

· 专家论坛 ·

原发性骨质疏松症发病机理的研究

丁桂芝 周 勇



原发性骨质疏松症(简称 OP)是一种随着增龄出现的严重影响老年人,尤其是老年女性健康的常见病。自 1941 年 Albright 提出绝经即雌激素缺乏是原发性骨质疏松症的病因理论以来,各国学者进行了大量的

研究,不仅对雌激素缺乏是如何导致原发性骨质疏松症有了进一步的了解,而且发现了许多极其重要的新的病因理论和发病机理,这些新发现有可能对原发性骨质疏松症的防治带来突破性进展。研究的焦点目前主要集中在以下几个方面。

1 对骨吸收与骨生成的平衡与失衡及其复杂的调节机制与影响因素,特别是对破骨细胞在骨质疏松症发病中的作用有了新的认识。

1.1 骨吸收增强

骨吸收取决于破骨细胞的生成率及破骨细胞的作用强度与持续时间,破骨细胞属于单核/巨噬细胞家族,由血细胞前体分化出来,粒细胞-巨噬细胞克隆形成单位或造血干细胞均可分化成破骨细胞^[1]。破骨细胞的骨吸收部位主要

在骨内膜刷状缘下的透明带部位(刷状缘是高度特异性的破骨区域),破骨细胞通过产生蛋白溶酶和氢离子在适宜的酸性局部环境中始动破骨,活化的具有骨吸收功能的破骨细胞是高度极化了的细胞。

尽管目前对破骨过程始动与调节的分子机制仍不甚明了,以往的研究证实,多种激素和因子具有激活破骨细胞的功能,但作用机制则不同。能促进破骨细胞前体增殖并分化为成熟破骨细胞的因子或能直接活化成熟的多核破骨细胞的因子均可增加骨吸收。相反能阻断破骨细胞前体细胞增殖的药物或因子则可抑制破骨细胞分化或使成熟的多核破骨细胞失去破骨功能(图 1)。

破骨细胞来源于骨髓多效性单核细胞前体,这些早期细胞可分化成粒/巨噬细胞系(CFU-GM)或破骨细胞系并具有高度增殖能力,当这些细胞进一步分化成破骨细胞前体后,则逐渐失去增殖能力。单核/巨噬细胞克隆激活因子是这些破骨细胞前体生存的重要细胞因子,当这些单核细胞分化为破骨细胞系后,则进一步分化成未成熟的破骨细胞。这一过程可能涉及细胞接触分子,如 E-CADHERIN,系统激素 PTH, 1, 25(OH)₂D₃ 和 IL-1 均促进这一过程的发生。在骨组织内,成熟的破骨细胞极化形成刷状缘,在适宜的激活条件下开始骨吸收过

作者单位:430022,同济医科大学附属协和医院

作者简介:丁桂芝,女,1952 年出生,1988 年 7 月获德国海德堡大学博士学位,现任同济医科大学协和医院内分泌代谢科主任,教授。主要从事内分泌及代谢病和中西医结合基础与临床研究工作,在中医药防治骨代谢疾病方面颇有造诣,曾应邀到德国、美国等地进行访问研究,介绍祖国医学在治疗老年性、代谢性疾病方面取得的进展及远景瞻望,主持完成了多项科研工作,并荣获国家部委奖励,主编两本学术专著,其中一本《实用内分泌代谢病学》获中南五省优秀图书二等奖,发表各种学术论文 50 多篇,系省级有突出贡献的中青年专家,并享受国务院颁发的政府津贴奖励。

