氟化物对骨质疏松症的治疗作用与机制

David J. Baylink 丁桂芝译

年龄增长变化的特征之一是骨密度 BMD 降低，当 BMD 低于骨折阈值时，骨折危险性增加，发生骨质疏松症（图 1）。一般讲，对 BMD 高于骨折阈值的患者，治疗以选择抑制骨吸收药物为主，多能有效防止进一步的失骨，如降钙素、雌激素、双磷制剂等；而对已经确诊的骨质疏松症（OP）患者，则需给予促进骨形成，增加骨量从而降低新骨折发生率的药物。目前，已有几种药物有上述作用，如男性激素、甲状旁腺激素和氟制剂。这几种药物中，目前只有氟已推荐应用于骨质疏松症的临床治疗。氟是治疗脊椎 OP 的有效药物，而且价格较便宜，副作用较小[1~3]。本文重点介绍氟对已确诊 OP 的治疗及其促进合成代谢的分子生物学机制。

1 氟对骨细胞有丝分裂的作用

早期的形态学研究证实，氟化物治疗增加骨形成通过增加成骨细胞数量而介导，提示氟可能存在促有丝分裂作用[3]。Farley 等于 1983 年报道了体外实验研究中氟能直接作用于鸡骨细胞，促进其增殖[4]。不少体外实验研究中亦发现，氟在不同种属的动物，包括人类有促进骨细胞有丝分裂的作用[5~11]，但亦有相反的报道[16,17]。实验研究中氟促进有丝分裂的剂量取决于培养条件，约为 5～100μM，氟治疗有效的患者其血浓度为 10～20μM[18]。最近的研究揭示了氟促进体外培养骨细胞有丝分裂的特性：a. 与体内研究发现氟特异性促进骨组织合成代谢的作用相一致，其体外促有丝分裂作用亦为特异性的骨源性细胞（cells of skeletal origin）[4]；b. 氟促进骨细胞增殖的作用需要局部骨生长因子（IGF－Ⅰ）或组织生长因子（TGFβ）的存在[9,19]；c. 氟促有丝分裂作用对培养液中磷浓度的变化很敏感[19]，因此推测，氟可能作为磷的同化剂促进骨细胞有丝分裂作用[20]；d. 有迹象表明，氟可能主要作用于能合成大量生长因子的骨祖细胞（Osteoprogenitor cells）和/或未分化的成骨细胞，而不是那些高度分化了的成骨细胞[13,15]。

2 氟对骨细胞作用的分子生物学机制

目前关于氟促有丝分裂的分子作用机制尚有争议。我们提出的分子生物学作用机制理论如下：生长因子与细胞表面受体结合为起始点，通过二聚作用和自主性磷酸化作用激活酪氨酰激酶受体活性，被激活的酪氨酰激酶受体再激活磷酸化作用的偶联反应，包括有丝分裂原活化蛋白激酶（mitogen activity protein kinase，MAP 激酶）Raf 和 ras GAP 的磷酸化作用，从而促进 DNA 合成和细胞增殖[21,22~24]。大量体外研究发现，某一种或几种关键性促有丝分裂信息蛋白（包括生长因子受体激酶、MAP 激酶、Raf 和/或 ras GAP）在成骨细胞内由磷酸酪氨酰蛋白磷酸激酶（phosphotyrosyl protein phosphatase，PTPP）调节。目前只在成骨细胞和肾发现 PTPP。促有丝分裂剂量的氟能特异性抑制此酶活性[21,25~27]，即氟通过抑制 PTPP 活性而增加 MAP 激酶酷氨酰磷酸化作用和活性以促进成骨细胞增殖[28]。已知钒酸盐（vanadate）和钼酸盐（molybdate）是转化态磷的同化剂，也是 PTPP 的重要抑制因子，这些同化剂以能抑制氟敏感性 PTPP 活性作用的剂量促进骨细胞增殖[21,29]。最近，Caverzasio 和 Benjour 等提出氟通过直接增加特异性酪氨酸激酶活性（与抑制 PTPP 相反）而促进骨细胞增殖[30]。这一理论基于两点观察：a. 氟的促有丝分裂作用

作者单位：Departments of Medicine, Loma Linda University, and Mineral Metabolism Unit (151), Jerry L. Pettis Memorial Veterans Affairs Medical Center, 11201 Benton Street, Loma Linda, California 92357, U. S. A.

