

细胞因子与溶骨增强

童安莉 陈璐璐 丁桂芝

骨转换包括破骨细胞骨吸收和随后发生的成骨细胞骨形成的过程,成骨细胞与破骨细胞数量、活性和存活均受全身激素及局部因子的影响,尤其是骨髓微环境中的细胞因子对骨转换起重要作用。破骨细胞起源于骨髓造血干细胞,具体地说,起源于粒细胞/巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM),其形成包括由 CFU-GM 经过分裂增殖形成单核破骨细胞前体(增殖阶段),后者融合形成多核巨细胞,此为不成熟的破骨细胞(分化阶段),再经活化后形成成熟的破骨细胞,成熟的破骨细胞贴附于骨表面并极化,分泌酸和蛋白酶进行溶骨,最后破骨细胞凋亡。溶骨增强包括破骨细胞数量增加,活性增强。因为破骨细胞寿命很短,因此破骨细胞数量增加在溶骨增强中更为重要。很多细胞因子均影响破骨细胞增殖、分化、活化及凋亡,从而影响骨吸收,这些细胞因子存在于骨髓微环境中,由单核细胞,成骨细胞、破骨细胞及其前体细胞产生,它们可以直接作用于破骨细胞,也可以通过其他因子介导而对破骨细胞发挥作用。很多骨代谢疾病均是因溶骨增强所致,如绝经后骨质疏松、Paget's 病等。与溶骨增强有关的细胞因子有 IL-1、TNF、PGE₂、CSFs、IL-6、IL-11 等。本文拟就这些因子的产生、调控及对破骨细胞作用的机理进行综述。

1 白细胞介素-1(IL-1)

IL-1 由单核巨噬细胞、骨髓基质细胞产生,可经自分泌、旁分泌发挥作用,其诱发的生

物效应常通过其他因子介导产生。IL-1 有 IL-1 α 和 IL-1 β 两种形式,体内、体外研究表明 IL-1 α 和 IL-1 β 均是破骨细胞性骨吸收的强有力刺激剂,且它们的刺激作用相同。在人和鼠骨髓细胞培养中,加入 IL-1 可增加多核破骨细胞的形成^[1]。Uy 等在体内实验中观察了 IL-1 对破骨细胞形成不同时期的作用,结果表明,IL-1 增加 CFU-GM 数量,刺激 CFU-GM 分化成单核破骨细胞前体,并加强成熟的破骨细胞骨吸收作用,由此可见,IL-1 影响破骨细胞增殖和分化的各个阶段^[2]。IL-1 刺激成骨细胞产生其他细胞因子,如 IL-6、IL-11、GM-CSF,这些因子作用于破骨细胞,使破骨增强。此外,PGF₂ 也是 IL-1 促进破骨的中介因子,IL-1 通过 PKA、PKC 信使途径诱导成骨细胞产生 PGE₂, PGE₂ 能刺激骨吸收,用前列腺素合成酶抑制剂消炎痛阻止 PGE₂ 的产生能部分阻断 IL-1 诱导的骨吸收^[3,4]。IL-1 的破骨作用还在于其增加胶原酶、组织蛋白酶 B 的产生,促进基质降解^[5]。Debart 研究显示,IL-1 使人骨肉瘤细胞系 MG63 细胞尿激酶纤溶酶原激活物(U-PA),U-PA 受体、基质金属蛋白酶 1(MMP-1)和 MMP-3mRNA 明显增加^[6]。Romas 观察到 IL-1 使成骨细胞上持续表达的 gp130mRNA 表达上调,而用抗 gp130 抗体可消除 IL-1 诱导破骨细胞形成的作用,gp130 是 IL-6、IL-11、制瘤素 M(OSM)等因子信号传递途径中重要环节,因此,IL-1 通过增加 gp130、促进信号传递而间接加强破骨作用^[7]。

IL-1 通过以上几方面的效应促进骨吸收,而其产生受全身激素的调控。其中雌孕激素是最主要的调控激素。研究表明,绝经前妇女和经

雌、孕激素治疗的绝经后骨质疏松症妇女的外周血单核细胞(PBM)分泌的 IL-1 比未经治疗绝经后妇女的 PBM 的 IL-1 分泌量少,这说明 E_2 可抑制 IL-1 的分泌,另外, $1,25(OH)_2D_3$ 也作用于成骨细胞,使其产生 IL-1 增加。

2 肿瘤坏死因子 α (TNF α)

