

·综述·

骨质疏松的一氧化氮机制研究

萧劲夫 李昂 薛延

一氧化氮(nitric oxide, NO)极易透过生物膜,是细胞间、细胞内的信使分子,其扩散速度、穿透细胞膜的能力、内在不稳定性等特征极为显著。由于其合成易于调节,作为高级生物体调节的有效信号在循环、呼吸、消化及内分泌代谢等系统中发挥着重要影响。近年来发现 NO 及其一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)在参与和促进骨质疏松症(osteoporosis, OP)病理生理过程中也占有举足轻重的作用。

一、NO、NOS 合成与代谢

通过免疫组化及更灵敏的逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR),目前已证实骨组织中存在 NOS 全部 3 个亚型^[1](见表 1):神经型(nNOS, NOS-1)、诱生型(iNOS, NOS-2)、内皮型(eNOS, NOS-3)。破骨细胞(osteoclast, OC)及破骨细胞前体(osteoclast progenitor)、成骨细胞(osteoblast, OB)和骨细胞(osteocyte)均既能表达 eNOS,又能表达 iNOS。骨细胞维持其正常功能需一定浓度 eNOS 存在,eNOS 以静止状态存在于骨细胞谱系中,激活后酶活性持续时间很短,其活性依赖于 Ca^{2+}

和钙调蛋白(calmodulin, CaM),如 OC 胞质 Ca^{2+} 浓度的波动,可调节其 eNOS 的活性^[2]。骨细胞谱系 iNOS 的活性不依赖于钙,在生理条件下一般不表达,在细胞因子、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等刺激诱导下,iNOS 也将被大量诱导产生(来源于骨髓巨噬细胞、OB、OC 等),以不依赖于 Ca^{2+} 的方式与 CaM 不可逆结合,诱导生成大量 NO^[3]。在骨组织中,eNOS 水平相对恒定,而 iNOS 诱导生成 NO 的能力远高于 eNOS 的诱导作用,细胞因子刺激 NO 的生成主要是通过激活 iNOS 的合成。nNOS 在骨组织中存在,但 OB、OC 体外培养中未发现^[1],可能其来自分布于骨组织内血管中膜的神经组织。NOS 诱导生成 NO 不仅对 OB、OC 增殖、迁移、分化、功能等有直接作用,并可通过对细胞因子的相互影响施加间接影响。一般认为低水平(pmol 或 fmol 水平)NO 主要发挥细胞信息传递效应,高水平(nmol 水平)NO 通过刺激环鸟苷酸(cGMP)活性可以起细胞毒作用^[4,5]。

表 1 NOS 结构、功能比较

类型	nNOS(NOS1)	iNOS(NOS2)	eNOS(NOS3)
主要来源	脑、神经组织等	巨噬细胞等	内皮细胞等
骨组织中	+	+	+
生成分布	+	+	+
基因结构和染色体定位	12q ^{24.2}	17cen-q ⁻¹²	7q ³⁵⁻³⁶
基因大小	160kb	37kb	21kb
基因结构	29 外显子,28 内含子	26 外显子,25 内含子	26 外显子,25 内含子
Ca^{2+} /CaM 依赖性	+	-	+
基因表达	在生理状况下低水平表达	在生理状况下一般不表达,在细胞因子诱导下大量表达	在生理状况下低水平表达
起效时间	几秒	4~24h	几秒
亚细胞分布(胞浆可溶相)	80%~100%	85%~90%	5%
生物学意义	细胞信息传递为主(生理性)	细胞毒性为主(病理生理性)	细胞信息传递为主(生理性)

NO 的生物合成主要受 NOS 调节,而多种细胞因子可影响 NOS 活性,所以 NO 的产生在很大程度上受细胞因子的调节,它们主要作用于转录水平^[4]。根据对 NO 作用方向可分为两类:一类可上调 NO 合成,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α),白介素-1 β (interleukin, IL-1 β),干扰素- γ (interferon- γ , IFN)及 LPS;另一类可下调 NO 合成,如 IL-4、IL-10 及

转化生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β)。目前在骨骼生长发育、OP 的发生等问题以及对骨组织微环境中骨细胞间相互作用、骨吸收、骨再建等的研究中发现:影响骨细胞功能状态的多种细胞因子,需通过 OB 以及骨髓基质途径对 OC 诱导生成起作用,但对将分化发育信息传递给 OC 前体细胞及增进 OC 活性的细节目前尚未清楚,一些学者提出,IL-1、IL-6、TNF- α 、粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、TGF- β 等因子借助改变 OB 或 OC 内的 NO 水平是实现它们调节功能的方式

