

Knoglevævet opbygning og funktion

v/ Niklas Rye Jørgensen^{1,2} og Moustapha Kassem³

¹Klinisk Biokemisk Afdeling, Glostrup Hospital, Glostrup, Danmark

²Forskningscenter for Aldring og Osteoporose, Glostrup Hospital, Glostrup, Danmark

³Endokrinologisk Afdeling, Odense Universitets Hospital, Odense, Danmark

Introduktion

Knoglevæv er et højt specialiseret væv, med en struktur der er optimeret til de specifikke funktioner. Skelettet er ikke en statisk konstruktion, men et yderst dynamisk organ, som kontinuerligt bliver nedbrudt og opbygget. Skelettet er det overordnede organ for calciumhomøostasen og desuden et betydeligt lager for andre mineraler, såsom fosfat, magnesium, kalium og bikarbonat [1;12]. Knogler yder mekanisk støtte for de bløde væv og fungerer som vægtstang for musklerne. Ydermere bliver de livsvigtige organer beskyttet af skelettet: ribbenene beskytter hjerte og lunger, kraniet beskytter centralnervesystemet og knoglecortex på de lange rørknogler beskytter knoglemarven, som hos voksne er det mest betydende hæmatopoietiske organ [1;12].

Reguleringen af knogleomsætningen er en kompleks og meget nøje reguleret proces. Den er et resultat af de knogledannende (formation) og knoglenedbrydende (resorption) processer. Knogleformation og –resorption udføres af specialiserede knogleceller, henholdsvis osteoblaster og osteoklaster. Disse to processer er tæt koblet, og er under normale omstændigheder reguleret således, at knoglemassen vedligeholdes og holdes konstant for at modstå frakturer. En række

faktorer regulerer remodelleringen af skelettet. Systemiske hormonelle faktorer virker på knoglecellerne, både direkte og indirekte, hvor de modulerer receptorekspression, -aktivering, syntese eller receptorbinding af lokale faktorer. Dette resulterer i enten en øget eller nedsat knogleformation eller -resorption. Disse lokale faktorer, såsom cytokiner, vækstfaktorer og prostaglandiner, kan omvendt regulere følsomheden af knoglecellerne overfor hormonelle faktorer ligesom de kan regulere aktiviteten af knoglecellerne selv.

Knoglernes opbygning

Makroskopisk struktur

Makroskopisk kan knoglevæv præsentere sig i to strukturelle typer: kortikalt (kompakt) knoglevæv og trabekulært knoglevæv. Kortikal knogle udgør den ydre kompakte del af de fleste knogler og har størst betydning som mekanisk støttefunktion. Den optræder i størst mængde i skafterne af de lange rørknogler og udgør 80 % af knoglemassen [1;12]. Grundet den relativt lille totale overflade af kortikal knogle, foregår kun 20 % af den totale metaboliske aktivitet i den kortikale knogle. Omvendt er den trabekulære knogle mere metabolisk aktiv på grund af den væsentligt større overflade. Trabekulær knogle bidrager således kun med 20 % af knoglemassen, men står for 80 % af den metaboliske aktivitet, og vil således være betydeligt mere følsom overfor knogletabet i forbindelse med øget knogleomsætning. Den totale knogleoverflade løber op i mellem 1000 og 5000 m² hos et voksent menneske grundet den svampe-lignende struktur af trabekulær knogle [1]. Denne type knoglevæv er meget udbredt i vertebrae, flade knogler og i de juxtaartikulære epifyser af rørknoglerne. Da vertebrae som nævnt primært består af trabekulær knogle, er det også disse knogler, som først viser tegn på knogletab i forbindelse med postmenopausal osteoporose, idet trabeklerne hurtigt bliver nedbrudt grundet den store omsætning [1;12].

Mikroskopisk struktur

Knogler består af såvel cellulære som ikke-cellulære komponenter. Den indre og ydre overflade af knogler er dækket af henholdsvis endost og periost. Disse er fibrøse membraner, som er fyldt med osteogene celler organiseret lagvis. I endost og periost er de knogledannende celler, osteoblasterne, og de knogleresorberende celler, osteoklasterne, beliggende. Disses struktur og funktion vil blive beskrevet nærmere i det følgende afsnit. Dybt i knoglen ligger osteocytterne indlejret i lakuner i en tæthed af 25,000/mm³ knogle. De har lange processer rige på mikrofilamenter, og er forbundet med gap junctions til andre osteocytter samt til osteoblaster og osteoklaster på knogleoverfladen. Disse processer ligger i snævre kanalikuli, der penetrerer knoglevævet som et fintmasket net. Rundt om processerne er det periosteocytiske rum, som er fyldt med en ekstracellulærvæske med en [Ca²⁺] på 1.0 mM, i modsætningen til plasmas [Ca²⁺], som er 1.5 mM.

