



# บทความการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

## Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway กับเป้าหมายในการรักษาโรคกระดูกพรุน

### ผู้เขียนบทความ

ผศ.ดร.ฉัตรวดี กฤษณพันธุ์

สาขาวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ อ.องครักษ์ จ.นครนายก

\*ติดต่อผู้เขียน: chatwadee@swu.ac.th

รหัสการศึกษาต่อเนื่อง 1008-1-000-003-12-2563

จำนวนหน่วยกิต 3.0 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

วันที่รับรอง วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2563

วันที่หมดอายุ วันที่ 29 ธันวาคม พ.ศ. 2564

### วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับ Wnt signaling pathway ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการ bone remodeling
2. เพื่อให้ทราบแนวทางการพัฒนารักษาโรคกระดูกพรุน โดยมีเป้าหมายต่อ Wnt signaling pathway
3. เพื่อให้มีความรู้ ความเข้าใจในกลไกการออกฤทธิ์ของยารักษาโรคกระดูกพรุนที่มีเป้าหมายต่อ Wnt signaling pathway
4. เพื่อให้ตระหนักถึงเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นเมื่อใช้ยารักษาโรคกระดูกพรุนที่มีเป้าหมายต่อ Wnt signaling pathway

### บทคัดย่อ

ผู้ป่วยโรคกระดูกพรุนจะพบกระดูกที่เปราะบาง และเกิดการหักได้ง่าย เนื่องจากความหนาแน่นกระดูกลดลง และโครงสร้างของกระดูกอ่อนแอ กระบวนการ bone remodeling หรือการปรับแต่งกระดูกเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นตอนโดยมีการสลายกระดูกเก่าด้วยเซลล์ osteoclasts และสร้างกระดูกใหม่ทดแทนด้วยเซลล์ osteoblasts ส่วน osteocytes ซึ่งเป็น osteoblasts ที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพหลังจาก osteoblasts ทำหน้าที่สร้างกระดูกเสร็จสิ้น จะทำหน้าที่รับรู้ความต้องการในการเกิดกระบวนการ bone remodeling และส่งสัญญาณถึง osteoblasts และ osteoclasts ด้วยการหลั่งสารควบคุมการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์จากเซลล์ต้นกำเนิด รวมทั้งควบคุมการทำงานด้วย ในสภาวะปกติกระบวนการ bone remodeling จะถูกควบคุมให้เกิดการสร้างกระดูกใหม่ทดแทนในปริมาณที่เท่ากับกระดูกที่ถูกสลายไป ระบบสำคัญในการควบคุมกระบวนการ bone remodeling คือ RANK/RANKL/OPG system โดย RANKL จะจับกับ RANK และทำให้ pre-osteoclasts เกิดการพัฒนา และเปลี่ยนแปลงเป็น multinucleated และ mature osteoclasts ซึ่งทำหน้าที่สลายกระดูกได้ในส่วน OPG จะเป็นตัวแย่งจับกับ RANKL ทำให้ RANKL จับกับ RANK ได้ลดลง และเกิด mature osteoclasts ลดลง และลดการสลายกระดูก ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับ Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway พบว่าหากมีโปรตีนในกลุ่ม Wnts จับกับตัวรับ จะกระตุ้นให้มี  $\beta$ -catenin ในนิวเคลียสสูง และทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่มีผลทำให้เกิดการสร้าง mature osteoblasts มากขึ้น รวมทั้งเพิ่มการสร้าง OPG จึงเป็นการลดการสร้าง mature osteoclasts ด้วย ดังนั้นจึงทำให้เกิดการสร้างกระดูกมากขึ้น จากการศึกษาพบว่าสารสำคัญที่ต้าน Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway คือ sclerostin ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนายาที่เป็น anti-sclerostin antibody ขึ้น ยาที่ได้รับการยอมรับให้ใช้แล้วในประเทศญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกาคือ romosozumab ซึ่งพบว่าช่วยทำให้เกิดการสร้างกระดูกมากขึ้น ทำให้ BMD สูงขึ้น และลดการหักของกระดูกในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกพรุนระดับรุนแรงได้ แต่ยานี้ยังต้องเฝ้าระวังเกี่ยวกับการทำให้ความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง รวมทั้งการเกิดโรคมะเร็ง

คำสำคัญ : Wnt signaling pathway, โรคกระดูกพรุน

## บทนำ

จากการที่ประชากรทั่วโลกมีอายุยืนยาวขึ้น ส่งผลให้สัดส่วนของประชากรสูงอายุในสังคมเพิ่มมากขึ้น องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ได้คาดการณ์ไว้ว่าระหว่างปี ค.ศ. 2015 และ ค.ศ. 2050 จะมีประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า โดยเพิ่มจากร้อยละ 12 ในปี ค.ศ. 2015 เป็นร้อยละ 22 ในปี ค.ศ. 2050<sup>(1)</sup> อายุที่มากขึ้น ทำให้ร่างกายเกิดความเปลี่ยนแปลงในหลายด้าน เช่น ความสามารถในการรับรู้ลดลง ซึ่งทำให้การได้ยินลดลง การมองเห็นเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคบางอย่างมากขึ้น เช่น โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคกระดูกพรุน อื่นๆ ทำให้มวลกระดูกลดลงด้วย การที่มวลกระดูกลดลงสอดคล้องกับข้อมูลของความชุกของโรคกระดูกพรุน (osteoporosis) ที่พบได้มากขึ้นเมื่ออายุเพิ่มขึ้น (age-related diseases)<sup>(2)</sup>

การประชุม Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis เมื่อปี ค.ศ. 1991 ได้ให้คำนิยามของโรคกระดูกพรุน ซึ่งในรายงานขององค์การอนามัยโลกในปี ค.ศ. 1994 เรื่อง WHO study group on assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis ได้อ้างอิงนิยามนี้ไว้ว่าเป็นความผิดปกติที่มีลักษณะของมวลกระดูกต่ำ และโครงสร้างของเนื้อเยื่อกระดูกระดับจุลภาค (microarchitecture) เสื่อมลง ทำให้ความแข็งแรงของกระดูกลดลง ซึ่งหมายถึงกระดูกจะเปราะบางและส่งผลให้เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดกระดูกหัก<sup>(3)</sup>

โรคกระดูกพรุนยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ primary osteoporosis มีสาเหตุจากอายุที่เพิ่มขึ้น และการขาดฮอร์โมนเพศ ซึ่งจะพบได้บ่อยในหญิงวัยหมดประจำเดือน เนื่องจากจะมีการลดลงอย่างมากของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มวลกระดูกลดลง เพิ่มอุบัติการณ์การเกิดกระดูกหัก และ secondary osteoporosis เกิดจากสาเหตุอื่น ๆ เช่น การได้รับยา (ตัวอย่างได้แก่ ยาในกลุ่ม

glucocorticoids) ภาวะบางอย่าง หรือเกิดจากโรคบางโรค (ตัวอย่างเช่น โรคธาลัสซีเมีย; thalassemia) ในส่วนของความเสี่ยงที่ส่งผลทำให้เกิดโรคกระดูกพรุน เช่น การได้รับแคลเซียมและวิตามิน ดี ไม่เพียงพอ การมีรูปร่างเล็ก และการสูบบุหรี่ เป็นต้น<sup>(4, 5)</sup> ผลกระทบจากกระดูกหักทำให้เกิดค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น เพิ่มความเสี่ยงของภาวะพิการ รวมทั้งเพิ่มโอกาสการเสียชีวิต จากข้อมูลทางสถิติรายงานว่า การหักของกระดูกสะโพก จะเกิดผลกระทบมากกว่าการหักของกระดูกบริเวณอื่นในหลายด้าน เช่น ด้านค่าใช้จ่าย และการทำให้เสียชีวิต ดังที่พบว่าผู้ป่วย 1 ใน 5 ราย เสียชีวิตภายใน 1 ปี หลังกระดูกสะโพกหัก<sup>(6, 7)</sup>