作者单位:518033 深圳市中医院(萧劲夫、李昂);北京市积水潭医院(薛延)

之一^[6,7]。

二、NO 与 OC 关系

通过黄递酶 NADPH 染色, OC 呈强阳性,证实了 OC 自身可生成 NO。在 OP 病理基础上,无论绝经后 OP(I 型 OP)还是老年性 OP(II 型 OP),均体现为 OC 骨吸收能力大于 OB 骨形成能力,所以,OC 骨吸收性是影响骨密度(bone mineral density, BMD)变化的根本因素。研究发现 NO 根据浓度不同而对 OC 体现出多重作用:

基础浓度 NO 是维持 OC 正常骨吸收功能所必需,适当低浓度 NO 可促进 OC 前体向 OC 转化,低浓度 NO 还可增强 IL-1 β 、TNF- α 诱导的 OC 骨吸收,如 IL-1 β 、TNF- α 联合作用产生的低浓度 NO,对骨吸收有显著刺激作用^[6];低浓度的 NO 供体 S-亚硝基乙酰青霉胺(S-nitroso-acetyl penicillamine, SNAP)可增强 IL-1 β 诱导的骨吸收^[9]。

细胞因子诱导下过量表达的 iNOS,可造成 NO 的生成量高于正常 10 倍以上,而高浓度 NO 可强烈抑制培养骨组织或体外培养 OC 的骨吸收活动,拮抗 IL-1 β 、TNF- α 引起的 OC 性骨吸收^[3,10]。高浓度 NO 对 OC 抑制作用可被 NOS 抑制剂 L-硝基精氨酸甲酯(L-N^G-nitric-L-arginine-methylester, L-NAME)或 L-单甲基精氨酸(L-N^G-monomethyl-L-arginine, L-NMMA)等阻断,可以刺激恢复高 NO 浓度下功能活动受抑制的 OC 骨吸收活性,但加入 NO 供体药物硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)后,OC 骨吸收活性又在一定程度上被抑制。体外实验中观察到^[3]:高浓度 NO 可减少培养基中存活 OC 数量,抑制培养条件下 OC 功能活动,抑制 OC 在骨基质上的粘附和质子泵分泌 H⁺ 功能,并直接抑制 OC 粘附机制,特别是整合素(integrin) $\alpha_5\beta_1$ 表达,引起 OC 收缩和从骨吸收表面脱离,类似降钙素的 R 效应(retraction action)^[8]。由于 NO 可使 OC 形态发生变化,所以有学者提出 NO 作用机理可能通过某些蛋白(如蛋白激酶 C)影响 OC 细胞骨架而起作用^[11]。蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)属于以肌醇磷脂代谢为基础的脱氧鸟苷酸(deoxyguanosine, dG)/PKC 信号传递途径,应用 PKC 激活剂佛波脂(phorbol ester)同时还能增加 OB 内生成 NO 浓度及 NOS 活性,抑制 OC 功能活动,PKC 抑制剂则可对抗细胞因子刺激 NOS 活性增强作用。

在 OC 骨吸收时,骨基质中钙被释放,形成局部高钙环境,刺激 OC 合成 NO,较高浓度的 NO 即可反馈抑制 OC 骨吸收,NO 不仅抑制 OC 所形成的骨陷窝的体积,而且明显抑制骨陷窝的数量^[8]。高浓度 NO 还可使 OC 前体细胞(osteoclast progenitor)大量凋亡,由于 OC 前体细胞对 NO 变化极为敏感,NO 对 OC 前体细胞的凋亡作用大大高于其对成熟 OB、OC 的影响。实验中发现:在细胞因子诱导 OB、OC 共培养条件下,IL-1 β 、TNF- α 及 IFN- γ 联合作用下可刺激生成 50~70 倍 NO,NO 经证实主要来自 OB 系及骨髓细胞^[12],在实验早期,加入 NOS 抑制剂后,也不能完全恢复 OC 的骨吸收活动,原因主要是高浓度 NO 造成了 OC 前体细胞的大量凋亡,使其后生成成熟 OC 不足;在共培养后期,高浓度 NO 对骨吸收抑制作用主要体现在抑制成熟 OC 活动性及其骨吸收活性。高浓度