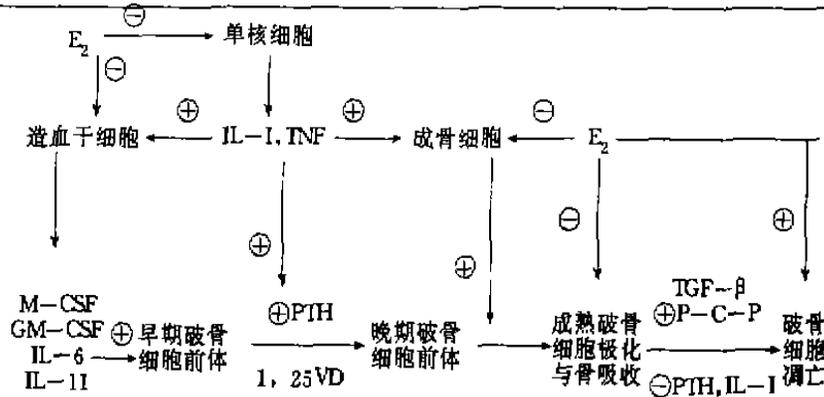


图1 主要系统激素及调节因子在破骨细胞生存周期中的作用

图解：雌激素及其替代治疗可抑制单核细胞系生成IL-1和TNF。抑制成骨-破骨细胞的偶联并抑制破骨细胞的极化与骨吸收作用及促进IL-1和TNF从三条不同途径促进破骨细胞的生成，增殖与分化。

程。在骨吸收与转化过程中，某些因子如 $TGF-\beta$ 或药物如雌激素和双磷酸盐类药物可促进破骨细胞的凋亡过程，而 PTH 和 $IL-1$ 则相反。

(1) 系统激素对破骨细胞的作用

PTH , $PTHrp$ 和 $1, 25(OH)_2D_3$ 可促使破骨细胞前体细胞分化与融合，形成成熟的多核破骨细胞，同时活化已形成破骨细胞的破骨功能。

降钙素是抑制破骨细胞破骨的重要因子，降钙素可抑制骨吸收，阻止破骨细胞前体的增殖与分化，但这一作用 48-72 小时后则出现逃逸现象。其对破骨细胞的作用介导于环磷酸腺苷。

甲状腺素：器官培养中甲状腺素可直接刺激破骨细胞导致骨吸收，临床上甲亢患者亦有骨量减少和高钙血症出现。

肾上腺皮质激素：体外研究显示肾上腺皮质激素可抑制破骨细胞形成和抑制骨吸收。临床研究则证实肾上腺皮质激素摄入能促进骨吸收。这主要是由于肾上腺皮质激素抑制了肠道钙吸收的间接作用，其结果使甲状旁腺活性增强，继发性甲旁亢导致全面性的骨吸收。

雌激素(E_2)不仅是女性骨代谢平衡的重要调节激素，在男性也发挥着相似作用。无论自然绝经或是人工切除卵巢引起的雌激素缺乏均可导致骨吸收增强性失骨。研究发现， E_2 可能通过抑制骨吸收因子如 $IL-1$ 和 $IL-6$ 的生成而间

接抑制骨吸收^[3,4]。这一观察提示，绝经后由于雌激素缺乏，失去对骨吸收因子的抑制作用，而导致骨吸收增强。最近一项研究显示，雌激素可增加成骨细胞 $TGF-\beta$ 的生成量，导致体内和体外研究中鼠破骨细胞的凋亡，抗 $TGF-\beta$ 抗体则可阻断这种作用。这一研究表明，雌激素在绝经前和绝经后均可通过启动细胞凋亡过程以缩短破骨细胞的生存期从而预防失骨^[5,6]。图2小结了雌激素与局部因子在骨代谢中的作用及其相互作用关系。

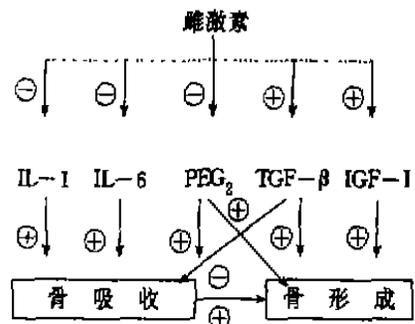


图2 雌激素与局部因子在骨代谢中的作用及其相互作用关系

(2) 局部因子对破骨细胞的作用

$IL-1$ ($IL-1\alpha$, $IL-1\beta$) 功能相似，由同一受体介导，活化了的单核细胞以及成骨细胞和肿瘤细胞均可释放 $IL-1$ ，无论在体内或体外， $IL-1$ 均是破骨细胞的直接重要激活因子，对破骨细胞的各期均有作用，可促使前体细胞增殖和进一步分化为成熟的破骨细胞并可延长破骨细胞的生存期，输注 $IL-1$ 可导致破骨细胞样骨吸收

