

**Arboleya L<sup>1</sup>, Castañeda S<sup>2</sup>**

1 Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo

2 Hospital Universitario de la Princesa - IIS-Princesa - Madrid

## Osteoclastos: mucho más que células remodeladoras del hueso

Correspondencia: Luis Arboleya - Servicio de Reumatología - Hospital Universitario Central de Asturias - Avda. de Roma, s/n - 33011 Oviedo (España)

Correo electrónico: arboleya@ser.es

Fecha de recepción: 07/06/2014

Fecha de aceptación: 07/10/2014

### Resumen

El osteoclasto ha sido considerado clásicamente como una célula con una función exclusivamente remodeladora del hueso, de comportamiento gregario. Sin embargo, los avances que se han ido produciendo en los últimos años han ido cambiando drásticamente este concepto y, en el momento actual, sabemos que esta célula multinucleada está sometida a una compleja regulación biológica, necesaria para ejercer un papel multifuncional de dimensiones desconocidas.

Además de su participación como la única célula capaz de reabsorber la matriz ósea calcificada, el osteoclasto forma parte de los elementos celulares efectores del sistema inmunitario, una función aún poco conocida pero esperable dada su pertenencia a la estirpe monocito-macrofágica. También comienza a ser conocido su papel en otros procesos, tanto locales, como elemento colaborador en la osteoformación y mantenimiento del nicho de células madre hematopoyéticas, como sistémicos.

En la presente revisión se analizan los hallazgos más destacados que se han producido en el conocimiento de la biología del osteoclasto, con un contenido eminentemente práctico y un enfoque dirigido a conocer las posibles dianas moleculares que van a permitir mejorar el abordaje terapéutico de enfermedades tan relevantes como la osteoporosis, la artritis o el cáncer.

**Palabras clave:** *osteoclastos, osteoporosis, artritis, RANKL.*

## Osteoclasts: much more than bone remodelling cells

### Summary

The osteoclast has been considered classically as a cell with the exclusive function of bone remodelling, with a gregarious behaviour.

However, advances which have been made in recent years have changed this concept drastically, and we now know that this multinuclear cell is subject to complex biological regulation, necessary for it to exert a multifunctional role of unknown dimensions.

In addition to its participation as the only cell capable of reabsorbing the calcified bone matrix, the osteoclast is one of the cellular elements effective in the immune system, a function still little-known but expected, given its belonging to the monocyte-macrophage lineage. Its role in other processes, both local, such as as a collaborative element in osteoformation and hematopoietic stem cell niche maintenance, and systemic, is also beginning to be understood.

In this review the most significant findings contributing to our understanding of the biology of the osteoclast are analysed, with an eminently practical content and an approach aimed at understanding the possible molecular targets which will allow a better therapeutic treatment of such important diseases as osteoporosis, arthritis or cancer.

**Key words:** *osteoclasts, osteoporosis, arthritis, RANKL.*

### Introducción

Los osteoclastos (OC), como únicas células capaces de extraer la matriz calcificada del hueso, son los protagonistas de la delicada tarea de disolver los cristales de fosfato cálcico y digerir el colágeno, a través de estructuras altamente especializadas<sup>1</sup>. Su papel patogénico en la inducción de la excesiva resorción ósea observada en procesos patológicos como la osteoporosis<sup>2</sup>, la artritis<sup>3</sup> o el cáncer<sup>4</sup> es esencial. Los destacados avances que se han producido desde el comienzo del nuevo siglo nos han permitido conocer los mecanismos íntimos que regulan la formación, actividad y supervivencia del OC, abriendo nuevas posibilidades para el diseño de fármacos con acción más específica que los previamente existentes.

En los últimos años, el esfuerzo científico dedicado a conocer la compleja maquinaria resortiva ha crecido de forma exponencial, obteniéndose grandes avances a través de tres líneas principales de investigación: 1) estudio de una serie de enfermedades genéticas, relacionando los fenotipos observados con la disfunción detectada; 2) estudios experimentales basados en la creación de modelos animales con un determinado gen anulado o sobre-expresado; y 3) mediante la obtención de precursores y células maduras en cultivo, analizando sus respuestas a diversos estímulos. Teniendo en cuenta la importancia fundamental del OC en la patogenia de enfermedades tan relevantes como la artritis, osteoporosis y cáncer, junto a la enorme cantidad de información surgida en el último lustro, consideramos necesario realizar una revisión que actualice el conocimiento en este campo tan relevante.

### Características generales del osteoclasto

Los OC se localizan en la superficie interna de los túneles de Havers del hueso cortical, en las trabé-

culas de diámetro superior a 200 micras y en la pared externa de los huesos, bajo el periostio. Aunque se pueden encontrar precursores potenciales en la sangre periférica, bazo y médula ósea, las células maduras son muy raras fuera de las superficies óseas, excepto en situaciones patológicas, como en el caso de los tumores de células gigantes. En ausencia de situaciones específicas de alto remodelado, como ocurre en las metáfisis de los huesos largos en crecimiento o en enfermedades como el hiperparatiroidismo primario, los OC son una población escasa en el esqueleto ya que solamente comprenden el 1-2% de las células óseas. Tienen una vida media de 2 semanas y, en condiciones normales, después de este periodo sufren apoptosis<sup>5</sup>.

A pesar de su rareza en las muestras de tejido sin decalcificar, su morfología es característica cuando se activan, lo que permite reconocerlos fácilmente como estructuras multinucleadas fuertemente polarizadas, con una región basal de intercambio de señales externas y una zona unida a la matriz calcificada a través de una estructura denominada ribete en cepillo. Los OC se desplazan, mediante podosomas, sobre las superficies calcificadas, donde una sola célula puede labrar, de forma consecutiva, varias lagunas de Howship. Poseen una serie de características inmuno-histoquímicas que facilitan su identificación, entre ellas la expresión de fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP). Aunque se ha identificado mRNA de TRAP en otros tejidos, como el riñón, intestino y pulmón, así como en macrófagos activados, esta enzima continúa siendo un marcador osteoclasto fundamental cuya expresión aparece muy pronto, inmediatamente antes de que el OC mononuclear inicie los mecanismos de fusión, aumentando progresivamente desde las diferentes etapas post-fusión hasta la madurez.

Los OC pertenecen a la estirpe monocito-dendrítico-macrofágica, aunque, a diferencia de otros miembros de la progenie, poseen la capacidad de unión al hueso a través de integrinas  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  que expresan en la superficie de podosomas y que tienen la propiedad de interactuar con proteínas de la matriz, como la osteopontina y la vitronectina. Tras la señal de activación primaria, el OC multinucleado se polariza y se enfrenta a la superficie ósea a través de estructuras especializadas que se denominan ribete en cepillo, en cuyos extremos se encuentran las integrinas que se van a unir a la matriz produciéndose el sellado hermético de la laguna, un paso imprescindible para el intercambio de iones y proteasas necesario para la correcta resorción ósea.

La zona basolateral de la membrana no va a sufrir cambios morfológicos relevantes, pero va a jugar un papel mal conocido en la comunicación celular y en el transporte de iones. En el citoplasma osteoclástico, existe una alta actividad de anhidrasa carbónica II que provoca la disociación del ácido carbónico citosólico en protones ( $\text{H}^+$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), siendo este último intercambiado por cloro ( $\text{Cl}^-$ ) mediante un canal específico, lo que permite la conservación del estado isoeléctrico intra-celular. El protón se dirige al ribete en cepillo, donde una bomba de protones dependiente de una ATPasa específica ( $\text{H}^+$ -ATPasa) lo transporta a la laguna. En la vecindad de esta bomba se sitúa un canal iónico (canal de cloro 7,  $\text{ClC7}$ ), que es un simple intercambiador de iones que utiliza el gradiente de voltaje para conseguir la energía necesaria para el transporte a través de la membrana. En concreto, este canal intercambia 2  $\text{Cl}^-$  por 1  $\text{H}^+$ , y su función es muy relevante en los procesos de acidificación lisosómica en general<sup>6</sup> y en la resorción ósea en particular.

La pérdida de función del  $\text{ClC7}$  es una de las causas más frecuentes de osteopetrosis<sup>7</sup> y constituye, junto a la bomba de protones, una interesante diana terapéutica<sup>8</sup> por el momento limitada por sus acciones extraesqueléticas derivadas, sobre todo, del riesgo de producción de enfermedades lisosómicas<sup>9</sup>. En la laguna, mediante la unión de estos 2 iones, se forma ácido clorhídrico, que acidifica el medio y provoca la disolución de la hidroxiapatita y la liberación de calcio y fosfato, manteniendo a la vez la carga iónica citoplasmática en equilibrio. Por último, a través de los lisosomas, se segrega una cisteín-proteasa, la catepsina K, y una serie de metaloproteasas que, finalmente, van a provocar la disolución de la matriz orgánica. Los productos de degradación resultantes entran en el OC por endocitosis y son transportados a la región baso-lateral en vesículas ricas en TRAP y liberados al exterior por exocitosis.

### Formación y activación de los osteoclastos

Los osteoblastos (OB), de origen mesenquimal, residen esencialmente en el tejido óseo y en la médula ósea adyacente. Sin embargo, los OC y sus precursores son una población altamente dinámica, y los mecanismos que controlan su migración y llegada a las superficies óseas han emergido recientemente como elementos fundamentales de la homeostasis esquelética. Los OC proceden de las células madre

hematopoyéticas, las cuales van a dar lugar, a través de progenitores mieloides, a los monocitos circulantes y a los macrófagos tisulares<sup>10</sup>. El órgano diana va a definir las características finales de estas poblaciones celulares emitiendo diferentes señales que van a determinar sus diferentes cualidades morfológicas y funcionales: células de Küpffer en el hígado, macrófagos alveolares en el pulmón, microglía en el sistema nervioso central, histiocitos en el tejido conectivo, células dendríticas y macrófagos en órganos linfoides, y OC en el hueso. A pesar de que son conocidas muchas propiedades de estas células mieloides diferenciadas, fundamentalmente de su estructura y función tisular, los mecanismos íntimos que gobiernan su diferenciación y dinámica aún son muy poco conocidos.

