

雌激素在 I 型原发性骨质疏松症发病机制中作用的研究进展

张胜利 王全平

I 型骨质疏松症即绝经后骨质疏松症 (Postmenopausal osteoporosis, PMO) 是指绝经后妇女由于体内卵巢功能低下, 雌激素明显减少, 骨偶联过程失衡, 破骨细胞性骨吸收作用超过了成骨细胞性骨形成作用, 所导致的净骨量减少, 骨强度降低, 骨脆性增加的代谢性骨疾病。1940年 Albright^[1] 首先提出 PMO 的发生与体内雌激素减少有关, 并首倡应用雌激素治疗。至今此疗法仍被应用, 足以证明, 雌激素防治骨质疏松症的有效性。现已证实, 雌激素对骨代谢发挥了重要的保护作用, 其中维持骨偶联平衡的作用尤为突出。现就其在 PMO 发病机制的作用, 做一文献复习。

1 女性体内雌激素的种类和来源

女性体内雌激素主要有三种: 雌酮 (estrone, E_1), 雌二醇 (estradiol, E_2), 雌三醇 (estriol, E_3), 雌激素在血液循环中主要与白蛋白或 β 球蛋白结合, 近 20% 呈游离态而起作用。其中 E_2 生物活性最强, 在体内易被氧化成雌酮, 它们代谢为雌三醇。正常血浆 E_2 浓度为 50~500pg/ml, 它在排卵前后各有一个分泌高峰。 E_1 与 E_2 在肝内可相互转换, 且最终都以葡萄糖醛酸及硫酸盐的形式自尿中排出。青春期雌激素主要由卵巢的卵泡膜细胞-颗粒细胞和黄体产生, 绝经后则主要来自于肾上腺皮质分泌的雄性激素在体内的转变^[2]。

2 雌激素受体的结构及功能特点

雌激素受体 (ER) 属于能与小分子疏水配体结合的核受体超家族成员。它可分为 $ER\alpha$ 和 $ER\beta$ 两个亚型。 $ER\alpha$ 由 596 个氨基酸组成, 在

120~300 氨基酸之间的区域包含有能与受体 DNA 结合区相互作用的单克隆抗体的抗原决定簇, 在 185~250 氨基酸之间的序列与 AEV (鸟成红细胞瘤病毒) 的 gag-erb-A 融合蛋白有高度同源性, 这一富含半胱氨酸区域的三级结构是 ER 的重要结构特征^[3]。进一步研究证明^[4,5], $ER\alpha$ 的氨基酸序列包括从 A 到 F 共六个结构功能区域 (domain)。中央的 C 区是一个含有锌核结构, 是可与 DNA 结合的 domain, 即 DBD 区; E 区则是与配体或激素结合的 domain, 即 LBD/HBD 区; 而在 C 区两侧有其各自独立的非酸性的激活区, 即靠近氨基端的 AF-1 区及靠近羧基端的 AF-2 区。当 DBD 区与 DNA 结合后, AF-1 即可序列性地激活 DNA 转录活性; 而 AF-2 区与 AF-1 区的作用不同, 它与 LBD 区相重叠, 当 AF-2 区与雌激素结合后即可激活 DNA 的转录。D 区对稳定 DBD 区与 DNA 的结合起重要作用; F 区则对 $ER\alpha$ 的转录活性有调节作用。在骨组织中, 人成骨细胞、骨基质细胞、鼠骨髓造血干细胞、粒巨细胞集落形成单位 (CFU-GM) 人、鼠骨肉瘤细胞、鼠成骨样细胞、鼠基质细胞, 兔、鼠、鸟破骨细胞内均有 $ER-\alpha$ 的存在。人类 $ER-\alpha$ 基因定位于 6 号染色体上。

最近的研究表明^[6], 在人及鼠的组织内均存在由独立基因编码的 $ER\beta$, 它由 485 个氨基酸组成, 分子量 54.2kDa, 与 $ER\alpha$ 相比肽链较短, 但其氨基酸序列在 DBD 区及 LBD 区与 $ER-\alpha$ 有高度同源性, 分别达 96% 和 58%。两者与 E_2 亲和力相似且均结合到相同的 DNA 位点。另外, $ER\beta$ 可与 $ER\alpha$ 形成二聚体, 在两者共存的细胞类型内对 DNA 的转录有协同作用。但两

