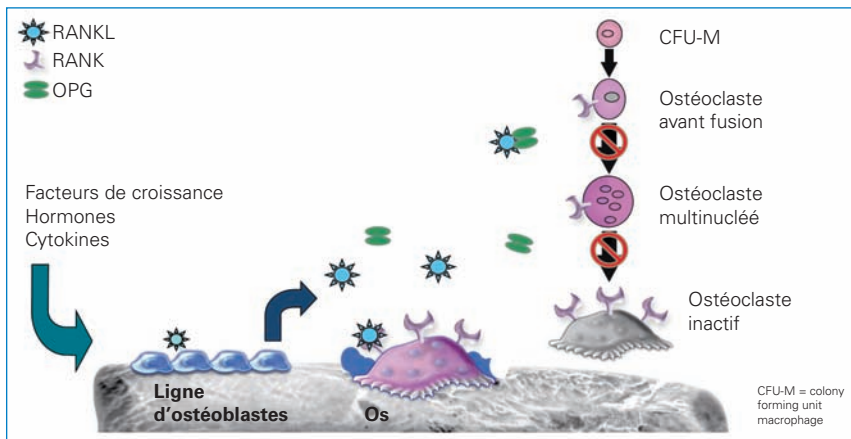


Figure 2

Le concept RANK/RANKL/OPG.

Le RANK-Ligand (RANKL) est le médiateur principal pour la formation, la fonction et la survie des ostéoclastes. La maturation des pré-ostéoclastes au stade précédant leur fusion qui les transforme en ostéoclastes polynucléés et finalement en ostéoclastes activés, est initiée lorsque le RANKL se lie au RANK. L'OPG est formé par les ostéoblastes, tout comme le RANKL. L'OPG agit comme un récepteur soluble qui capture le RANKL, neutralisant ainsi son action, ce qui inhibe la formation et l'activation des ostéoclastes et raccourcit la survie des ostéoclastes préexistants. D'après [8].

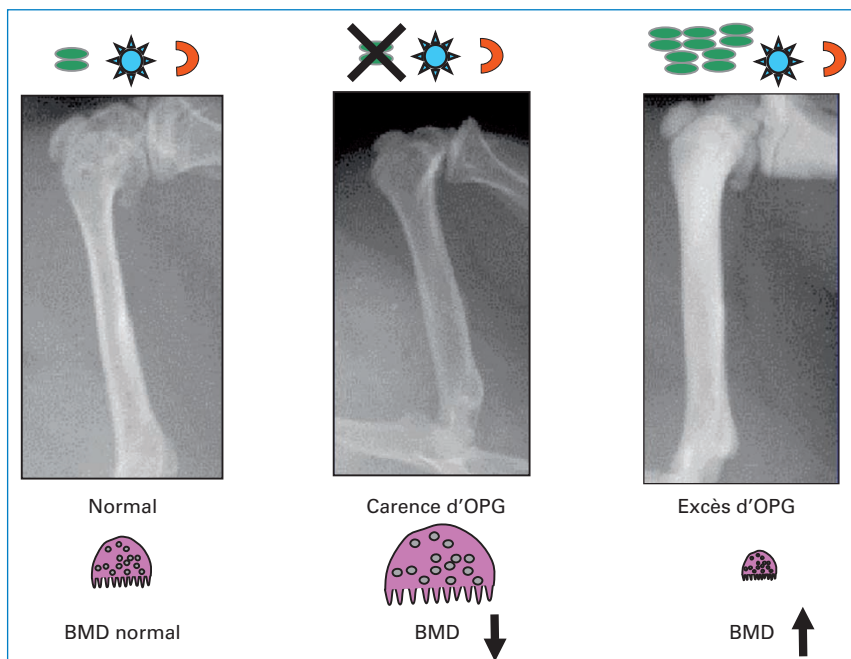


Figure 3

Le rôle de l'OPG dans la régulation du contenu minéral de l'os.