### Migración de los precursores

Se han detectado células de estirpe mononuclear con capacidad de diferenciación osteoclástica en la médula ósea y en el torrente sanguíneo<sup>11,12</sup>. Aunque no se conoce si existe una población mononuclear específica precursora de OC, se sabe que determinadas subclases de monocitos circulantes y de células dendríticas, así como las células progenitoras de la línea monocito-macrofágica residentes en la médula ósea, tienen la capacidad de transformarse en OC si son sometidas a determinadas señales específicas<sup>13</sup>. Utilizando novedosas técnicas de fluorescencia que permiten visualizar el comportamiento celular *in vivo*, Kotani *et al.*, han mostrado recientemente que los OC maduros situados en las superficies de resorción proceden de monocitos circulantes que migran a las citadas regiones óseas, donde sufren la fusión, polarización y desarrollo de los elementos del citoesqueleto que caracterizan a los OC activos<sup>14</sup>.

Las señales que atraen a la población precursora circulante hacia las superficies óseas comienzan a ser conocidas, constituyendo un interesante grupo de moléculas con interés terapéutico potencial. Estas células, que deben expresar el RANK en su membrana, van a ser atraídas hacia la médula ósea o las superficies quiescentes, donde, tras recibir la señal RANKL, se transformarán en OC maduros, polarizados y con el citoesqueleto característico. Esta señal principal procede de las células mesenquimales medulares, de las células del revestimiento o de los osteocitos situados en la profundidad de la matriz calcificada.

La señal RANKL es fundamental para la activación final del OC, aunque probablemente se ejecute únicamente en el órgano diana, existiendo señales que podríamos considerar "anteriores" que provocan la migración de los precursores desde la circulación sistémica. Hasta el momento se han identificado varias señales de reclutamiento, entre las que destaca la quimioquina CXCL12, altamente expresada en células estromales situadas en las regiones perivasculares de la médula ósea. Los precursores osteoclásticos expresan el receptor de quimioquinas CXCR4, cuya unión a CXCL12 promueve el reclutamiento y supervivencia de los OC<sup>15</sup>. El eje CXCL12/CXCR4, se ha convertido en una diana de gran interés en Oncología<sup>16,17</sup>

por su destacado papel en la conducta migratoria de las células tumorales, aunque teniendo en cuenta lo anterior, es muy probable que también participe en funciones como el remodelado óseo acelerado que se produce en la osteoporosis postmenopáusica, o en las diferentes formas de destrucción ósea que caracterizan a la artritis reumatoide.

Otro eje quimioquínico de interés es el protagonizado por CX3CL1 (fractalquina), expresada en osteoblastos, y su receptor, CX3CR1, expresado en OC, cuya acción podría también ser relevante en el reclutamiento de precursores<sup>18</sup>. No obstante, el diseño de moléculas pequeñas con actividad inhibidora de quimioquinas<sup>19</sup> está encontrando serias dificultades debido a la toxicidad provocada por su escasa especificidad.

Otro grupo de moléculas con actividad reclutadora son los esfingolípidos bioactivos. Conocidos por su papel estructural en las membranas celulares, han adquirido relevancia adicional por ser los precursores de moléculas con fuerte capacidad quimiotáctica, como la esfingosina-1-fosfato (S1P) y la ceramida-1-fosfato (C1P)<sup>20,21</sup>. Este último, con relevantes roles en la función y dinámica de otras poblaciones mieloides<sup>22</sup>, no parece intervenir en la migración de los OC, al no haberse identificado, hasta el momento, receptores asociados en estas células.

La S1P es el producto de la fosforilación de la esfingosina por dos kinasas, la esfingosina-kinasa 1 y 2, reacción que se activa en respuesta a diversos mediadores que incluyen varias citoquinas y hormonas. Tras su síntesis puede actuar a nivel intracelular o bien ser liberada al torrente sanguíneo, donde va a interactuar con, al menos, 5 receptores acoplados a proteínas G, de los cuales S1PR1 y S1PR2 han sido identificados en precursores osteoclastícos<sup>23,24</sup>. Tras la unión del S1P al receptor, este es rápidamente internalizado de manera muy similar a lo que ocurre con la unión del ligando al CXCR4, y, en el momento actual, se considera un factor muy relevante en la dinámica de células progenitoras hematopoyéticas y en el tráfico de células inmunes entre los órganos linfoides y los tejidos periféricos. Su papel en las enfermedades óseas comienza a ser conocido, habiéndose observado que las bajas concentraciones de S1P son quimiotácticas para los precursores osteoclastícos, mientras que las altas concentraciones tienen el efecto contrario. Los ratones S1PR2-*null* desarrollan osteopetrosis, mientras que en ratas ovariectomizadas, el antagonista de S1PR2, JTE013, frena la osteoporosis reduciendo el número de OC<sup>24</sup>. Por el contrario, la ablación de S1PR1 osteoclastíco provoca osteoporosis<sup>25</sup>.

Estos hechos sugieren la existencia de un fino control de la migración osteoclastíca, dependiente de un gradiente de S1P<sup>26</sup>, que puede ser resumido de la siguiente manera: en el torrente sanguíneo existe una alta concentración de S1P, mientras que en el tejido óseo es más baja. Los OC esqueléticos, tras la activación de S1PR1, migrarían hacia la circulación sistémica, mientras que la activación de S1PR2 ejercería el efecto contrario, induciendo migración en sentido inverso y acúmulo de OC en el hueso. Estamos, por tanto, ante un sistema

molecular de interés terapéutico<sup>27-29</sup>, ya que el estímulo de S1PR1 o el bloqueo de S1PR2 provocan un efecto antirresortivo destacado en modelos murinos al provocar la salida o frenar la llegada de OC a los sitios de resorción, respectivamente.

#### *Regulación de la diferenciación osteoclastíca*

La diferenciación osteoclastíca es un proceso fuertemente regulado cuyo estudio ha estado limitado por la necesidad de utilizar cultivos mixtos de osteoblastos y OC para obtener células maduras<sup>30</sup>. Desde el descubrimiento del RANKL, el avance en el conocimiento de estos mecanismos ha sido enorme, al hacer posible el cultivo de precursores osteoclastícos aislados en presencia de RANKL sin la necesidad de la interacción de otras células<sup>31</sup>. Es ampliamente conocido que los OC maduros son las únicas células del organismo capaces de reabsorber hueso<sup>32</sup>. No obstante, para conseguir desarrollar toda su maquinaria resortiva, los precursores osteoclastícos van a sufrir una profunda transformación, tras su llegada a las proximidades de las superficies mineralizadas, que se inicia con la intervención inicial del M-CSF y la expresión en su membrana del RANK (Figura 1). En el momento actual no se conoce el mecanismo por el que un subgrupo de precursores mononucleares multipotenciales va a expresar el RANK en su membrana y, como consecuencia de ello, a seguir la vía de diferenciación osteoclastíca tras ser expuestos al RANKL<sup>33</sup>.

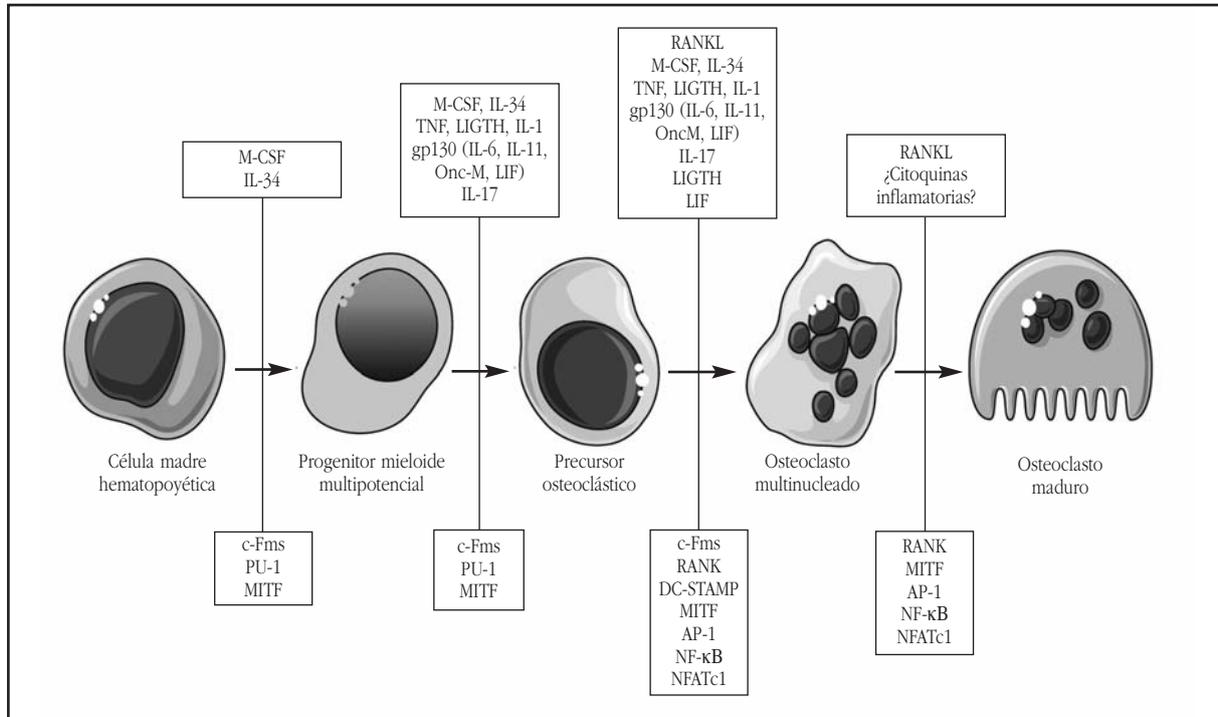
#### a) Señal M-CSF

Tras la expresión inicial de PU-1, un factor de transcripción requerido para la generación de progenitores de las series linfoides y granulocito-macrofágicas, que actúa en fases muy tempranas de la diferenciación mieloides, se produce la expresión de c-Fms, el receptor del M-CSF que va a caracterizar a la población de precursores osteoclastícos primitiva<sup>13,34</sup>. Tras su unión al ligando, el c-Fms, de forma similar a otros miembros de la superfamilia de receptores tirosina-kinasa, a la que pertenece, se fosforila y activa a la ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) a través de GRB-2 (*growth factor receptor bound protein 2*) y a la AKT a través de PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*), provocando señales de proliferación celular. Además, mediante la activación del MITF (*microphthalmia-associated transcription factor*) se induce la expresión del Bcl-2 (*anti-apoptotic B-cell leukaemia/lymphoma-associated gene 2*) un factor esencial de supervivencia<sup>35-38</sup>. Por último, se produce la expresión de RANK en la membrana de los precursores, lo que va a permitir la acción del RANKL sobre estas células y su diferenciación hacia OC maduros de forma definitiva.