能够被酪氨酰激酶抑制剂4、5、7三羟异黄酮(genistein)所阻断;b. 体外实验用氟治疗18小时能增加细胞膜(plasma membrane)酪氨酰激酶特异性活性。总之,关于氟促进细胞增殖,增加BMD的作用机制有待深入研究。

3 氟的药物动力学

体外研究发现氟直接作用于成骨细胞并有剂量相关性。因此,有理由认为,氟的血清水平将决定骨的反应,即氟的药物动力学是体内氟成骨反应的重要决定因子。氟在胃肠道以主动转运机制被吸收[31],经血浆分布到达骨并以氟磷灰石形式储积于骨组织。进入骨的氟量受几种因素影响,如氟的生物利用率、剂量、治疗时间、骨转化率等。骨中的氟相对无活性,只有当骨吸收时才释放出来。氟经肾脏排泄,因此,肾功能不全的病人应适当控制氟用量并注意治疗中的肾功能监测。如图2所示,不同的氟制剂能显著影响血清氟水平。这两种氟制剂的不同在于服用氟化钠(Sodium fluoride,MFP)后有一个血氟高峰,但服用缓释单氟磷(Slow-release monofluorophosphate,MFP-SR)则无此峰值,表现为12小时内相似的平坦药物曲线[32]。从理论上讲,要求有一个氟化钠的峰值曲线,即血氟水平越高,(除氟敏感性的PTPP被抑制外)其它酶系统的活性越大,但因此发生副作用的可能性也明显增加。基于此,使用MFP—SR可以减少不理想的副作用,如胃肠道不适和关节痛等。因此,理想的氟制剂应是一种口服后血清氟水平相对稳定的药物。

4 氟在骨质疏松症确诊后的临床应用

4.1 氟对中轴骨的作用

已经确定,与OP诊断和治疗有关的最重要事实是BMD与脆性骨折危险性呈反比关系[33]。氟治疗的OP患者中轴骨呈持续性的BMD增加,确切讲,氟治疗后脊椎BMD大量增加甚至可以纠正以往骨质疏松性的丢失[34,35]。氟治疗时的BMD随治疗时间延长而增加(图3)。使用特异性脊椎骨测量方法(QCT)证实,根据氟用量和服法及疗程不同,服药患者中轴骨BMD年增加4~10%或20~30%。BMD绝对值年增加约10mg/cm²。氟治疗后脊椎BMD增加与OP的严重性、患者年龄或OP的病因无关,例如老年OP患者脊椎BMD可以从20mg/cm²增至200mg/cm²,这一数值已高于BMD峰值。甚至类固醇性OP患者氟治疗后BMD亦明显增加。一般讲,如患者骨密度为60mg/cm²(QCT法),给予氟离子20mg/日,约需4年的时间,才能使BMD恢复到高于骨折阈值(100mg/cm²)。从逻辑上和最终的益处方面看,脊椎BMD增加能减少脊椎骨折发生率,但这一点受到了Mayo医院和Henry Ford医院两个随机分组、双育对照研究的挑战。这两项研究未能证明女性OP患者氟治疗能显著降低脊椎骨折发病率。相反,几乎所有非双育对照研究都证实氟治疗能降低脊椎骨折发病率。更复杂的是,最近Mayo医院进一步随访观察和数据重新统计显示,治疗期间血氟水平偏低组脊椎骨折发病率呈降低趋势[38]。近期一项在Texas大学正在进行的MFP-SR和碳酸钙双育对照研究中期报告表明,氟治疗组脊椎骨折发病率显著降低,对周围骨无不利影响[39]。这项研究支持我们的回顾性研究,即氟治疗能降低OP患者脊椎新骨折发生率[40]。我们发现,氟治疗反应差的患者脊椎骨折发生率明显高于治疗反应好的患者,而且脊椎骨折发生率减低与BMD增加相关,即氟治疗期间BMD增加较少或治疗前BMD很低并有多个骨折的患者,易发生新的骨折。

4.2 氟对周围骨的作用

氟对中轴骨的治疗作用明显优于对周围骨的作用[3,41]。文献关于氟对周围骨的治疗作用报道不一,如桡骨BMD明显降低[36]或股骨外上踝BMD增加,股骨颈BMD虽有增加,但其幅度低于脊椎骨和股骨外上踝[42]。因此,公正的结论是,在最好的情况下,周围骨BMD增加的幅度不如脊椎骨增加的临床意义大。不过OP时股骨失骨的量亦不及脊椎骨大。我们认为,如能避免氟治疗时的钙不足,将有可能使周围骨、包括股骨颈的BMD明显增加。是否氟治疗时股骨密度轻度增加能显著降低股骨骨折发