并使血钙升高。

淋巴毒素和肿瘤坏死因子(TNF)由活化的T-淋巴细胞和巨噬细胞分泌,具有与IL-1相似的功能并与IL-1有协同作用,受体也相同,体内输入或注射可引起破骨细胞样骨吸收和高血钙^[7]。

巨噬细胞克隆刺激因子(M-CSF)被认为是生长调节因子,为正常胚胎形成破骨细胞和维持正常功能所必需。已发现在OP/OP鼠M-CSF的形成受损,而导致骨硬化症。在破骨细胞培养时加入M-CSF可明显延长其生存期,预防凋亡。M-CSF引起破骨细胞的移行,分布和由酪氨酸激酶介导的信息传递。

IL-6的分泌受PTH, 1, 25(OH)₂D₃和雌激素调节,在骨髓细胞培养中PTH促其生成。雌激素则相反,抑制其生成。IL-6在雌激素缺乏妇女的骨髓细胞培养中明显升高。

干扰素(Interferon γ)由活化的T-淋巴细胞分泌,它的主要功能为抑制破骨细胞的骨吸收,及抑制前体破骨细胞向成熟破骨细胞的转化^[8]。

转化生长因子(TGF- β)是一种由免疫细胞和骨基质分泌的具有多功能的多肽,在大多数系统其对破骨细胞独特的作用在于抑制破骨细胞前体的分化与增殖。TGF- β 通过减少过氧化产物而直接抑制成熟破骨细胞,并抑制破骨细胞内的抗酒石酸酸性磷酸酶蓄积。由于TGF- β 在人类和大鼠中具有很强的刺激成骨细胞增殖与分化的功能,并能增加矿化骨的形成,可能是骨重建过程中的关键因子^[9]。但在小鼠颅骨培养时TGF- β 则有促进骨吸收的作用。

1.2 骨吸收和骨形成的偶联

正常情况骨吸收与骨形成相互偶联维持平衡。有趣的是许多刺激骨吸收的因子也同时具有刺激骨形成的作用。例如前列腺素E, 甲状旁腺激素以及IL-1和TGF- β 。上述因子对骨吸收与骨形成的作用不同,可导致骨质疏松症时的不适当偶联。

另一个偶联机制是当骨吸收时,骨基质释

放出骨形成生长因子,如IGF、TGF- β , 雌激素可刺激成骨细胞生成上述因子,当雌激素缺乏时,上述因子的生成量也减少^[10,11]。

第三个假设为,骨结构与骨量由机械负荷调节,这一反馈的决定点因雌激素缺乏的程度不同而改变^[12]。当雌激素缺乏时,假设的传感器将觉察到机械负荷降低,并降低相应的骨量。这一概念可进一步发展,将机械力自身作为偶联因子,因为它可以刺激骨形成并抑制骨吸收^[13],反馈轴可能在骨重建的局部部位。具体活动如下:起初由于机械力降低或钙动员需求增加,骨吸收会增加直至收到停止的信号。当纤细的骨小梁承受重力,感到负荷过重的同时伴随持续的骨形成直到成骨细胞感受到局部的紧张性增加。这种假设的反馈轴可解释无功能性的小梁骨由于不承受负荷,骨吸收更明显而且无骨形成发生的原因。

骨结构与骨量取决于机械力学中力的大小,从本质上说,这是骨吸收和骨形成的生物学偶联。为什么这一偶联在雌激素缺乏时失效,很可能是成骨细胞对紧张度的反应不同而导致。另一简单的原因可能是在大量骨吸收的表面,骨形成的增加不能同步。因为要取代2-3周内的骨吸收需3-4个月的骨形成,一旦骨吸收被雌激素,双磷酸盐类或降钙素抑制,尚存的骨小梁能增加直至达到它们的负荷能力。这可能需不止一个重建周期,这也可以解释为什么给予骨吸收抑制剂后,骨的密度持续增加。

1.3 骨形成减少

骨形成是骨重建周期中的一个重要方面,在重建周期中如果骨形成减少,会导致失骨。绝经后女性骨转化率增高,但骨生成速度低于骨吸收速率。从原发性骨质疏松症患者髌骨穿刺的组织学检查中可以见到这一变化。用反应骨代谢的生化指标检测全身骨转换率,结果亦表明,绝经后原发性骨质疏松症患者骨转换率明显增高。此外,生长激素缺乏时也主要表现为骨生成不足,接受生长激素和IGF-1注射的患者,反应骨形成和骨吸收的生化指标均有增高。

