

部分细胞因子在原发性骨质疏松症发病机理中的作用

邱明芝 庞炜 王治伦

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。骨质疏松的发病机理仍不清楚,其中细胞因子通过自分泌与旁分泌和细胞粘附的方式在骨重建中起重要作用。本文就近年来细胞因子在原发性骨质疏松症发病机制中的作用的研究进展作一综述。

1 细胞因子在骨重建过程中的作用

破骨细胞来源于骨髓的造血干细胞,通过血循环运输到骨组织,融合成为成熟的多核破骨细胞。成骨细胞来源于骨髓中的多能基质干细胞,和基质细胞一样可以分泌细胞因子,调节破骨细胞的形成。骨重建的过程即是骨吸收以及随之而来的骨形成的偶联。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程,破骨细胞通过酸化和蛋白水解酶消化吸收一定量骨质,形成小的吸收陷窝,然后迁移到其他位点,随后成骨细胞侵入到吸收部位,分泌类骨质,进而钙化成为新骨。

造骨微环境中有大量的细胞因子,它们对骨吸收和骨形成的调节作用相互交错重叠。有的促进破骨细胞前体增殖分化为成熟的破骨细胞和/或直接刺激成熟的多核破骨细胞功能,使骨吸收增加。相反,也有一些细胞因子抑制破骨细胞成熟,促进其凋亡,从而抑制骨吸收。促进骨形成的细胞因子主要有类胰岛素样生长因子 I, II (IGF-I, II), 生长转化因子 β (TGF- β), 成纤维细胞生长因子 (FGF)。促进骨吸收的细胞因子主要有白细胞介素 1- α , β (IL-1 α , β), 白细胞介素 6 (IL-6), 生长转化因子 α , β (TGF- α ,

β), 肿瘤坏死因子 α , β (TNF α , β), 其中 IL-1 α , β , TNF α , TGF- β 还可抑制骨形成, IL-4, α -干扰素 (IFN- α), 巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 则可抑制骨吸收。

2 IL-1 和 TNF

IL-1 和 TNF- α 主要由单核细胞和巨噬细胞产生,有许多重叠的生物学作用,是目前最强的骨吸收刺激因子,且能抑制骨形成。二者对骨重建调节作用基本相同:直接促进破骨细胞前体细胞的有丝分裂^[1],间接地通过介导基质细胞和成骨细胞分泌参与破骨细胞分化所必需的“下游”细胞因子如:M-CSF, 粒细胞-巨噬细胞克隆刺激因子 (GM-CSF), IL-6, IL-11^[2], 从而促进破骨细胞前体细胞的分化,同时还可间接激活成熟的破骨细胞,增强其吸收功能,呈现出对骨的快速分解效果。小剂量的 IL-1 可促进骨 DNA、胶原和非胶原蛋白合成,大剂量或长期应用则抑制胶原合成,但 DNA 合成无抑制。Ralston SH 用逆转录 PCR 方法研究不同原因骨折病人的骨组织,发现 IL-1 α , β 的 mRNA 在骨质疏松症病人中表达明显增高^[3]。IL-1 还可抑制成骨细胞的胶原合成,增强胶原酶及 Stromelysin 基因表达,抑制分化的成骨细胞功能^[4]。

3 IL-6 和 IL-11

IL-6 和 IL-11 有着相似的生物学特性,通过相同的信号转导系统来发挥生物学效应,都属于 IL-6 类细胞因子。它们的受体包括两个成分,即配体结合受体和非配体结合受体——信

号传递糖蛋白 gp130(分子量为 130 kD)^[5]。当 IL-6 与 IL-6 受体结合,配体——受体复合物与 gp130 发生二聚作用后,信号被传递至细胞内部。

