

·综述·

骨质疏松与细胞凋亡

陈海 宋知非

骨质疏松是一种常见的代谢性骨病,以单位体积内骨量减少,骨矿物质沉积减少,而骨的成分含量不变为特点。原发性骨质疏松以绝经后妇女和老年人最为常见。在一些全身免疫性疾病(如类风湿关节炎)等,常发生继发性骨质疏松。

细胞凋亡是单个细胞受其内在基因编程调节,通过主动生化过程而自杀死亡的现象,又称程序性细胞死亡(PCD)。目前认为它在机体正常发育及衰老等过程起重要作用^[1]。细胞凋亡在胚胎发育、肿瘤、免疫等方面研究较为深入,在骨吸收、骨生成、骨质疏松等方面研究则是最新热点^[2]。以下就骨质疏松与细胞凋亡关系作一综述。

一、成骨细胞、骨细胞凋亡与骨质疏松

研究证实随年龄增长,存活骨细胞减少。测得10~29岁青年存活骨细胞约88%。而到70~89岁老人存活骨细胞仅有58%^[3]。以往认为随个体年龄增长,骨细胞坏死超过其生成,导致存活骨细胞总数减少。Tobias^[4]较早提出骨细胞可能发生凋亡。骨细胞的凋亡与骨质疏松关系如何,目前有一些报道。

1. 雌激素:Tomkinson等^[5]用促性腺激素释放激素类似物治疗子宫内脱位症的未绝经妇女。随着治疗的进行,患者雌激素水平降到绝经后水平。从髌骨收取标本,检测发现骨陷窝内存活骨细胞已平均减少8.6%。应用原位缺陷翻译技术(*in situ* nick translation)发现DNA片段增加374.9%。在琼脂糖凝胶电泳技术中可见凋亡细胞的特异DNA带。组织学检测可见染色体浓缩,核分裂等凋亡细胞特有的形态。作者推测大量骨细胞凋亡将导致骨皮质疏松,压力应力减弱,从而导致患者发生绝经后骨质疏松。

2. 糖皮质激素:糖皮质激素是公认可导致骨质疏松的激素,其作用机理传统认为与钙吸收降低成骨细胞功能抑制有关。Weinstein等^[6]将糖皮质激素用于大鼠,复制出骨质疏松模型,在其基础上检测发现,股骨骨髓腔内成骨细胞的前身:成骨细胞集落形成单位(colony forming unit osteoblast, CFU OB)细胞群大大减少,相应的在椎骨标本上,凋亡的成骨细胞和骨细胞大大增多,而没有见到破骨细胞凋亡的现象。在两例糖皮质激素应用后骨质疏松患者的骨标本可见较多的凋亡成骨细胞和凋亡骨细胞,而在正常人群中却未发现这种现象。这提示糖皮质激素所致骨质疏松很可能与其促进成骨细胞和骨细胞凋亡有关。

作者单位:210009 南京铁道医学院附属医院(陈海);南京大学医学院附属鼓楼医院(宋知非)

在人类太空飞行中,宇航员常发生骨质疏松。Sarkar^[7]在模拟太空环境中进行成骨细胞培养,发现大量成骨细胞凋亡。Sarkar推测,这是宇航员常发生骨质疏松的重要原因。

二、破骨细胞凋亡与骨质疏松

在研究破骨细胞凋亡与骨质疏松关系时,目前常用的方法是用临床上治疗骨质疏松的药物或激素,研究其对体外培养的破骨细胞的影响。

1. 雌激素及其类似物:绝经、去势后骨质疏松发生率大大增加,而用雌激素代替疗法可治疗骨质疏松。传统认为雌激素减少会影响骨基质的形成,骨对甲状旁腺激素(PTH)敏感性增加,进而导致骨质疏松。

Kameda等^[8]研究发现雌二醇可直接抑制体外破骨细胞的活性,仅0.01 nmol/L 17 β 雌二醇即可促使破骨细胞凋亡。雌激素竞争性受体拮抗剂ICI164,384可消除雌激素的这种作用。因此作者推测雌激素对破骨细胞影响是雌激素受体所介导。抗雌激素药物三苯氧胺(TAM)也可竞争雌激素受体而抑制雌激素的促进破骨细胞凋亡的作用。但单独TAM可促使体外破骨细胞凋亡,尤其以顺式TAM更为明显。作者推测这种矛盾可能由于TAM有部分模仿雌激素的功能。而雌激素在临床上可用于治疗骨质疏松^[9]。最近发现Indoxifen也有类似雌激素的促进破骨细胞凋亡的作用,而没有类似雌激素对子宫内脱位的作用,因此用其治疗绝经后骨质疏松,没有增加子宫内脱位发生等并发症^[10]。

2. 二磷酸盐:二磷酸盐已广泛用于治疗骨质疏松,它的药理机理是抑制骨吸收。Reazka^[11]的研究证实双羟磷酸盐可促进破骨细胞凋亡从而起抑制骨吸收的作用。Plotkin^[12]研究证实,二磷酸盐在体外细胞培养中可有效抑制糖皮质激素等引起的成骨细胞凋亡。另外它还可能通过促进巨噬细胞凋亡而起抗炎作用^[13,14]。

三、CFU-GM凋亡与骨质疏松

破骨细胞来自骨髓中粒巨噬细胞形式单位(colony forming unit granulocyte macrophage CFU-GM)。Nirupama等将雌性大鼠行去势手术后,发现大鼠骨髓中CFU-GM显著增多,再给以两周17- β 雌二醇或keoxifene皮下注射后,则大鼠CFU-GM系细胞恢复正常。在去势雌性大鼠骨髓的体外培养基中加入17- β 雌二醇则可使CFU-GM细胞数目下降。组织学技术分析可证实骨髓中细胞发生凋亡。而ICI164,384可抑制17- β 雌二醇的这种促进CFU-GM细胞凋亡的作用^[15]。