2 遗传基因在骨质疏松症发病中的作用,尤其是遗传因素对峰值骨量形成和老年期失骨的影响。

研究证实,骨量或骨密度的高低很大程度上由遗传因素决定,其中约50%的峰值骨量由遗传因素决定。所有健康人的骨量与骨密度都在相应均值的10%以内。在目前已知各种族中,骨量或骨密度均表现为相似的三大特点。

(1)两性骨量青春发育期前无显著差别

(2)青春发育期后,男性骨量及骨骼体积明显高于女性。骨密度在男女两性之间有明显的差别。

(3)女性绝经后有快速失骨期,而男性则表现为缓慢骨丢失。

研究发现,骨密度在不同人种之间有明显区别。黑人的BMD显著高于白种人和黄种人。

这种区别始于儿童期,青春发育期后则更明显。

2.1 维生素D(VDR)受体基因与骨代谢的相关性。

VDR基因位于人的第十二号染色体上,为多态型基因,根据内显子8的核苷酸链是否被限制性酶切割而分为数型。仅为切割酶Bsm I为例,可以将VDR基因型分为以下三种等位基因,即BB,Bb,或bb型(表1)。

表1 VDR基因分型

切割酶	被切割	未切割	分型
Bsm I	B	b	BB Bb bb
Apa I	A	a	AA Aa aa
Taq I	T	t	TT Tt tt

研究发现,绝经前女性的骨密度及骨钙素与VDR等位基因相关(表2)。

表2 VDR基因与绝经前女性BMD的相关性

基因型	1,25VD水平 (%)	BMD	对1,25VD敏感性	骨钙素	钙吸收率 1500mg/d	% 300mg/d
BB	↑20	低	低	高	19.0±1.1	7.8±3.8
bb	↑20	高	高	低	20.5±1.0	20.6±1.1

2.2 雌激素受体缺乏可能是原发性骨质疏松症发病的另一主要原因。

Smith E. P. 报道了1例缺乏雌激素受体的男性,其BMD低于同年龄女性约3.1SD,代表骨转化增强的指标明显增高。Korach等制造了雌激素受体缺乏的小鼠动物模型(外显子2),雌雄两性缺乏雌激素受体的小鼠其BMD均低于正常鼠的20%—25%。由此表明,检测基因变异将有助于我们更好的了解原发性骨质疏松症的发病机制,进一步预测及早期发现年轻的原发性骨质疏松症患者。

2.3 动物实验研究证实,近亲繁殖的小鼠骨量有显著性差异。

峰值骨量约50%由遗传因素决定,后天因素如环境,营养,运动等各占相应比例。因此,寻找相关基因,进一步探讨原发性骨质疏松症的

诊断及治疗是各国学者的共同愿望。目前从动物实验中已发现许多可喜的苗头^[14]。

(1)对近亲繁殖在相同饲养条件下的小鼠进行了系统研究,发现尽管在体重,股骨长度相似的情况下,C3H/HeJ(C3H)和C57BL/6J(B6)小鼠的骨密度有显著性差异(P<0.001)(表3)。

(2)进一步的研究发现,2个月龄的小鼠其骨密度及血生化指标已有显著差异。研究还发现两种鼠的骨内膜破骨细胞数亦有显著性差异。无论是皮质骨还是小梁骨,C3H的破骨细胞数均显著性低于B6。这一发现促使人们进一步探讨在细胞培养中是否也存在上述差别。用常规体外骨髓培养方法证实B6小鼠骨髓中破骨细胞生成数明显高于C3H(表4)。

(3)C3H与B6小鼠细胞分泌IL-6和GM-

CSF 不同。由于上述体内及体外研究中发现破骨细胞数在两鼠种间有显著差别。用新生鼠颅骨细胞培养法对两种鼠间细胞因子分泌情况进行了研究,测培养 3 天时的成骨细胞因子生成量,结果发现 B6 小鼠的 IL-6 和 GM-CSF 明显