骨重建过程中,IL-6 由骨髓干细胞、单核巨噬细胞、成骨细胞和破骨细胞分泌,主要是骨髓干细胞。正常人血中 IL-6 的含量低,其含量随年龄的增加而升高,绝经后血中 IL-6 明显升高。研究表明 IL-6mRNA 在患骨质疏松症妇女骨组织的表达明显高于正常妇女。IL-6 协同 IL-3 刺激颗粒——巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)发展,促进破骨细胞前体细胞的早期形成^[6]。在成骨细胞和骨髓细胞的混合培养中,只有在可溶性 IL-6 受体存在的情况下,IL-6 才能引起破骨细胞形成和骨吸收^[7],提示不能显示 IL-6 骨吸收效应的一些实验体系可能是缺乏 IL-6 受体。人类破骨细胞瘤细胞有 IL-6 受体,这些细胞的吸收功能明显增强^[8]。提示 IL-6 不仅作用于破骨细胞早期形成阶段,还可能促进成熟破骨细胞的功能,但正常破骨细胞是否受其影响尚不清楚。IL-6 不是骨吸收的强激动剂,IL-6 过表达的转基因小鼠也不发生骨质疏松^[9],但它能显著增强其他细胞因子的骨吸收作用^[10]。

IL-11 来源于间充质细胞,为破骨细胞增殖分化所必需,且不受雌激素水平影响^[11],在骨吸收与骨形成解耦联发生骨质疏松中起重要作用。IL-1、TNF、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、甲状旁腺素(PTH)均促进破骨细胞增殖分化,这个作用能被 IL-11 的中和抗体阻断^[12]。gp130 的中和抗体还可以阻断 IL-1、前列腺素 E_2 (PGE_2)、PTH 或 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 的促破骨细胞起源作用^[13]。骨吸收因子可以诱导 IL-11 产生和成骨细胞对 gp130mRNA 的表达,这样可能增加了成骨细胞和基质细胞对 IL-11 的应答性。IL-11 触发的 gp130 信号可能是 IL-1、前列腺素(PG)等对破骨细胞效应的中介者。

4 CSFs

CSFs 可以促进前破骨细胞的增殖、分化。

在骨基质细胞分泌的几种细胞因子中,M-CSF 对破骨细胞的发育起关键作用。M-CSF 密码区缺陷的 op/op 鼠出生时因没有破骨细胞生成而发生骨质硬化,给予 M-CSF 治疗后好转。免疫细胞化学和原位杂交研究显示,成熟的破骨细胞和它们的单个核细胞前体有丰富的 M-CSF 受体,这提示 M-CSF 不仅对破骨细胞的发育,而且还可能对破骨细胞的功能有重要作用^[14]。在破骨细胞培养时加入 M-CSF 可延长其生存期。M-CSF 还可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。GM-CSF 是已知细胞因子中作用最强的促前破骨细胞生成因子,还可以介导 IL-18 在骨形成中的效应。Takahashi 发现 G-CSF 过度表达的转基因小鼠发生明显的骨质疏松^[15],其主要原因可能是 G-CSF 增加了破骨细胞的活性。

5 FGF

FGF 超家族为正常骨骼发育所必需,骨细胞可合成酸性和碱性 FGF,这两种形式在骨细胞生长中起重要作用。FGF 受体的点突变可以引起软骨发育不全、Grouzon 氏病等骨病。aFGF 和 bFGF 都有促骨细胞有丝分裂作用,bFGF 还影响骨细胞的表型,增加骨细胞内的骨钙素含量,抑制碱性磷酸酶活性和减少胶原的合成。放免研究显示,bFGF 含量是 aFGF 的 10 倍,因而认为 bFGF 具有骨细胞的自分泌和旁分泌增殖作用。FGF 还可以促进骨细胞成活,防止凋亡。动物实验中,FGF 不仅可以阻止由雌激素水平降低引起的骨丢失,还可以使稀疏、排列紊乱的骨小梁更加丰实、有序^[16]。FGF 也增加骨的吸收并诱导成骨细胞合成间质胶原酶。

酸性和碱性 FGF 都缺乏信号肽序列,它们在骨细胞中的分泌及到达细胞外基质的机理仍不清楚。FGF 不能刺激成骨细胞分化功能且抑制 IGF 合成,因此不可能维持骨基质和骨量。对 FGF 作用的认识主要是从体外实验获得的,至于其在骨质疏松症发病机理中的作用还不十

