

· 综 述 ·

骨髓在骨重建中的作用

陈璐璐 童安莉

旧骨被吸收及新骨随之而形成的骨重建过程贯穿整个生命过程,其目的是为了适应受力的变化及维持体内矿物质的平衡。在骨的发生过程中,随着骨的增长增粗,每个骨的形状都需要经过不断改建才能与身体的生长和体型相适应,最初形成的骨小梁,排列较紊乱,支持功能较差,经过多次改建后才形成依照张力和应力线排列的骨小梁以及整齐的骨板。骨重建过程包括破骨细胞贴附在旧骨区域,分泌酸性产物溶解矿物质,分泌蛋白酶消化骨基质。其后,成骨细胞移行至被吸收部位,分泌骨基质,骨基质矿化而形成新骨。破骨与成骨过程的平衡是维持正常骨量的关键。成人每年大约有 25% 的松质骨及 3% 的皮质骨通过骨的重建而被置换。由于松质骨与骨髓接触的面积与其体积之比较皮质骨大许多,因而,松质骨的高骨转换可能因其与骨髓广泛接触有关。有资料显示,在含红骨髓的部位,造血功能活跃,小梁骨的骨转换也增高,其骨矿沉积率及骨形成率比接近黄骨髓的部位分别高 15% 及 10 倍。^[1]骨髓不仅是血细胞同时亦是骨的细胞发源地。成骨及破骨前体细胞发育成成骨及破骨细胞的过程依赖于骨髓所产生的克隆生长因子及某些细胞因子。同时,骨髓基质细胞系与血源细胞系的相互作用亦是破骨细胞形成的关键。过去几年里,人们对于骨髓在骨的细胞发育中的作用及对骨重建的影响已有了长远的认识。本文将从下面几个方面介绍这些进展。

1 成骨及破骨细胞的起源

骨髓可分为造血系统和基质系统,骨髓基

质是指骨髓腔内支持造血系统结构和功能的结缔组织。成骨细胞即起源于多能的骨髓基质的间质细胞。这些间质细胞也具有分化成软骨、肌、肌腱纤维及脂肪细胞的能力^[2]。在合适的条件培养下,骨髓间质细胞可形成钙化小结。Friedenstein 在鼠骨髓细胞培养中观察到,培养 24 小时可见基质细胞贴壁,培养至第十天时可形成含数千个成纤维细胞,直径达 0.5~0.8cm 的成纤维细胞集落,进一步单独培养或混合培养这些集落,观察到有些集落可形成骨组织^[3,4]。形成集落的初始骨髓细胞称为成纤维细胞集落形成单位(CFU-F),CFU-F 有多向分化潜能,可进一步分化为成骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、网织细胞等^[5]。许多骨髓发源的基质细胞均具有类似成骨细胞的表征,如产生碱性磷酸酶、I 型胶原等。相对应,成骨细胞也能分泌那些基质细胞所分泌的克隆刺激因子及细胞因子,如白介素-6(IL-6)、白介素-11(IL-11)、粒细胞-巨噬细胞克隆刺激因子(GM-CSF)等^[6]。由于骨髓基质细胞具有成骨潜能,近年来,有学者用经皮骨髓注射的方法治疗骨折后骨不愈合并获得满意疗效,因而证明,注入骨髓可以增加成骨作用,加速骨折愈合^[7]。

与成骨细胞不同,破骨细胞是从分化形成各种血细胞的骨髓多能干细胞衍生而来。最早的观点认为破骨细胞与成骨细胞同源,可以相互转化。但 Walker 等人在研究鼠的骨硬化病时发现,病鼠的破骨细胞不能形成皱褶缘,因此不能破骨,骨不能改建。Walker 将病鼠与正常鼠血管接通,结果,病鼠骨组织出现具有皱褶缘的破骨细胞,骨已能改建。因而提出病鼠正常的

破骨细胞是由正常鼠的血源细胞迁入而形成的^[8]。此后,在脾细胞和骨髓单核细胞培养中观察到有典型的破骨细胞形成,这就证明,破骨细胞与单核细胞有同源性。现已普遍认为,骨髓中的单核-巨噬细胞克隆形成单位(GM-CFU)是破骨细胞的前体细胞^[9]。这种GM-CFU同时也生成单核及巨噬细胞。Kurichara等认为在人体骨髓培养中,破骨细胞源自高度纯化的GM-CFU。将CD³⁴⁺造血干细胞在GM-CSF作用下培养7~10天,便可见GM-CFU形成,再在GM-CFU中加入1,25(OH)₂D₃继续培养2周,最终形成四种克隆:粒细胞克隆、巨噬细胞克隆、混合干细胞系克隆和多角形细胞克隆,只有GM-CFU和多角形细胞克隆可以形成破骨细胞^[10]。至于什么因素决定GM-CFU向何种细胞转化,目前仍不清楚。