生率仍有待进一步研究。

4.3 氟治疗的副作用

4.3.1 胃肠道反应：以往接受氟治疗的患者胃肠道反应的发生率约 40～50%，其症状与阿斯匹林所致相似，但如果使用 MFP-SR 则胃肠道反应明显减少。

4.3.2 关节疼痛：氟治疗时约 10～40%的患者发生严重关节疼痛如膝、踝、足等关节，有时需停药[2,43]。这一副反应与剂量有关，如每日离子氟低于 20mg，则发生关节疼痛明显减少。引起关节痛的原因仍不明。我们推测，这也许与大量骨形成有关[44]。这种氟治疗引起的大量骨形成性疼痛与儿童期"生长痛"(growing pain)相似。其他学者认为这种疼痛与大体的或显微的骨折有关。应力性骨折也许可解释少数患者关节痛的原因，而这种骨折可能由于钙不足所致。不管何种原因，关节疼痛显然与氟的剂量有关，暂时性减量或中断治疗，可明显减轻或缓解疼痛[35]。使用 MFP-SR 后这一副作用可明显减轻。

4.3.3 钙不足：已观察到，氟治疗时由于大量和快速的成骨，可以引起钙缺乏、继发性甲状旁腺机能亢进(甲旁亢)、骨吸收增加、周围性失骨，某些情况下，甚至发生骨软化症[45]。氟治疗时如给予足量的钙以保证新形成的类骨质矿化，则可预防软骨症。仔细观察治疗前后脊椎 BMD 变化、血 PTH 和 24 小时尿钙排出量有助于早期发现是否缺钙，因为治疗期间钙缺乏常表现为 24 小时尿钙排出量减少、血 PTH 升高、脊椎骨 BMD 明显增加。早期发现这类钙缺乏有助于及时补充以防治周围性失骨和应力性骨折。

4.3.4 应力性骨折：以经常被忽视的另一个副作用为应力性骨折，已有不少关于氟治疗时发生周围骨骨折的报道[36,44,46]。通过优化氟治疗有可能尽量减少这一副作用发生。为此，应了解氟治疗引起应力性骨折的原因：(a)治疗前许多患者 BMD 很低，不论是否给予氟治疗，均有应力性骨折的危险；(b)氟治疗后由于脊椎骨形成明显增加，患者背痛较治疗前减轻，活动量和强度增加，也是发生应力性骨折的原因之一；(c)氟治疗时如存在钙吸收不良，成骨越多越易引起继发性甲旁亢而使周围骨丢失，至而增加骨折危险；(d)如果钙缺乏以至发生骨软化症，正常情况下的负荷亦可引起骨的显微性损伤，骨软化症时损伤骨的修复过程受损。对前两种情况，可以通过告诫患者在治疗初期或 BMD 恢复至骨折阈值前适当控制运动量和强度而避免，而后两种原因则可通过及时补充钙和维生素 D，以预防发生骨软化症和骨折。

5 小结

尽管已进行了多年大量的基础研究，仍未发现大家都能接受的即能增加 BMD 又降低骨折发生率而且无副作用的药物。因为氟治疗能明显增加脊椎 BMD 并能降低骨折发生率(至少部分研究证实)，所以是目前较多用于治疗 OP、促进成骨的有效药物。与其它药物相同，氟治疗有利也有弊，从临床观点出发，在大力推广氟对 OP 治疗前，应着重研究和解决下面几个问题：(1)制定合理与有效的治疗方案，包括药物剂量，服法、治疗时间和有效剂量的指征，如血氟水平等；(2)建立生化监测方法，以资了解氟治疗反应好和不好的区别；(3)应有早期发现和鉴别氟治疗时发生骨软化症的相应指标；(4)需了解氟治疗后骨的生理结构变化，如氟磷灰石晶体，如果存在有害影响，怎样避免。