分清楚。

6 TGF- β 和IGF_s

许多骨质减少由成骨细胞功能缺陷引起,这些骨形成异常与几种细胞因子的产生和功能异常有关,如TGF- β 和IGF_s。增龄引起的骨丢失以成骨细胞生成减少和局部TGF- β 和IGF_s浓度降低为特征。相反,雌激素缺乏可引起成骨细胞增生和IGF-I生成。在由增龄或雌激素缺乏造成骨质疏松模型后,低剂量的TGF- β 和IGF-I可以促进成骨细胞增殖和成熟,促进骨小梁形成^[12]。TGF- β 和IGF-II还参与雌激素的促成骨细胞合成骨基质作用。

TGF- β 能影响破骨细胞和成骨细胞的活性,是骨重建有力的调节和偶联因子。研究提示TGF- β 对骨吸收具有刺激和抑制的双向调节作用,在多数系统中其作用是刺激非转变成骨细胞的DNA合成和复制,抑制破骨细胞前体的分化与增殖,促进骨形成。另外,它还可以通过减少过氧化物而直接抑制破骨细胞活性和抗酒石酸酸性磷酸酶蓄积。在胎鼠长骨培养及人骨髓培养中,TGF- β 可抑制新破骨细胞的形成,显著增加成骨细胞纤维结合蛋白的产量,增加成骨细胞样细胞和成纤维细胞I型胶原的合成,可刺激几种基质蛋白的产生如:胶原,纤维结合蛋白,蛋白聚糖和骨粘连素。TGF- β 还可以吸引成骨细胞前祖向激活的骨吸收部位移动,促进成骨细胞增生,促进骨和软骨胶原及基质蛋白的合成并刺激活化而促进骨折愈合。TGF- β 与代谢性骨病是否有关还不能肯定,其在密质骨中的含量随年龄的增加而减少。去卵巢引起实验动物TGF- β 含量减少,也提示TGF- β 在骨内稳定中起作用。

近来用IGF_s治疗骨质疏松的结果不甚令人满意,但在其他前沿方面的研究结果却令人振奋。IGF_s促进骨细胞有丝分裂和细胞分化,能刺激40%~50%的胶原合成,抑制蛋白降解,减少I型胶原分解,在转录上增强I型胶原蛋白的合成,有能力保存骨基质,抑制细胞因子

介导的蛋白多糖分解代谢。IGF不仅能增强成骨细胞的功能,而且一些因子对它的合成也有特异调节作用,这些因子在成骨细胞表型的分化表达上有刺激和抑制作用。类胰岛素样生长因子结合蛋白(IGF-BP)通过竞争它们的受体来调节IGF的生理作用,可以减缓循环体系中IGF_s的半衰期,增强特定组织的IGF_s生物可获得性,对靶细胞有非IGF依赖的生物作用^[13],还可以通过其水平的变化兴奋或抑制骨细胞。IGF-BP₄抑制IGF-I和IGF-II诱导的细胞增殖,而IGF-BP₅则相反,能增强IGF-I和IGF-II生物效应。IGF-I和IGF-II是骨骼中最丰富的生长因子,在骨形成中有相似的效应,但IGF-I作用比IGF-II更有效,可促进成骨细胞成活,防止凋亡。IGF-I可由骨细胞产生并以自身分泌方式刺激成骨细胞复制和骨基质合成,还促进骨基质沉积,增加骨形成。体外实验已证实IGF-I是一个骨生成的强刺激因子。在培养的鼠颌骨细胞里,IGF-I以自身分泌形式刺激骨胶原和DNA合成;IGF-I在鼠骨组织中调节I型胶原蛋白mRNA于稳定状态,对骨前胶原蛋白的表达有重要的影响。IGF-I与骨密度呈正相关,可能对峰值骨量起着决定作用。伴随衰老,骨骼IGF-I的含量呈线性下降,与年龄呈负相关。目前对IGF-I的效应有争议,并不是每一位研究者都证实其增加骨的形成,这可能与使用不同的模型和IGF-I应用方案有关。一般认为,成骨抑制性IGF-BP₄降解障碍与绝经后(I型)骨质疏松症的发病有关^[19],而老年性(II型)骨质疏松症的发病与骨骼IGF_s的改变有关^[20]。