由于破骨细胞与血细胞有共同的前体细胞,且经历相同的早期发育阶段,因此,它们均能生成相同的细胞因子和克隆刺激因子。这些因子不仅影响血细胞也影响破骨细胞的发育。与破骨细胞形成有关的因子有IL-1、IL-3、IL-4、IL-6、IL-11、肿瘤坏死因子(TNF)、GM-CSF、白血病抑制因子(LIF)及干细胞因子等^[11,12]。

2 骨髓产生的细胞因子对骨重建的影响

细胞因子最初是指一类由免疫细胞产生的小分子(通常是肽类及糖蛋白),参与调节免疫反应、炎症反应、组织修复等。但是,这种定义是不全面的。例如,有些细胞因子是细胞间信号传递的重要物质,并调节机体正常的代谢过程,如骨转化等。已有越来越多的证据表明,细胞因子在骨的生长、发育及再建过程中扮演着极其重要的角色。由于骨重建是在骨的某一局部发生的,因而推测它们是受局部因子水平变化的调节。而局部因子则通过与全身激素间的相互调节构成平衡骨重建的精细网络。

骨髓中产生破骨细胞及单核细胞的前体细胞的成熟依赖于细胞因子的存在,如巨噬细胞

克隆生长因子(M-CSF)、GM-CSF及IL-6^[13]。现已证明骨髓间质细胞及成骨细胞能合成M-CSF及GM-CSF,这两种因子原认为能特异性刺激粒细胞、巨噬细胞的生成及分化。但Felix等人在对鸡骨硬化模型研究中发现,由于骨髓中M-CSF的缺乏,使破骨细胞生成减少而影响骨的吸收,最终导致骨硬化,若给予外源性M-CSF治疗,可使这一病理改变逆转^[14]。现已证明,M-CSF通过刺激GM-CFU,促进破骨细胞前体增殖、分化而使破骨细胞生成增加。不仅如此,M-CSF还可以维持破骨细胞存活和增加其化学趋化性,调节破骨细胞活性和阻止其凋亡^[10]。

IL-6被普遍认为是骨重建过程中刺激骨吸收的关键因子,它可由成骨细胞、破骨细胞、骨髓基质细胞和造血干细胞产生。最近,Taichman用CD³⁴⁺骨髓细胞与成骨细胞共培养发现,CD³⁴⁺骨髓细胞可以增加成骨细胞IL-6的分泌,从而证明,骨髓中早期造血细胞为了维持正常的骨髓微环境功能,诱导成骨细胞产生IL-6等细胞因子^[15]。现在,大量实验证实了IL-6可以增加破骨细胞形成,加强成熟的破骨细胞骨吸收作用。IL-6主要作用于破骨细胞形成早期阶段,IL-6增加GM-CFU形成并刺激破骨细胞早期前体的分裂增殖。IL-6与IL-1可协同刺激GM-CFU形成并促进克隆中破骨细胞前体细胞提前形成^[13,16]。IL-6在骨吸收中的重要性还在于它可介导其它许多全身激素和局部因子的破骨效应,如甲状旁腺激素(PTH)、甲状旁腺激素相关肽(PTHrp)、1,25(OH)₂D₃、转化生长因子(TGF)、IL-1、TNF等均刺激骨髓基质细胞和成骨细胞产生IL-6,通过IL-6介导而间接对破骨细胞发挥作用。而雌激素抑制IL-6的产生,雌激素缺乏所致的骨的丢失与IL-6所介导的溶骨增强密切相关^[6]。

IL-1和TNF也是存在于骨髓微环境中强有力的溶骨促进因子,IL-1由单核巨噬细胞、骨髓基质细胞产生,TNF可由破骨细胞样细胞和成骨细胞合成。体内、体外实验均证明IL-1、

TNF 增强骨吸收,且二者有协同作用。IL-1、TNF 的溶骨作用均通过刺激成骨细胞分泌 GM-CSF 及 IL-6 并诱导破骨前体细胞分化为破骨细胞^[17,18]。