องค์การอนามัยโลกมีเกณฑ์การวินิจฉัยโรคกระดูกพรุนอาศัยการตรวจวัดความหนาแน่นกระดูก หรือ Bone Mineral Density (BMD) ด้วยเครื่อง dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) และนำไปหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) โดยเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นกระดูกของหญิงสาวสุขภาพดี หากมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.5 (T-score  $\leq$  2.5) จะจัดว่าเป็นโรคกระดูกพรุน และหากมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานตามเกณฑ์การเป็นโรคกระดูกพรุน ร่วมกับการมีกระดูกหักเนื่องจากความเปราะบางของกระดูก จะจัดเป็นโรคกระดูกพรุนระดับรุนแรง เกณฑ์การวินิจฉัยขององค์การอนามัยโลกนี้ได้ถูกนำมาใช้ค่อนข้างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้กับงานวิจัยต่าง ๆ เช่น ในงานวิจัยยารักษาโรคกระดูกพรุน ผู้เข้าร่วมการศึกษาจะต้องตรวจวัดความหนาแน่นกระดูกเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นโรคกระดูกพรุนก่อนเข้าร่วมการศึกษาทางคลินิก และการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นกระดูกนี้ ยังเป็นสิ่งที่ใช้ทำนายประสิทธิภาพของยาในการป้องกันกระดูกหักได้เป็นอย่างดี<sup>(4, 6, 8, 9)</sup> พยาธิกำเนิดของการเกิดมวลกระดูกต่ำในโรคกระดูกพรุน เกิดจากความไม่สมดุลของกระบวนการ bone remodeling ดังนั้นยาหลายกลุ่ม รวมทั้งยาที่มีเป้าหมายต่อ Wnt signaling pathway ก็มีผลต่อกระบวนการนี้<sup>(6, 10)</sup>

## Bone remodeling

เนื้อกระดูกประกอบด้วยทั้งส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ (organic phase) และสารอนินทรีย์ (inorganic phase) สารอินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ type I collagen โดยพบถึงประมาณร้อยละ 85 ซึ่งคอลลาเจน (collagen) ชนิดนี้จะเป็นส่วนสำคัญในการสร้าง bone matrix ในส่วนของสารอนินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ hydroxyapatite (HA) ซึ่งประกอบด้วย แคลเซียม (calcium) และฟอสเฟต (phosphate) ในโมเลกุลเป็นจำนวนมาก  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  กระบวนการ bone remodeling เกิดขึ้นเป็นขั้นตอนต่อเนื่อง โดยเป็นการสร้างกระดูกใหม่เพื่อทดแทนกระดูกที่ถูกทำลายไป เพื่อคงความแข็งแรงของกระดูกไว้ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ หากระดับแคลเซียมในเลือดลดลง จะมีการสลายกระดูก และทำให้แคลเซียมถูกปลดปล่อยจากกระดูกเข้าสู่เลือด พบว่าในผู้ใหญ่ กระดูกประมาณร้อยละ 5-10 ต่อปี จะถูกแทนที่ด้วยกระดูกใหม่โดยกระบวนการ bone remodeling<sup>(11)</sup>

บริเวณหน่วยของกระดูกที่เกิด bone remodeling เรียกว่า basic multicellular unit (BMU) จะมีการทำงานของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง และสลายกระดูก ซึ่งเซลล์หลัก ๆ ได้แก่ osteoblasts ที่มีเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) จาก mesenchymal stem cells (MSCs), osteocytes ซึ่งเป็นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงจาก osteoblasts และ osteoclasts ที่มีเซลล์ต้นกำเนิดจาก hematopoietic stem cells การกระตุ้นกระบวนการ bone remodeling อาจเกิดจากฮอร์โมน เช่น การเพิ่มขึ้นของระดับพาราไทรอยด์ฮอร์โมน (parathyroid hormone) ในเลือดเนื่องจากการมีระดับแคลเซียมในเลือดต่ำ หรืออาจเกิดจากการโดนทำลายเฉพาะบริเวณ (microdamage) ซึ่งจะรับรู้โดย osteocytes โดยเมื่อได้รับการกระตุ้นจะมีการเริ่มต้นกระบวนการเป็นวงจร ดังนี้

### (รูปที่ 1)<sup>(11, 12)</sup>

1. activation เซลล์ quiescent osteoblasts (bone lining cells) จะหลั่ง cytokines ที่สำคัญได้แก่ receptor

activator of NF $\kappa$ B (RANK) ligand (RANKL) และ monocyte-colony stimulating factor (M-CSF) ซึ่งทำให้เซลล์ pre-osteoclasts ซึ่งมีนิวเคลียสเดี่ยว (mononuclear progenitors) จากกระแสเลือดมารวมกลุ่มกัน และจากนั้นจะเกิดกระบวนการ osteoclastogenesis คือ การเชื่อมรวมกันของเซลล์ ทำให้เกิดเป็นเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียส (multinucleated osteoclasts) เกาะอยู่ที่ผิวของกระดูก และพร้อมทำหน้าที่สลายกระดูก (bone resorption)<sup>(12-14)</sup>

2. resorption เซลล์ osteoclasts จากกระบวนการ activation เริ่มสลายกระดูก บริเวณกระดูกที่ถูกสลายจะเกิดเป็นร่อง (resorption pits) หลังจากเกิดการสลายกระดูกแล้ว osteoclasts จะตายแบบ apoptosis ซึ่งถือเป็นการสิ้นสุดการทำงาน ขั้นตอนนี้ใช้เวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์<sup>(12, 13)</sup>

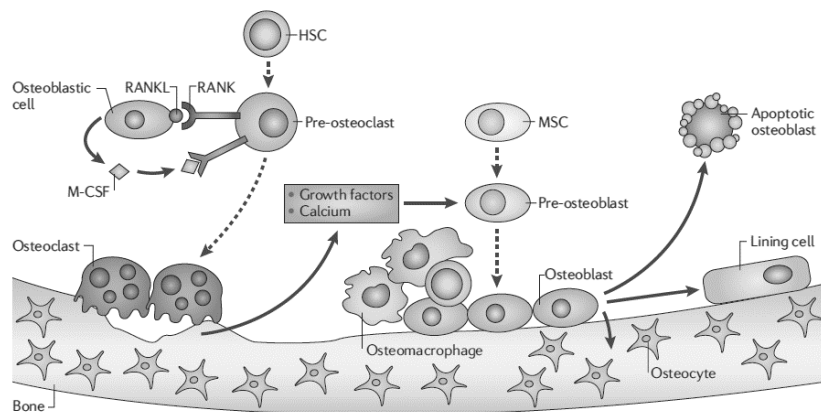
3. reversal มีการกำจัดสิ่งที่เหลืออยู่จากบริเวณกระดูกที่ถูกสลาย ทำให้ผิวเซลล์เรียบขึ้น โดยอาศัย mononuclear macrophage-like cells และเตรียมพร้อมในการสร้างกระดูก (bone formation)<sup>(12, 13)</sup>