随着分子生物学、分子遗传学、DNA重组技术的不断发展,我们对骨质疏松有了进一步的认识。细胞因子呈交互网络状调节骨形成与骨吸收的平衡,在骨质疏松症的发病中起重要作用,但其调节机理尚未完全弄清楚,有些研究仍处于动物实验阶段,许多认识尚未统一。对这些问题的深入研究,将对骨质疏松症的预防、诊断及治疗具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, et al. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclast-like cells *in vitro*. *J Bone Miner Res*, 1989, 4: 113-118.
- 2 Kimble RB, Srivastava S, Ross PF, et al. Estrogen deficiency increases the ability of stromal cells to support murine osteoclastogenesis via an interleukin-1 and tumor necrosis factor-mediated stimulation of macrophage colony stimulating factor production. *J Biol Chem*, 1996, 271: 28890-28897.
- 3 Ralston SH. Analysis of gene expression in human bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1994, 9: 883.
- 4 Shioz. Osteoporosis in rheumatoid arthritis: a molecular biological aspect of connective gene activation. *Tohoku J Exp Med*, 1994, 173: 189.
- 5 Kishimoto T, Akira S, Narazaki N, et al. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*, 1995, 86: 1243-1254.
- 6 Kurihara N, Civin C, Roodman GD. Osteotropic factor responsiveness of highly purified populations early and late precursors for human multinucleated cells expressing the osteoclast phenotype. *J Bone Miner Res*, 1991, 6: 257-261.
- 7 Tamura T, Udagawa N, Takahashi N, et al. Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 11924-11928.
- 8 Ohsaki Y, Takahashi S, Scarcez J, et al. Evidence for an autocrine/paracrine role for interleukin-6 in bone resorption by giant cells from giant cells tumors of bone. *Endocrinology*, 1992, 131: 2229-2235.
- 9 Woodroffe C, Muller W, Ruther U. Long term consequence of interleukin-6 overexpression in transgenic mice. *DNA Cell Biol*, 1992, 11: 587-592.
- 10 De LA Mata J, Uy HL, Guse JA, et al. Interleukin-6 enhances hypercalcemia and bone resorption mediated by parathyroid hormone related protein *in vitro*. *J Clin Invest*, 1995, 95: 2846-2852.
- 11 Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation; update. In: Bikle DD, Negrovlar A, editors. *Endocrine review monographs*, vol 4. Bethesda, MD: Endocrine Society, 1995, 266-270.
- 12 Girasole G, Passeri G, Jilka RL, et al. Interleukin-11: a new cytokine critical for osteoclast development. *J Clin Invest*, 1994, 93: 1516-1524.
- 13 Romas E, Udagawa N, Zhou 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.
- 14 Suda T, Nakamura I, Jimi E, et al. Regulation of osteoclast function. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 869-879.
- 15 Takahashi T, Wada T, Mori M, et al. Overexpression of the granulocyte colony-stimulating factor gene leads to osteoporosis in mice. *Lab Invest*, 1996, 74: 827-834.
- 16 Gregory R, Mundy MD. Future therapy for osteoporosis. *Advances in osteoporosis*. Vol. 2, 532-538.
- 17 Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis; roles for IGF-I and TGF-beta. *Rev Rhum Engl Ed*, 1997, 64(1): 44-53.
- 18 Rönner S, Aerssens J, Broos P, et al. Age-related bone loss and senile osteoporosis for both secondary hyperparathyroidism and skeletal growth factor deficiency in elderly. *Aging Milano*, 1995, 7: 414-442.
- 19 Kudo Y, Iwashita M, Iatsu S, et al. Regulation of insulin-like growth factor-binding protein-4 proteinase activity by estrogen and parathyroid hormone in saos-2 cells; implications for the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Endocrinol*, 1996, 150: 223-229.
- 20 Rosen CJ, Donahue LR. Insulin-like growth factors and bone; the osteoporosis connection revisited. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1998, 219: 1-7.