TNF α 是一种 17KDa 的细胞因子,由破骨细胞样细胞,成骨细胞等合成。TNF 与 IL-1 的溶骨作用有许多相似之处。TNF 作用于破骨细胞形成的所有阶段,增加破骨细胞形成,增强成熟破骨细胞活性,刺激成骨细胞分泌 GM-CSF, IL-6, IL-11, PGE $_2$ 等因子而间接刺激骨吸收,增加成骨细胞 U-PA 的基因转录,增加 MMP-1, MMP-2, MMP-9 等金属蛋白酶的产生^[8]。研究表明, TNF α 对破骨细胞形成的刺激作用可被雌激素 E_2 或 IL-6 中和性抗体所抑制,由此证明 TNF α 通过 IL-6 介导促进骨吸收,同时也表明 E_2 抑制 TNF α 的作用^[5]。TNF α 作用于成骨细胞,使其 IL-1 β mRNA 水平及 IL-1 β 分泌增加,因此, TNF α 也可通过 IL-1 β 中介发挥破骨作用^[9]。

TNF α 与 IL-1 在刺激骨吸收方面有协同作用,在正常人成骨细胞系(HOB)与人骨髓基质细胞系(HBMSC)中均证明 TNF α 与 IL-1 协同刺激 IL-6 的产生,共同发挥破骨效应^[10]。 E_2 能抑制 TNF α 和 IL-1 的产生,大鼠卵巢切除后 IL-1、TNF α 增加,骨吸收增强;而用 IL-1 受体拮抗剂(IL-1ra)和 TNF 结合蛋白(TNF $_{BP}$)治疗能使骨吸收减少,由此提示 IL-1 和 TNF α 直接介导去势对骨吸收的作用^[11]。 $1,25(OH)_2D_3$ 促进 TNF α 基因转录,增加 TNF α 形成^[12]。在有 $1,25(OH)_2D_3$ 存在的骨髓细胞培养中加入 IL-1ra 和 TNF $_{BP}$,可使多核巨细胞形成减少。

3 前列腺素(PG)

PG 可由骨细胞,骨髓细胞和骨膜组织产生,是花生四烯酸的代谢产物,PG 包括 PGE $_1$ 、PGE $_2$ 、PGF $_{2\alpha}$ 、PGD $_2$ 等,PG 特别是 PGE $_2$ 是很

强的骨吸收刺激剂,其作用主要通过增加破骨细胞前体的增殖和分化而实现的^[13]。PGE $_2$ 长时间作用于破骨细胞主要是增强吸收,但 PGE 对骨吸收的作用有双重性。已观察到,PGE 短暂作用于分离的破骨细胞,使破骨细胞骨吸收停止,破骨细胞胞浆收缩,类似降钙素的效应;而 PGE 更长时间作用于分离的破骨细胞时,可使破骨细胞体积增大。PGE 并能阻断 IL-4, INF, 对破骨细胞形成的抑制作用。另外, PGE $_2$ 增加 IL-6 的分泌,也借此增强骨吸收。与 IL-1 相同, PGE $_2$ 主要通过 PKA, cAMP 途径传递胞内信号^[14]。

很多激素和局部因子可以调节 PG 产生而发挥其对破骨细胞的作用。已证明体内存在二种不同的前列腺素 G/H 合成酶或环氧酶:构成型(COX-1)和诱导型(COX-2),能使 PG 合成增多的细胞因子均能使 COX-2mRNA 转录增加。IL-1、TNF 是 PGE $_2$ 形成的强有力刺激剂,其作用的产生不仅通过使 COX-2 增加,而且通过刺激花生四烯酸的释放^[15]。在 IL-1 和 PGE $_2$ 的关系上,大多数学者认为 IL-1 刺激 PGE $_2$ 的产生,IL-1 的作用部分通过 PGE $_2$ 介导,但也有学者持不同观点,认为 PGE $_2$ 通过 PKA 途径增加内源性 IL-1 β 的基因表达,而使破骨细胞形成增加,他们观察到 IL-1 β 抗体可抑制 PGE $_2$ 刺激的破骨细胞形成,这就说明 IL-1 是 PGE $_2$ 刺激破骨细胞形成的中介^[16]。除 IL-1, TNF 外,转化生长因子 α 、 β (TGF α 、 β)、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、血小板源性生长因子(PDGF)均通过诱导 COX-2 产生而刺激 PG 形成,而 IL-4、IL-13 对 PG 的产生有抑制作用。全身激素中,甲状旁腺激素(PTH)、甲状旁腺激素相关肽(PTHrp)、 $1,25(OH)_2D_3$ 刺激 PG 形成,而糖皮质激素通过抑制 COX-2 和减少花生四烯酸的释放而抑制 PG 的产生。性激素中已证明雌激素和雄激素可以抑制 PTH 和 IL-1 刺激的 PG 合成。除此之外, PG 还通过诱导 COX-1, COX-2 的产生而增加自身形成^[13]。

4 单核细胞集落刺激因子(M-CSF)