De ikke-cellulære komponenter af knoglevævet er kollagen fibre. Disse er primært kollagen type 1 og udgør 90 % af den totale proteinmængde i knogler. Kollagenfibrene er arrangeret i en lamelstruktur. Der er også non-kollagen proteiner, som omfatter komponenter af grundsubstansen (glykoproteiner og proteoglykaner), vækstfaktorer m.v. Endelig er mineralerne en vigtig del af knoglen, idet det er disse, som giver knoglerne deres hårde egenskaber. Kalcium er primært oplagret i knogler som hydroxyapatit krystaller, som er bundet til kollagenfibrene [1].

Knoglecellerne

Skelettet er et dynamisk organ, som kontinuerligt bliver omsat. Der foregår således til stadighed både knogleresorption og –formation i en proces, som kaldes knogleremodelling [1]. De celler, som er ansvarlige for knogleresorptionen og –formation er henholdsvis osteoklaster og osteoblaster.

Osteoblaster

Osteoblaster er de celler, der er ansvarlige for knogleformationen. De stammer fra mesenkymale, multipotente stamceller, som residerer i knoglemarven [3;12]. Disse multipotente celler er selvfornyende og højproliferative, og på særlige stimuli kan de differentiere til enten celler af osteoblastlinien eller til myocytter, adipocytter eller fibroblaster [3;12]. Osteoblastcellelinien omfatter osteoprogenitorceller, præosteoblaster, osteoblaster, lining cells og osteocytter. Modne osteoblaster har kubisk form og er beliggende lagvis. Deres aktivitet er velkoordineret, og de producerer den lamellære knoglestruktur ved at secernere knoglematrix og efterfølgende mineralisere denne ved hjælp af alkalisk fosfatase. Osteoblasterne er endvidere ansvarlige for produktionen af en lang række andre proteiner involveret i knoglenydannelsen såsom det i knoglematrix vigtigste protein kollagen type 1, samt mange ikke-kollagen proteiner såsom osteopontin, osteonectin, knogle sialoprotein, biglycaner, decorin, osteocalcin, samt receptor aktivator af nuklear faktor- κ B ligand (RANKL) og osteoprotegerin (OPG) [3;12], hvor RANKL og OPG er betydende for dannelsen og reguleringen af osteoklastdannelsen og –aktiviteten, og osteocalcin formentlig, udover regulation af knogleomsætningen, også er involveret i regulation af organismens energiomsætning. Osteoblaster kan danne ca. 0.5 μ M matrix pr. dag og den formative del af knogleremodeleringscyklus tager ca. 90 dage, dog med store variationer [7]. Under remodeleringsprocessen bliver en del af osteoblasterne indlejret i den mineraliserede matrix og omdannes til osteocytter, mens andre bliver udfladede celler, som dækker den hvilende knogleoverflade, også kaldet lining cells. Osteocytterne er de celler, der forekommer i størst antal i knoglerne, og danner et udstrakt netværk gennem såvel trabekulær som kompakt knogle som beskrevet ovenfor.

Osteoblaster responderer på mange knogleaktive substanser, hormoner og vækstfaktorer, hvoraf nogle er resorptive stimuli. D-vitamin, parathyreoideahormon (PTH), glukokortikoider, prostaglandin E2, interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor α (TNF- α), lipopolysakkarider, østrogen, vækstfaktorer, bone morphogenetic proteins (BMP) og en lang række andre faktorer virker via osteoblaster, hvilket bekræfter osteoplasternes rolle som hovedregulator af knogleomsætningen. For en mere detaljeret gennemgang af denne regulation henvises til en række glimrende oversigter [9;10;12;16;19].

Osteoklaster

Osteoklaster er de celler, som er ansvarlige for knogleresorptionen. De oprinder fra forstadier, som er fælles med monocyt/makrofag familien og er således af den hæmatopoietiske linie i knoglemarven. Mononukleære forstadier cirkulerer også i det perifere blod [1], og osteoklaster kan differentieres in vitro fra disse mononukleære celler [2;11]. Osteoklaster er store multinukleære celler, og deres morfologi er højt specialiseret med henblik på knogleresorption. Den aktivt resorberende osteoklast er polariseret, således at den har et specialiseret område, den såkaldte ruffled border, som vender mod knogleoverfladen. Kernemorfologien varierer betydeligt inden for den samme celle, hvilket formentlig afspejler den asynkrone fusion af mononukleære forstadieceller. Cytoplasmaet indeholder talrige mitokondrier, flere store Golgikomplekser og en stor mængde vakuoler og transportvesikler fyldt med lysosomale enzymer [18]. Ved hjælp af histologiske og cytologiske metoder kan man påvise osteoklaster på baggrund af deres tartrat resistente aktivitet af sur fosfatase (TRAP). Udover de specifikke morfologiske og cytologiske karakteristika kan osteoklastfænotypen demonstreres ved tilstedeværelsen af calcitoninreceptorer og vitronektinreceptorer [12], samt ved demonstration af evnen til at resorbere knogle, når den dyrkes

på knogle- eller dentinskiver in vitro [12]. Makrofager kan under visse omstændigheder dog også resorbere knogle.