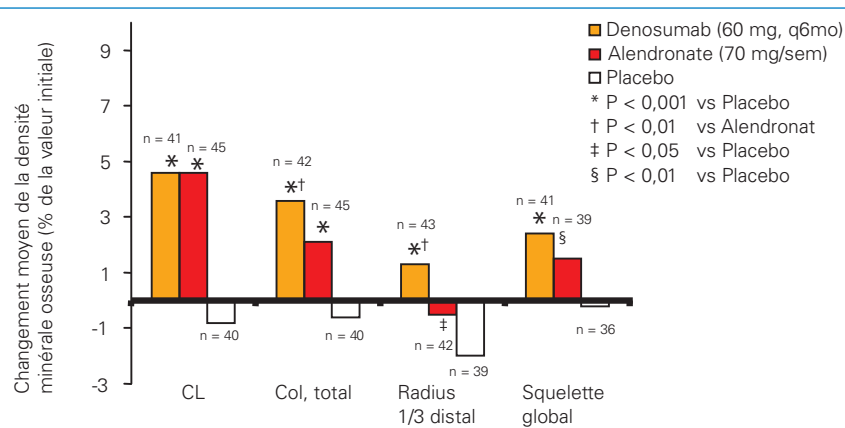
Chez la souris OPG-knockout, l'augmentation de l'activité ostéoclastique induit une ostéoporose [9]. Ces souris présentent des fractures spontanées déjà à un stade très précoce de leur existence. A l'opposé, les souris avec une surexpression transgénique de l'OPG présentent une densité osseuse augmentée en raison d'un trouble de la formation et de la maturation des ostéoclastes [3]. Les os de ces souris ont une forme normale, mais un contenu minéral très fortement augmenté. Radiographies d'un fémur de souris avec l'accord aimable d'AMGEN (Data on file).

le RANK. Contrairement à l'OPG, le denosumab ne se fixe pas sur les autres représentants de la famille des facteurs de nécrose tumorale (TNF) et permet donc une inhibition hautement spécifique de l'activité du RANKL. L'utilisation d'un anticorps en lieu et place de l'OPG pour l'inhibition du RANKL exclut d'autre part le risque d'immunosensibilisation à l'OPG. Enfin, la pharmacocinétique du denosumab autorise des intervalles de temps relativement longs entre les administrations.

Dans le cadre d'un essai de phase I ayant inclus 49 femmes ménopausées en bonne santé, on a administré des doses uniques de denosumab entre 0,01 et 3,0 mg/kg par voie sous-cutanée, dans le but d'en tester la sécurité, la pharmacocinétique et l'efficacité sur la résorption osseuse [14]. Cette dernière a été supprimée de manière dose-dépendante à la fois très rapidement (dans les douze heures) et de façon très marquée (jusqu'à 84%). L'anticorps a été bien toléré. On n'a pas observé d'augmentation dose-dépendante de la fréquence des infections, ni de changements au niveau de la numération des globules blancs ou des lymphocytes T et B circulants, pas plus que des taux d'immunoglobulines ou des facteurs de la coagulation. Ces résultats ont conduit à la mise sur pied d'une étude multicentrique de phase II chez 412 femmes ménopausées ayant une densité minérale osseuse abaissée: le denosumab a été administré par voie sous-cutanée à intervalles de trois ou six mois. Un groupe placebo, de même qu'un groupe de patientes traitées par alendronate 70 mg une fois par semaine en open-label ont servi de comparatifs. Les résultats à douze mois ont été publiés dans le *New England Journal of Medicine* en 2006 [15]: une augmentation significative de la densité osseuse au niveau vertébral lombaire a été observée avec tous les dosages semestriels de denosumab (entre 14 et 210 mg). A l'exception de la dose minimale, les réponses au traitement étaient du même ordre de grandeur que celui observé sous alendronate. La dose de 60 mg de denosumab a semblé montrer la meilleure efficacité en termes de densité osseuse au niveau du col fémoral et du tiers distal du radius, et des doses plus élevées n'ont pas été suivies d'une augmentation supplémentaire (fig. 4). Bien que cette étude n'ait pas été conçue pour détecter des différences entre les groupes, le gain de masse osseuse au niveau de la corticale du radius distal et du col fémoral a semblé être plus élevé sous la dose évoquée ci-dessus de denosumab par rapport à l'alendronate 70 mg, une fois par semaine p.o. Les marqueurs de la résorption osseuse ont confirmé l'entrée en action rapide du denosumab, ainsi qu'une suppression durable avec la dose de 60 mg (la plus élevée), qui n'a commencé à faiblir qu'au bout de six mois. Les données de cette étude, prolongée à 24 mois, qui vient d'être publiée [16] confirment la sécurité et l'efficacité de cette substance. Ces résultats encourageants ont donné lieu à la mise en route de différents essais de phase III pour

Tableau 2. Maladies osseuses métaboliques et tumorales sous la dépendance de la voie OPG/RANKL/RANK.

