

细胞因子在老年骨丢失中的作用

孙磊 王利群 韩一生 王玉清 宁志杰 廖可国



摘要 **目的** 探索细胞因子在老年骨丢失发病过程中的作用。**方法** 取新鲜性老年股骨颈骨折的股骨头和正常青年股骨头,进行骨矿含量、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子检测。**结果** 老年组股骨头骨矿含量明显低于青年组($P < 0.01$),老年组的骨匀浆白细胞介素-6含量有升高趋势,但与青年组无统计差异($P > 0.05$),老年组肿瘤坏死因子含量显著高于青年组($P < 0.01$),肿瘤坏死因子与骨矿含量呈显著的负相关($r = -0.743, P < 0.001$)。**结论** 骨骼局部肿瘤坏死因子的升高与老年骨丢失有关。

关键词 老年人 骨密度 肿瘤坏死因子 骨质疏松

Role of cytokines in pathogenesis of bone loss in the elderly

Sun Lei, Wang Liqun, Han Yisheng, et al.

Orthopaedic Center of PLA, The 88th Hospital of PLA, Tai'an 271000, China

Abstract Objective To explore the role of cytokines in pathogenesis of bone loss in the elderly. **Methods** Cancellous bone samples of femoral head from 12 aged patients with fresh femoral neck fracture and 6 normal young adults were obtained. Bone density of the samples was assessed by bone mineral content. Interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the homogenates of the samples were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The bone density in aged group is significantly lower than that in young group ($P < 0.01$). IL-6 in aged group have a tendency to rise; however, there is no statistical difference between the elder and young groups ($P > 0.05$). In contrast, TNF- α in elder group is significantly higher than that in young group ($P < 0.01$). There is a remarkable negative correlation between the bone mineral content and TNF- α ($r = -0.743, P < 0.001$). **Conclusion** TNF- α plays a critical role in the pathogenesis of osteoporosis.

Key words Aged people Bone density Tumor necrosis factor Interleukin-6 Osteoporosis

本课题受军队医药卫生科研基金资助(项目号:96D021)

作者单位:271000 泰安,解放军第88医院全军骨科中心(孙磊、王利群、宁志杰、廖可国);第四军医大学一院骨科(韩一生);第四军医大学实验动物中心(王玉清)

作者简介:孙磊,男,1960年12月出生,1982年1月毕业于潍坊医学院,从事大外科临床与教学工作。1985年8月考入第四军医大学骨科专业研究生,1988年获硕士学位,1994年获博士学位。现任济南军区第88医院全军骨科中心副主任、副主任医师。

随着社会老龄化进程,骨质疏松成为日益突出的公共健康问题。原发性骨质疏松的发病机理尚不清楚。骨形成减少或骨吸收增加可造成净骨量的减少,导致骨质疏松。骨重建过程中全身调节因素要通过局部调节因子的参与,对骨形成与骨吸收的平衡产生作用。本研究对2周内新鲜老年股骨颈骨折的股骨头与正常青年人股骨头标本,进行了骨矿含量、白细胞介素-6和肿瘤坏死因子- α 的检测比较,从而探讨了细胞

因子在骨质疏松发病机理中的作用。

1 材料和方法

1.1 检测标本 老年组共12例,男性4例,女性8例;年龄59~77岁,平均(68.5±6.0)岁。本组病例因低能量外伤致股骨颈骨折,均排除代谢性骨病、缺血坏死、局部肿瘤和感染性炎症。于骨折后2周内行人工股骨头置换术,取股骨头标本。青年组共6例,男性5例,女性1例;年龄20~35岁,平均25.5±5.9岁。股骨头标本取自严重外伤致迅速死亡者4例,外伤性髋关节离断2例,经病史调查排除代谢性骨病及局部疾患。用环锯自股骨头原发压力性骨小梁区取2块 $\phi 0.6 \times 1\text{cm}$ 的圆柱形松质骨,分别行骨矿含量和骨匀浆细胞因子检测。