NO 使 OC 的生成及骨吸收活动几乎完全被抑制,但在该浓度下,未引起明显 OB 凋亡,表明高浓度 NO 对成熟 OC 的抑制性也大于其对 OB 的抑制性。

在鸟类、哺乳动物及人 OC 在细胞因子作用下体外培养中均观察到^[13]:选择性 iNOS 抑制氨基胍(aminoguanidin, AG)可明显促进 OC 骨吸收活动,非选择性 NOS 抑制剂 L-NMMA(可同时抑制 iNOS、eNOS)作用下 OC 骨吸收活动则被抑制,但在高 NO 环境下, NOS 抑制剂又可起到刺激恢复 OC 骨吸收活性作用。以上实验研究显示:适当浓度 NO,特别是 eNOS 活性在维持 OC 正常吸收功能方面具有重要作用,并具有拮抗细胞因子刺激下过量表达的 iNOS 其抑制 OC 功能活动的作用。还有实验观察到^[14]:IL-1 β 、TNF- α 引起的 OC 性骨吸收可被 NO 抑制剂所拮抗,但若无细胞因子诱导作用下,单独给予 NO 供体药物生成同样高浓度 NO 后,对 OC 前体细胞凋亡或抑制 OC 活性作用并不太明显,说明内环境中生成的 NO 因涉及多个生理过程,从而具有更高活性;同时也经实验证实,细胞因子通过 NO 介导后对 OC 细胞产生的影响,超过细胞因子本身对 OC 直接作用^[12],表明 NO 是细胞因子诱导 OC 前体细胞凋亡的介质之一,OC 凋亡在相当程度上是由 NO 介导的,而 OC 抑制自身活性可能通过自分泌产生 NO、升高 NO 含量来调节^[12,14]。

如 OP 治疗药物降钙素(calcitonin, CT),抑制 OC 活性的过程认为是与 OC 膜上 CT 受体结合后,激活腺苷酸环化酶(adenylate cyclase),催化 cAMP 产生,而使 NOS mRNA 半衰期延长,增加 iNOS 的表达和 NO 产生^[6]。

IFN- γ 是抑制 OC 形成及 OC 吸收作用的强有力的细胞因子。IL-1 β 、TNF- α 单独或二者共同作用时均未观察到体外培养条件下 OC 凋亡,而 IFN- γ 单独作用就可引起较明显的 OC 凋亡,但若 IFN- γ 、IL-1 β 、TNF- α 三者共同作用则可进一步促进 OC 凋亡,超过 IFN- γ 单独作用^[3]。由于 IFN- γ 、IL-1 β 、TNF- α 均可上调 NO 合成,但 IFN- γ 刺激 NO 生成的生物效应远大于 IL-1 β 、TNF- α ,可能在 OP 发生机制中,IL-1 β 、TNF- α 刺激生成少量 NO 增强了 OC 骨吸收活性,而 IFN- γ 作用下,则生成了较高浓度 NO,反而降低 OC 功能活动,从而可有效对抗 IL-1 β 、TNF- α 引起的 OC 性骨吸收。

TGF- β 可下调 NO 合成,是由 OB 以自分泌的形式产生,对 OB 的复制与基质合成、OC 骨吸收活动根据不同浓度体现出双向调节作用。在鼠骨髓培养基中,低浓度 TGF- β 能促进 OC 的增殖,而在高浓度时则抑制其生成^[15],可能因为 TGF- β 在较低浓度下可使促炎因子诱导生成一定浓度 NO,但又被“适度”抑制而不致过高,故刺激了 OC 骨吸收活性,但高浓度 TGF- β 会过分抑制 NOS 活性而使 NO 低于正常生理浓度,从而抑制 OC 骨吸收活性。

细胞因子在骨代谢过程中的变化与 OP 产生密切相关,OP 或雌激素缺乏患者其外周血及骨组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 释放水平较同龄组正常人群升高,并随年龄增加有逐步上升趋势,同时 TGF- β 产生下降^[16];OP 大鼠动物模型去卵巢(ovariectomy, OVX)后骨髓细胞分泌的 IL-1 β 、TNF- α 也将增加,