#### b) Señal RANKL

El RANK carece de actividad enzimática intrínseca en su dominio intracelular y debe transducir la señal del ligando mediante el reclutamiento de moléculas adaptadoras, entre ellas TRAF-6, GAB-2 (*Grb-2-associated binder-2*) y fosfolipasa C. Estos 2 últimos adaptadores no son indispensables en la fase inicial de la señal, pero sí necesarios en una fase posterior de amplificación<sup>39</sup>. Sin embargo,

Figura 1. Etapas madurativas del osteoclasto. En la parte superior figuran las citoquinas principales implicadas y en la parte inferior los factores de transcripción y proteínas transmembrana. La expresión PU-1 y MITF es el evento inicial que caracteriza a la población de precusores mieloides que se va a diferenciar en osteoclastos. Estos dos factores de transcripción provocan la expresión del receptor de M-CSF el cual, tras su unión al ligando, induce la expresión de RANK. Este hecho es definitivo para la formación de osteoclastos maduros, tras la fusión citoplasmática, pero no nuclear, gobernada por DC-STAMP



MITF: *microphthalmia-associated transcription factor*; DC-STAMP: *dendritic cell-specific transmembrane protein*; LIF: *leukemia inhibitory factor*; Onc-M: oncostatina M.

TRAF-6 es imprescindible para activar la señal distal, en la que están implicados el NFκB, el AP-1 y varias MAPK (*mitogen-activated kinases*), sobre todo JNK (*Jun N-terminal kinase*), p38 y ERK.

La activación de NF-κB es uno de los eventos moleculares más tempranos y cruciales que se producen tras la unión del ligando al RANK. El NFκB pertenece a una familia de factores de transcripción diméricos que, en la célula no activada, se mantienen secuestrados en el citoplasma por medio de su unión a proteínas inhibitoras denominadas IκB (*inhibitors of the κB kinase*). La señal RANKL/RANK/TRAF6 provoca la proteólisis de estos inhibidores, lo que permite la translocación al núcleo del NFκB libre, donde se unirá a elementos de respuesta del DNA induciendo la transcripción de los genes diana<sup>40</sup>. Esta vía de señal intracelular participa en la regulación de varios genes involucrados en las respuestas inmunitarias e inflamatorias, que producen citoquinas como IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 y TNF, quimioquinas, interferones y proteínas antiapoptóticas, como BIRC2, BIRC3 Y BCL2L1. En humanos, la disregulación del NF-κB está asociada con varias enfermedades, como diabetes *mellitus*, Alzheimer, enfermedades autoinmunes, osteoporosis y artrosis, constituyendo una diana terapéutica potencial, limitada en parte debido a su inespecificidad<sup>41</sup>.

El RANK induce también la activación del NFATc1 (*nuclear factor of activated T cells cytoplasmic 1*), considerado actualmente el regulador master de la activación osteoclástica<sup>42</sup>. El NFATc1 pertenece a la familia de factores de transcripción NFAT, identificados inicialmente en extractos nucleares de linfocitos T activados<sup>43</sup>. En estudios posteriores se demostró que su papel en la activación osteoclástica era relevante al observarse que las células precursoras monocito-macrofágicas de la médula estimuladas por RANKL presentaban una selectiva y marcada sobreexpresión de NFATc1<sup>44</sup>. La activación de este factor es dependiente de NFκB y de c-Fms, probablemente en este orden<sup>45</sup>.

### c) Coestimulación y amplificación de la señal RANKL

De manera coordinada con la señal RANKL se han observado otras vías de transducción de señales inductoras de NFATc1 en el OC (Figura 2), cuyo papel podría ser determinante en estados patológicos<sup>46</sup>. Se conocen al menos dos receptores *Ig-like*: el OSCAR<sup>47</sup> (*osteoclast-associated receptor*) y el TREM-2<sup>48</sup> (*triggering receptor expressed in myeloid cells*). Ambos están asociados con proteínas adaptadoras que contienen motivos ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*) como las DAP-12 (*DNAX-activation protein 12*) o el FcR (*Fc receptor common subunit*).

Aunque no se conoce con seguridad el ligando de estos receptores (recientemente el OSCAR se ha asociado con motivos específicos expresados en colágenos fibrilares)<sup>49</sup>, cuando se activan se produce la fosforilación de los ITAM por tirosina-kinasas y, con la colaboración de otras moléculas, como BLNK (*B cell linker protein*) y SLP76 (*Src homology 2 domain-containing leukocyte protein of 76 kD*), van a provocar la activación de PLC $\gamma$ 2, contribuyendo a la amplificación de la señal RANK. No se conoce si estas vías son relevantes en estados fisiológicos, aunque en situaciones patológicas como la osteoporosis, la artritis o el cáncer es muy probable que su sobreactivación contribuya al estado de estimulación osteoclástica marcada que las caracteriza<sup>47-52</sup>.

El NFATc1 es un regulador central de la activación osteoclástica, tanto en un sentido estimulador de la señal RANK como también en un sentido opuesto, al ser diana de diferentes moléculas que inhiben su expresión. En el sentido positivo, la expresión de NFATc1 inducida por RANK/NF $\kappa$ B/c-Fos es dependiente de la vía de señal p38. Otras señales, procedentes de receptores *Ig-like* asociados con factores adaptadores como FcR $\gamma$  y DAP12, actúan de manera coordinada con las señales anteriores, a través del incremento transitorio de los niveles intracelulares de calcio, por mecanismos aun no aclarados que podrían implicar también a la PLC $\gamma$ 2, que van activar a la calcineurina. Este enzima defosforila al NFATc1 citosólico, lo que permite su translocación al núcleo, donde en concierto con el PU.1 y el MITF, va a activar a las regiones promotoras de varios genes que codifican moléculas esenciales para el funcionamiento osteoclástico como catepsina K, OSCAR, DC-STAMP, TRAP y V-ATPasa-d2. Además se produce el incremento de su propia síntesis, mediante un proceso de autoamplificación descrito en 2005 por Asagiri *et al*<sup>65</sup>. No obstante, estas vías secundarias de activación del NFATc1 son dependientes de la vía principal y, en ausencia de RANKL, no se produce el estímulo aislado de estos receptores, lo que conlleva a la ausencia de activación osteoclástica<sup>53</sup>.

Para evitar la formación osteoclástica sin freno que se derivaría de la vía NFATc1, existe una serie de reguladores negativos que actúan sobre este factor, en general de forma indirecta a través de la señal proximal<sup>54</sup>. Dentro del grupo de citoquinas, la IL-4 y la IL-13, productos de las células Th2, cumplen funciones pleiotrópicas, entre las que se encuentra una potente acción antiosteoclástica que se ejecuta de manera dependiente de STAT-6 (*signal transducer and activator of transcription 6*) con el resultado final de inhibición de la expresión de NFATc1. Otras citoquinas, como la IL-10, la IL-27 o el IFN- $\gamma$  inhiben la formación de OC desde los precursores o su activación, por mecanismos dependientes de la señal RANK/NF $\kappa$ B/NFATc1<sup>55</sup>.

La activación de varios TLR (*Toll like receptors*) reduce la tasa de formación de OC maduros inducida por RANKL por mecanismos dependientes del IFN- $\beta$ , aunque también se han observado mecanismos independientes. Por otro lado, la activación de TLR es uno de los inductores más potentes de citoquinas inflamatorias, como TNF e IL-1, que actúan

sinérgicamente con RANKL en la producción de osteolisis inflamatoria en enfermedades como la artritis reumatoide o la enfermedad periodontal<sup>56</sup>.

De manera resumida, podemos intuir que los TLR, como elementos clave de la inmunidad innata, tienen un papel antagónico fuertemente dependiente del contexto. Por un lado, al inicio de la respuesta inflamatoria, reducirían la transformación de precursores hacia OC con lo que incrementarían el *pool* de células disponibles para su transformación en macrófagos. Sin embargo, en una fase más avanzada, si su activación persiste de manera mantenida, actuarían como inductores de osteoclastogénesis de forma indirecta a través de citoquinas inflamatorias. La confirmación de esta atractiva hipótesis, constituiría, un elemento más que apoyaría la relevante participación del OC en la respuesta inmunitaria.