1.2 骨矿含量检测 骨组织块在分析天平称湿重,置入“U”形管测量系统中的样品管中,上移样品管使液面归零,在计量管记录液面的变化,计算出骨组织块的准确体积(cm^3)。再将骨组织块置入1000℃高温电炉中煅烧24小时,冷却后称骨矿灰的重量。骨矿含量=骨矿灰重量/骨组织块体积,单位为 g/cm^3 。

1.3 细胞因子检测 骨组织块称湿重,研磨成匀浆,加0.1 mol/L PBS(pH=7.4)至5ml,离心4 000 rpm×10min,取上清进行检测。采用夹心法 ELISA 检测白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)(第四军医大学免疫教研室试剂盒)。

2 结果

2.1 骨矿含量 骨矿含量检测结果见表1。老年组股骨头骨矿含量明显低于青年组,两组差异显著($P < 0.01$)。

表1 骨矿含量及细胞因子检测结果($\bar{x} \pm s$)

指标	老年组	青年组
骨矿含量(g/cm^3)	0.271±0.048	0.336±0.037**
IL-6(ng/g)	0.113±0.085	0.055±0.029
TNF- α (ng/g)	0.236±0.103	0.094±0.079**

注:与老年组比** $P < 0.01$

2.2 细胞因子 骨匀浆上清 IL-6、TNF- α 检测结果见表1。老年组 IL-6 含量的均数高于青年组,然而两组之间无统计学差异($P > 0.05$);老年组 TNF- α 含量显著高于青年组($P < 0.01$)。IL-6 与骨矿含量无显著相关性($r = -0.197, P > 0.05$);TNF- α 与骨矿含量呈显著的负相关($r = -0.743, P < 0.001$)。

3 讨论

65岁以上妇女的脊柱和桡骨远端的骨丢失明显减缓,但股骨颈仍以0.78%/年的速度丢失骨量^[1]。股骨近端是全身骨丢失最明显的部位,因而股骨头是研究骨质疏松的理想材料。为避免股骨颈骨折晚期的股骨头缺血、坏死等继发改变的影响,我们仅选择新鲜股骨颈骨折的股骨头为研究对象。采用直接测定股骨头标本骨矿物质含量,不需昂贵的仪器设备,可以准确定量骨质密度。结果表明,老年组的骨矿含量明显低于青年组,说明本组12例老年股骨颈骨折预先存在明显骨丢失是发生骨折的重要危险因素。

IL-6是一种对骨吸收有独特作用的多功能细胞因子,它在体外诱导造血前祖细胞向破骨细胞分化,而不是激活成熟的破骨细胞。切除卵巢的小鼠其骨髓和骨细胞在体外培养下 IL-6 的释放增加。IL-6基因缺陷的变异小鼠,在切除卵巢后1个月没有骨丢失的表现,破骨细胞和其前祖亦不增加^[2]。骨质疏松病人 IL-6mRNA 转录水平明显高于正常对照^[3],直接刺激全血细胞后的 IL-6释放水平亦高于正常人^[4]。本研究发现,老年组的骨匀浆 IL-6含量较青年组有升高趋势,但无统计学差异,与骨矿含量无相关性。这一结果虽有可能与本组病例样本数较少有关,然而 Kania 也发现血清 IL-6水平与脊柱、股骨颈骨密度无相关性^[5]。在动物体内实验,抗 IL-6抗体并不能阻止卵巢切除后的骨丢失^[6]。因此 IL-6对骨质疏松的发病可能仅有较次要的作用。

(下转第64页)