四、细胞因子和细胞凋亡

近年来,实验证实多种细胞因子与细胞凋亡有关。

Huges^[16]发现在体外骨髓培养基中加入一定浓度转移生长因子(transforming growth factor- β TGF- β)后破骨细胞凋亡大大增多。此外 α -肿瘤坏死因子、白介素-1 β 单核细胞衍生因子可促进体外培养成骨细胞凋亡。而生长因子(GF)、类胰岛素生长因子(IGF-I)、纤维母细胞生长因子(bFGF)等可保护体外培养成骨细胞免受凋亡。推测正常情况下,骨吸收同时,局部某些细胞因子浓度增高,以保护成骨细胞不受凋亡,建立正常骨代谢^[17,18]。绝经期妇女往往由于雌激素水平下降,局部细胞因子失调,破骨细胞活性增强导致骨质疏松的发生^[20]。

五、免疫性疾病与骨质疏松

在免疫性疾病(如类风湿关节炎),推测由于细胞因子平衡失调,促进了成骨细胞凋亡,这可能与发生骨质疏松有关^[18]。Nakashima等^[21]发现正常成骨细胞表面即有Fas抗原存在,它可被多种因子激活,从而导致该细胞凋亡,活化的外周血单核细胞(peripheral blood monocyte PBMC)可表达膜型Fas配体(membrane Fas ligand, mFasL)、可溶型Fas配体(soluble Fas ligand, sFasL),从而促进成骨细胞凋亡。在体外培养的成骨细胞培养基中加入活化的PBMC可促进成骨细胞凋亡。尽管糖皮质激素在生理情况下可促进成骨细胞凋亡,但在富含活化的PBMC成骨细胞培养基中加入糖皮质激素则可保护成骨细胞免受凋亡。这解释了在一些实验研究中,虽然糖皮质激素在生理情况下可促进骨质疏松,但在免疫性疾病(如类风湿关节炎)应用糖皮质激素反而可以减少骨量丢失。

以上实验从多个角度证实骨质疏松的发生与细胞凋亡有关,雌激素等多种治疗药物的药理机制与细胞凋亡密切相关。骨质疏松病因目前尚不明确,细胞凋亡作为一种新的病因假说值得进一步探讨。

参 考 文 献

- Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Programmed cell death in animal development. *Cell*, 1997, 88:347.
- Warner HR, Hodes RJ, Pocinski K. What does cell death do with ageing? *J Am Geriatr Soc*, 1997, 45:1140.
- Dunstan CR, Somers N, Evans R. Osteocyte death and hip fractures. *Calcif Tissue Int*, 1993, 53:s113.
- Tobias J, Chamber TJ. Glucocorticoids impair bone resorptive activity and viability of osteoclasts disaggregated from neonatal rat long bones. *Endocrinology*, 1989, 125:1290.
- Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, et al. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Metab*, 1997, 82:3128.
- Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, et al. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. *J Clin Invest*, 1998, 102:274.
- Sarkar D, Nagaya T, Kogak K, et al. Culture in vector-averaged gravity under clinostat rotation results in apoptosis of osteoblastic ROS 17/2.8 cells. *J Bone Miner Res*, 2000, 15:489.
- Kameda T, Mann H, Yuasa T, et al. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone resorbing osteoclast. *J Exp Med*, 1997, 186:489.
- Arnette TR, Lindsay TR, Kilb M, et al. Selective toxic effects of tamoxifen on osteoclasts: comparison with selectives of oestrogen. *J Endocrinol*, 1996, 148:503.
- Nuttall ME, Bradbeer JN, Stroup GB, et al. Idoxifen: a novel selective estrogen receptor modulator prevents bone loss and lowers cholesterol levels in ovariectomized rats and decreases uterine weight in intact rats. *Endocrinology*, 1998, 139:5224.
- Reszka AA, Halasy Nagy JM, Masarachia PJ, et al. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mull kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinesis. *J Biol Chem*, 1999, 274:34967.
- Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest*, 1999, 104:1363.
- Rodan GA. Mechanisms of action of bisphosphonates. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1998, 38:375.
- Huge DE, Wright KR, Uy HL, et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclast *in vitro* and *in vivo*. *J Bone Miner Res*, 1995, 10:1478.
- Nirupama K, Shevde J, Wesley Pike. Estrogen modulates the recruitment of myelopoietic cell progenitor in rat through a stromal cell-independent mechanism involving apoptosis. *Blood*, 1996, 87:2683.
- Huges DE, Wright KR, Mundy GR, et al. TGF induces osteoclast apoptosis *in vitro*. *J Bone Miner Res*, 1994, 9(Suppl 1):s138.
- Hill PA, Tumber A, Meikle MC, et al. Multiple extracellular signals promote osteoblast survival and apoptosis. *Endocrinology*, 1997, 138:3849.
- Kawakami A, Eguchi K, Matsuoka N, et al. Fas and Fas ligand interaction is necessary for human osteoblast apoptosis. *J Bone Miner*, 1997, 12:1637.
- Tsuboi M, Kawakami A, Nabeshima T, et al. Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β increase the Fas-mediated apoptosis of human osteoblasts. *J Lab Clin Med*, 1999, 134:222-231.
- Schacht E. Rationale for treatment of involutional osteoporosis in woman and for prevention and treatment of corticosteroid-induced osteoporosis with alfacalcidol. *Calcif Tissue Int*, 1999, 65:317.
- Nakashima T, Sasaki Hitoshi, Tsuboi Masahiko. Inhibition effect of glucocorticoid for osteoblast apoptosis induced by activated peripheral blood mononuclear cells. *Endocrinology*, 1998, 139:2032.