可能体内细胞因子水平发生改变后造成 NO 浓度在一定程度上升高增强了 OC 骨吸收活性,从而成为 OP 病理生理过程中重要因素。

三、NO 与 OB 关系

OB 的增殖及其骨基质分泌功能的正常发挥依赖于适当浓度 NO 存在,超过一定阈值过高浓度 NO 也可产生毒性、抑制 OB 的成熟、分化及其功能^[1]。如 L-NMMA 可抑制人或鼠 OB 的增生,并呈剂量依赖性,而增加 L-精氨酸(L-arginine, L-Arg)的浓度或补充 NO 供体药物后阻止这种效应。

OB 同时存在 eNOS 及 iNOS mRNA 表达,正常生理情况下,eNOS 的表达与 OB 系的分化有明显相关,eNOS 所生成的低浓度 NO 在维持 OB 正常功能及介导雌激素防止骨量丢失中发挥重要作用。自然状态下测定培养中的正常人松质骨(cancellous bone)来源 OB 的 NO 基础水平低,但在 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 等促炎因子的作用下能产生 NO^[18]。OB 若在其中一、两种细胞因子作用下可产生中等量的 NO,如在多种因子联合作用下则产生 NO 数量猛增。细胞因子激活后诱导产生较高浓度的 NO 的机理可以解释在促炎因子介导的骨量丢失过程中的骨形成降低。

OB 生成 NO 的调节因素有细胞因子、LPS 及机械应力等。体外研究发现^[17],人和鼠的 OB,在基础状态即表达少量的 iNOS,抑制骨吸收的细胞因子如 IFN- γ 能进一步促进其合成 NO,并呈时间和剂量依赖方式。但细胞因子诱导下 iNOS 若生成过高浓度 NO 则可抑制 OB 生长及其功能活动,如 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 联合作用于体外培养人 OB 可显著抑制其对³H-胸腺嘧啶(³H-TdR)的摄入,使该培养基中 OB 增殖还不如对照组的 10%,并抑制 OB 前体增值,影响 OB 生成,促进成熟 OB 凋亡;TGF- β 则可减少过量表达 iNOS mRNA 翻译水平,增加 iNOS 蛋白的降解,NOS 抑制剂 L-NMMA 也可使高浓度 NO 下 OB 的被抑制效应减轻,可见剂量依赖性增加细胞³H-TdR 摄入^[11-20];NO 还能通过环氧酶(cyclooxygenase, COX)旁路抑制 OB 碱性磷酸酶(ALP)活性并阻断前列腺素(prostaglandin, PG)对 OB 的作用^[21],并抑制 OB 合成反映其活性的标记物骨钙素(bone Gla-containing protein, BGP),从而抑制骨质矿化^[20]。OB 的 NO 生成还受机械应力变化的调节,在一定机械应力刺激下 NO 的生成可迅速而短暂增加^[22]。

经骨髓细胞培养已证实前体细胞分化发育为成熟 OC 是 OB 调节的结果,在骨形成-吸收偶联中,OB 在 OC 激活和 OC 性骨吸收的调控方面居中心地位(如通过衬里 OB 收缩,降解骨表面未骨化基质等途径)、IL-1 β 、TNF- α 和 IFN- γ 等因子通过 NO 浓度影响 OC 性骨吸收作用的主要靶细胞为 OB,对 OC 的诱导效应多需通过 OB 以及骨基质途径介导或放大^[23]。由于 OB 单独培养生成的 NO 浓度接近于 OB、OC 共培养下 NO 浓度,但百倍于骨髓细胞系培养生成的 NO 浓度,所以,认为 OB 是共培养下 NO 生成的重要来源,也是骨组织 NO 生成的主要来源之一,OB 在诸因子的作用下合成释放 NO 可能有助于自身活性及 OC 活性的调节。NO 在 OB 与 OC 的信号传导过程中发挥着重要作用,虽一些具体方式途径不清,但现

在认识到借助改变 OB 或 OC 内的 NO 水平是 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、GM-CSF、TGF- β 等因子作用的主要方式之一^[20,23]。NO、NOS 是目前我们未充分认识到而在骨形成-吸收偶联中起关键作用的因素之一。

OB、OC 活性与 NO 间关系也表明:过高浓度 NO 对 OB、OC 均具有细胞毒作用,体内需要一个对 OB 形成有促进作用但同时也可较好抑制过亢 OC 骨吸收活性的 NO 水平梯度范围,在一定范围内适度升高 NO 水平可起到抑制 OC 骨吸收的作用。