Knogleresorption starter oftest efter aktivering af osteoklasterne med signaler fra osteoblaster/lining cells. Biologien af disse signaler er endnu ikke komplet belyst, men RANKL og makrofag kolonistimulerende faktor (M-CSF) er nøgelfaktorer, som er ansvarlige for differentiering af mononukleære forstadier til modne osteoklaster [8;14;17;18]. Omvendt reguleres effekten af RANKL af OPG, som er en solubel cytokinreceptor, som virker som en decoy receptor for RANKL, og dermed blokerer for effekten af denne.

Disse medfører, at mononukleære forstadier fusionerer og adhærer til knogleoverfladerne. Vitronektin, som er et integrin, binder osteoklaster tæt til knoglen via en celle-matrix interaktion, og der skabes en nærmest forseglede spalte mellem osteoklastens ruffled border og knogleoverfladen. Ved hjælp af protonpumper pumpes syre ind i denne spalte, hvilket fører til opløsning af kalciumkrystallerne i knogleoverfladen. Herefter er knoglematrix tilgængelig for nedbrydning via de store mængder lysosomale enzymer, som osteoklasten har oplagret i vesikler i cytoplasmaet [5;17;18]. Knoglenedbrydningen resulterer i dannelsen af den såkaldte resorptionspit. På et givent signal fra osteoblaster stopper osteoklastaktiviteten og osteoklasterne migrerer til andre steder, hvor knogleresorption skal foregå, eller de undergår apoptose/celledød.

Knogleomsætningen

Knogleremoduleringscyklus

Som nævnt er knoglerne yderst metabolisk aktive. Der foregår til stadighed en nedbrydning og opbygning for at tilpasse knoglerne til de mekaniske behov, der stilles til skelettet for at bibeholde den optimale struktur med et minimum af materiale og vægt. Ligeledes er der en konstant

omsætning af knoglevævet for at regulere calcium og andre mineraler med cirkulationen, idet knoglerne er kroppens største buffer og lager af mineraler. Knogleremodelleren foregår konstant i det regenererende skelet på multiple steder. Det enkelte remodeleringssted kaldes en basal multicellulær enhed (BMU). Mononukleære osteoklastforstadier bliver induceret til at fusionere og danne osteoklaster som respons på signaler fra osteoblaster. De migrerer derefter til knogleoverflader, og begynder at resorbere knogle. Den aktive resorptionsperiode er oftest ca. 3 uger, og som respons på signaler, som endnu ikke er kendt i detaljer, stopper de knogleresorptionen og migrerer derefter til andre BMU eller undergår apoptose og dør. Osteoblaster invaderer derefter resorptionskaviteten og begynder at fylde denne op med umineraliseret matrix, også kaldet osteoid. Derefter mineraliserer de matrix for dermed at danne mineraliseret knogle. Hos raske voksne tager knogleformationsprocessen tre til fire måneder. Hos yngre raske vil den dannede mængde knogle modsvare den resorbere mængde, men hvis formationen er inkomplet, vil der opstå et netto knogletab i hver remodeleringscyklus, som med tiden vil føre til et klinisk betydende knogletab og dermed osteoporose. En række faktorer har indflydelse på balancen mellem knogleformation og –resorption. Mange parakrine og autokrine faktorer influerer balancen mellem de to processer, herunder PTH, D-vitamin, calcitonin, insulin, væksthormon, kønshormoner, glukokortikoider, thyreoideahormoner, cytokiner ((IL-1, TNF- α , interleukin-6), vækstfaktorer og RANKL-systemet, ligesom fysisk påvirkning af knoglerne og de deri involverede systemer. Der er endvidere i de seneste år fremkommet en række interessante forskningsresultater, som viser, at knoglerne ikke kun reguleres via de cirkulerende calciotrope hormoner, men ligeledes er under overordnet styring fra centralnervesystemet [15]. Især det sympatiske nervesystem bidrager til regulering af knogleomsætningen efter aktivering med leptin. Leptin er et adipokin, som produceres i adipocytter, og som er involveret i appetitregulationen, men kan således også regulere proliferation og

differentiering af osteoblaster via det sympatiske nervesystem. Også en række andre neuropeptider såsom neuropeptid Y, YY og neuromedin U er involveret i knogle homøostasen [4;13].