- forming growth factor- β gene family members and bone. *Endocrine Rev.* 1994,15;27.
- 14 Hock J, Canalis E, Centrella M. Transforming growth factor beta(TGF-beta-1) stimulates bone matrix apposition and bone cell replication in cultured fetal rat calvariae. *Endocrinology.* 1990,126;421.
- 15 Rosen D, Miller SC, DeLeon E, et al. Systemic administration of recombinant transforming growth factor beta 2 (rTGF- β 2) stimulates parameters of cancellous bone formation in juvenile and adult rats. *Bone.* 1994,15;355.
- 16 Knutsen R, Honda Y, Strong DC, et al. Regulation of IGF system components by OP-1(Osteogenic Protein-1) in human bone. *Endocrinology.* 1995,136;857.
- 17 Kanzaki S, Baxter RC, Knutsen R, et al. Evidence that HBC in culture secrete IGF- I and IGFBP-3, but not acid-labile subunit both under basal and regulated conditions. *J Bone Miner Res.* 1995,10;854.
- 18 Shadman S. Interleukin-1 α has biphasic effects on bone formation by rat bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res.* 1995,10;T219.
- 19 Roodman GD. Advances in bone biology;the osteoclast. *Endocr Rev.* 1996,17;308.
- 20 Frost A, Jonsson KB, Nission O, et al. Inflammatory cytokines regulate proliferation of cultured human osteoblast. *Acta Orthop Scand.* 1997,68;91.

(上接第9页)

TNF 是十分重要的破骨细胞激活因子,它刺激前祖细胞产生新的破骨细胞,并可间接激活成熟的破骨细胞导致破骨细胞性骨吸收的增强。Zheng 发现绝经后骨质疏松病人外周血中单个核细胞释放的 TNF 明显高于非绝经妇女或雌激素替代治疗绝经妇女^[4]。我们采取直接测定骨匀浆 TNF- α 的方法,发现老年组骨匀浆中 TNF- α 的含量明显高于青年组,TNF- α 含量与骨矿含量呈显著的负相关。Ammann 将转基因高水平表达可溶性 TNF 受体(sTNFR1-FcIgG3)小鼠和对照小鼠切除卵巢,12周后对照小鼠骨量减少,骨转换加快,而转基因小鼠骨代谢无变化,高水平表达的 sTNFR1-FcIgG3 融合蛋白可中和 TNF 生物作用,防止卵巢切除后的骨丢失^[7]。Kitazawa 在小鼠的研究表明,切除卵巢可使骨髓细胞分泌的 IL-1 和 TNF 增加,若体内给予 IL-1ra、TNFbp (TNF 结合蛋白,一种 TNF 的抑制剂),可明显抑制卵巢切除后的骨吸收增强,减少骨髓内破骨细胞样多核细胞的形成^[6]。据此,我们认为骨骼局部 TNF- α 升高,导致破骨细胞性骨吸收增强,造成骨丢失,这可能是骨质疏松发生的机理之一。

参 考 文 献

1 Greenspan SL, Matland LA, Myers ER, et al. Femoral

bone loss progresses with age; a longitudinal study in women over age 65. *J Bone Miner Res.* 1994,9(12);1959-1965.

2 Poli V, Balena R, Fattari E, et al. Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion. *Eur Mol Biol Organ J.* 1994,13(5);1189-1196.

3 Soutar RL, Dillon JM, Brown D, et al. Cytokine expression in multiple myeloma and monoclonal gammopathy; analysis by reverse transcription/polymerase chain reaction and quantitative PCR. *Leuk Lymphoma.* 1996,24(1~2);111-120.

4 Zheng SX, Vrindts Y, Lopez M, et al. Increase in cytokine production (IL-1 beta IL-6, TNF-alpha but not IFN-gamma, GM-CSF or LIF) by stimulated whole blood cells in postmenopausal osteoporosis. *Maturitas.* 1997,26(1);63-71.

5 Kania DM, Binkley N, Checovich M, et al. Elevated plasma levels of interleukin-6 in postmenopausal women do not correlate with bone density. *J Am Geriatr Soc.* 1995,43(3);236-239.

6 Kitazawa R, Kimble RB, Vannice JL, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein decrease osteoclast formation and bone resorption in ovariectomized mice. *J Clin Invest.* 1994,94(6);2397-2406.

7 Ammann P, Rizzoli R, Bonjour J, et al. Transgenic mice expressing soluble tumor necrosis factor-receptor are protected against bone loss caused by estrogen deficiency. *J Clin Invest.* 1997,99(7);1699-1703.