者在中国苍鼠卵巢细胞内却表现出不同的转录活性。有关 ER β 的具体作用机制及功能有待进一步研究。

3 雌激素对骨吸收的作用

雌激素的抗骨质疏松作用主要是通过其抑制骨吸收来实现的。现已证实,雌激素对破骨细胞形成的三种作用机制^[7]均有抑制作用,分述如下。

IL-1是一种主要由外周单核细胞(PBM)分泌的多肽细胞因子,另外,PBM尚可分泌具有骨吸收活性的 TNF- α 和 CSF-GM。1987年,Pacific 首次发现骨质疏松患者 PBM 分泌 IL-1 明显高于非骨质疏松患者,认为 IL-1 是体内强有力的骨吸收刺激剂,在 PMO 发病机制中起重要作用。IL-1除了在 PGE 介导下可增加破骨细胞形成外,尚可通过旁/自分泌机制刺激成骨细胞和骨基质细胞进一步分泌多种细胞因子,如 IL-6、TNF- α 、CSF 等,促使破骨细胞前体形成细胞增殖、分化和激活^[8]。另外,在骨吸收时释放的 IL-1及暴露的骨基质成分如 I 型胶原片段、羟脯氨酸等,可进一步增加 PBM 对 IL-1、TNF- α 、CSF 的分泌,从而产生骨吸收的放大作用^[3]。PBM 上有雌激素受体(ER)存在,正常情况下,雌激素可通过受体结合途径抑制 PBM 对 IL-1、TNF- α 等的分泌。雌激素减少后,这种抑制作用消失,导致这些细胞因子分泌增加,在成骨细胞以及骨基质细胞介导下刺激骨吸收,从而参与 PMO 的发生。有实验证实^[9],凡能增加成骨细胞内 cAMP 合成的细胞因子(如 IL-1、PTH、PGE₂),均可致破骨细胞活性增强,而雌激素可通过抑制细胞内 cAMP 合成的途径抑制骨吸收。因此,雌激素、IL-1受体拮抗剂^[10]均可阻止 PMO 加速的骨质丢失。

1,25-(OH)₂D₃是体内具有多种生物活性的重要的钙代谢调节剂,它对骨骼有双向作用,除了能刺激成骨细胞促进骨形成外,尚有促进破骨细胞的溶骨作用。它与 PTH 均为支持破骨细胞形成的基本条件,且两者在骨吸收方面

有协同作用。切除甲状旁腺的动物,其 1,25-(OH)₂D₃动员骨钙,促进骨吸收作用明显减弱,这说明 PTH 对 1,25-(OH)₂D₃的骨吸收活性有支持作用,而雌激素有拮抗 PTH 骨吸收作用,降低骨组织对 PTH 骨吸收作用的敏感性^[11],雌激素治疗可降低 PMO 妇女血清增高的 PTH 水平,从而可间接影响 1,25-(OH)₂D₃的骨吸收活性。

IL-6是由许多细胞产生的具有广泛生物活性的细胞因子。骨组织中,成骨细胞、骨细胞、破骨细胞、骨基质细胞、单核巨噬细胞均可分泌 IL-6,IL-6是调节骨吸收的关键因子。实验证实 IL-6不但参与了 PMO 发生,且起核心作用。进一步的研究还证明^[12]IL-6是通过 IL-6受体系统(IL-6受体及糖蛋白 gp130),通过旁/自分泌方式作用于成骨细胞和骨基质细胞,从而刺激巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)及破骨细胞数量的增加。雌激素既可通过受体结合途径抑制成骨基质细胞分泌 IL-6,又可抑制 gp130 的细胞内传导,所以雌激素减少后,一方面 IL-6分泌增加,另一方面是 IL-6对破骨前体形成细胞敏感性增加,骨吸收活性增强,从而参与 PMO 的发生。由于 gp130不仅是 IL-6的细胞内信号传导链,而且同样具有骨吸收活性的 IL-11、LIF 和肿瘤抑素 M(OSM),也均通过 gp130 传导细胞内信息^[9]。雌激素可通过调节 gp130 的表达而调控其骨吸收活性。所以,雌激素、IL-6中和性抗体、gp130抗体均可阻止 PMO 的骨量丢失。