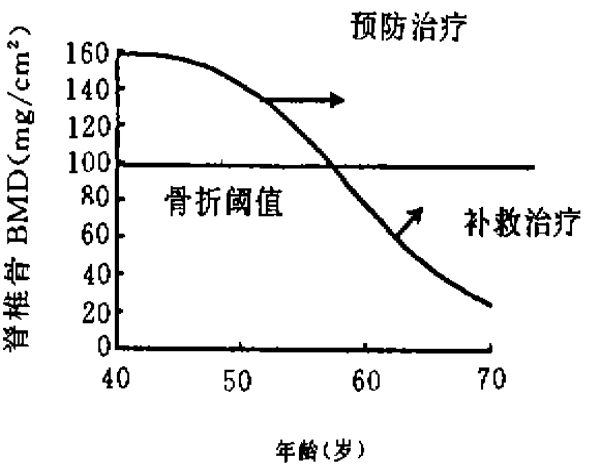


图 1 增龄与骨密度(BMD)的关系

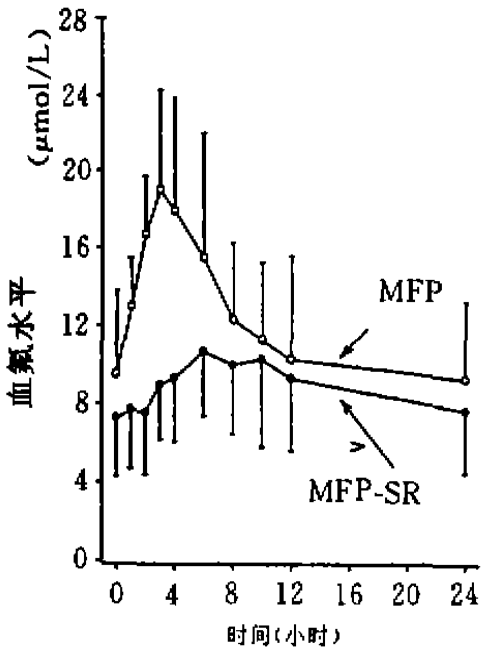
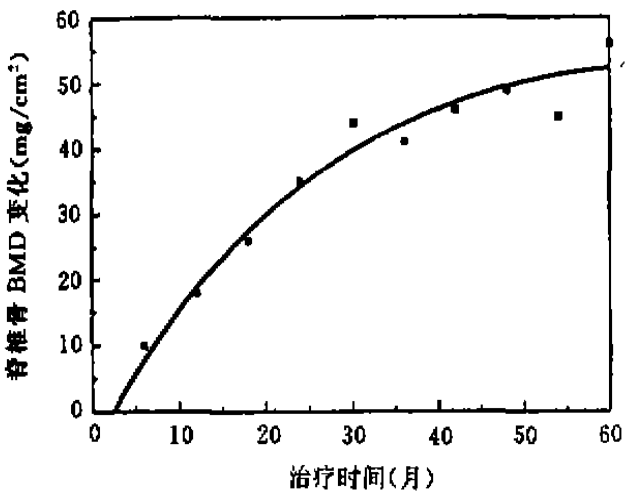


图2 两种氟制剂(76mg/片)药物动力学的区别



(注,治疗人数 508 人,离子氟平均剂量 30±8mg/日,钙 1500mg/日)

图3 氟治疗时脊椎骨 BMD(QCT 法)与时间的关系
注:治疗人数 508 人,离子氟平均剂量 30±8mg/日,
钙 1500mg/日

参 考 文 献

1 Riggs BL, Hodgson JF, Hoffman DL, et al. Treatment of primaty osteoporosis with fluoride and calcium: clinical tolerance and fracture occurrence. J Am Med Assoc 1980, 243: 446.

2 Riggs B. Treatment of osteoporosis with sodium fluoride: an appraisal. In: Bone and Mineral Research, (Peck WA, ed), 1983, Annual 2. 366-393. Elsevier Science Publishers B. V.

3 Dure-Smith BA, Kraenzlin ME, Farley SM, et al. Fluoride therapy for osteoporosis: a review of dose response, duration of treatment, and skeletal sites of action. Calcif Tissue Int 1991, 49: S64-S67.

4 Farley JR, Wergedal JE, Baylink DJ. Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone forming cells. Science 1983, 222: 330-332.

5 Briancon D, and Meunier PJ. Treatment of osteoporosis with fluoride, calcium, and vitamin D. In: The Orthopedic Clinics of North America (Frost HM, ed), 1981, 12, 629-648, Saunders, philadelphia.

6 Wergedal JE, Lau K-HW, Baylink DJ. Fluoride and bovine bone extract influence cell proliferation and phosphatase activities in human bone cell cultures. Clin Orthopaed Rel Res 1988, 233: 274-282.