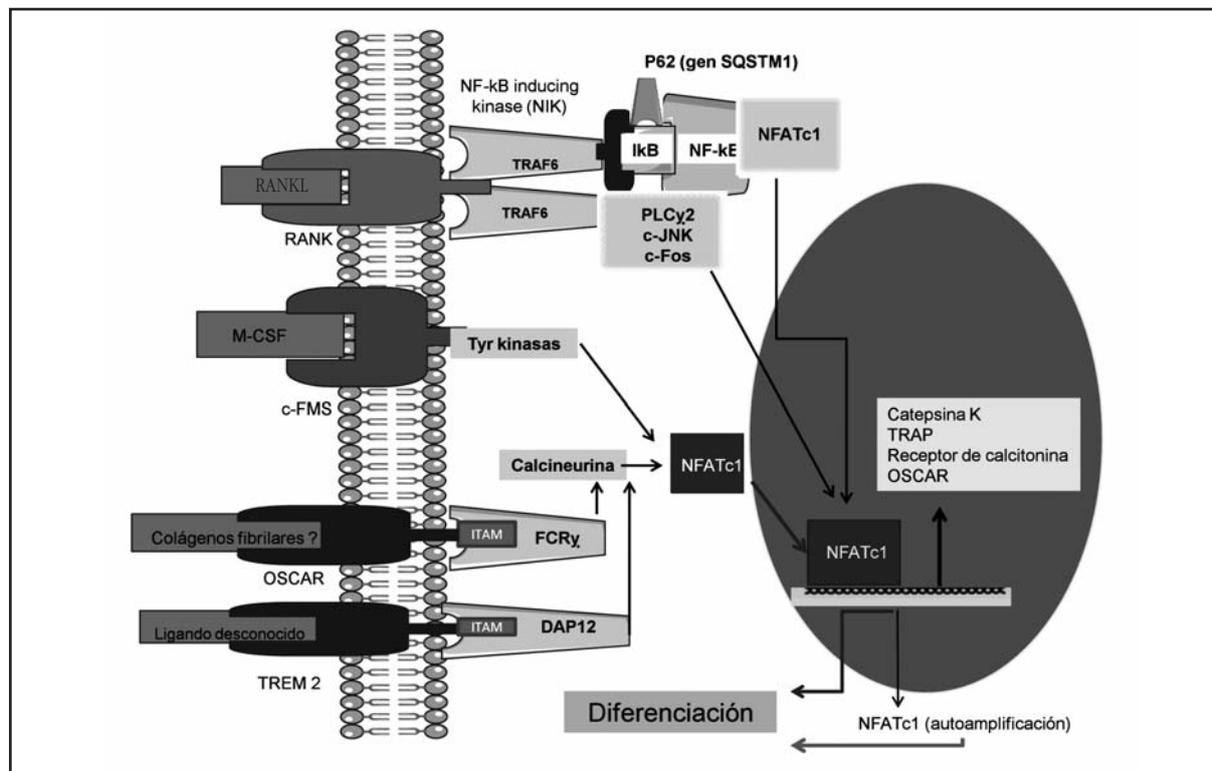
Existen otros factores que inhiben la formación o activación de los OC, además de los citados: citoquinas como TRAIL<sup>57</sup> (*TNF-related apoptosis inducing ligand*), IL-12 e IL-18<sup>58</sup>, diferentes moléculas de señal intracelular, como SHIP1<sup>59</sup> (*Src homology 2-containing inositol-5-phos phatase 1*), NF- $\kappa$ B p100<sup>60</sup> y algunos componentes de la vía Notch<sup>61</sup>, diversos represores transcripcionales como MafB (*v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family protein B*)<sup>62</sup>, C/EBP (*CCAATenhancer-binding protein  $\beta$* )<sup>63</sup>, IRF-8 (*Interferon regulatory factor*)<sup>64</sup>, y Bcl6 (*B cell lymphoma*)<sup>65</sup>. Todas estas moléculas constituyen dianas terapéuticas de interés potencial, pero su análisis detallado supera el alcance de esta revisión.

#### d) Vías de activación osteoclástica independientes de RANKL

La señal RANKL es la más importante vía de activación osteoclástica y su anulación en modelos murinos provoca la desaparición completa de los OC, por lo que el papel de vías independientes de activación, *a priori*, parece poco relevante. Sin embargo, en 2005, Kim *et al.* demostraron que, en presencia de cofactores como TGF- $\beta$ , los precursores hematopoyéticos de ratones *null* para RANKL, RANK y TRAF-6, conseguían diferenciarse a OC<sup>66</sup>. Es evidente que el interés de este tópico es enorme, ya que podrían existir, al menos en circunstancias patológicas, vías de activación osteoclástica no canónicas que pudieran ser moduladas para obtener respuestas terapéuticas diferentes a la anulación completa del OC.

Dentro de la superfamilia del TNF, dada la homología estructural entre sus miembros, son varios los ligandos o receptores investigados. Uno de los más interesantes es el LIGHT (también conocido como TNFSF14 y CD258). Esta proteína transmembrana de tipo II, se expresa primariamente en células T activadas, células NK, células dendríticas y macrófagos, cumpliendo funciones biológicas claves en las respuestas inmunitarias adaptativa e innata a través de la homeostasis, diferenciación y activación de los linfocitos T<sup>67</sup>. Se une a 3 receptores que comparten similitud estructural en su tallo citoplasmático: TNFRSF14/HVEM (*herpes virus entry mediator*), LT- $\beta$ R (*lymphotoxin  $\beta$  receptor*) y DcR3 (*decoy receptor 3*)<sup>68</sup>. Aunque no se conoce el papel del LIGHT en la resorción

Figura 2. Activación osteoclástica canónica y señales co-estimuladoras. Además de las señales canónicas de proliferación y activación, el osteoclasto puede recibir otro tipo de señales cuyo papel podría ser muy destacado en estados inflamatorios



TRAF6: Factor asociado al receptor de TNF 6; PLC: fosfolipasa C; c-JNK: Kinasa N-terminal c-Jun; ITAM: *Immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*; DAP12: *Death associated protein 12*; TREM 2: *Triggering receptor expressed on myeloid cells 2*.

ósea, se ha observado que provoca una potente acción osteoclastogénica, independiente de RANK y OPG, a través de AKT, NFκB y JNK en monocitos humanos y murinos, utilizando TRAF-2 y TRAF-5. Su función en las enfermedades óseas no ha sido aclarada, pero es, sin duda, una interesante diana de potencial interés terapéutico<sup>69,70</sup>.

Otros dos miembros de la superfamilia del TNF han mostrado capacidad osteoclastogénica independiente del RANKL. El APRIL (*a proliferation inducing ligand*, TNFSF13) y el BAFF (*cell activating factor belonging to the TNF*, también conocido como BLyS y TNFSF 13b) son capaces, en cultivos *in vitro*, de inducir la formación de células con fenotipo osteoclástico desde los precursores mononucleares, aunque de un tamaño inferior y con menor número de núcleos y capacidad resorptiva que las inducidas por RANKL o por LIGHT<sup>71</sup>.

e) Origen del RANKL en la activación osteoclástica

Aunque el origen clásico del RANKL que interviene en el remodelado óseo se sitúa en el OB, son varios los hallazgos experimentales que han puesto en duda este concepto. En un estudio pionero, Corral *et al.*<sup>72</sup> mostraron que la ablación de progenitores osteoblásticos, mediante la administración de ganciclovir, en ratones portadores de un transgen de timidina-kinasa bajo el control del promotor de osteocalcina, no

causaba ningún efecto en las superficies osteoclásticas ni en los marcadores de resorción, incluso tras varias semanas de seguimiento, en las que la población de osteoblastos había desaparecido de las superficies óseas. Mas recientemente y utilizando un modelo murino transgénico similar, Galli *et al.* observaron que la ausencia de osteoblastos no afectaba a los niveles basales o estimulados por PTH de mRNA de RANKL<sup>73</sup>. Estos estudios indican que el paradigma clásico, es decir el RANKL que gobierna la activación osteoclástica procede del OB o de sus precursores, debe ser revisado<sup>74</sup>.

Los OC se forman en diferentes lugares esqueléticos con diferentes propósitos y con diversas células de soporte encargadas de sintetizar el RANKL necesario para su activación. Por ejemplo, los fémures de ratones que carecen de RANKL osteocítico desarrollan una morfología normal, que indica que el modelado cortical de los huesos largos es controlado por células ajenas a los osteocitos, mientras que, durante la osificación endocranal, la mayor fuente de RANKL que va a permitir la acción reabsorptiva osteoclástica sobre el cartílago calcificado son los condrocitos hipertróficos<sup>75</sup>. El OC es también la célula efectora de la erosión que caracteriza a la artritis reumatoide<sup>76,77</sup>, y su activación es soportada por la colaboración de células sinoviales de estirpe fibroblástica con la subclase

linfocitaria Th17<sup>78</sup>. Estos hechos sugieren que el papel del RANKL derivado de los osteocitos podría estar limitado al remodelado óseo.

El osteocito es la célula que aporta una mayor cantidad de RANKL durante el remodelado fisiológico<sup>79</sup>. Este hecho es aún más plausible desde el punto de vista biológico, debido al conocido papel de estas células en la detección de señales tanto mecánicas como hormonales, lo que les permitiría actuar como verdaderos reguladores del remodelado óseo, al menos, en condiciones fisiológicas. Utilizando tecnología Cre-LoxP, que permite modificar el DNA en tipos celulares específicos, Xiong *et al.*<sup>74</sup> provocaron la delección del gen del RANKL osteocítico en ratones y observaron una reducción de OC, con aumento de la masa ósea y de los marcadores de resorción, sin alteraciones en el desarrollo esquelético ni en la erupción dental. En el laboratorio de Takayanagi<sup>79</sup>, obtuvieron los mismos resultados utilizando una tecnología similar. En resumen, estos estudios demuestran que el osteocito es la célula productora principal del RANKL en el remodelado óseo fisiológico.