雌激素除了上述三种途径抑制破骨细胞形成外,还可通过对 TGF、IGF 作用的影响而发挥抑制作用。IGF 和 TGF 在骨组织内主要由成骨细胞分泌,并可以无活性形式贮存于骨基质内,两者是骨基质内含量最多的生长因子,也是骨细胞功能的主要局部调节因子,均参与了骨重建过程。IGFs 对骨吸收有重要作用,PMO 患者血清 IGF 水平升高,提示 IGF 是导致骨高转换率的重要因素;PMO 患者接受 IGF 治疗后,尿 Ca、HOP、排泄增加^[12]。最近实验证实^[13],

IGF 通过受体结合途径,增加了骨髓内 CFU-GM 及破骨细胞前体的数量。这些发现均证实了 IGF 的促进骨吸收作用。雌激素可在转录水平调控成骨细胞 IGF 的旁/自分泌活动,从而调节破骨细胞的增殖和活性。另外,雌激素可通过诱导 *c-fos*、*c-jun* 基因的转录而诱导成骨细胞产生 AP-1 转录复合物,从而调控 TGF 的产生,在特定的细胞、激素以及微环境条件下可发挥抑制骨吸收的作用^[14]。

雌激素除了以上几种途径,由非破骨细胞(成骨细胞和骨基质细胞)分泌可溶性细胞因子或通过细胞-细胞接触的间接方式影响破骨细胞性骨吸收外,最近的研究表明:雌激素可直接作用于破骨细胞而影响骨吸收。1996年,Shevde^[15]在去势大鼠模型上证明:雌激素可通过受体结合途径,直接抑制破骨细胞前体形成细胞(骨髓造血干细胞/CFU-GM)的募集、分化,从而抑制破骨细胞活性,且利用细胞形态学方法证明,雌激素的这种作用是通过影响细胞周期诱导细胞凋亡(apoptosis)来实现的。1997年 Kameda^[16]应用高度纯化的哺乳动物成熟的破骨细胞,也得出了相似的结论。这些新发现有助于进一步解释雌激素骨保护性作用的细胞作用机制,并进一步证明了雌激素替代疗法治疗 PMO 的有效性。

4 雌激素对骨形成的作用

雌激素对 PMO 所发挥的骨保护作用,虽然主要通过抑制增强的骨吸收过程来实现,但是雌激素对骨形成也产生了重要影响,许多实验表明,雌激素具有刺激骨形成作用。Meunier 发现在 PMO 骨吸收进展阶段,伴随有成骨细胞数量和活性的增加;Lindsay 指出雌激素替代疗法所获得的骨量增加,不仅仅是雌激素抑制了骨吸收,雌激素尚刺激了成骨细胞性骨形成;Ernst^[17]证实雌激素增强了大鼠原始颅骨细胞的繁殖及细胞内胶原、IGF-I mRNA 的表

达,且证明这种刺激作用是由 IGF-I 介导的, Ousler 的实验证明^[14],在人类成骨样细胞,雌激素可通过诱导易癌基因 *c-fos*、*c-jun* 基因的表达而调控 TGF- β 的产生,而 TGF- β 在特定组织细胞、培养条件以及细胞周期阶段下具有刺激骨形成作用。但是,雌激素对骨形成的确切作用机制尚有待进一步研究。

总之,雌激素在 PMO 的发生机制中起关键作用,但其确切机制如骨质丢失机制、雌激素局部及全身的调控机制等均有待进一步从分子和细胞水平上深入研究。另一方面,绝经后妇女近约 1/4 而非全部发生 PMO,说明还有其他多方面因素如环境、遗传等因素涉及。因此,以后 PMO 的研究方向将是涉及多学科的纵向和横向的研究结合。

参 考 文 献

- 1 Albright F. Postmenopausal osteoporosis. *Trans Assoc Am Physic*. 1940, 55:298.
- 2 柯应夔主编. 临床妇科学. 天津技术出版社, 1992. 659.
- 3 Stephen Green. Human estrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to V-erb-A. *Nature*, 1986, 320:134.
- 4 Shlomit H. Estrogen receptor associated proteins: possible mediators of hormone-induced transcription. *Science*, 1994, 264:1455.
- 5 Paul Pace. Human estrogen receptor β binds DNA in a manner similar to and dimerizes with estrogen receptor α . *Bio Chem*, 1997, 272:25832.
- 6 Kuiper. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:5925.
- 7 Suda T. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocrine Review*, 1995, 266.
- 8 Girasole G. 17- β estradiol-inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts *in vitro*; a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest*, 1992, 89:883.
- 9 Robert P. Bone matrix constituents stimulate interleukin-1 release from human blood mononuclear cells. *J Clin Invest*, 1991, 87:221.

