

绝经后激素替代治疗的妇女发生骨质疏松时某些细胞因子水平的改变

单春艳 郑少雄 陈莉明 J. Y. Reginster

【摘要】 目的 旨在探讨健康和骨质疏松的激素替代治疗的绝经后妇女中全血细胞产生某些细胞因子水平的不同,论证这些细胞因子与绝经后骨质疏松的关系。对象 43名白人绝经后立即激素替代治疗的妇女,分为骨质疏松组($n=12$)和正常对照组($n=31$)。取全血,一半不作处理,作为对照组,一半加入多克隆的刺激剂,作为刺激组,培养4h或72h后,使用ELISA法测定细胞因子IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN- γ , GM-CSF和ILF。结果 在骨质疏松的绝经后激素替代治疗妇女中,较之无骨质疏松的同组人群,细胞因子IL-6水平升高,IFN- γ , LIF水平降低。结论 虽然同样绝经后即开始激素替代治疗,一些妇女依旧发生骨质疏松,本研究发现IL-6在这部分病人中可能是一种致病因素,而TNF- γ , LIF是一种保护因素。

【关键词】 绝经后骨质疏松; 激素替代治疗; 细胞因子

Changes of cytokines in postmenopausal osteoporotic women under hormone replaccment therapy SHAN Chunyan, ZHENG Shaoxiong, CHEN Liming, et al. Tianjin Metabolic Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

【Abstract】 Objective To investigate the difference in the ability of the whole blood cells to excrete some cytokines between the healthy and osteoporotic postmenopausal females under hormone replacement therapy (HRT). **Methods** 43 postmenopausal female Caucasians under HRT were assigned to osteoporosis group ($n=12$) and the normal control group ($n=31$). Whole blood was collected; one half of the blood was left as control, the other was treated with multiclonity stimulant. After culture for 4 hours or 72 hours, levels of IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN- γ , GM-CSF and LIF were assayed. **Results** The level of IL-6 increased and the levels of IFN- γ and LIF decreased in the HRT postmenopausal osteoporotic women, compared with healthy HRT postmenopausal women. **Conclusion** Cytokines play an important role in the postmenopausal osteoporosis.

【Key words】 Postmenopausal osteoporosis; Hormone replacement therapy; Cytokines

绝经后妇女,卵巢功能低下,雌激素不足,使骨质丢失加速,导致骨质疏松。最有效的防治方法应为补充雌激素,由于雌激素可以预防和治疗骨质疏松,减少骨折,特别是减少髌部骨折,美国食品和药品管理机构(FDA)批准口服短效型雌激素用于治疗骨质疏松。然而一些“健康”妇女虽然绝经后立即进行激素替代治疗依旧发生骨质疏松。说明一些其他危险因素在起作用,例如:甲状旁腺激素,降钙素水平的改变,钙摄取的情况等。许多研究表明,细胞因子是介导骨质疏松发病的一个重要因素。这些细胞因子包括:白介素-1 β (IL-1 β),白介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),干扰素- γ (IFN- γ),粒单核细胞

集落刺激因子(GM-CSF),白血病抑制因子(LIF)等。本研究旨在探讨健康和骨质疏松的激素替代治疗的绝经后妇女中全血细胞产生IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF和LIF水平的不同,论证这些细胞因子与绝经后骨质疏松的关系。

材料和方法

1. 对象:本研究对象为43名白人绝经后妇女,绝经两年以上开始激素替代治疗(使用口服短效的雌激素——结合雌激素,每日0.625mg,及醋酸甲羟孕酮,每日2.5mg,连续服用),均无任何如肝病、肾病、免疫性和炎症性疾病等干扰骨代谢的疾病,从绝经后开始,除雌孕激素外没有服用任何预防和治疗剂量的如钙剂、二磷酸盐、维生素D等抗骨质疏松药物,没有服用如糖皮质激素、非甾体类抗炎药、免疫调节剂等影响细胞因子产生的药物。

作者单位:300070 天津,天津医科大学代谢病医院(单春艳、郑少雄、陈莉明);Center for Investigation of Bone and Cartilage Metabolism, University of Liege, Belgium(J. Y. Reginster)

2. 方法:腰椎 L₂-L₄ BMD 由 Krolnen 和 Porsrielsen 创建的同位素双光子吸收法测量。低于年青成人平均值 2.5 个标准差(0.70 g/cm²)者为骨质疏松组(n = 12),0.70 g/cm²水平也与过去定义的骨折阈(这个人群中脊椎骨压缩性骨折妇女腰椎 BMD 分布的第 90 百分位点数值)一致。BMD 值大于等于此水平为正常对照组(n = 31)。所有对象(n = 43)均除外“严重骨质疏松”,即没有前臂远端或髌部骨折史,腰胸椎外放射图像没有骨折。

取全血放入没有内毒素的真空试管,内含肝素(120 IU/管)(Kabitube, KIBI, Upsala, Sweden)并且最多在室温下放置 5 h 后处理,用 RPMI 稀释 10 倍(Gibco, Gent, Belgium),加入 2 mM 谷氨酰胺,100 U/ml 青霉素,100 μg/ml 链霉素,并且分布至 2 ml 的孔中,一半孔不作处理,作为对照组,一半加入多克隆的刺激剂,植物血凝素(PHA HA16 来自 Wellcome Diagnostic, Dartford, UK)最终浓度为 5 μg/ml 和脂多糖(LPS 来自 Salmonella enteritis, Sigma, Stlouss, MO)最终浓度 25 μg/ml,作为刺激组,全部置入 37℃,5% CO₂ 培养箱中。