4. formation เซลล์ pre-osteoblasts จะถูกเรียกให้มารวมกลุ่ม และเปลี่ยนสภาพ (differentiation) เป็น osteoblasts ที่ทำหน้าที่หลั่งสารที่เป็นส่วนประกอบของกระดูก เช่น คอลลาเจนให้เกิดเป็น bone matrix เรียกว่า osteoid และสุดท้าย osteoblasts จะทำให้เกิดการสะสมของผลึก hydroxyapatite และแร่ธาตุของกระดูก (mineralization) ที่ osteoid เกิดเป็นกระดูกซึ่งสร้างขึ้นใหม่ เมื่อปริมาณของกระดูกที่สร้างขึ้นจากกระบวนการ bone formation สามารถทดแทนกระดูกที่ถูกทำให้สลายไปในตอนแรก ก็จะถือว่าสิ้นสุดวงจรของ bone remodeling หลังจบกระบวนการ osteoblasts จะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ 3 ทาง คือฝังตัวอยู่บริเวณนั้น และเกิดการเปลี่ยนสภาพเป็น osteocytes หรือกลายเป็น bone-lining cells (quiescent osteoblasts) ปกคลุมอยู่บริเวณนั้น หรือเข้าสู่กระบวนการตายแบบ apoptosis<sup>(11-13)</sup>

วงจรของกระบวนการ bone remodeling ใช้เวลาประมาณ 200 วัน และในสภาวะปกติของผู้ใหญ่สุขภาพดี หลังจากมีมวลกระดูกสูงสุด (peak bone mass) เมื่ออายุประมาณ 20 -30 ปี จะมีการควบคุมกระบวนการ bone remodeling โดยทำให้การทำงานของ osteoblasts ในการสร้างกระดูกใหม่ได้ในปริมาณที่ถูกทำให้สลายไปด้วย osteoclasts ดังนั้นความหนาแน่นกระดูกจะคงที่จนถึงช่วงอายุประมาณ 40 ปี เมื่ออายุมากขึ้น การควบคุมต่าง ๆ จะถูกรบกวนทำให้เกิดการสลายกระดูกโดย osteoclasts มากกว่าการสร้างกระดูกด้วย osteoblasts ทำให้ความหนาแน่นกระดูกลดลง นอกจากนี้หากดูเนื้อเยื่อกระดูกระดับจุลภาค จะเห็นโครงสร้างของกระดูกอ่อนแอลง รวมทั้ง osteocytes ทำงานลดลง หรือเกิดการตายมากขึ้น ทำให้ตอบสนองต่อ microdamage และแรงกลที่มากกระทำต่อกระดูก (mechanical stress) ลดลง ในกรณีที่ไม่ใช่ osteocytes พบว่าจะทำให้ osteoclasts เพิ่มการทำงานมากขึ้น จึงกล่าวได้ว่า osteocytes มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสลายกระดูก จากการเกิดเหตุการณ์เหล่านี้ ประกอบกัน ทำให้ผู้สูงอายุมีกระดูกเปราะบางและเกิดการหักได้ง่ายดังที่เห็นในโรคกระดูกพรุนนั่นเอง<sup>(11, 15-17)</sup>

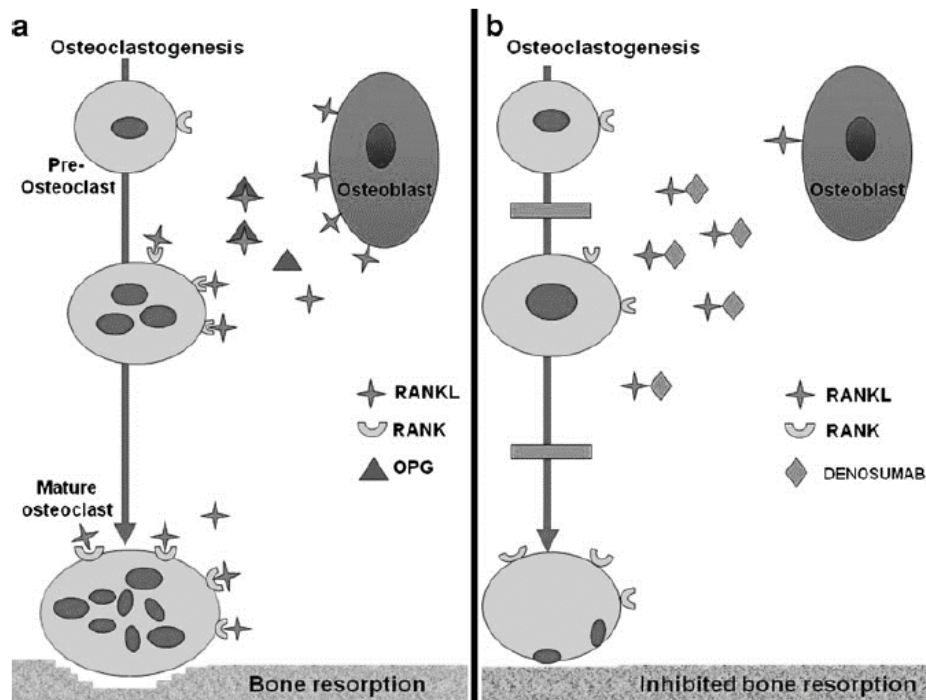
การควบคุมเพื่อให้เกิดสมดุลในการสร้าง และสลายกระดูก รวมทั้งควบคุมอัตราการเกิด bone remodeling เป็นสิ่งสำคัญในการรักษาความหนาแน่นกระดูก รวมถึงรักษาคุณภาพความแข็งแรงของกระดูก การมีจำนวนเซลล์ mature

osteoblasts และ mature osteoclasts ที่สามารถทำหน้าที่สร้าง และสลายกระดูกได้จึงเป็นปัจจัยเป้าหมายในการควบคุมสมดุลนี้ โดยอาจควบคุมกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ต้นกำเนิด หรืออาจมุ่งเป้าหมายที่อายุขัยของเซลล์ ระบบหลักหนึ่งที่ใช้ควบคุมสมดุลนี้ให้เป็นปกติ คือ RANK/RANKL/OPG system โดย RANK เป็นตัวรับ (receptor) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ osteoclast precursors และ mature osteoclasts เมื่อได้รับการกระตุ้นโดย RANKL ที่สร้างจาก osteoblasts เป็นหลัก จะกระตุ้นกระบวนการ osteoclast differentiation ทำให้เกิด multinucleated osteoclasts และยังกระตุ้นการทำงานของ mature osteoclasts อีกด้วย พบว่าการกระตุ้น RANK system นี้ต้องอาศัย M-CSF เสมอ ในส่วนของ osteoprotegerin (OPG) ซึ่งเป็นตัวรับที่ไม่ได้อยู่ที่ผิวเซลล์ (soluble receptor) จะถูกหลั่งโดย osteoblasts เช่นกัน จะจับกับ RANKL ทำให้ลดการเกิด osteoclastogenesis รวมทั้งลดการทำงานของ osteoclasts ตัวอย่างของการรักษาโรคกระดูกพรุนโดยหลักการของระบบนี้ เช่น ยา denosumab ซึ่งเป็นแอนติบอดี (antibody) ต่อ RANKL จะช่วยลดการสลายกระดูก และทำให้ความหนาแน่นกระดูกมากขึ้น (รูปที่ 2)<sup>(11, 15, 18)</sup> ในปัจจุบันค้นพบ Wnt signaling pathway เป็นส่วนสำคัญในการเปลี่ยนสภาพของ pre-osteoblasts เป็น osteoblasts และการควบคุมการสร้างกระดูก<sup>(11, 13)</sup>



รูปที่ 1 ขั้นตอนของการเกิด bone remodeling<sup>(19)</sup>

หมายเหตุ: M-CSF (monocyte colony stimulating factor), RANK (receptor activator of NF- $\kappa$ B), RANKL (RANK ligand)



รูปที่ 2 กลไกการออกฤทธิ์ของยา denosumab ในการจับกับ RANKL และลดการสลายกระดูก<sup>(18)</sup>

ภาพ (a) แสดงสถานะที่ไม่มียา denosumab ทำให้ RANKL จับกับตัวรับที่ pre-osteoclast และเกิดการเปลี่ยนสภาพเป็น mature osteoclast ซึ่งทำหน้าที่สลายกระดูกได้ ภาพ (b) ยา denosumab ออกฤทธิ์โดยการจับกับ RANKL ทำให้ RANKL ไม่สามารถจับกับตัวรับได้ ส่งผลให้เกิด mature osteoclast ลดลง และทำให้การสลายกระดูกลดลงตามมา