骨髓细胞因子通过自分泌、旁分泌作用使其对骨重建的影响的作用得以放大。同时,体内多种激素和因子亦通过对骨髓细胞因子的产生的调节而影响骨重建过程。

3 骨髓与骨质疏松的关系

骨质疏松的特征是骨量减少,这种减少是由于骨吸收与骨形成不平衡所致。性腺功能减退及增龄是原发性骨质疏松发生的两个主要因素。雌激素对骨重建的影响主要是降低骨吸收,而非调节骨形成。尽管破骨细胞上有雌激素受体,雌激素可直接作用于破骨细胞,然而,雌激素同时可以与成骨细胞上或基质细胞上的雌激素特异性受体结合,通过调节其细胞因子的分泌来间接调控破骨作用。这些因子包括 IL-1、TNF α 、IL-6、IL-11、M-CSF、TGF- β 、IL-4、IL-8 等^[19]。其中,IL-6 在雌激素减少引起的骨质疏松中的作用尤为重要。Manolagas 等报道,离体研究表明雌激素抑制基质细胞或成骨细胞分泌 IL-6,不仅如此,雌激素还抑制骨髓中 gp130 的产生, gp130 是 IL-6、IL-11 等多种细胞因子的信号传递链,故而雌激素减少,一方面增加骨髓中 IL-6 的产生,另一方面增中破骨细胞对 IL-6 的敏感性,二者共同作用的结果是使溶骨作用加强^[20]。溶骨所产生的产物进一步激活巨噬细胞生成更多的细胞因子。细胞因子通过各自及相互的协调作用,使破骨反应大大加强。除外 IL-6, IL-1 也与性腺功能减退所出现的病理性骨丢失有关。卵巢切除的大鼠骨髓单核细胞产生的 IL-1 也是增加的^[21]。雌激素可能并不直接调节 IL-1 的产生,其途径也许是因雌激素减少后对 IL-6 及其它细胞因子的抑制作用被解除而产生的一系列结果^[22]。

增龄所出现的骨丢失的原因并不十分明确。但研究提示,如同性激素减少一样,增龄亦

能改变骨髓中细胞的活性,使骨重建的平衡发生变化。Jilka 等人研究发现,正常年龄小鼠去卵巢后,破骨细胞形成及成纤维细胞 CFU 形成增加,但经 4 或 5 个月后就趋于正常^[22]。而 Manolagas 等则发现,快速衰老模型(SAM-P/6)小鼠的骨髓培养中成纤维细胞 CFU 及成骨细胞 CFU 的形成呈快速下降的改变,去卵巢也不引起破骨细胞形成的增加。SAM-P/6 小鼠这种破骨细胞对去卵巢的反应缺乏认为并不是由于破骨前体细胞产生的障碍,而可能是由于那些对破骨细胞发育有辅助作用的细胞的发育障碍,如成纤维细胞 CFU 减少等^[23]。人类的增龄是否也具有增龄小鼠骨髓产生成骨前体细胞的能力下降的改变,目前尚不清楚。

总而言之,不论是增龄还是性激素减少引起的骨丢失,都存在着细胞形成的异常。人们对骨的细胞数量的改变而不是单个细胞活性改变的认识是骨质疏松病理机制研究的一个重要进展。

参 考 文 献

- 1 Robert M, David F, Jennifer K. Osteoporosis. San Diego, Academic Press, 1996; 318.
- 2 Rodan GA. Introduction to bone biology. Bone, 1990, 13: 53.
- 3 Friedenstein AJ. Osteogenic stem cells in the bone marrow. In Hcersche JMN & Kanis JA ed. Bone and Mineral Research. Vol. 7. Amsterdam, Elsevier, 1990, 243.
- 4 Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov NV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vivo cultivation and transplantation in diffusion chambers. Cell Tissue Kinet. 1987; 20: 263.
- 5 Owen M. Marrow stromal cells. J Cell Sci, 1988, 10: 63.
- 6 Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. N Engl J Med, 1995, 2: 305.
- 7 Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, et al. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. Clin Orthop, 1991, 266: 259.
- 8 Walker DG. Control of bone resorption by hematopoietic; the induction and reversal of congenital osteoporosis in mice through use of bone marrow and splenic transplants. J Exp Med, 1975, 142: 651.
- 9 Hattersley G, Kerby JA, Chambers TJ. Identification of osteoclast precursors in multilineage hemopoietic colonies.