El RANKL procedente del osteocito es, por tanto, la citoquina que controla el remodelado óseo fisiológico, en respuesta a señales mecánicas y hormonales. El mecanismo mediante el cual, el RANKL accede al OC aun no ha sido suficientemente aclarado. Existen pruebas experimentales de que la presencia de RANKL soluble en el medio es suficiente para producir expansión osteoclástica<sup>80</sup> y de que las proyecciones osteocitarias expresan RANKL de membrana y alcanzan la superficie ósea, donde contactan con los OC y sus precursores<sup>64,81</sup>. En definitiva, existen pruebas de que, tanto mediante la producción de RANKL soluble como mediante el expresado en la membrana de las dendritas, los osteocitos controlan la activación osteoclástica. Su papel es dual, ya que también poseen la capacidad de producir esclerostina, mediante la activación de su gen SOST, y, de esta forma, contribuir a la regulación de la osteoformación<sup>82</sup>.

#### *Fusión osteoclástica*

Los precursores osteoclásticos son células mononucleadas que expresan TRAP, sin capacidad resortiva en los cultivos *in vitro*. El primer paso para que adquieran funcionalidad es la fusión celular, que va a permitir la formación de OC maduros. El conocimiento de los mecanismos íntimos que controlan este evento crítico en la fisiopatología del remodelado es fundamental para el desarrollo de nuevas terapias.

En condiciones fisiológicas, las células pre-OC TRAP + y los OC maduros únicamente se encuentran en las superficies óseas, lo que indica que la fusión se produce en estos lugares. Mediante técnicas de sustracción de DNA en células precursoras estimuladas por M-CSF aislado o M-CSF y RANKL, se observó que la DC-STAMP (*dendritic cell-specific transmembrane proteina*) es una molécula imprescindible para la fusión de células mononucleares como paso previo para la formación de OC maduros activos. Esta proteína transmembrana, descubierta en 2000<sup>83</sup>,

se expresa también en células dendríticas y macrófagos<sup>84</sup>. Su anulación en modelos murinos provocó osteopetrosis asociada a la ausencia completa de la OC mononucleares fusionados y también de células gigantes de cuerpo extraño. En estos ratones persistía una moderada actividad resortiva de las células maduras, lo que indica que su papel fundamental lo desempeña en la fusión<sup>85</sup>. La regulación de la DC-STAMP es compleja y depende no sólo de la vía RANKL/RANK sino también de otros factores independientes, como IL-32<sup>86</sup>, Tal1 (*T-cell acute lymphocytic leukemia 1*)<sup>87</sup>, LDLR (*low-density lipoprotein receptor*)<sup>88</sup>, CCN2/CTGF (*CCN family 2/connective tissue growth factor*)<sup>89</sup> y la vitamina E<sup>90</sup>, entre otros, cuyo papel es aún mal conocido pero que podrían constituir dianas de interés terapéutico futuro.

La fusión OC es promovida por otras moléculas, como las citoquinas proinflamatorias. Entre ellas, además de las acciones ya comentadas de RANKL, tanto el TNF- $\alpha$  como el LPS (lipolisacárido) son capaces de inducir fusión OC, bajo ciertas circunstancias. Por ejemplo, la acción del TNF- $\alpha$  es específicamente bloqueada por Ac anti-TNF- $\alpha$ , mientras que el efecto del LPS es parcialmente bloqueado por estos fármacos y completamente por la polimixina B<sup>91</sup>. La activación de estas vías, se acompaña de señales intracelulares dependientes de quinasas y cuando se utilizan inhibidores específicos de estas vías, se reduce la fusión OC, mientras que los niveles de DC-STAMP no se alteran. Estos hallazgos indican que existen vías alternativas que regulan la fusión OC independientes de DC-STAMP, aunque se desconoce si ejercen funciones fisiológicas o únicamente intervienen en procesos patológicos<sup>92</sup>.

#### **Roles adicionales del osteoclasto**

Además de su función como la única célula capaz de reabsorber la matriz ósea calcificada, el OC participa en otros procesos que resumimos a continuación.

##### *1. Estimulación de la formación ósea*

El remodelado óseo es un proceso acoplado en el que la actividad osteoclástica va seguida de la acción osteoblástica. La inhibición farmacológica de la primera provoca reducción de la segunda, mientras que el estímulo osteoformador va seguido de un incremento secundario de la resorción. En un principio el modelo parecía simple, atribuyéndose a factores liberados de la matriz reabsorbida por los OC el papel reclutador de osteoblastos<sup>93,94</sup>. Sin embargo, en un estudio publicado en 2001, el grupo de Biología Molecular de la Universidad de Hamburgo demostró que, en algunos modelos murinos de osteopetrosis y en un paciente con la forma maligna infantil, la alteración funcional de la maquinaria resortiva con presencia de un número de OC normal, como la que se produce con la anulación de los canales de cloro ClC-7 C, existía una formación ósea normal<sup>95</sup>. Este hecho sugiere que existen factores independientes de la matriz reabsorbida por los OC cuyo papel en el acoplamiento es, probablemente, más relevante.

Entre los mecanismos en los que los OC intervienen directamente, estimulando la osteoformación se han propuesto los siguientes<sup>95</sup>: por un lado, la efrina B2, expresada en la membrana osteoclástica, es capaz de provocar señal de activación al unirse a su receptor osteoblástico EphB4; también la esfingosina-1-fosfato es capaz de provocar reclutamiento de precursores osteoblásticos a los sitios de remodelado<sup>96</sup>, aunque el tratamiento con análogos de esta molécula no ha mostrado resultados relevantes en la curación de las fracturas<sup>97</sup>. El OC expresa, además, factores reguladores negativos del osteoblasto, como la Atp6v0d2 (una subunidad de la bomba de protones V-ATPasa)<sup>98</sup>. Aunque aún se desconoce el papel fisiológico de estas señales moleculares, los hallazgos comentados sugieren que la intervención de los OC en el remodelado no se limita a la resorción ósea, sino que desempeñan también un relevante papel en el acoplamiento mediante señales moleculares que participan en el reclutamiento, activación e inhibición de los osteoblastos.

## 2. Células inmunitarias

Tanto los OC como los OB tienen la capacidad de responder a una amplia variedad de citoquinas producidas por las células de los sistemas inmunitarios innato y adaptativo<sup>78,99-101</sup>. Los OC contienen toda la maquinaria necesaria para la endocitosis y el procesamiento de proteínas exógenas, procedentes del material generado durante la resorción y también en situaciones patológicas como la osteomielitis. En 2009, Kiesel *et al.*<sup>102</sup> demostraron que los OC pueden reclutar células T CD8+ FoxP3+ y presentar antígenos a las mismas. Estas células jugarían un papel regulador, cuya función en condiciones no inflamatorias se desconoce. Una hipótesis no comprobada, aunque muy atractiva, relacionaría esta capacidad de los OC como células presentadoras de antígenos con la existencia de un gran reservorio de linfocitos T CD8+ de memoria central en la médula ósea, participando en su reclutamiento y mantenimiento<sup>103</sup>.

La extracción de hueso necrótico durante una infección bacteriana es otro de los mecanismos en los que el OC participa en la respuesta inmunitaria. De hecho, en un elegante estudio en el que se utilizaron modelos murinos que emulaban la biología de la osteomielitis y de los implantes periodontales, Li *et al.*<sup>104</sup>, demostraron que la inhibición funcional de los OC por bisfosfonatos y por la osteoprotegerina, se asociaba a un incremento de la cantidad de hueso cortical necrótico alrededor del implante que servía como *nidus* para la colonización bacteriana, a la vez que reducía el tamaño del orificio de drenaje, a través del cual las bacterias opsonizadas eran expulsadas al exterior de la lesión. Estos hechos son muy relevantes, ya que sugieren que la inhibición osteoclástica farmacológica podría estar contraindicada en las infecciones óseas; así como que en la patogenia de la osteonecrosis maxilar, donde es muy relevante la colonización bacteriana, el OC jugaría un papel destacado, al menos en sus fases iniciales.

## 3. Cartilago articular

En los procesos en los que se produce destrucción del cartilago hialino articular, se han observado células gigantes multinucleadas que expresan un fenotipo osteoclástico (TRAP+, catepsina K+, MMP9+, CD14-, HLA-DR-, CD45+, CD51+ y CD68+). Estas células, denominadas en algunas publicaciones "condroclastos", tienen la capacidad de reabsorber la matriz cartilaginosa y han sido implicadas en la patogenia de enfermedades como la artritis reumatoide o la artrosis<sup>105</sup>. Su papel concreto no ha sido establecido con certeza, aunque existen evidencias indirectas que sugieren que pueden desempeñar un papel relevante en el daño articular. Se sabe que en el cartilago se sintetiza un 30% del RANKL total que se produce en la articulación artrítica, fundamentalmente a través de los condrocitos<sup>106</sup>. La fracción soluble de esta citoquina, actuando de forma paracrina, podría participar, mediante la activación osteoclástica en los lugares de contacto condrosinovial, en la patogenia de la erosión y de la osteopenia yuxtaarticular, que caracterizan a la lesión reumatoide. Además, aunque aún no se ha demostrado con suficiente certeza, el RANKL condrocítico podría contribuir a la transformación y activación de los precursores mononucleares, dando lugar a condroclastos con capacidad degradativa del cartilago. El mecanismo mediante el que se produciría esta acción no se conoce todavía, pero constituye, sin duda, una interesante cuestión en base al posible papel terapéutico de los inhibidores del RANKL en procesos como la artrosis.