7 Bellows CG, Aubin JE, Heersche JNM. Differential effects of fluoride during initiation and progression of mineralization of osteoid nodules formed in vitro. J Bone Min Res 1993, 8: 1357.

8 Hall BK. Sodium fluoride as an initiator of osteogenesis from embryonic mesenchyme in vitro. Bone 1987, 8: 111-116.

9 Reed BY, Zerwekh JE, Antich PP, et al. Fluoride-stimulated [^{3}H]thymidine uptake in a human osteoblastic osteosarcoma cell line is dependent on transforming growth factor B. J Bone Min Res 1993, 8: 19.

10 Modrowski D, Miravet L, Feuga M, et al. Effect of fluoride on bone and bone cells in ovariectomized rats. J Bone Min Res 1992, 7: 961.

11 Kassem M, Mosekilde L, Eriksen EF. 1, 25-Dihydroxyvitamin D_3 potentiates fluoride-stimulated collagen type I production in cultures on human bone marrow stromal osteoblast-like cells. J Bone Min Res 1993, 8: 1453.

12 Khokher MA, Dandona P. Fluoride stimulates ^{3}H-thymidine incorporation and alkaline phosphatase production by human osteoblasts. Metabolism 1990, 39: 1118-1121.

13 Kassem K, Mosekilde L, Eriksen EF. Effects of fluoride on human bone cells *in vitro*: differences in responsiveness between stromal osteoblast precursors and mature osteoblasts. Acta En-

docrinol 1994,130:381-386.

14 Zerwekh JE, Morris AC, Padalino PK, et al. Fluoride rapidly and transiently raises intracellular calcium in human osteoblasts. J Bone Min Res 1990, 5:S131-S136.

15 Bellows CG, Heersche JNM, Aubin JE. The effects of fluoride on osteoblast progenitors in vitro. J Bone Min Res, 1990, 5:S101-S105.

16 Kopp JB, Robey PG. Sodium fluoride does not increase human bone cell proliferation of protein synthesis in vitro. Calcif Tissue Int 1990, 47:221-229.

17 Chavassieux P, Boivin G, Serre CM, et al. Fluoride increases rat osteoblast function and population after in vivo administration but not after in vitro exposure. Bone 1993, 14:721-725.

18 Baylink DJ Serum fluoride levels. In: Primers on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism (Favus MJ, ed) 2nd Ed, Raven Press, New York. 1993, 262-263.

19 Farley JR, Tarbaux N, Hall S, et al. Evidence that fluoride-stimulated ^{3}Hthymidine incorporation in embryonic chick calvarial cell cultures is dependent on the presence of a bone cell mitogen, sensitive to changes in the phosphate concentration, and modulated by systemic skeletal effectors. Metabolism 1988, 37:988-995.

20 Antonny B, Bigay J, Chabre M. A novel magnesium-dependent mechanism for the activation of transduction by fluoride. FEBS Lett 1990, 268: 277-280.

21 Lau K-HW, Farley JR, Freeman TK, et al. A proposed mechanism of the mitogenic action of fluoride on bone cells: inhibition of the activity of an osteoblastic acid phosphatase. Metabolism 1989, 38:858-868.

22 Pouyssegur J, Seuwen K. Transmembrane receptors and intracellular pathways that control cell proliferation. Annu Rev Physiol, 1992, 54: 195-210.

23 L' Allemain G, Pouyssegur J, Weber MJ. p42-MAP kinase (mitogen-activated protein kinase) as a converging target for different growth factor signalling pathways: use of pertussis toxin as a discrimination factor. Cell Regul 1991, 2: 674-684.

24 Morrison DK, Kaplan DR, Rapp U, et al. Signal transduction from membrane to cytoplasm: growth factors and membrane-bound oncogene products increase Raf-1 phosphorylation and associated protein kinase activity. Proc Natl Acad Sci USA. 1988, 85:8855-8859.

25 Lau K-HW, Farley JR, Baylink DJ. phosphotyrosyl specific protein phosphatase activity of a bovine skeletal acid phosphatase isoenzyme: comparison with the phosphotyrosyl protein phosphatase activity of skeletal alkaline phosphatase. J Biol Chem 1985, 260:4653-4660.

26 Lau K-HW, Freeman TK, Baylink DJ. Purification and characterization of a tartrate-resistant acid phosphatase that displays phosphotyrosyl protein phosphatase activity from bovine cortical bone matrix. J Biol Chem 1987, 262:1389.