高于 C3H。IL-1 和 TNF2 在两种鼠细胞培养中均测不出。做颅骨细胞与骨髓细胞的混合培养发现所生成 IL-6 的量明显高于成骨细胞和骨髓单独培养(表 4)

表 3 11 种小鼠 12 月龄时体重,股骨长度及骨密度

近亲种系 (n=5-8)	体重 (g)	股骨长 (mm)	股骨密度 (mg/mm ³)
C3H/HeJ(C3H)	27.8±1.2	16.37±0.20	0.691±0.025
NZB/BINJ	44.5±2.5	17.12±0.28	0.669±0.027
129/J	23.9±0.8	15.95±0.13	0.600±0.015
SJL/BmJ	26.6±0.6	15.80±0.07	0.596±0.019
SM/J	28.2±2.1	14.53±0.22	0.583±0.017
SWR/BmJ	27.6±0.3	16.23±0.07	0.581±0.018
BALB/cByJ	26.3±0.7	17.15±0.10	0.559±0.010
AKR/J	34.4±2.2	17.25±0.11	0.568±0.014
DBA/2J	31.3±1.6	15.99±0.13	0.569±0.017
C57L/J	27.9±1.0	16.23±0.12	0.517±0.019
C57BL/6J(B6)	30.6±0.9	17.17±0.11	0.450±0.009

表 4 2 月龄 C3H 与 B6 小鼠各项指标比较

	C3H	B6
股骨密度(mg/mm ³)	0.559±0.019	0.391±0.011
骨钙素(ng/ml)	350±22	415±21
尿羟脯氨酸/肌酐(ng/mg)	450±24	600±62
体内破骨细胞数(个/mm ²)	2.2±0.5	9.2±0.6
体外破骨细胞数(个/mm ²)	600±30	1100±70
IL-6(ng/ml)	535±14	687±30

Rosen 等最近发现,C3H 小鼠血和骨骼中 IGF-I 水平显著性高于 B6 小鼠,这种差别一月龄时就已很明显^[15]

以上研究证实:①近亲繁殖的不同小鼠间骨密度有明显区别,这种区别可能与 B6 小鼠的骨吸收活性增强有关。②B6 小鼠破骨细胞数明显高于 C3H,是促进骨吸收的物质基础。③B6 小鼠颅骨成骨细胞培养中生成的 IL-6 明显高于 C3H,混合成骨细胞-破骨细胞细胞培养,IL-6 的生成量显著高于成骨细胞或破骨细胞单独培养,这进一步提示成骨细胞-破骨细胞之间的偶联作用,即成骨细胞分泌某些促破骨细胞活化的因子。④C3H 小鼠分泌 IGF-I 明显高

于 B6 小鼠,也许是促使 BMD 迅速增高和峰值骨量的重要原因,促使人们进一步探讨两种小鼠基因谱的区别。

3 类胰岛素生长因子系统(IGFs)对骨代谢的调节及其在骨质疏松症发病中的作用。

骨是有生命的组织,其新骨的生成与衰老骨的清除过程贯穿我们生命的始终,在不同的生命时期成骨与破骨的优势各有所侧重。如在生长发育期的儿童及骨折愈合过程中,骨的总转化率增加,但以骨生成占优势。相反,在某些代谢性骨病及绝经期后女性,同样骨的总转化率增加,但却表现为骨吸收占优势,导致骨量减少,骨密度减低。上述骨生成与骨吸收的偶联过程,受多种激素与因子的调节,其中类胰岛素生长因子(IGFs)的调节起了很重要的作用。

许多迹象表明 IGFs 是重要的促进骨细胞有丝分裂和细胞分化的因子,可能在正常骨重建和原发性骨质疏松症的病理生理方面起重要

作用。骨基质中发现有大量的这类肽。骨中 IGFs 的生成在不同层次上受多种系统激素和局部因子的调节。系统钙调节激素如 PTH、1, 25(OH)₂D₃、GH 可能部分介导 IGFs 和/或 IGF-BPs 在成骨细胞内的生物合成。在生长激素(GH)缺乏的病人中,IGF-I 的水平与骨密度呈相关性降低,用生长激素治疗后可使两者同时升高。在 GH 与 IGF-I 缺乏的动物实验模型中发现,IGF-I 有可能对决定峰值骨量起一定作用。