## 4. Metabolismo energético

La osteocalcina, un pequeño péptido producido por el osteoblasto, estimula la secreción de insulina por la célula beta pancreática, un hallazgo de enorme importancia al implicar de manera decisiva al tejido óseo en el control hormonal del metabolismo energético<sup>107</sup>. Esta molécula tiene varias características de hormona: es un producto específico celular, se sintetiza en forma pre-propeptídica y se segrega a la circulación sistémica, tras un proceso de gamma-carboxilación vitamina K-dependiente. Este hecho explica su gran afinidad por la matriz ósea, lo que provoca que sea liberada durante la resorción ósea y convertida en su forma activa tras la exposición al pH ácido de la laguna de resorción. En ratones transgénicos que carecen de actividad V-ATPasa, se observa una hipoinsulinemia e intolerancia a la glucosa asociadas a niveles reducidos de osteocalcina<sup>108</sup>. Un estudio que analizó los efectos de alendronato en una pequeña muestra de pacientes, mostró niveles reducidos de osteocalcina infracarboxilada que se asociaban inversamente con aumento del peso corporal y de la masa adiposa<sup>109</sup>. Sin embargo, la revisión de los resultados de los estudios FIT, HORIZON Y FREEDOM no mostró ninguna alteración en estos parámetros ni en el metabolismo de la glucosa<sup>110</sup>. En resumen, mientras los modelos animales sugieren un papel del remodelado óseo en el control del metabolismo energético, los estudios realizados en humanos muestran resultados discordantes que deberán ser aclarados en el futuro<sup>111</sup>.

Tabla 1. Resumen de las dianas moleculares osteoclásticas potenciales

Diana molecular	Características	Consecuencias de la intervención farmacológica	Cita
CX3CL1 (fractalquina)	Quimioquina expresada en la membrana de los osteoblastos con acciones quimiotácticas y pro-adhesión	Su bloqueo reduce el reclutamiento de precursores osteoclásticos	112
CX3CR1	Receptor de CX3CL1 expresado en los osteoclastos	Su bloqueo reduce el reclutamiento de precursores osteoclásticos	113
CXCL12/CXCR4	Quimioquina y su receptor expresados ambos en los osteoblastos	Su bloqueo reduce la llegada de OC al hueso	114
S1P	Mediador lipídico que controla la dinámica de migración de los precursores osteoclásticos	Los agonistas de S1P promueven la llegada de osteoblastos a través de los receptores S1PR1 y 2	29
CSF-1R (c-fms)	Receptor del CSF expresado en precursores osteoclásticos	Reduce la migración y activación osteoclástica en artritis experimental	115
MAPK MK2	Una de las MAP kinasas más específicas en la transducción de la señal intracelular osteoclástica	Inhibición de la activación osteoclástica sin efecto sobre la osteoformación	116
NFATc1	Factor nuclear clave en la activación osteoclástica	Inhibición de la activación osteoclástica	117
TGF- $\beta$	Citoquina multifuncional que regula la proliferación en diferentes líneas celulares, muy abundante en el hueso	El bloqueo de la señal TGF- $\beta$ inhibe la osteoclastogénesis RANKL-inducida	118
Proteína G $\alpha$ 11	Proteína G osteoblástica implicada en la activación osteoclástica	Su sobre-expresión provoca osteopenia por un mecanismo dual	119
PKC- $\delta$	Papel central en la diferenciación, fusión y función del OC participando en la vía de señal ERK del M-CSF y RANKL	Su inhibición altera la señal intracelular osteoclástica	120
DC-STAMP	Proteína transmembrana que funciona como reguladora esencial de la fusión osteoclástica	Bloqueo funcional de los osteoclastos maduros	121

S1P: esfingosina-1-fosfato; CSF-1R: Receptor 1 del Factor estimulador de las colonias; MAPK: proteína-quinasa activada por mitógenos; TGF- $\beta$ : Factor de crecimiento transformante beta; PKC- $\delta$ : Proteína-quinasa C delta; DC-STAMP: *dendritic cell-specific transmembrane protein*.

## Conclusiones

El OC ha sido considerado clásicamente como una célula con una función exclusivamente remodeladora del hueso, de comportamiento gregario. Sin embargo, en la última década, los hallazgos experimentales han transformado drásticamente esta visión excesivamente simplista. Los OC comparten orígenes comunes con las células del sistema inmunitario, tanto de la serie mieloide como linfoide. Su papel en las enfermedades articulares inflamatorias, como la artritis reumatoide, es probablemente muy relevante, ya que a la función conocida como única célula capaz de disolver la matriz ósea calcificada, se añaden

nuevos roles por su capacidad de secreción de citoquinas y como célula presentadora de antígenos. Los OC como células extraordinariamente dinámicas, constituyen dianas de enorme interés terapéutico (Tabla 1) por su participación en procesos como la osteoporosis, la artritis, la artrosis o el cáncer.

## Bibliografía

1. Seeman E. Modelling and remodelling. En: Bilezikian J, Raisz LG, Martin TJ, editores. Principles of bone biology (Third Edition). Filadelfia: Elsevier Inc; 2008;p.3-28.
2. Schett G. Biology, physiology and morphology of bone.

- En: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR, editores. *Kelley's Textbook of Rheumatology* (Ninth Edition). Filadelfia: Saunders; 2013;p.61-6.
3. Goldring SR, Schett G. The role of the immune system in the bone loss of inflammatory arthritis. En: Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y, Schett G, Takayanagi H, editores. *Osteoimmunology*. Londres: Elsevier; 2011;p.301-22.
  4. Olechnowicz SW, Edwards CM. Contributions of the host microenvironment to cancer-induced bone disease. *Cancer Res* 2014;74:1625-31.
  5. Väänänen HK, Zhao H. Osteoclast function: biology and mechanisms En: Bilezikian JP, Raisz LG, Martin TJ. *Principles of Bone Biology* (Third Edition). Filadelfia: Elsevier Inc; 2008;p.193-209.
  6. Graves AR, Curran PK, Smith C, Mindell JA. The Cl-/H+ antiporter ClC-7 is the primary chloride permeation pathway in lysosomes. *Nature* 2008;453:788-92.
  7. Kornak U, Kasper D, Bösl MR, Kaiser E, Schweizer M, Schulz A, et al. Loss of the ClC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell* 2001;104:205-15.
  8. Schaller S, Henriksen K, Sveigaard C, Heegaard AM, Hélix N, Stahlhut M, et al. The chloride channel inhibitor NS3736 prevents bone resorption in ovariectomized rats without changing bone formation. *J Bone Miner Res* 2004;19:1144-53.
  9. Kasper D, Planells-Cases R, Fuhrmann JC, Scheel O, Zeitz O, Ruether K, et al. Loss of the chloride channel ClC-7 leads to lysosomal storage disease and neurodegeneration. *EMBO J* 2005;24:1079-91.
  10. Kraft-Terry SD, Gendelman HE. Proteomic biosignatures for monocyte-macrophage differentiation. *Cell Immunol* 2011;271:239-55.
  11. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003;4:638-49.
  12. Xing L, Schwarz EM, Boyce BF. Osteoclast precursors, RANKL/RANK, and immunology. *Immunol Rev* 2005;208:19-29.
  13. Kikuta J, Ishii M. Osteoclast migration, differentiation and function: novel therapeutic targets for rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2013;52:226-34.
  14. Kotani M, Kikuta J, Klauschen F, Chino T, Kobayashi Y, Yasuda H, et al. Systemic circulation and bone recruitment of osteoclast precursors tracked by using fluorescent imaging techniques. *J Immunol* 2013;190:605-12.
  15. Pang H, Wu XH, Fu SL, Luo F, Zhang ZH, Hou TY, et al. Co-culture with endothelial progenitor cells promotes survival, migration, and differentiation of osteoclast precursors. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;430:729-34.
  16. Mukherjee D, Zhao J. The role of chemokine receptor CXCR4 in breast cancer metastasis. *Am J Cancer Res* 2013;3:46-57.
  17. Ziarek JJ, Liu Y, Smith E, Zhang G, Peterson FC, Chen J, et al. Fragment-based optimization of small molecule CXCL12 inhibitors for antagonizing the CXCL12/CXCR4 interaction. *Curr Top Med Chem* 2012;12:2727-40.
  18. Han KH, Ryu JW, Lim KE, Lee SH, Kim Y, Hwang CS, et al. Vascular expression of the chemokine CX3CL1 promotes osteoclast recruitment and exacerbates bone resorption in an irradiated murine model. *Bone* 2014;61:91-101.
  19. Karlström S, Nordvall G, Sohn D, Hettman A, Turek D, Ahlin K, et al. Substituted 7-Amino-5-thio-thiazolo[4,5-d]pyrimidines as potent and selective antagonists of the fractalkine receptor (CX3CR1). *J Med Chem* 2013;56:3177-90.
  20. Kim CH, Wu W, Wysoczynski M, Abdel-Latif A, Sunkara M, Morris A, et al. Conditioning for hematopoietic transplantation activates the complement cascade and induces a proteolytic environment in bone marrow: a novel role for bioactive lipids and soluble C5b-C9 as homing factors. *Leukemia* 2012;26:106-16.
  21. Ratajczak MZ, Kim C, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J. The expanding family of bone marrow homing factors for hematopoietic stem cells: Stromal Derived Factor 1 Is not the only player in the game. *Sci World J* 2012; 2012:758512.
  22. Gangoiiti P, Arana L, Ouro A, Granada MH, Trueba M, Gómez-Muñoz A. Activation of mTOR and RhoA is a major mechanism by which Ceramide 1-phosphate stimulates macrophage proliferation. *Cell Signal* 2011;1:27-34.
  23. Ishii M, Egen JG, Klauschen F, Meier-Schellersheim M, Saeki Y, Vacher J, et al. Sphingosine-1-phosphate mobilizes osteoclast precursors and regulates bone homeostasis. *Nature* 2009;458:524-8.
  24. Ishii M, Kikuta J, Shimazu Y, Meier-Schellersheim M, Germain RN. Chemorepulsion by blood S1P regulates osteoclast precursor mobilization and bone remodeling in vivo. *J Exp Med* 2010;207:2793-8.
  25. Maceyka M, Harikumar KB, Milstien S, Spiegel S. Sphingosine-1-phosphate signaling and its role in disease. *Trends Cell Biol* 2012;1:50-60.
  26. Kikuta J, Kawamura S, Okiji F, Shirazaki M, Sakai S, Saito H, et al. Sphingosine-1-phosphate-mediated osteoclast precursor monocyte migration is a critical point of control in antibone-resorptive action of active vitamin D. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:7009-13.
  27. Boyce BF. Sphingosine-1 phosphate: a new player in osteoimmunology. *Dev Cell* 2009;3:323-4.
  28. Ishii M, Kikuta J. Sphingosine-1-phosphate signaling controlling osteoclasts and bone homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831:223-7.
  29. Quint P, Ruan M, Pederson L, Kassem M, Westendorf JJ, Khosla S, et al. Sphingosine 1-phosphate (S1P) receptors 1 and 2 coordinately induce mesenchymal cell migration through S1P activation of complementary kinase pathways. *J Biol Chem* 2013;288:5398-406.
  30. Takahashi N, Yamana H, Yoshiki S, Roodman GD, Mundy GR, Jones SJ, et al. Osteoclast-like cell formation and its regulation by osteotropic hormones in mouse bone marrow cultures. *Endocrinology* 1988;122:1373-82.
  31. Arai F, Miyamoto T, Ohneda O, Inada T, Sudo T, Brasel K, et al. Commitment and differentiation of osteoclast precursor cells by the sequential expression of c-Fms and receptor activator of nuclear factor kappaB (RANK) receptors. *J Exp Med* 1999;190:1741-54.
  32. Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone* 2007;40:251-64.
  33. González Macías J, Olmos Martínez JM. Fisiopatología de la osteoporosis y mecanismo de acción de la PTH. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2010;2 (Suppl 2);5-17.
  34. Horowitz MC, Lorenzo JA. Immunologic regulation of bone development. *Adv Exp Med Biol* 2007;602:47-56.
  35. Chai RC, Kouspou MM, Lang BJ, Nguyen CH, van der Kraan AG, Vieusseux JL, et al. Molecular stress inducing compounds increase osteoclast formation in a Heat Shock Factor 1 dependent manner. *J Biol Chem* 2014; Apr 1.
  36. Asai K, Funaba M, Murakami M. Enhancement of RANKL-induced MITF-E expression and osteoclastogenesis by TGF-β. *Cell Biochem Funct* 2014; Feb 12. doi: 10.1002/cbf.3028.
  37. Matsumoto T, Nagase Y, Iwasawa M, Yasui T, Masuda H, Kadono Y, et al. Distinguishing the proapoptotic and antiresorptive functions of risedronate in murine osteoclasts: role of the Akt pathway and the ERK/Bim axis. *Arthritis Rheum* 2011;12:3908-17.
  38. Matsumoto T, Nagase Y, Hirose J, Tokuyama N, Yasui T, Kadono Y, et al. Regulation of bone resorption and sealing zone formation in osteoclasts occurs through protein kinase b-mediated microtubule stabilization. *J Bone Miner Res* 2013;5:1191-202.
  39. Mao D, Epple H, Uthgenannt B, Novack DV, Faccio R. PLCgamma2 regulates osteoclastogenesis via its interaction with ITAM proteins and GAB2. *J Clin Invest* 2006;116:2869-79.
  40. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-κB signaling. *Cell* 2008;132:344-62.
  41. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med* 2010;4:369-73.
  42. Nakashima T, Hayashi M, Takayanagi H. New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:582-90.
  43. Shaw JP, Utz PJ, Durand DB, Toole JJ, Emmel EA, Crabtree GR. Identification of a putative regulator of early T cell activation genes. *Science* 1998;241:202-5.
  44. Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002;6:889-901.