四、NO 与 OP

低水平 NO 导致细胞因子诱导性骨吸收增强与绝经后雌激素缺乏妇女 OP 密切相关^[24]。在活体,NO 作为一种细胞因子诱导的骨代谢调节剂提供了一个可能性,即用 NO 合成抑制剂或刺激剂来影响骨转化,一些研究也表明调控 NO 药物将可能成为具有广阔前景的 OP 治疗药物。

NO 供体药物硝酸甘油(nitroglycerin, NG)不仅可减轻 OP 动物模型去卵巢(ovariectomy, OVX)大鼠骨量丢失,还可对抗皮质类固醇引起的老年雄性大鼠骨量丢失^[25,26]。

选择性 iNOS 抑制剂 AG 可使雌性大鼠脊柱和肌骨 BMD 降低。动物实验观察到^[27],正常雌性大鼠静脉输入 AG8 周后,大鼠脊柱和股骨 BMD 显著降低;同样,对 OVX 大鼠,则可进一步加重其已降低的腰椎及肌骨 BMD($P < 0.05$)。组织形态学显示正常大鼠骨髓腔内表面光滑,而应用 AG 的大鼠,OC 细胞数量增加,骨吸收增强,骨髓腔呈粗糙不平的外观。实验表明:骨质内 NO 生成减少、浓度过低,导致 OC 性骨吸收增强,BMD 降低。

OVX 大鼠皮下注射雌二醇(estradiol, E₂)和 NO 供体 NG,均能使腰椎 BMD 显著增加($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$),达到正常大鼠水平,表明适当提高 NO 水平将起到类似于补充 E₂ 防治 OP 作用,能抑制 OC 性骨量丢失;但若给予 OVX 大鼠 eNOS 抑制剂 L-NAME 则可完全阻断 NO 或 E₂ 增加 OVX 大鼠椎骨 BMD 的作用,骨量丢失情况与对照组相比差异无显著性($P > 0.05$)^[28,29]。另一项实验中,OVX 大鼠分为 NG 组、E₂ 组及 NG+E₂ 3 组用药 12 周后,3 组之间 BMD 与假手术对照组之间差异无显著性,且 3 组间 BMD 也差异无显著性($P > 0.05$),表明 NG、E₂ 使 OVX 大鼠丢失骨量恢复到正常水平的作用相似,但 NG+E₂ 并不体现出协同增强效应^[30]。以上研究提示 NO 可防治雌激素减少所致骨量丢失,具有类似雌激素替代疗法的作用;NOS 抑制剂则可抑制雌激素对骨量保护作用;雌激素对骨量的维护作用可能在相当程度上是 NO 依赖性或通过 NO 介导的。

过去,对 OP 患者应用雌激素治疗后发现,其心血管疾病发病率也随之降低,现已证实雌激素对心血管保护作用是由雌激素诱导内皮细胞释放 NO 所引起^[29]。雌激素在提高 BMD、防治 OP 的同时,对分布于骨组织内血管内皮细胞也应发挥同样作用,如 E₂ 的一项重要作用经证实是可升高体外培养人 OB 及内皮细胞的 eNOS 基因表达及其活性^[31,32],在实

验中, E_2 可增强 NOS 活性 2 倍以上, 并证实主要是通过 eNOS 通路。OP 治疗新一类药物选择性雌激素受体调节剂雷洛昔芬 (raloxifene) 只抑制骨吸收, 不抑制骨形成, 也有类似促进 NO 生成作用^[1]。闭经的女运动员认为类似绝经后妇女, 具有低雌激素水平及腰椎骨质稀疏 (osteopenia), 其 OP 发生潜在危险度较高, 在一项对照研究中发现^[34]: 闭经的女运动员虽未升高骨转换率, 但在正常硝酸盐饮食条件下, 与绝经后妇女均具有低 NO 代谢的特征。从这些结果可推断 NO 在雌激素介导的维持骨量及骨强度的机制中起到了重要作用。

合理适量的体育锻炼, 以适当应力刺激促进骨质代谢, 经多年临床实践证明对预防或治疗 OP 有较大益处, 而 NO 还能作为骨对机械应力适应的生理调节剂, 骨的机械负荷增加可引起 NO 快速短暂的释放^[35]。