CSF₂在体内体外均诱导造血始祖细胞克隆的生长,破骨细胞起源于造血始祖细胞,CSF在破骨细胞形成上也具有非常重要的意义,CSF由骨髓微环境中成骨细胞、巨噬细胞、基质细胞、内皮细胞、T淋巴细胞等破骨细胞旁细胞及破骨细胞系产生,其中对溶骨最重要的是M-CSF,又称CSF-1。OP/OP骨硬化小鼠,因M-CSF基因突变,而使成骨细胞不能产生M-CSF,导致破骨细胞不能形成,影响骨吸收,出现严重的骨硬化症,在体实验发现用M-CSF治疗OP/OP鼠后可诱导破骨细胞形成,产生骨吸收效应^[16]。现已明确,M-CSF可刺激破骨细胞前体增殖和分化。在正常人脾细胞和OP/OP鼠成骨细胞共培养时,若同时加入1,25(OH)₂D₃和M-CSF,则破骨细胞可以形成,而在整个培养期中的前4天(破骨细胞增殖期)或后2天(分化期)缺少M-CSF则均不能形成破骨细胞。另一项实验也得出同样的结论,在正常小鼠的成骨细胞和脾细胞共培养中加入1,25(OH)₂D₃,若在培养期前4天或后2天加入M-CSF抗体或抗M-CSF受体抗体均阻止破骨细胞形成,因此M-CSF在破骨细胞前体增殖和分化成成熟的破骨细胞过程中是非常必要的^[17]。然而,Nilsson等观察到OP/OP鼠的骨硬化症随年龄增加而有所改善,所以他们认为M-CSF对初期的破骨细胞形成十分必要,而这段时期以后其他的细胞因子可以代替M-CSF的作用^[16]。M-CSF对破骨细胞的作用是多方面的,M-CSF可维持成熟破骨细胞存活和增加其化学趋化性,调节其活性并阻止破骨细胞凋亡。

破骨细胞上有c-fms受体,即M-CSF受体,M-CSF与受体结合后使酪氨酸蛋白磷酸化而产生细胞内效应。破骨细胞培养中加入M-CSF1小时即可消除破骨细胞上M-CSF结合位点,而去除M-CSF后,细胞上M-CSF的结合位点迅速恢复,这表明M-CSF对破骨细胞

上M-CSF受体有降调节作用^[18]。1,25(OH)₂D₃对破骨细胞前体分化的作用也表现在其对M-CSF受体的调节,1,25(OH)₂D₃不仅促进M-CSF受体形成,而且还增加C₃合成,而C₃能增强M-CSF受体的功能^[14]。M-CSF的产生受全身激素和局部因子的调节,如TNF α 、IL-1、PTH、PTHr_p均使成骨细胞系形成M-CSF^[16]。

5 白细胞介素-6(IL-6)

IL-6为分子量36KD含有184个氨基酸的蛋白质,可由成骨细胞、破骨细胞、造血干细胞、基质细胞、单核细胞分泌,体内、外大量实验证实,IL-6增加破骨细胞形成,刺激骨吸收,IL-6主要作用于破骨细胞的早期阶段,刺激早期的破骨细胞前体分裂增殖,而对破骨细胞分化,多核巨细胞的形成无明显作用,IL-6还刺激正常成熟的破骨细胞形成骨吸收陷窝^[19]。而且,IL-6通过增加胶原酶的释放而加强骨基质降解。IL-6能与其他细胞因子、激素产生协同作用,共同调节破骨细胞形成及骨吸收,如IL-6与IL-3可协同刺激CFU-GM集落的形成;IL-6、IL-3和1,25(OH)₂D₃可刺激CFU-GM形成破骨细胞前体,IL-6与IL-1协同刺激破骨细胞聚集。但是最近研究发现IL-6并不是很强的骨吸收刺激剂,IL-6在体内单独应用对骨吸收作用较小,转基因动物实验利用中国仓鼠卵巢细胞高表达IL-6,观察到只有在血循环中存在大量IL-6时才出现骨吸收,这与IL-1、TNF等其他细胞因子对骨吸收的作用不同。然而,IL-6可以强烈促进其他因子,如PTHr_p刺激的骨吸收^[1,20]。

IL-6受体系统包括IL-6R和gp130,IL-6与IL-6R结合后可触发IL-6R与gp130结合,传导IL-6的胞内信号,可溶性IL-6R是由膜结合IL-6R蛋白分解产生,也具有与IL-6结合的能力。IL-6受体系统受激素及局部因子调控,如性激素抑制gp130产生,而PTH、1,25(OH)₂D₃、IL-1、TNF增加骨髓中gp130的产