45. Asagiri M, Sato K, Usami T, Ochi S, Nishina H, Yoshida H, et al. Autoamplification of NFATc1 expression determines its essential role in bone homeostasis. *J Exp Med* 2005;202:1261-9.
46. Kuroda Y, Matsuo K. Molecular mechanisms of triggering, amplifying and targeting RANK signaling in osteoclasts. *World J Orthop* 2012;3:167-74.
47. Barrow AD, Raynal N, Andersen TL, Slatter DA, Bihan D, Pugh N, et al. OSCAR is a collagen receptor that costimulates osteoclastogenesis in DAP12-deficient humans and mice. *J Clin Invest* 2011;121:3505-16.
48. Paradowska-Gorycka A, Jurkowska M. Structure, expression pattern and biological activity of molecular complex TREM-2/DAP12. *Human Immunol* 2013;74:730-7.
49. Nemeth K, Schoppet M, Al-Fakhri N, Helas S, Jessberger R, Hofbauer LC, et al. The role of osteoclast-associated receptor in osteoimmunology. *J Immunol* 2011;186:13-8.
50. Pelham CJ, Agrawal DK. Emerging roles for triggering receptor expressed on myeloid cells receptor family signaling in inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10:243-56.
51. Colonna M, Turnbull I, Klesney-Tait J. The enigmatic function of TREM-2 in osteoclastogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2007;602:97-105.
52. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Front Biosci* 2011;16:21-30.
53. Otero K, Shinohara M, Zhao H, Cella M, Gilfillan S, Colucci A, et al. TREM2 and  $\beta$ -catenin regulate bone homeostasis by controlling the rate of osteoclastogenesis. *J Immunol* 2012;188:2612-21.
54. Takayanagi H. The role of NFAT in osteoclast formation. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1116:227-37.
55. Ivashkiv LB, Donlin LT. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol* 2014;14:36-49.
56. Meng S, Zhang L, Tang Y, Tu Q, Zheng L, Yu L, et al. BET inhibitor JQ1 blocks inflammation and bone destruction. *J Dent Res* 2014;93:657-62.
57. Yen ML, Hsu PN, Liao HJ, Lee BH, Tsai HF. TRAF-6 dependent signaling pathway is essential for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces osteoclast differentiation. *PLoS One* 2012;7:e38048.
58. Kitaura H, Kimura K, Ishida M, Sugisawa H, Kohara H, Yoshimatsu M, et al. Effect of cytokines on osteoclast formation and bone resorption during mechanical force loading of the periodontal membrane. *Scientific World Journal* 2014; Jan 19. doi:10.1155/2014/617032.
59. Iyer S, Margulies BS, Kerr WG. Role of SHIP1 in bone biology. *Ann N Y Acad Sci* 2013;1280:11-4.
60. Taniguchi R, Fukushima H, Osawa K, Maruyama T, Yasuda E, Weih F, et al. RelB-induced expression of Cot, a MAP3K family member, rescues RANKL-induced osteoclastogenesis in alymphoplasia mice by promoting NF- $\kappa$ B2 processing by IKK $\alpha$ . *J Biol Chem* 2014;289:7349-61.
61. Canalis E, Adams DJ, Boskey A, Parker K, Kranz L, Zanotti S. Notch signaling in osteocytes differentially regulates cancellous and cortical bone remodeling. *J Biol Chem* 2013;288:25614-25.
62. Smink JJ, Bégay V, Schoenmaker T, Sterneck E, de Vries TJ, Leutz A. Transcription factor C/EBP $\beta$  isoform ratio regulates osteoclastogenesis through MafB. *EMBO J* 2009;28:1769-81.
63. Fu SL, Pang H, Xu JZ, Wu XH. C/EBP $\beta$  Mediates Osteoclast Recruitment by Regulating Endothelial Progenitor Cell Expression of SDF-1 $\alpha$ . *PLoS One* 2014;9:e91217.
64. Zhao B, Takami M, Yamada A, Wang X, Koga T, Hu X, et al. Interferon regulatory factor-8 regulates bone metabolism by suppressing osteoclastogenesis. *Nat Med* 2009;15:1066-71.
65. Park-Min KH, Lee EY, Moskowitz NK, Lim E, Lee SK, Lorenzo JA, et al. Negative regulation of osteoclast precursor differentiation by CD11b and  $\beta$ 2 integrin-B-cell lymphoma 6 signaling. *J Bone Miner Res* 2013;28:135-49.
66. Kim N, Kadono Y, Takami M, Lee J, Lee SH, Okada F, et al. Osteoclast differentiation independent of the TRANCE-RANK-TRAF6 axis. *J Exper Med* 2005; 202:589-95.
67. Mellis DJ, Itzstein C, Helfrich MH, Crockett JC. The skeleton: a multi-functional complex organ. The role of key signalling pathways in osteoclast differentiation and in bone resorption. *J Endocrinol* 2011;211:131-43.
68. Ware CF. Targeting lymphocyte activation through the lymphotoxin and LIGHT pathways. *Immunol Rev* 2008;223:186-201.
69. Ware CF, Sedy J. TNF superfamily networks: bidirectional and interference pathways of the Herpesvirus Entry Mediator (TNFSF14). *Curr Opin Immunol* 2011;23:627-31.
70. Hemingway F, Kashima TG, Knowles HJ, Athanasou NA. Investigation of osteoclastogenic signalling of the RANKL substitute LIGHT. *Exper Mol Pathol* 2013;94:380-5.
71. Hemingway F, Taylor R, Knowles HJ, Athanasou NA. RANKL-independent human osteoclast formation with APRIL, BAFF, NGF, IGF 1 and IGF II. *Bone* 2011;48:938-44.
72. Corral DA, Amling M, Priemel M, Loyer E, Fuchs S, Ducy P. Dissociation between bone resorption and bone formation in osteopenic transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13835-40.
73. Galli C, Fu Q, Wang W, Olsen BR, Manolagas SC, Jilka RL, et al. Commitment to the osteoblast lineage is not required for RANKL gene expression. *J Biol Chem* 2009;284:12654-62.
74. Xiong J, O'Brien CA. Osteocyte RANKL: New Insights into the control of bone remodeling. *J Bone Miner Res* 2012;27:499-505.
75. Gravallesse EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 1998;152:943-51.
76. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, Müller R, Goldring SR, Choi Y, et al. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol* 2001;159:1689-99.
77. Goldring SR, Purdue PE, Crotti TN, Shen Z, Flannery MR, Binder NB, et al. Bone remodelling in inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 2013;72:52-55.
78. Arboleya L, Castañeda S. Osteoimmunology. *Reumatol Clin* 2013;9:303-15.
79. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-Hora M, Feng JQ, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med* 2011;17:1231-4.
80. Zhao S, Kato Y, Zhang Y, Harris S, Ahuja SS, Bonewald LF. MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res* 2002;17:2068-79.
81. Kurata K, Heino TJ, Higaki H, Vaananen HK. Bone marrow cell differentiation induced by mechanically damaged osteocytes in 3D gel-embedded culture. *J Bone Miner Res* 2006;21:616-25.
82. Van Bezooijen RL, Roelen BAJ, Visser A, Wee-Pals L, de Wilt E, Karperien M, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *J Exp Med* 2004;199:805-14.
83. Hartgers FC, Vissers JL, Looman MW, van Zoelen C, Huffine C, Figdor CG, et al. DC-STAMP, a novel multi-membrane-spanning molecule preferentially expressed by dendritic cells. *Eur J Immunol* 2000;30:3585-90.
84. Xing L, Xiu Y, Boyce BF. Osteoclast fusion and regulation by RANKL-dependent and independent factors. *World J Orthop* 2012;3:212-22.
85. Yagi M, Ninomiya K, Fujita N, Suzuki T, Iwasaki R, Morita K, et al. Induction of DC-STAMP by alternative activation and downstream signaling mechanisms. *J Bone Miner Res* 2007;22:992-1001.
86. Kim YG, So MW, Koo BS, Chang EJ, Song SJ, Lee CK, et al. The influence of interleukin-32 $\gamma$  on osteoclastogenesis with a focus on fusion-related genes. *J Clin Immunol* 2012;32:201-6.
87. Courtial N, Smink JJ, Kuvardina ON, Leutz A, Göthert JR, Lausen J. Tal1 regulates osteoclast differentiation through suppression of the master regulator of cell fusion DC-STAMP. *FASEB J* 2012;26:523-32.
88. Okayasu M, Nakayachi M, Hayashida C, Ito J, Kaneda T, Masuhara M, et al. Low-density lipoprotein receptor deficiency causes impaired osteoclastogenesis and increased bone mass in mice because of defect in osteoclastic cell-cell fusion. *J Biol Chem* 2012;287:19229-41.