หมายเหตุ: RANK (receptor activator of NF- $\kappa$ B), RANKL (RANK ligand), OPG (osteoprotegerin)

### Wnt signaling pathway<sup>(15, 20-22)</sup>

Wnt หรือ wingless-related (mouse mammary tumor virus; MMTV) integration site เป็นกลุ่มของ glycolipoproteins ที่มี cysteine อยู่ในโมเลกุลจำนวนมาก (cysteine-rich) โพรตีนในกลุ่มนี้จะต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในส่วนของไขมันด้วย palmitoleic acid เพื่อให้สามารถทำหน้าที่ได้ก่อนมีการหลั่งออกมาจากเซลล์ ปัจจุบันพบว่ามนุษย์หลังโพรตีนในกลุ่มนี้จำนวน 19 ชนิด มีหน้าที่ในการควบคุมหลายกิจกรรมในร่างกาย เช่น การแสดงออกของยีน (gene expression) การเพิ่มจำนวนเซลล์ การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ การอยู่รอด การตายแบบ apoptosis และการเคลื่อนย้ายเซลล์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีความสำคัญในการพัฒนาของตัว

อ่อนในครรภ์ การพัฒนาของทารก และในวัยผู้ใหญ่ยังเกี่ยวข้องกับการเจริญทดแทน (regeneration) ของเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น ผิวหนัง รูขุมขน ลำไส้ใหญ่ และกระดูก Wnts ทำงานโดยการจับกับตัวรับ (receptor) ชนิดใดชนิดหนึ่งใน 10 ชนิดของ Frizzled (Fzd) family ซึ่งเป็นตัวรับที่พาดผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane receptor proteins) และอาจมีการจับตัวรับร่วม (co-receptor) คือ low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) 5 หรือ LRP6 นอกจากนั้นยังพบว่า Wnts ยังสามารถจับกับตัวรับอื่น ได้แก่ receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 (Ror2) และ receptor-like tyrosine kinase (Ryk) โดย Wnts ต่างชนิดกัน

ก็จะจดจำตัวรับได้แตกต่างกัน และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นลำดับต่อเนื่องในเซลล์ (signaling cascade) แบ่งได้เป็น 2 แบบ ได้แก่

1. Wnt/ $\beta$ -catenin pathway (หรืออาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า canonical Wnt pathway) เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ glycogen synthase kinase (GSK)  $3\beta$  ที่ จะเติมฟอสเฟต (phosphate) ให้  $\beta$ -catenin ตัวอย่างของ ลิแกนด์ (ligand) เช่น Wnt 1, 3a, 8 และ 10b

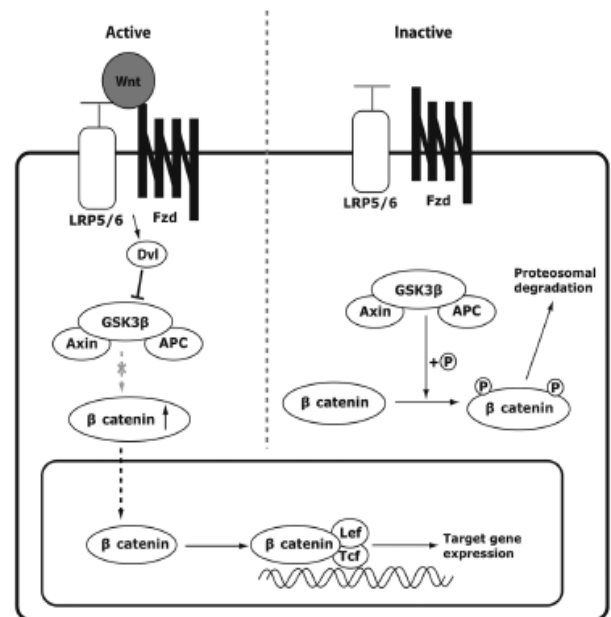
2. non-canonical Wnt pathway ซึ่งจะแบ่งย่อยได้อีก 2 แบบ คือ Wnt-calcium pathway และ Wnt/planar cell polarity (PCP) pathway ตัวอย่างของลิแกนด์ เช่น Wnt 4, 5a, และ 11 ใน non-canonical Wnt pathway นี้ เมื่อลิแกนด์จับกับตัวรับใน non-canonical Wnt pathway นี้ จะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับ  $\beta$ -catenin การทำงานของ Wnt-calcium pathway จะเกี่ยวข้องกับการพัฒนาของตัวอ่อน การเคลื่อนย้ายเซลล์ และการลุกลามของมะเร็งโดยเมื่อมีการกระตุ้นที่ตัวรับ Fzd จะทำให้มีการกระตุ้น G protein ส่งผลให้มีแคลเซียม (calcium) หลังจาก endoplasmic reticulum และสุดท้ายทำให้กระตุ้น transcription factors เช่น nuclear factor  $\kappa$ B ซึ่งเกี่ยวข้องกับ T cell ในส่วน Wnt/PCP pathway จะมีการกระตุ้น tyrosine kinase ที่ผิวเซลล์ และทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของเซลล์ ตำแหน่งและทิศทางของ cilia

ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะ Wnt/ $\beta$ -catenin pathway เนื่องจากได้มีการศึกษาถึงหน้าที่ และประสิทธิภาพในการรักษาความผิดปกติของกระดูกที่ชัดเจนกว่า non-canonical Wnt pathway

### Wnt/ $\beta$ -catenin pathway

การศึกษา pathway นี้พบว่า ในขณะที่ยังไม่มี Wnts มาจับที่ตัวรับ จะทำให้  $\beta$ -catenin ที่อยู่ในไซโทพลาซึม (cytoplasm) ถูกเติมฟอสเฟต โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของ

เอนไซม์ GSK- $3\beta$ , adenomatous polyposis coli (APC) และ axin หลังจาก  $\beta$ -catenin ถูกเติมฟอสเฟต จะถูกทำให้สลายไปโดย ubiquitin-proteasome system ทำให้ไม่มีการสะสม  $\beta$ -catenin ในไซโทพลาซึม ในทางกลับกัน หากมีการกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin pathway จะยับยั้งการรวมกลุ่มกันของ GSK- $3\beta$ , axin และ APC ทำให้  $\beta$ -catenin ไม่ถูกเติมฟอสเฟต และไม่ถูกทำลาย มีการสะสมในไซโทพลาซึม และทำให้  $\beta$ -catenin เคลื่อนที่เข้าไปในนิวเคลียสได้ เมื่อเข้านิวเคลียสแล้วจะเกิดการรวมตัวกันของ  $\beta$ -catenin กับ T-cell factor (Tcf)/lymphocyte enhancer factor (Lef) ซึ่งผลสุดท้ายทำให้เกิดการแสดงออกของยีน การกระตุ้น Wnt signaling pathway นี้ จะเกิดจากการรวมกันของลิแกนด์ (ในที่นี้คือ Wnts) กับตัวรับ Fzd และตัวรับร่วม LRP 5/6 ทำให้มีการกระตุ้น Disheveled (Dvl) และเกิดการสะสม  $\beta$ -catenin ในไซโทพลาซึมตามลำดับ (22-24) (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดง canonical Wnt pathway เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Wnt (Active) และไม่ได้รับการกระตุ้น (Inactive)<sup>(24)</sup>

หมายเหตุ: Fzd (frizzled), LRP (low-density lipoprotein receptor-related protein), Dvl (disheveled), GSK (glycogen synthase kinase), APC (adenomatous polyposis coli), Tcf (T-cell factor), Lef (lymphoid enhancer factor)

แนวคิดเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ Wnt signaling กับ โรครกระดูกพรุนเกิดจากการพบว่ามีการเกิดมิวเทชัน (mutation) ของยีนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมวลกระดูก และพบต่อมาว่า ความผิดปกตินี้เป็นความผิดปกติของยีนที่เกี่ยวข้องกับ Wnt/ $\beta$ -catenin pathway<sup>(23)</sup> จากการค้นพบดังกล่าวจึงทำให้มีการศึกษา Wnt/ $\beta$ -catenin pathway ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก เช่น ในการพัฒนากระดูก พบว่าหากมีความบกพร่องเกิดขึ้นกับ Wnt signaling pathway ไม่ว่าจะใน canonical หรือ non-canonical pathway จะทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น<sup>(23)</sup> สำหรับผลที่เกิดขึ้นต่อกระบวนการ bone remodeling เมื่อกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway สามารถสรุปได้ดังนี้

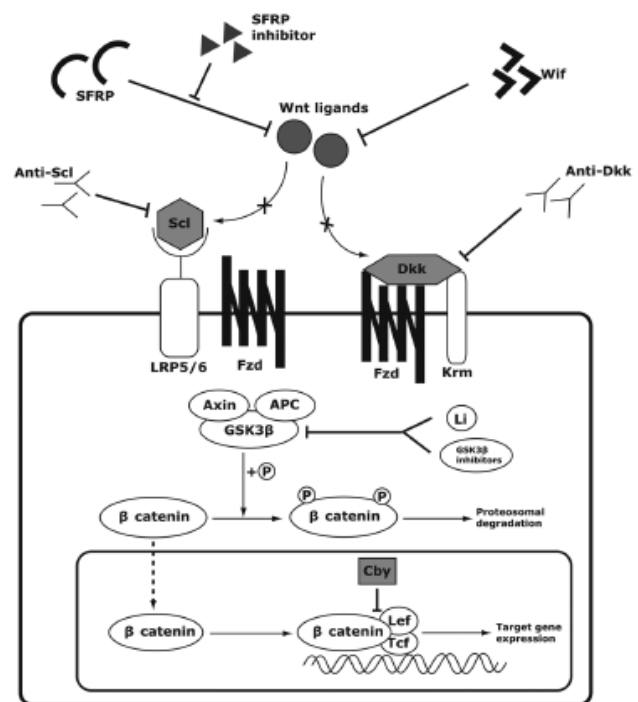
1. ทำให้ mesenchymal stem cell เปลี่ยนสภาพเป็น osteoblasts มากขึ้น (ในภาวะปกติอาจเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์อื่นได้ เช่น chondrocytes หรือ adipocytes เนื่องจากมีเซลล์ต้นกำเนิดเดียวกัน)<sup>(15, 23)</sup>
2. ป้องกันการเกิด apoptosis ของ mature osteoblasts ถือว่าเป็นช่วยยืดอายุขัยทำให้ osteoblasts ทำงานได้นานขึ้น<sup>(15)</sup>
3. ทำให้เกิดการหลั่ง osteoprotegerin (OPG) มากขึ้น ซึ่งเป็นสารต้าน (antagonist) RANKL ส่งผลทางอ้อมทำให้กระบวนการ osteoclastogenesis ลดลง ลดการทำงาน และลดการอยู่รอดของ osteoclasts<sup>(15)</sup>

โดยสรุปแล้วการกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway จะลดการทำลาย  $\beta$ -catenin ส่งผลให้ความหนาแน่นกระดูกเพิ่มมากขึ้นจากการทำให้มีการสร้างกระดูกมากกว่าการสลายกระดูก<sup>(20, 23, 25)</sup>

### การควบคุม Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

สารต้านการทำงานของ Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway ที่หลังจากเซลล์ในร่างกาย แบ่งออกเป็นสารที่ยับยั้งนอกเซลล์ (extracellular antagonists) เช่น sclerostin, Dickkopfs (Dkks), Wnt inhibitory factor 1/2 (Wif-1/2), และ secreted frizzled-related proteins (SFRPs) ซึ่งสารเหล่านี้

จะจับกับตัวรับของ Wnts หรือ จับกับ Wnts ตัวอย่างเช่น sclerostin จะจับกับตัวรับร่วม LRP5/6 แบบแข่งขันจึงยับยั้งการจับของ Wnts กับตัวรับ ส่วน Dkk-1 จะจับกับ LRP6 และ Kremen 1/2 (Krm1/2) ทำให้ LRP ถูกเก็บเข้าไปทำลายในเซลล์ ขณะที่ Wif-1 และ SFRPs จะจับกับ Wnts ทำให้ไม่มี Wnts ไปกระตุ้นที่ตัวรับได้ สารที่ยับยั้ง Wnt pathway ในเซลล์ (intracellular antagonists) จะรบกวนการทำงานของ Wnt signal ในเซลล์ หรือในนิวเคลียส เช่น Chibby (Cby) จะยับยั้งการรวมกลุ่มกันของ  $\beta$ -catenin และ Tcf/Lef-1 ในนิวเคลียส (รูปที่ 4)<sup>(24)</sup>



รูปที่ 4 สารยับยั้งการทำงานของ Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway<sup>(24)</sup>

หมายเหตุ: Fzd (frizzled), LRP (low-density lipoprotein receptor-related protein), Dvl (disheveled), GSK (glycogen synthase kinase), APC (adenomatous polyposis coli), Tcf (T-cell factor), Lef (lymphoid enhancer factor), Dkk (dickkopf), Scl (sclerostin), Wif (Wnt inhibitory factor), SFRPs (secreted frizzled-related proteins), Cby (chibby), Li (lithium)

## การรักษาโรคกระดูกพรุนโดยมุ่งเป้าหมายต่อ Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

จากความรู้ที่ว่าการกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway จะส่งเสริมให้เกิดการสร้างกระดูก จึงได้มีการคิดค้นในการพัฒนายาที่ช่วยเพิ่มความหนาแน่นของกระดูก การพัฒนายานี้ มีแนวคิดที่ต้องให้ agonists ของ pathway นี้ ซึ่งคือ Wnts นั่นเอง แต่เนื่องจาก Wnts เป็น glycoproteins และมีเฉพาะ palmitoylated forms เท่านั้นที่เป็นรูปที่ทำงานได้ (active form) ดังนั้นอีกทางหนึ่งในการพัฒนายา คือการมุ่งหาสารที่ต้านตัวยับยั้ง Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway โดยหากมองการยับยั้งในเซลล์ ได้มีการพัฒนา GSK3 $\beta$  inhibitors ขึ้น หรือหากมุ่งเป้าหมายต่อสารยับยั้งที่ทำงานนอกเซลล์ ก็ได้มีการพัฒนา Anti-sclerostin antibodies, Anti-Dkk-1 antibodies และ สารยับยั้ง SFRP-1 ขึ้น<sup>(20, 24)</sup>

การศึกษาในสัตว์ทดลองโดยใช้ GSK3 $\beta$  inhibitors พบว่าสามารถทำให้เพิ่มความหนาแน่นกระดูกได้จริง แต่มีการทดลองที่มีผลว่าสัตว์ทดลองร้อยละ 80 เกิดเนื้องอกที่ซี่โครง (osteomata) ซึ่งอาจเกิดจากการที่ GSK3 $\beta$  ไม่ได้มีผลเฉพาะเจาะจงต่อ  $\beta$ -catenin เพียงอย่างเดียว นอกจากนั้นยังพบอีกว่า GSK3 $\beta$  inhibitors อาจทำให้เซลล์ลดการตอบสนองต่อ autocrine และ paracrine ได้<sup>(20)</sup>