生;糖皮质激素如地塞米松刺激成骨细胞上的 IL-6R 表达,而 IL-1 呈剂量依赖性增加可溶性的 IL-6R 的产生^[7,21]。

IL-6 的产生受多种因素调节。实验证明, E_2 阻止成骨细胞表达 IL-6,当 E_2 水平下降时, IL-6 表达增加,骨吸收增强。IL-1、TNF α 、PTH、PTHrP、1,25(OH) $_2$ D $_3$ 均能作用于成骨细胞,使之释放 IL-6,而 E_2 、睾酮、孕酮抑制这些因子刺激的 IL-6 分泌^[22]。细胞因子刺激 IL-6 的产量较全身激素刺激要大许多,如 IL-1 诱导 IL-6 的产量是 PTH 诱导产生的 IL-6 的量的 10 倍左右^[23]。

6 白细胞介素-11(IL-11)

IL-11 是一种新发现的细胞因子,与其他因子不同,它主要由间质细胞谱系,如骨髓基质细胞,成骨细胞产生,而 T 淋巴细胞、单核细胞不能产生 IL-11。IL-11 的生物特性与 IL-6 有许多相似之处。在体外培养中,IL-11 增加破骨细胞形成,增加骨吸收和颅盖骨上标记的 45 Ca 释放,同时 IL-11 还能与 IL-3、IL-4 协同作用,刺激破骨细胞形成^[24]。

1,25(OH) $_2$ D $_3$ 、PTH、IL-1、TNF、PGE $_2$ 诱导成骨细胞产生 IL-11,而用 IL-11 中和性抗体可抑制这些因素诱导的破骨细胞形成,这说明, IL-11 是这些激素或因子作用于破骨细胞的中介^[22,23]。IL-11 对破骨细胞的作用可能由 PGE $_2$ 介导,因为消炎痛能阻止 IL-11 刺激的破骨细胞形成。破骨细胞上有大量 IL-11 受体 mRNA 的表达^[26]。IL-11 与 IL-6 细胞内效应均由 gp130 介导。

IL-11 与 IL-6 均是破骨发生中关键的因子,但二者作用也有不同之处。在雌激素缺乏或雌激素水平正常的鼠骨髓培养中,加入抗 IL-11 抗体可抑制破骨发生,这表明,IL-11 在任何雌激素水平对破骨均很重要。而 IL-6 促进破骨的作用只在雌激素缺乏状态时存在,IL-6 抗体在雌激素水平正常时,不影响破骨细胞形成^[22]。

影响破骨的细胞因子很多,除上述外,还有 IL-4、IL-13、L1F、TGF β 、NO、 γ -INF 等。各种因子相互影响、调控,形成错综复杂的网络,最终调节破骨细胞形成及溶骨作用。

参 考 文 献

1. Munay GR, Boyce BF, Yoneda T, et al. Cytokines and bone remodeling. In: Marcus R, ed. Osteoporosis. Academic Press, 1996; 401-313.
2. Ury HL, Dallas C. Use of an *in vitro* model to determine the effects of interleukin-1 on cells at different stages in the osteoclast lineage. J Bone Miner Res, 1995, 10: 295-301.
3. Horowitz MC. Cytokines and estrogen in bone; antiosteoporotic effects. Science, 1993, 260: 626-627.
4. Iitaka M, Kitahama. Involvement of protein kinase A and C in the production of interleukin-1 alpha induced prostaglandin E_2 from mouse osteoblast-like cell line MC3T3-E $_1$. Biochim Biophys Acta, 1994, 122: 78-82.
5. Shen V, Kohler G, Jeffrey JJ, et al. Bone resorbing agents promote and interferon-gamma inhibits bone cell collagenase production. J Bone Miner Res, 1988, 3: 657-666.
6. DeBart AC, Quax PH, Lowik CW, et al. Regulation of plasminogen activation, matrix metalloproteinases and urokinase-type plasminogen activator-mediated extracellular matrix degradation in human osteosarcoma cell line MG63 by IL-1 alpha. J Bone Miner Res, 1995, 10: 1374-1384.
7. Romas E, Udagawa, N, Zhon H, et al. The role of gp130 mediated signals in osteoclast development regulation of interleukin 11 production by osteoblasts and distribution of its receptor in bone marrow cultures. J Exp Med, 1996, 183: 2581-2591.
8. Panagakos FS, Kumar S. Modulation of protease and their inhibitors in immortal human osteoblast-like cells by tumor necrosis factor-alpha *in vitro*. Inflammation, 1994, 18: 243-265.
9. Pivrotto LA, Cisse DS, Keeting PE. Sex hormones mediated interleukin-1 beta production by human osteoblastic HOBIT cells. Mol Cell Endocrinol, 1995, 111: 67-74.
10. Rifas L, Kenney JS, Marcelli M, et al. Production of interleukin-6 in human osteoblasts and human bone marrow stromal cells: evidence that induction by interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha is not regulated by ovarian steroids. Endocrinology, 1995, 136: 4056-4067.
11. Kitazawa R, Kimble RB, Vannice JJ, et al. Interleukin-1

(下转第 51 页)