89. Nishida T, Emura K, Kubota S, Lyons KM, Takigawa M. CCN family 2/connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) promotes osteoclastogenesis via induction of and interaction with dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP). *J Bone Miner Res* 2011;26:351-63.
90. Fujita K, Iwasaki M, Ochi H, Fukuda T, Ma C, Miyamoto T, et al. Vitamin E decreases bone mass by stimulating osteoclast fusion. *Nat Med* 2012;18:589-94.
91. Hotokezaka H, Sakai E, Ohara N, Hotokezaka Y, Gonzales C, Matsuo K, et al. Molecular analysis of RANKL-independent cell fusion of osteoclast-like cells induced by TNF-alpha, lipopolysaccharide, or peptidoglycan. *J Cell Biochem* 2007;101:122-34.
92. Zhu M, Van Dyke TE, Gyurko R. Resolvin E1 regulates osteoclast fusion via DC-STAMP and NFATc1. *FASEB J* 2013;27:3344-53.
93. Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin Orthop Relat Res* 1990;250:261-76.
94. Mohan S, Baylink DJ. Insulin-like growth factor system components and the coupling of bone formation to resorption. *Horm Res* 1996;45(Suppl 1):59-62.
95. Tamma R, Zallone A. Osteoblast and osteoclast cross-talks: from OAF to Ephrin. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2012;11:196-200.
96. Boyce BF. Advances in osteoclast biology reveal potential new drug targets and new roles for osteoclasts. *J Bone Miner Res* 2013;28:711-22.
97. Heilmann A, Schinke T, Bindl R, Wehner T, Rapp A, Haffner-Luntzer M, et al. Systemic treatment with the sphingosine-1-phosphate analog FTY720 does not improve fracture healing in mice. *J Orthop Res* 2013 Jul 1. doi: 10.1002/jor.22426.
98. Lee SH, Rho J, Jeong D, Sul JY, Kim T, Kim N, et al. v-ATPase V0 subunit d2-deficient mice exhibit impaired osteoclast fusion and increased bone formation. *Nat Med* 2006;12:1403-9.
99. Jones D, Glimcher LH, Aliprantis AO. Osteoimmunology at the nexus of arthritis, osteoporosis, cancer, and infection. *J Clin Invest* 2011;121:2534-42.
100. Manilay JO, Zouali M. Tight relationships between B lymphocytes and the skeletal system. *Trends Mol Med* 2014;Apr 10. doi: 10.1016/j.molmed.2014.03.003.
101. Feng W, Xia W, Ye Q, Wu W. Osteoclastogenesis and osteoimmunology. *Front Biosci* 2014;19:758-6.
102. Kiesel JR, Buchwald ZS, Aurora R. Cross-presentation by osteoclasts induces FoxP3 in CD8+ T cells. *J Immunol* 2009;182:5477-87.
103. Mazo IB, Honczarenko M, Leung H, Cavanagh LL, Bonasio R, Weninger W. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory CD8+ T cells. *Immunity* 2005;22:259-70.
104. Li D, Gromov K, Proulx ST, Xie C, Li J, Crane DP, et al. Effects of antiresorptive agents on osteomyelitis: novel insights into the pathogenesis of osteonecrosis of the jaw. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1192:84-94.
105. Knowles HJ, Moskovsky L, Thompson MS, Grunhen J, Cheng X, Kashima TG, et al. Chondroclasts are mature osteoclasts which are capable of cartilage matrix resorption. *Virchows Arch* 2012;461:205-10.
106. Martínez-Calatrava MJ, Prieto-Potín I, Roman-Blas JA, Tardío L, Largo R, Herrero-Beaumont G. RANKL synthesized by articular chondrocytes contributes to juxta-articular bone loss in chronic arthritis. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R149.
107. 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.
108. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, De Pinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell* 2010;142:296-308.
109. Schafer AL, Sellmeyer DE, Schwartz AV, Rosen CJ, Vittinghoff E, Palermo L, et al. Change in undercarboxylated osteocalcin is associated with changes in body weight, fat mass, and adiponectin: parathyroid hormone (1-84) or alendronate therapy in postmenopausal women with osteoporosis (the PaTH study). *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1982-9.
110. Schwartz AV, Schafer AL, Grey A, Vittinghoff E, Palermo L, Lui LY, et al. Effects of antiresorptive therapies on glucose metabolism: results from the FIT, HORIZON-PFT, and FREEDOM trials. *J Bone Miner Res* 2013;28:1348-54.
111. Karsenty G, Ferron M. The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature* 2012;481:314-20.
112. Koizumi K, Saitoh Y, Minami T, Takeno N, Tsuneyama K, Miyahara T, et al. Role of CX3CL1/fractalkine in osteoclast differentiation and bone resorption. *J Immunol* 2009;183:7825-31.
113. Hoshino A, Ueha S, Hanada S, Imai T, Ito M, Yamamoto K, et al. Roles of chemokine receptor CX3CR1 in maintaining murine bone homeostasis through the regulation of both osteoblasts and osteoclasts. *J Cell Sci* 2013;126:1032-45.
114. Shahnazari M, Chu V, Wronski TJ, Nissenson RA, Halloran BP. CXCL12/CXCR4 signaling in the osteoblast regulates the mesenchymal stem cell and osteoclast lineage populations. *FASEB J* 2013;27:3505-13.
115. Toh ML, Bonnefoy JY, Accart N, Cochlin S, Pohle S, Haegel H, et al. A CSF-1 Receptor monoclonal antibody has potent bone and cartilage protective effects in experimental arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;Mar 12. doi: 10.1002/art.38624.
116. Braun T, Lepper J, Ruiz Heiland G, Hofstetter W, Siegrist M, Lezuo P, et al. Mitogen-activated protein kinase 2 regulates physiological and pathological bone turnover. *J Bone Miner Res* 2013;28:936-47.
117. Intini G, Katsuragi Y, Kirkwood KL, Yang S. Alveolar bone loss: mechanisms, potential therapeutic targets, and interventions. *Adv Dent Res* 2014;26:38-46.
118. Yasui T, Kadono Y, Nakamura M, et al. Regulation of RANKL-induced osteoclastogenesis by TGF-beta through molecular interaction between Smad3 and Traf6. *J Bone Miner Res* 2011;26:1447-56.
119. De la Cruz A, Mattocks M, Sugamori KS, Grynypas MD, Mitchell J. Reduced trabecular bone mass and strength in mice overexpressing Gα11 protein in cells of the osteoblast lineage. *Bone* 2014;59:211-22.
120. Khor EC, Abel T, Tickner J, Chim SM, Wang C, Cheng T, et al. Loss of protein kinase C-δ protects against LPS-induced osteolysis owing to an intrinsic defect in osteoclastic bone resorption. *PLoS One* 2013;8:e70815.
121. Zhang C, Dou C, Xu J, Dong S. DC-STAMP, the key fusion-mediating molecule in osteoclastogenesis. *J Cell Physiol* 2014;doi: 10.1002/jcp.24553.