Omvendt synes der også at være en feed-back mekanisme, hvormed knoglevævet kan regulere glukosemetabolismen gennem hormonelle signalmekanismer, som involverer Protein Tyrosine Phosphatase (OST-PTP) og osteocalcin. Osteocalcin er det non-kollagene protein, som findes i størst mængde i den ekstracellulære knoglematrix. Det dannes udelukkende af osteoblasterne [6]. Under normale forhold hæmmer det knogleformationen uden at påvirke resorption og mineralisering, men nylige forsøg har vist, at mus, som ikke udtrykker osteocalcin (osteocalcin knock-out mus), er overvægtige og hyperglykæmiske, ligesom de har nedsat beta-celle proliferation, insulinproduktion og energiomsætning.

Skelettet er således et metabolisk aktivt organ, som til stadighed tilpasser sig de mekaniske og fysiske krav, der stilles fra organismen, ligesom det er et aktivt lager for mineraler. Der foregår en konstant vedligeholdelse af knoglerne, som er en fin balance mellem knogleformation og knogleresorption. Såfremt denne balance bliver forskubbet, vil de ellers fint regulerede processer blive ændret, hvilket kan medføre tab af knoglevæv og dermed øget tendens til frakturer. Derudover er metaboliske sygdomme vist at påvirke knogleomsætningen, mens den nyeste forskning har vist, at knogler også kan virke som et endokrint organ og regulere glukose- og energiomsætningen via effekter på adipocytter og beta-celler.

Reference List

1. (1996) Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Lippincott-Raven, New York
2. Aslanidi OV, Mornev OA, Skyggebjerg O, Arkhammar P, Thastrup O, Sorensen MP, Christiansen PL, Conradsen K, Scott AC (2001) Excitation wave propagation as a possible mechanism for signal transmission in pancreatic islets of langerhans. *Biophys J* 80:1195-1209
3. Aubin JE, Liu F, Malaval L, Gupta AK (1995) Osteoblast and chondroblast differentiation. *Bone*,. 17:77S-83S
4. Baldock PA, Sainsbury A, Couzens M, Enriquez RF, Thomas GP, Gardiner EM, Herzog H (2002) Hypothalamic Y2 receptors regulate bone formation. *J Clin.Invest* 109:915-921
5. Blair HC (1998) How the osteoclast degrades bone. *Bioessays* 20:837-846
6. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen J, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G (2000) Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *cell* 100:197-207
7. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O'Fallon WM, Riggs BL (1990) Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res* 5:311-319
8. Fuller K, Owens JM, Jagger CJ, Wilson A, Moss R, Chambers TJ (1993) Macrophage colony-stimulating factor stimulates survival and chemotactic behavior in isolated osteoclasts. *J Exp.Med.* 178:1733-1744
9. Mundy GR, Boyce B, Hughes D, Wright K, Bonewald L, Dallas S, Harris S, Ghosh Choudhury N, Chen D, Dunstan C, et al (1995) The effects of cytokines and growth factors on osteoblastic cells. *Bone*,. 17:71S-75S
10. Pacifici R (1996) Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J.Bone Miner.Res.* 11:1043-1051
11. Quinn JM, Neale S, Fujikawa Y, McGee JO, Athanasou NA (1998) Human osteoclast formation from blood monocytes, peritoneal macrophages, and bone marrow cells. *Calcif.Tissue Int.* 62:527-531
12. Rodan GA (1992) Introduction to bone biology. *Bone*,. 13 Suppl 1:S3-S6
13. Sato S, Hanada R, Kimura A, Abe T, Matsumoto T, Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, Kato S, Kangawa K, Kojima M, Shinomiya K, Takeda S (2007) Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nat.Med.* 13:1234-1240
14. Suda T, Udagawa N, Nakamura I, Miyaura C, Takahashi N (1995) Modulation of osteoclast differentiation by local factors. *Bone*,. 17:87S-91S

15. Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G (2002) Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *cell* 111:305-317
16. Tatakis DN (1993) Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol.* 64:416-431
17. Teitelbaum SL (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science* 289:1504-1508
18. Vaananen HK, Zhao H, Mulari M, Halleen JM (2000) The cell biology of osteoclast function. *J Cell Sci* 113 (Pt 3):377-381
19. Weryha G, Leclere J (1995) Paracrine regulation of bone remodeling. *Horm.Res* 43:69-75