Sclerostin เป็นโปรตีนยับยั้ง Wnt signaling pathway ที่มีการศึกษามากที่สุดตัวหนึ่ง หลังจาก osteocytes เป็นหลัก โดยเกิดจากการถอดรหัสยีน *SOST* โปรตีนนี้ออกฤทธิ์ยับยั้ง Wnt/ $\beta$ -canonical signaling pathway โดยจับกับ LRP5/6 ในระหว่างกระบวนการสร้างกระดูก การหลั่ง sclerostin ถูกยับยั้งโดยฮอร์โมนพาราไทรอยด์, การได้รับแรงกล, prostaglandin E<sub>2</sub>, IL-6 family (เช่น oncostatin M; OSM, cardiotrophin 1; CT-1 และ leukemia inhibitory factor; LIF) ส่วนฮอร์โมน calcitonin จะเพิ่มการหลั่ง sclerostin<sup>(22, 24)</sup> ยังมีรายงานด้วยว่าการแสดงออกของ sclerostin เพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น และหญิงวัยหลังหมดประจำเดือน

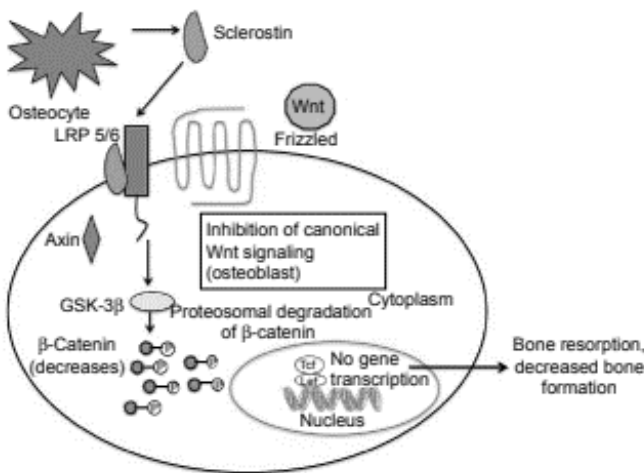
(postmenopausal) มีระดับ sclerostin สูงกว่าในช่วงก่อนหมดประจำเดือน (premenopausal) นอกจากนั้นพบว่าหากมีการให้ยาในกลุ่ม selective estrogen receptor modulators (SERMs) ในการรักษาโรคกระดูกพรุน จะทำให้ระดับ sclerostin ในซีรัม (serum) ลดลง จากข้อมูลที่น่าทึ่งที่ว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนมีความสำคัญในการสร้าง และควบคุมภาวะธำรงดุลของกระดูก (bone homeostasis) จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีการควบคุมผ่านการสร้าง sclerostin<sup>(22, 27)</sup> ในปัจจุบันได้มีการพัฒนายา romosozumab ซึ่งเป็น monoclonal humanized anti-sclerostin antibodies สำหรับฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ยานี้ที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาของประเทศญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 2019 ให้ใช้กับผู้ป่วยโรคกระดูกพรุนในหญิงวัยหลังหมดประจำเดือน (postmenopausal women) ที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดกระดูกหักในปี ค.ศ. 2019 ยานี้จัดว่าออกฤทธิ์เป็น dual effect คือมีฤทธิ์ทั้งเป็น anti-resorptive และ anabolic agents การได้รับยาส่งผลทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างกระดูก (พบว่าเพิ่ม procollagen type 1 N-terminal propeptide; P1NP ซึ่งเป็น bone formation marker) และลดการสลายกระดูก (พบว่าลด  $\beta$ -isomer of C-terminal telopeptide of type I collagen;  $\beta$ -CTX ซึ่งเป็น bone resorption marker) ส่งผลให้มีความหนาแน่นกระดูกมากขึ้น และลดการหักของกระดูก อย่างไรก็ตามพบว่าฤทธิ์ในการเพิ่มการสร้างกระดูกของ romosozumab จะลดลงภายในระยะเวลา 1 ปี หลังการใช้ยา จึงมีการแนะนำให้ใช้ยาเป็นระยะเวลา 1 ปี ผลของยาที่ลดลงนี้อาจเกิดจากการที่ยับยั้ง sclerostin จะทำให้มีการสร้าง Dkk-1 มาทดแทน การศึกษาต่อมาได้ค้นพบอีกว่า หากให้ยาที่เป็น bispecific antibody ต่อทั้ง sclerostin และ Dkk-1 ทำให้สามารถรักษากระดูกหักได้ดีกว่าการรักษาด้วย anti-sclerostin antibody ยา romosozumab นี้ มีผลการศึกษาพบว่าทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด รวมทั้งโรคหลอดเลือดสมองได้สูงกว่ายา



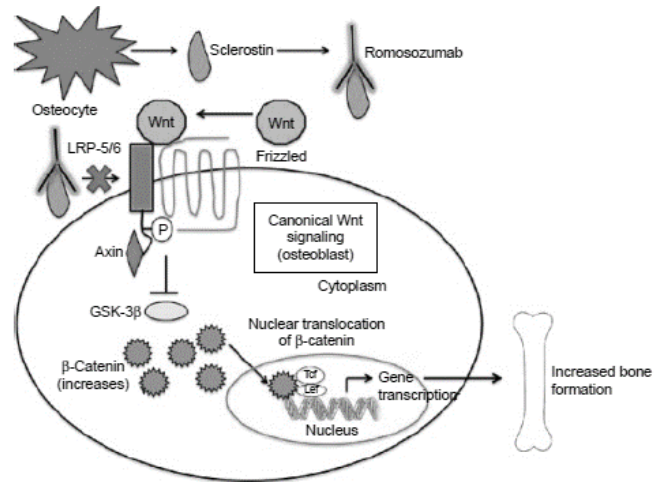
alendronate การเกิดเหตุการณ์นี้อาจเป็นเพราะ sclerostin มีหน้าที่ในการรักษาภาวะจำรองของหลอดเลือด รวมถึงมีหน้าที่ในกระบวนการ vascular remodeling ทั้งนี้ เอกสารกำกับยาได้ระบุในส่วนของคำเตือน และข้อควรระวังเกี่ยวกับภาวะหัวใจขาดเลือด และสมองขาดเลือดในส่วนการทำให้เกิดมะเร็งของยานี้ ได้มีการศึกษาในสัตว์ทดลองเป็นเวลานานถึง 98 สัปดาห์พบว่า ยามีความสามารถในการทำให้เกิดมะเร็งอยู่ในระดับต่ำ<sup>(22, 24, 25, 28, 29)</sup>

Dkk-1 เป็นโปรตีนอีกตัวหนึ่งที่สร้างจาก osteocytes ได้มีการศึกษาที่มีฤทธิ์เป็น anti-DKK-1 antibody ในสัตว์ทดลองพบว่าให้ผลในการเพิ่มความหนาแน่นกระดูกได้ เช่นเดียวกับ anti-sclerostin antibody การใช้ anti-Dkk-1 antibody ในโรคต่าง ๆ พบว่า สามารถลดการสูญเสียมวลกระดูกในโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ของหนูทดลอง ซึ่งผลนี้ได้พบในภาวะการอักเสบทั่วร่างกายด้วย ส่วนผลช่วยเพิ่มการสร้างกระดูกได้พบในการซ่อมแซมกระดูกจากการเกิดการบาดเจ็บ เช่น กระดูกหัก หรือในการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระดูก และสุดท้ายได้มีการค้นพบว่า มีผลลด osteoclasts รวมทั้งป้องกันการยับยั้ง osteoblasts ในภาวะ multiple myeloma ของสัตว์ทดลอง การนำมาใช้เป็นยา ยังต้องรอผลการศึกษาในอนาคต<sup>(24)</sup>

(a)



(b)



รูปที่ 5 (a) การยับยั้ง Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

ของ sclerostin และ (b) กลไกการออกฤทธิ์ของ

romosozumab<sup>(30)</sup>

หมายเหตุ: LRP (low-density lipoprotein receptor-related protein), GSK (glycogen synthase kinase), Tcf (T-cell factor), Lef (lymphoid enhancer factor)