27 Lau K-HW, and Baylink DJ. Phosphotyrosyl protein phosphatases: potential regulators of cell proliferation and differentiation. Crit Rev Oncogenesis 1993, 4:451-471.

28 Lau K-HW, Wu LW, Yoon HK, et al. Inhibition of phosphotyrosine dephosphorylation (P-tyr) leads to increased P-tyr phosphorylation of MAP kinase (MAPK), MAPK activity, and human bone cell proliferation. Bone, 1995, 16(Suppl): 96S, abstract 58.

29 Lau K-HW, Tanimoto H, Baylink DJ. Vanadate stimulates bone cell proliferation and bone collagen synthesis in vitro. Endocrinology, 1988, 123: 2858-2867.

30 Burgener D, Bonjour JP, Caversasio J. Fluoride increases tyrosine kinase activity in osteoblast-like cells: regulatory role for the stimulation of cell proliferation and Pi transport across the plasma membrane. J Bone Min Res 1995, 10:164-171.

31 Hodge HC, Smith FA. Fluoride. In: Disorders of Mineral Metabolism (Bronner F, and Coburn JW, eds) Academic Press, New York. 1981, 1: 439-481.

32 Duursma SA, Raymakers JA, Fakkeldij TMV, et al. Pharmacokinetics of monofluorophosphate. Res Clin Forums 1993, 14:35-38.

33 Odvina CV, Wergedal JE, Libanati CR, et al. Relationship between trabecular vertebral body density and fractures: a quanititative definition of spinal

osteoporosis. Metabolism 1988,37:221-228.

34 Farley SM, Libanati CR, Mariano-Menez MR, et al. Fluoride therapy for osteoporosis promotes a progressive increase in spinal bone density. J Bone Min Res 1989,5(Suppl 1):S37-S42.

35 Pak CYC, Sakhaee K, Zerwekh JE, et al. Safe and effective treatment of osteoporosis with intermittent slow-release sodium fluoride: argumentation of vertebral bone mass and inhibition of fractures. J Clin Endocrinol Metabol 1989,68:150.

36 Riggs BL, Hodgson SF, O/Fallon WM, et al. Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med 1990,322:802.

37 Kleerekoper M, Peterson EL, Nelson DA, et al. A randomized trial of sodium fluoride as a treatment for postmenopausal osteoporosis. Osteoporosis Int 1991,1:151-161.

38 Riggs BL, O'Fallon WM, Lane A, et al. Clinical trial of fluoride therayp in postmenopausal osteoporotic women: extended observations and additional analysis. J Bone Min Res 1994,9:265-275.

39 Pak CYC, Sakhaeek V, Piziak V, et al. Slow-release sodium fluoride in the management of postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Ann Intern Med 1994,120:625-632.

40 Farley SM, Wergedal JE, Farley JR, et al. Spinal fractures during fluoride therapy for osteoporsis: relationship to spinal bone density. Osteoporosis Int 1992,2:213-218.

41 Kleerekoper M, Mendlovic DB. Sodium fluoride therapy of postmenopausal osteoporosis. Endocrine Rev 1993,14:312-323.

42 Kraenzlin ME, Schulz EE, Libanati CR, Medical management of osteoporosis at the hip. In: Clinical disorders of bone and mineral metabolism. (Kleerekoper M, and Krane SM, eds), Mary Ann Liebert, Inc, New York. 1989,293-296.

43 Pak YCY. Fluoride and osteoporosis. Proc Soc Exp Biol Med 1989,191:278-286.

44 Schulz EE, Flowers C, Sauser DD, et al. The cause of bone scintigram hot spots in fluoride treated osteoporotic patients. J Bone Min Res 1990, 5 (Suppl 1):S201-S204.

45 Dure-Smith BA, Farley SM, Linkhart SG, et al. Fluoride treated patients become calcium deficient despite calcium supplements, correction with 1,25 vitamin D3. In: The proc of 4th Int Symp on Osteoporosis and Consensus Development Conference, Hong Kong. (Christiansen C, Riis B, eds), 1993,146-148, Handelstry Kkariet Aalborg, Aps, Aalborg, Denmark.

46 Nagent De Deuxchaisnes C, Devogelaer J, Depresseux G, Treatment of the vertebral crush fracture syndrome with enteric-coated sodium fluoride tablets and calcium supplements. J Bone Min Res 1990,5(Suppl 1):S5-S26.