- Endocrinology, 1991, 128: 239.
- 10 Roodman GD. Advances in bone biology; the osteoclast. *Endocri Rev*, 1996, 17: 308.
 - 11 Demulder A, Snggs SV, Zsebo KM, et al. Effects of stem cell factor on osteoclast-like cell formation in long-term human marrow cultures. *J Bone Miner Res*, 1992, 7: 1337.
 - 12 Mundy GR. Local factors regulating osteoclast function. In: Rifkin BR, Gay CV, eds. *Biology and physiology of the osteoclast*. Boca Raton: CRC Press, 1992: 185.
 - 13 Horowitz MC. Cytokines and estrogen in bone; anti-osteoporotic effect. *Science*, 1993, 30: 626.
 - 14 Felix R, Cecchini MG, Fleisch H. Macrophage colony stimulating factor restore in vivo bone resorption in the OP/OP osteopetrotic mouse. *Endocrinology*, 1990, 127: 3592.
 - 15 Taichman RS, Reilly MJ, Verma RS, et al. Augmented production of interleukin-6 by normal human osteoblasts in response to CD34⁺ hematopoietic bone marrow cells in vitro. *Blood*, 1997, 89: 1165.
 - 16 Mundy GR. Peptides and growth regulatory factors in bone. *Rheum Dis Clin North Am*, 1994, 20: 577.
 - 17 Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss; mediation by interleukin-6. *Science*, 1992, 3: 88.
 - 18 Kimble RB, Matayoshi AB, Vannice JL, et al. Simultaneous block of interleukin-1 and tumor necrosis factor is required to completely prevent bone loss in the early postovariectomy period. *Endocrinology*, 1995, 136: 3054.
 - 19 Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev*, 1994, 15: 275.
 - 20 Manolagas SC, Bellido T, Tilka RL. Sex steroids, cytokines and the bone marrow: new concepts on the pathogenesis of osteoporosis. *Ciba Found Symp*, 1995, 191: 187.
 - 21 Kimble RB, Vannice JL, Bloedow DC, et al. Interleukin-1 receptor antagonist decreases bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J Clin Invest*, 1994, 93: 1959.
 - 22 Jilka RL, Williams D, Manolagas SC. Ovariectomy in mice increase osteocalcin levels in the serum and enhances osteoblast progenitor formation in the bone marrow. *Bone Miner*, 1994, 25: S15.
 - 23 Manolagas SC, Knutson S, Jilka RL. The senescence accelerated mouse (SAM-P/6), a model of senile osteoporosis, exhibits decreased osteoclastogenesis and fails to up-regulate this process following ovariectomy. *J Bone Miner Res*, 1993, 8: Suppl 1: S141.

~~~~~

(上接第 72 页)

- 13 Jacobson B: X-ray Spectrophotometry in vivo. *Amer J Roent* 1964; 91(1): 702
- 14 Pun KK, Wong FHW: Importance of bone density measurement in the management and treatment of osteoporosis. *Sing med J* 1984 (in press)
- 15 Jonsen CC: Clinical use of bone densitometry. *New Engl J Med* 1991; 324: 1105
- 16 Blake GM, et al: Intersite comparison of the Hologic QDR-1000 dual Energy X-ray Bone densitometer. *Br J Radiol* 1991; 64: 440
- 17 Heymsfield SB, et al: Body composition of humans comparison of two improved four-compartment models that differ in expense, technical complexity and radiation exposure. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 52
- 18 孟昭亨等: 252例正常人双能X线骨密度(DEXA)测量及其临床应用. *创伤骨科学报*, 1993, 2: 101-105
- 19 Cann CE: Quantitative CT for determination of bone mineral density, A review. *Radiology* 1988; 166: 509
- 20 程晓光: QCT 测量骨密度. *创伤骨科学报* 1991; (2): 124-126, 128
- 21 Royle GJ, Speller RD: Low Angle X-ray Scattering for bone Analysis. *Phys Med Biol* 1991; 36(3): 383
- 22 Chestnut CH, et al: Measurement of total body calcium (bone mass) by neutron activation analysis. Applicability to bone wasting disease in Parfitt AM, Duncan H (eds) *clinical aspect of metabolic bone disease*. Amsterdam: Excerpta, 1973; 28-36
- 23 罗先正等: 跟骨超声骨质测量与双能X线吸收骨密度测量. 全国第二届骨质疏松学术会议论文汇编, 1995, 37-39, 南京
- 24 Foldes J et al: Ultrasonic Measurement of the Tibia, Initial Evaluation of Novel Approach, *Proceedings of the Fourth Bath Conference on Osteoporosis and Bone Mineral Measurement*, 20-24 June, 1994, p. 58
- 25 Liberman UA, et al: Age-related Changes in Normal Female and Male Populations and Correlations to Postmenopausal osteoporosis (PMO) Patients. *Bone* 1995; 16 (1 Suppl): 18