74 名英国女性 OP 患者间歇性应用 2 年 NG 后, 髌部及跟骨 BMD 比对照组有显著提高, 分别增加 2.6% 及 5.3%, 同时骨折率下降^[36], 预测未来将通过 NO 诱导剂或 NO 抑制剂的方式对包括 OP 在内的骨代谢疾病进行治疗及预防。

五、小结

OB、OC 间相互影响及细胞因子间或协同或拮抗作用往往是双向的, 从而表现出一定复杂性, 而 OP 的发生, 是这些因素共同作用下的最终结果。通过对 NMDA-NO-cGMP 通路在生物体内普遍存在的证实, 对内质细胞衍生舒张因子 (endothelium derived relaxing factor, EDRF) 本质就是 NO 的揭示^[1], 目前对 NO 的递质作用与生物效应已有了较多认识, 但 NO 在 OP 研究中却是非常“年轻的分子”, 目前对 NO 及 NOS 的骨吸收调控机制及在 OP 发生过程中作用的认识仍主要是观察性或推理性的, 同发现雌激素缺乏在 OP 发病过程中的重要作用后所造成的对 OP 患者治疗、预防、药物研制、治疗观念改变等的巨大社会影响相比较, 现在对 NO、NOS 与 OP 的认识还是初步的, 有待进一步探索、开拓、研究其整个作用过程和机制。

参 考 文 献

- Miepe H, Helfrich, Deborah, et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms in bone and bone cell cultures. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 1108-1112.
- Mancini L, Moradi N, Brandi ML, et al. Nitric oxide superoxide and peroxynitrite modulate osteoclast activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 243: 785-790.
- Robert J, de Marco G, Gangula P, et al. Cytokine induced nitric oxide inhibits bone resorption by inducing apoptosis of osteoclast progenitors and suppressing osteoclast activity. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 1797-1801.
- Evans DM, Ralston SH. Nitric oxide and bone. *J Bone Miner Res*, 1996, 11: 300-305.
- Turner CH, Owan I, Jacob DS, et al. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on bone formation in rats. *Bone*, 1997, 21: 487-490.
- Kioldrune MB. Skeletal tissue response to cytokines. *Clin Orthop*, 1990, 258: 245-278.

- Ralston SH. The Michael Mason Prize Essay 1997. Nitric oxide and bone: what a gas. *Br J Rheumatol*, 1997, 36: 831-838.
- Mancini L, Becherini L, Benvenuti S, et al. Bioeffects of a nitric oxide donor in a human preosteoclastic cell line. *Int J Clin Pharmacol Res*, 1997, 17: 2-7.
- Roodman CD. Application of bone marrow cultures to the study of osteoclast formation and osteoclast precursors in man. *Calcif Tissue Int*, 1995, 56: 22-23.
- Kikkawa I, Saito S, Tominaga K, et al. Lipopolysaccharide (LPS) stimulates the production of tumor necrosis factor (TNF)-alpha and expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by osteoclasts in murine bone marrow cell culture. *Microbiol Immunol*, 1998, 42: 591-598.
- Ueda M, Fukuda K, Oh M, et al. Protein kinase C modulates the synthesis of nitric oxide by osteoblasts. *Calcif Tissue Int*, 1998, 63: 22-26.
- Van't Hof R J, Ralston SH, Johnston PW, et al. Nitric oxide's function in bone cells. *Curr Opin Orthop*, 1997, 8: 19-24.
- Ralston SH, Ho LP, Helfrich MH, et al. Nitric oxide: a cytokine-induced regulator of bone resorption. *J Bone Miner Res*, 1995, 10: 1040-1044.
- Brandi ML, Hukkanen M, Umeda T, et al. Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms. *Proc Natl Acad Sci*, 1995, 92: 2954-2958.
- Tam VK, Schotland S, Green J. Inflammatory cytokines (IL-1alpha, TNF-alpha) and LPS modulate the Ca^{2+} signaling pathway in osteoblasts. *Am J Physiol*, 1998, 274: 1686-1698.
- 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: 63-71.
- MacPherson H, Noble BS, Ralston SH, et al. Expression and functional role of nitric oxide synthase isoforms in human osteoblast-like cells. *Bone*, 1999, 24: 179-185.
- Ralston SH, Todd D, Helfrich MH, et al. Human osteoblast-like cells produce nitric oxide and express inducible nitric oxide synthase. *Endocrinology*, 1994, 135: 330-336.
- Lewik CW, Nibbeling PH, van de Ruit M, et al. Inducible production of nitric oxide in osteoblast-like cells and in fetal bone explants is associated with suppression of osteoclastic bone resorption. *J Clin Invest*, 1994, 93: 1465-1472.
- Damoulis PD, Hauschka PV. Nitric oxide acts in conjunction with proinflammatory cytokines to promote cell death in osteoblasts. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 412-422.
- Kanematsu M, Ikeda K, Yamada Y, et al. Interaction between nitric oxide synthase and cyclooxygenase pathways in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 1789-1796.
- McAllister TN, Frangos JA. Steady and transient fluid shear stress stimulates NO release in osteoblasts through distinct biochemical pathways. *J Bone Miner Res*, 1999, 14: 930-936.
- Jimi E, Nakamura I, Amano H, et al. Osteoclast function is activated by osteoblastic cells through a mechanism involving cell-to-cell contact. *Endocrinology*, 1996, 137: 2187-2190.