การรักษาที่มุ่งเป้าต่อ Wnt signaling pathway และความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง

จากความรู้ที่ว่า Wnt signaling pathway มีความสำคัญกับหลายกระบวนการในร่างกาย และไม่ได้มีความเฉพาะเจาะจงกับกระดูกเท่านั้น การกระตุ้น Wnt signaling pathway เพื่อทำให้เกิดประสิทธิผลในการเพิ่มความหนาแน่นกระดูกจึงมีข้อควรระวังเกี่ยวกับความเสี่ยงในการเกิดการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะกับเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งได้ ตัวอย่างการศึกษาการเกิดมะเร็งของยีนใน Wnt signaling pathway และมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งเช่น มะเร็งลำไส้ใหญ่ของ APC มีความเกี่ยวข้องกับ FAP syndrome และ มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal cancers) มะเร็งเต้านมของ axin หรือ Tcf 4 เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เช่นกัน การเกิดมะเร็งของ  $\beta$ -catenin และ transcription factors ทำให้เกิดมะเร็งได้หลายชนิด เช่น hepatoblastoma, มะเร็งรูซุมซัน, มะเร็งต่อมไทมัส และมะเร็ง

เม็ดเลือดขาว เป็นต้น ในกรณีของกระดูกควรมีการระวังเกี่ยวกับ osteosarcoma ซึ่งมีการศึกษาพบว่าในนิวเคลียส และไซโทพลาซึมของ osteosarcoma cells มี  $\beta$ -catenin สูงซึ่งแสดงถึงผลการกระตุ้น Wnt signaling pathway ในทางตรงกันข้ามการยับยั้ง Wnt signaling pathway ก็เป็นเป้าหมายของยารักษามะเร็งได้ สำหรับโรคเกี่ยวกับกระดูก และข้ออื่นที่พบเมื่อมีการกระตุ้น Wnt signaling pathway ได้แก่ ทำให้เกิดอาการโรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) โดยพบว่าการรักษาโดยการกระตุ้น Wnt signaling pathway เป็นระยะเวลาสั้น ทำให้เกิดอาการของโรคข้อเสื่อม ตัวอย่างเช่น ในการทดลองการรักษาด้วย anti-Dkk-1 antibodies เพื่อลดการสูญเสียความหนาแน่นกระดูกจากโรค รูมาตอยด์ ทำให้เกิดลักษณะของ osteoarthritis phenotype ร่วมกับการมี osteophytes ดังนั้นการใช้ยาในระยะเวลายาวนานอาจต้องคำนึงถึงอาการไม่พึงประสงค์ดังกล่าวด้วย<sup>(24)</sup>

## สรุป

จากการค้นพบสำคัญเกี่ยวกับการกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway ด้วยโปรตีนในกลุ่ม Wnts ที่เซลล์กระดูกใน BMU ทำให้ส่งผลดีในการเพิ่มการสร้างกระดูก และลดการสลายกระดูก ทำให้ความหนาแน่นกระดูกเพิ่มขึ้น และได้พบอีกว่า sclerostin เป็นโปรตีนสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้ง pathway นี้ จึงทำให้มีการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์เป็น anti-sclerostin antibody เพื่อใช้รักษาโรคกระดูกพรุนขึ้น โดยยาที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหาร และยาของประเทศ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา คือ romosozumab โดยจัดว่ายามีฤทธิ์ทั้งเป็น anabolic คือเพิ่มการสร้างกระดูกและ anti-resorptive agent คือลดการสลายกระดูก การที่มีการสร้างกระดูกมากกว่าการสลายกระดูกนี้สอดคล้องกับผลทางคลินิกที่พบได้แก่ ทำให้ความหนาแน่นกระดูกมากขึ้น และช่วยลดการหักของกระดูกในคนไข้โรคกระดูกพรุนระดับรุนแรง ยานี้ยังคงต้องติดตามเกี่ยวกับเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคสมองขาดเลือด และในการทำให้เกิดมะเร็ง

## เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization (WHO). Ageing and health [website]. 2018 [cited 2020 Dec 7]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>.
2. Jaul E, Barron J. Age-Related Diseases and Clinical and Public Health Implications for the 85 Years Old and Over Population. *Front Public Health*. 2017;5: 335. doi: 10.3389/fpubh.2017.00335.
3. WHO study group. WHO study group on assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO study group [Internet]. 1994 [cited 2020 Dec 7]. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39142/WHO\\_TRS\\_843.pdf;jsessionid=C58520444ECD13961187750B8B0C3791?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39142/WHO_TRS_843.pdf;jsessionid=C58520444ECD13961187750B8B0C3791?sequence=1).
4. Tu KN, Lie JD, Wan CKV, Cameron M, Austel AG, Nguyen JK, et al. Osteoporosis: a Review of treatment Options. *P&T [Internet]*. 2018 [cite 2020 Dec 8];43: 92–104.
5. Levin VA, Jiang X, Kagan R. Estrogen therapy for osteoporosis in the modern era. *Osteoporos Int*. 2018;29:1049-55.
6. Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(2 Suppl):S3-11.
7. Jeremiah MP, Unwin BK, Greenawald MH. Diagnosis and Management of Osteoporosis. *Am Fam Physician [Internet]*. 2015 [cited 2020 Dec 7];92:261-8. Available from: <https://www.aafp.org/afp/2015/0815/afp20150815p261.pdf>

8. World Health Organization (WHO). WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level [Internet]. 2007 [cited 2020 Dec 7]. Available from: <https://www.who.int/chp/topics/Osteoporosis.pdf>.
9. Chen LR, Ko NY, Chen KH. Medical Treatment for Osteoporosis: From Molecular to Clinical Opinions. *Int J Mol Sci.* 2019;20:2213 doi: 10.3390/ijms20092213
10. Ukon Y, Makino T, Kodama J, Tsukazaki H, Tateiwa D, Yoshikawa H, et al. Molecular-Based Treatment Strategies for Osteoporosis: A Literature Review. *Int J Mol Sci.* 2019;20:2557. doi: 10.3390/ijms20102557
11. Walsh J. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery (Oxford).* 2014;33. doi: 10.1016/j.mpsur.2014.10.010
12. Kohli N, Ho S, Brown SJ, Sawadkar P, Sharma V, Snow M, et al. Bone remodelling in vitro: Where are we headed?: -A review on the current understanding of physiological bone remodelling and inflammation and the strategies for testing biomaterials in vitro. *Bone.* 2018;110:38-46.
13. Wittkowske C, Reilly GC, Lacroix D, Perrault CM. In Vitro Bone Cell Models: Impact of Fluid Shear Stress on Bone Formation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2016;4. doi: 10.3389/fbioe.2016.00087
14. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda).* 2016;31(3):233-45.
15. Manolagas SC. Wnt signaling and osteoporosis. *Maturitas.* 2014;78(3):233-7.
16. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2016;8(6):225-35.
17. Mitchell BD, Streeten EA. Clinical impact of recent genetic discoveries in osteoporosis. *Appl Clin Genet.* 2013;6:75-85.
18. Bogado CE, Zanchetta MB, Boailchuk JA, Massari FE, Zanchetta JR. Denosumab: What's New? *Current Osteoporosis Reports.* 2011;9(1):12-9.
19. Weilbaecher KN, Guise TA, McCauley LK. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):411-25.
20. Hoepfner LH, Secreto FJ, Westendorf JJ. Wnt signaling as a therapeutic target for bone diseases. *Expert Opin Ther Targets.* 2009;13(4):485-96.
21. Zhong Z, Ethen NJ, Williams BO. WNT signaling in bone development and homeostasis. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2014;3(6):489-500.
22. Maeda K, Kobayashi Y, Koide M, Uehara S, Okamoto M, Ishihara A, et al. The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling. *Int J Mol Sci.* 2019;20. doi: 10.3390/ijms20225525
23. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nature Medicine.* 2013;19(2):179-92.
24. Kim JH, Liu X, Wang J, Chen X, Zhang H, Kim SH, et al. Wnt signaling in bone formation and its therapeutic potential for bone diseases. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2013;5(1):13-31.
25. Canalis E. Management of endocrine disease: Novel anabolic treatments for osteoporosis. *Eur J Endocrinol.* 2018;178(2):R33-R44.
26. Fasipe O, Ibiyemi O, Adelosoye A, Idowu A. Recent advances and current trend in the