Maladies osseuses métaboliques	
Ostéoporose post-ménopausique	↑ expression du RANKL par les cellules du stroma et les lymphocytes à la suite d'un déficit en œstrogènes ↑ réponse des ostéoclastes au RANK ↑ sécrétion d'OPG par les ostéoblastes causée par des agonistes du récepteur des œstrogènes
Ostéoporose induite par les corticostéroïdes	Augmentation régulatrice de l'expression du RANKL et inhibition de la sécrétion d'OPG par les ostéoblastes in vitro ↓ taux sériques d'OPG in vivo
Hyperparathyroïdie	Augmentation régulatrice de l'expression du RANKL et inhibition de la sécrétion d'OPG par les ostéoblastes in vitro
Maladie de Paget sporadique	↑ expression du RANKL par les cellules du stroma ↑ réponse des ostéoclastes au RANK
Tumeurs malignes	
Myélome multiple	↑ rapport RANKL/OPG dans le microenvironnement osseux Expression du RANKL par les cellules tumorales Séquestration et dégradation lysosomale de l'OPG par les cellules tumorales
Métastases osseuses ostéolytiques	Expression du RANKL par les cellules tumorales ↑ rapport RANKL/OPG induite par les cellules tumorales dans le microenvironnement osseux
Hypercalcémie humorale secondaire à une tumeur maligne	↑ rapport RANKL/OPG dans le microenvironnement osseux régulée par le PTH-related peptide Sécrétion de RANKL soluble par les cellules tumorales

**Figure 4**

Effet sur la densité minérale osseuse après douze mois d'administration de denosumab 60 mg en injections s.c. tous les six mois en comparaison avec celle d'alendronate 70 mg p.o. une fois par jour ou un placebo chez des femmes ménopausées avec ostéopénie.

La densité minérale de l'os a significativement augmenté sous denosumab versus placebo dans toutes les localisations examinées. Bien que l'étude n'ait pas été conçue pour déceler des différences entre les groupes de traitement, le traitement de denosumab a été associé à une augmentation plus marquée de la densité osseuse au niveau du col fémoral (globalement, « total Hip») et du tiers distal du radius par rapport à celui d'alendronate. D'après [15], Supplementary Appendix.

Correspondance:
Prof. Kurt Lippuner
Universitätspoliklinik
für Osteoporose
Inselspital
CH-3010 Bern
kurt.lippuner@insel.ch

documenter les effets de denosumab dans l'optique de la réduction de l'incidence des fractures chez les femmes ménopausées souffrant d'ostéoporose, ainsi que pour tester son efficacité dans la prévention de l'ostéoporose post-ménopausique. Le fait que nous soyons passés en moins d'une décennie de la découverte de la voie RANKL-OPG aux essais de phase III, est un exemple remarquable des possibilités actuelles et de la créativité des sciences biomédicales.

Références

- Baron R. General principles of bone biology. In: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Favus MJ (Ed.) 5th Edition. American Society for Bone and Mineral Research, Washington DC, 2003:1-8.
- Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, et al. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*. 1988;123(5):2600-2.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89(2):309-19.
- Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;234(1):137-42.
- 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.
- 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.
- American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature. Proposed standard nomenclature for new tumor necrosis factor family members involved in the regulation of bone resorption. The American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature. *J Bone Miner Res*. 2000;15(12):2293-6.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-42.
- 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.
- Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999;397(6717):315-23.
- 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.
- Kostenuik PJ, Capparelli C, Morony S, Adam S, Shimamoto G, Shen V, et al. OPG and PTH-(1-34) have additive effects on bone density and mechanical strength in ovariectomized rats. *Endocrinology*. 2001;142(10):4295-304.
- Ominsky MS, Kostenuik PJ, Cranmer P, Smith SY, Atkinson JE. The RANKL inhibitor OPG-Fc increases cortical and trabecular bone mass in young gonad-intact cynomolgus monkeys. *Osteoporos Int*. 2007;18:1073-82.
- Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, Murphy R, Martin SW, Leese PT, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2004;19(7):1059-66.
- 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.
- Lewiecki EM, Miller PD, McClung MR, Cohen SB, Bolognese MA, Liu Y, et al. Two-year treatment with denosumab (AMG 162) in a randomized phase 2 study of postmenopausal women with low BMD. *J Bone Miner Res*. 2007;22(12):1832-41.