(下转第 115 页)

物歧化酶等。这些酶参与骨组织中粘多糖的合成,从而影响骨骼发育和骨折愈合。研究表明,锰缺乏时出现干骺端软骨的骨化异常,造成骨骼的发育障碍^[9]。另有研究发现,缺锰时,血清钙磷含量增加,认为缺锰可导致钙盐动员,与骨质疏松的发生有关¹⁸。

本研究中发现老年髋部骨折患者骨骼中镁含量显著降低。镁占骨骼灰重的0.5%~1%,每公斤灰重人类骨骼中镁含量约为200 mmol左右,所以有人认为在骨骼中镁不能被称为微量元素^[3]。通过其本身的直接作用,以及与具有骨调节作用的激素或其它体液因子的共同作用,镁对骨矿和骨基质代谢均有影响。研究显示,骨质疏松症、慢性酒精中毒^[9]以及糖尿病患者,骨中镁的含量降低,并且随着增龄骨中镁的含量减少,本研究结果与此相同。一定程度的镁的耗减对骨代谢的所有阶段都有负面影响。在大鼠可以导致成骨细胞减少和活性降低,进而导致骨形成和骨量减少。但是在镁严重缺乏时,前述抗同化作用不再显著,反而表现为对骨吸收的显著抑制,皮质骨增厚而非骨量减少^[3]。造成前述现象的机理仍不清楚,其在骨质疏松症发病机制中的作用和临床意义也有待进一步阐明。

总之,本研究对髋部骨折患者松质骨中微量元素的变化进行了初步研究。进一步的研究工作包括在严格的病例控制基础上扩大样本量,明确无机元

素的改变与饮食、环境的关系,以及骨骼中无机元素与血液、头发中无机元素之间的相关性,阐明其在骨质疏松症发病机制中的作用,以提高髋部骨折预测及疗效评定的准确性,并指导治疗。

参 考 文 献

- 1 肖敏,周广峰.常见元素锌铜铁钙镁的临床检测意义.微量元素与健康研究,1997,14(1):61.
- 2 Moonga BS, Dempster DW. Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption *in vitro*. J Bone Miner Res, 1995, 10(3):453-457
- 3 Wallach S. Effects of magnesium on skeletal metabolism. Magnes Trace Elem, 1990, 9(1):1-14
- 4 J. E. 坎特林编,黄德玲译.原子吸收光谱分析.北京:科学技术文献出版社,1990 203
- 5 张元勋,裘世静,吴小涛,等.股骨头松质骨中无机元素的 PIXE 分析.核技术,1995,18(7):419-424
- 6 Freeman MAR, Todd RC, Purie CJ. The role of fatigue in the pathogenesis of senile femoral neck fracture. J Bone Joint Surg (Br), 1974, 56: 698
- 7 Stanley YP, Wong BS, Kariks J, et al. The effects of age on bone composition and viability in the femoral head. J Bone Joint Surg, 1985, 67A (2):274-283.
- 8 孙承琳,刘春梅,唐 鹏等.糖皮质激素诱发的大鼠骨质疏松与骨中微量元素的关系.中国骨质疏松杂志,1996,2(2):39-41
- 9 Preedy VR, Baldwin DR, Keating JW, et al. Bone collagen, mineral and trace element composition, histomorphometry and urinary hydroxyproline excretion in chronically treated alcohol-fed rats. Alcohol-Alcohol, 1991, 26(1):39-46.