(下转第66页)

不同部位 BMD 累积丢失率不同,反映各部位松质骨骨量不同,女性40岁后骨量随年龄的增长累积丢失率逐渐增加,髌部各部位 BMD 累积丢失率均高于腰椎,其中 Ward's 三角累积丢失率高,说明 BMD 测定最敏感的部位为髌部 Ward's 区。40岁以后女性腰椎 BMD 累积丢失率逐渐下降,50岁后明显加速,50~60岁组年平均骨量丢失率 $>1\%$,髌部在50~60岁组与70~80岁组 BMD 年平均累积丢失率 $>1\%$,前者可能与绝经因素有关,后者与年龄增长有关。

3.3 不同诊断标准的骨质疏松检出率的比较

分别以峰值 BMD-2s 和以峰值 BMD-2.5s 为诊断 OP 的标准比较:前者的 OP 检出率明显高于后者,40岁以后 OP 检出率随年龄的增长而增加,50岁以后峰值 BMD-2s 的 OP 检出率在45%以上,峰值 BMD-2.5s 的 OP 检出率低于前者10%以上,而作者研究的对象多有骨质疏松临床表现的门诊女性,提高门诊就诊者 OP 检出率,有利于骨质疏松防治,且大量的文献均证实不同人种峰值骨密度值不同,黑人 $>$ 白人 $>$ 黄种人^[3],故以峰值 BMD-2s 为诊断 OP

标准更适合中国女性。

3.4 不同部位 OP 检出率差异

髌部 OP 检出率高于腰椎,OP 检出率顺序 Ward's $>$ Neck $>$ Troch,与北京报道一致^[1],其中 Ward's 检出率在70岁以后 OP 检出率达90%以上,而腰椎 OP 的检出率在60%~80%,若只测腰椎 BMD,则可能出现漏诊,故对腰椎 BMD 正常而有 OP 临床表现者,应参考髌部 BMD 作出正确诊断。

本文提示:以峰值 BMD-2s 诊断女性 OP 的标准更适合中国女性。骨质疏松症的防治重点在50岁以后的绝经妇女。对腰椎 BMD 正常而有 OP 症状的门诊患者,应参考髌部 BMD 作出正确诊断。

参 考 文 献

- 1 吴青,陶国枢,刘晓玲,等.北京地区1333人双能 X 线骨密度测定及骨质疏松症患者情况调查.中国骨质疏松杂志,1995,1(1):76-80.
- 2 郭庆升,张世斌,李征,等.沈阳地区527例正常人双能 X 线骨密度测量结果.中国骨质疏松杂志,1996,2(3):70-72.
- 3 唐海,罗先正,任素梅,等.中国人原发性骨质疏松症诊断标准探讨.中国骨质疏松杂志,1997,3(4):1-5.

(上接第88页)

- 10 Robert B. Interleukin-1 receptor antagonist decrease bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. J Clin Invest, 1994, 93:1959.
- 11 刘忠厚主编.骨质疏松症.北京:化学工业出版社,1992. 110.
- 12 Evangelos R. The role of gp130-mediated signals in osteoclast development; regulation of interleukin-11 production by osteoblasts and distribution of its receptor in bone marrow culture. J Exp Med, 1996, 123:3581.
- 13 Johnson AG. IGF-1 stimulates bone turnover in osteoporosis. Lancet, 1993, 339:1619.
- 14 Merry JO, Oursler. Modulation of transforming TGF- β production in normal human osteoblast-like cells by 17- β estradiol and parathyroid hormone. Endocrinology, 1991, 129:3313.
- 15 Shevde NK. Estrogen modulates the recruitment of myelopoietic cell progenitors in rat through a stromal cell-independent mechanism involving apoptosis. Blood, 1996, 87:2683.
- 16 Takashi Kameda. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone-resorption osteoclasts. J Exp Med, 1997, 186:489.
- 17 Matthias Ernst. Estradiol effects on proliferation of mRNA for collagen and IGF-1, and PTH-stimulated adenylate cyclase activity in osteoblastic cells from calvariae and long bone. 1989, 125:825.