- pharmacotherapy of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Health Research and Reviews*. 2018;5(1):13-21.
27. Drake MT, Clarke BL, Lewiecki EM. The Pathophysiology and Treatment of Osteoporosis. *Clin Ther*. 2015;37(8):1837-50.
28. Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, Binkley N, Czerwinski E, Ferrari S, et al. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *N Engl J Med*. 2016;375(16):1532-43.
29. Amgen Inc. EVENITY™ prescribing information [Internet]. 2019 [cited 2020 Dec 12]. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/761062s000lbl.Pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761062s000lbl.Pdf).
30. Lim S, Bolster M. Profile of romosozumab and its potential in the management of osteoporosis. *Drug Design, Development and Therapy*. 2017;Volume11:1221-31.

## คำถามท้ายบทความ

1. ข้อใดไม่พบในหลักการของค่านิยมของโรคกระดูกพรุน

- a) มีมวลกระดูกต่ำ
- b) มีความผิดปกติในระดับ microarchitecture ของกระดูก
- c) เกิดการหักได้ง่ายจากความเปราะบางของกระดูก
- d) มี bone formation marker น้อยกว่า bone resorption marker

2. ข้อใดผิดเกี่ยวกับโรคกระดูกพรุน

- a) ภาวะหมดประจำเดือนเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคนี้ในเพศหญิง
- b) ปัญหาหลักของโรคนี้เกิดจากทำให้เพิ่มความเสี่ยงที่จะเกิดกระดูกหัก
- c) จะพบได้สูงขึ้นในอนาคตันใกล้ เนื่องจากเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ
- d) ผู้ป่วยโรคนี้มีอัตราการตายสูง

3. องค์การอนามัยโลกได้ให้ค่านิยมโรคกระดูกพรุนโดยอาศัย

การตรวจวัดสิ่งใด และด้วยเครื่องใด

- a) วัดอายุกระดูกเทียบกับอายุจริง ด้วยภาพถ่าย X-ray อายุกระดูก
- b) ตรวจ bone formation maker ด้วย ELISA
- c) วัดความหนาของกระดูก ด้วยเครื่อง CT scan
- d) bone mineral density (BMD) ด้วยเครื่อง dual energy X-ray absorptiometry (DEXA)

4. ข้อใดเรียงลำดับการเกิดขึ้นตอน bone remodeling ได้

ถูกต้อง

- a) resorption → activation → reversal → formation
- b) formation → reversal → activation → resorption
- c) activation → reversal → resorption → formation
- d) activation → resorption → reversal → formation

5. ข้อใดไม่ใช่ความสัมพันธ์ที่ถูกต้องของเซลล์ใน basic multicellular unit (BMU) กับหน้าที่ของเซลล์

- a) osteocytes - หลัง sclerostin
- b) osteoblasts - หลัง osteoprotegerin (OPG)
- c) osteocytes - รับข้อมูลจากร่างกายเพื่อควบคุมการเกิด bone remodeling
- d) pre-osteoclasts - หลัง monocyte-colony stimulation factor (M-CSF)

6. การควบคุมกระบวนการ bone remodeling เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองสิ่งกระตุ้นต่อไปนี้ ยกเว้นข้อใด

- a) ควบคุมระดับแคลเซียมในเลือด
- b) ควบคุมให้สร้างกระดูกเพื่อตอบสนองต่อแรงกระทำจากการวิ่ง
- c) ควบคุมการสร้างกระดูกตอบสนองต่อการที่กระดูกถูกทำลาย
- d) ควบคุมความเป็นกรด-ด่างของเลือด

7. เซลล์ในข้อใดไม่ได้มีเซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) เดียวกับ pre-osteoblasts

- a) adipocytes
- b) osteocytes
- c) bone lining cell
- d) pre-osteoclasts

8. การกระตุ้น Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway ทำให้เกิดเหตุการณ์ต่อไปนี้ ยกเว้นข้อใด

- a)  $\beta$ -catenin ในไซโทพลาซึมเพิ่มมากขึ้น
- b) ลดการทำงานของ ubiquitin-proteasome system
- c) การทำงานของ glycogen synthase kinase (GSK)  $3\beta$  ลดลง
- d) เกิด internalization ของ lipoprotein receptor-related protein (LRP) 5/6

9. ข้อใดไม่ถูกต้องเกี่ยวกับ sclerostin
- สร้างจากเซลล์เดียวกับเซลล์ที่สร้าง Dickkopfs (Dkks)
  - จับกับ co-receptor ของ Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway
  - แย่งจับแบบแข่งขันกับ Wnts
  - ทำงานที่เซลล์ osteoclasts
10. ข้อใดเป็นผลทางคลินิกที่สามารถตรวจพบได้เมื่อรักษาด้วยยาที่มีฤทธิ์เป็น anti-sclerostin antibody
- osteocytes ตายลดลง
  - mature osteoclasts ทำงานได้ลดลง
  - mature osteoblasts มีจำนวนมากขึ้น
  - bone mineral density (BMD) เพิ่มสูงขึ้น
11. ข้อใดไม่ถูกต้องเกี่ยวกับ Wnt signaling pathway
- Wnt ที่สามารถบอกได้ว่ากระตุ้น canonical Wnt signaling pathway เช่น Wnt 1 และ Wnt 3a
  - เมื่อกระตุ้น non-canonical Wnt signaling pathway จะไม่มีผลต่อระดับ  $\beta$ -catenin
  - Wnt เป็น glycoprotein ซึ่งที่พบในมนุษย์มีจำนวน 19 ชนิด
  - Wnt ไม่ว่าจะอยู่ใน form ไต จะเป็นเป็นรูป active form ทั้งสิ้น
12. ข้อใดเป็นเหตุผลที่อาจเป็นไปได้เกี่ยวกับการลดลงของประสิทธิภาพของยา romosozumab เมื่อใช้ต่อเนื่อง
- ร่างกายกระตุ้นให้สร้าง Wnts ได้มากขึ้น
  - เกิด downregulation ของตัวรับ
  - เกิด antibody ต่อยา romosozumab
  - มีการสร้าง Dickkopf (Dkk) 1 ขึ้นมาทำหน้าที่แทน
13. ยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในข้อใด ไม่มีฤทธิ์ในการเพิ่มมวลกระดูก
- Dickkopf (Dkk) 1 antagonist
  - Glycogen synthase Kinase (GSK) 3 $\beta$  inhibitor
  - Sclerostin antagonist
  - Wnt antagonist
14. ในปัจจุบัน ยาที่กระตุ้นการทำงานของ Wnt signaling pathway ควรต้องระวังการเกิดโรคใดต่อไปนี้
- โรกระบบภูมิคุ้มกัน
  - โรกระบบทางเดินหายใจ
  - โรคระดุก และข้อ
  - โรคมะเร็ง
15. ในการศึกษาทางคลินิก ยา romosozumab พบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่พึงระวังเกี่ยวกับระบบใด
- ระบบภูมิคุ้มกัน
  - ระบบต่อมไร้ท่อ
  - ระบบทางเดินอาหาร
  - ระบบหัวใจ และหลอดเลือด