IGF-BP 在许多细胞系中包括骨细胞中是重要的细胞局部调节因子。IGF-BP 一方面起典型结合蛋白的作用,延长循环体系中 IGFs 的半寿期,更重要的是通过各种 IGF-BP 水平的变化以兴奋或抑制骨细胞。IGF-BP4 抑制 IGF-I 和 IGF-II 诱导的细胞增殖。而 IGF-BP5 则相反,可促进增殖。系统和局部因子对骨吸收的调节,一部分通过调节破骨细胞凋亡来实现,另部分则可能通过调节骨生成率来完成。IGFs 储存于骨内做为对成骨与破骨细胞的远期分泌调节因子,在骨吸收过程中释放出来,以调节骨形成与骨吸收。

除 IGFs 外,TGF-β 也同样储存在骨中而发挥相似的作用。增龄可引起 IGF 和 TGF-β 在人类血与皮质骨中水平下降^[6]。绝经后女性血清 IGF-I 和 BMD 水平明显相关。在男性特发性骨质疏松症时亦发现 IGF-I 水平下降^[17]。无论在动物还是在人类的发现均证实 IGF-I 在骨质疏松症发病中起着重要作用。

参 考 文 献

- 1 Kurihara N, Chenu C, Miller M, et al. Identification of committed mononuclear precursors for osteoclast-like cells formed in long term human marrow cultures *Endocrinology* 1991,126:2733-2741
- 2 Smith EP, Boyd J, Frank G R, et al. Estrogen resistance caused by mutation in the estrogen gene in a man. *N Engl J Med* 1994,331:1056-61
- 3 Jilka RL, Hangoc G, Girasole G et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: Mediation by interleukin-

6. *Science* 1992,257:88-91
- 4 Miyaura C, Kusano K, Masuzawa T et al. Endogenous bone-resorbing factors in estrogen deficiency: Cooperative effects of IL-1 and IL-6 *J Bone Miner Res* 1995,10:1365-1373
- 5 Hughes DE, Dai A, Tiffée JC et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-β. *Nature Med* 1996,2:1132-1136
- 6 Suda T, Nakamura I, Jimi E et al. Regulation of osteoclast function *J Bone Miner Res* 1997,6:869-879
- 7 Tashjian AH Jr, Voelkel EF, Lazzaro M et al. Tumor necrosis factor-α (cachectin) stimulates bone resorption in mouse calvaria via a prostaglandin-mediated mechanism. *Endocrinology*,1987,120:2029-2036
- 8 Gehron Robey P, Young MF, Flanders KC et al. Osteoblasts synthesize and respond to TGF-β in vitro. *J Cell Biol* 1987,105:457-463
- 9 Noda M, Camilliere J J, In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-β, *Endocrinology* 1989,124:2991-2994
- 10 Centrella M, Horowitz MC, Wozney JM et al. Transforming growth factor-β gene family members and bone. *Endocr Rev* 1994,15:27-39
- 11 Schmid C and Ernst M. Insulin-like growth factors. In "Cytokines and Bone Metabolism", pp 229-265. 1992, CRC Press, Boca Raton
- 12 Frost HM. The mechanostat: A proposed pathogenic mechanism of osteoporosis and the bone mass effects of mechanical and nonmechanical agents. *Bone* 1987,2:73-85
- 13 Rodan GA. Perspectives, Mechanical loading, estrogen deficiency, and the coupling of bone formation to bone resorption. *J Bone Miner Res* 1991,6:527-530
- 14 Beamer WG, Donahue LR, Rosen CJ and Baylink DJ. Genetic variability in adult bone density among inbred strains of mice. *Bone*. 1996,18:397-403
- 15 Rosen CJ, Dimai HP, Vereault D et al. Circulating and skeletal insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations in two inbred strains of mice with different bone mineral density. *Bone*. 1997,21:217-223
- 16 Nicholas V, Prewett A, Bettica P et al. Age related decreases in IGF-I and transforming growth factor-β in femoral cortical bone both men and women, implications for bone loss in aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994,78:1011-1016
- 17 Reed BY, Zerwekh JE, Sakhae K et al. Serum IGF-I is low and correlated with osteoblastic surface in idiopathic osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 1995,10:1218-1244