4 h 或 72 h 后,孔中内容物取出,800 × g 离心 10 min,弃去细胞,收集上清液 -20℃ 保存。4 h 培养的细胞因子 IL-1β, IL-6, TNFα 和 72 h 培养的细胞因子 IFN-γ, GM-CSF 和 LIF,使用 ELISA 法测定,试剂盒来自 Medgenix Diagnostics(Medgenix Diagnostics S. A. Fleuns, Belgium)。

3. 统计学处理:结果以均数 ± 标准差表示,细胞因子为偏态分布,对数转换后为正态分布,所有计算均采用转换数据,组间比较采用 t 检验, P < 0.05

被认为有统计学显著性。

结 果

骨质疏松组和正常对照组在年龄(59.56 ± 6.61 岁 vs 59.73 ± 7.24 岁)上无差别。平均腰椎 DMD 是:骨质疏松组 0.62 ± 0.05 g/cm²,正常对照组 0.78 ± 0.08 g/cm²(P < 0.001)。

细胞因子水平见表 1 和表 2,骨质疏松组和正常对照组之间 IL-6 对照组(P < 0.05),IL-6 刺激组(P < 0.05),水平有显著性差异,骨质疏松组妇女水平较高。两组刺激后 72 h 培养组 IFN-γ(P < 0.05),LIF(P < 0.01),水平有显著性差异,正常对照组水平较高。IL-1β 对照组(P > 0.10),IL-1β 刺激组(P > 0.50),TNF-α 对照组(P > 0.50),TNF-α 刺激组(P > 0.10),GM-CSF(P > 0.20),差异无显著性。IL-1β(r = 0.7125, P < 0.001),IL-6(r = 0.6587, P < 0.001),TNF-α(r = 0.8421, P < 0.001),对照组和刺激组水平正相关,差异有显著性。

表 1 激素替代治疗的绝经后妇女的 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平

项目	组别	正常对照组	骨质疏松组
		n = 31	n = 12
IL-1β (pg/ml)	4 h 对照组	35.198 ± 7.769	47.048 ± 14.912
	4 h 刺激组	93.887 ± 12.455	81.970 ± 10.868
IL-6 (pg/ml)	4 h 对照组	830.524 ± 151.595	1448.178 ± 214.344*
	4 h 刺激组	1031.032 ± 192.794	1766.432 ± 225.563*
TNF-α (pg/ml)	4 h 对照组	1515.570 ± 140.324	1832.445 ± 358.946
	4 h 刺激组	3649.951 ± 282.324	3866.375 ± 573.593

表 2 激素替代治疗的绝经后妇女的 IFN-γ、GM-CSF 和 LIF 水平

项目	组别	正常对照组(n = 31)	骨质疏松组(n = 12)
INF-γ(IU/ml)	72 h 刺激组	2575.230 ± 332.996	1363.142 ± 346.249**
GM-CSF(pg/ml)	72 h 刺激组	4580.322 ± 410.368	3606.875 ± 941.319
LIF(IU/ml)	72 h 刺激组	288.670 ± 30.863	178.370 ± 23.701**

注:与正常对照组比较* P < 0.05,** P < 0.01

讨 论

IL-6 是著名的骨吸收细胞因子,参与绝经后骨质疏松的发病,IL-6 受雌激素的抑制性控制。IL-6 对骨代谢的作用是通过调节破骨细胞和成骨细胞发育和功能实现的。雌激素对 IL-6 的作用机制可能为:①雌激素下调成骨细胞和骨髓细胞的 IL-6 的基因表达。②雌激素直接抑制 IL-6 功能。有研究证

实,IL-6 基因位点上基因的不同与绝经后妇女 BMD 有关^[1]。

LIF 被认为通过抑制破骨细胞发育及调节成骨细胞功能影响骨代谢。研究发现雌激素能在转录水平调节 LIF 的产生^[2]。INF-γ 作为增殖抑制剂减少整个破骨细胞的数目^[3]。IL-1, TNFα 都刺激破骨细胞活性,但 INF-γ 抑制这些细胞因子刺激的破骨细胞活性。其可能机制为:① IL-1 或 TNF-α 刺激的骨

吸收作用是由成骨细胞所产生的破骨细胞激活因子所调节的。IFN- γ 是人成骨细胞的强烈抑制剂^[4]。②骨吸收和成骨样细胞的胶原酶产生密切相关,刺激骨吸收的因子,可以使类成骨细胞的胶原酶分泌增加,而 IFN- γ 可以阻断其增加^[5]。以及一些其他机制。继发于雌激素减少的 TNF 和 IL-1 产生增多参与绝经后骨质疏松,这些细胞因子可能直接和间接通过成骨细胞,刺激破骨细胞前体增殖和激活成熟破骨细胞的形成。

骨微环境细胞因子水平的改变,与检测到的血中细胞因子水平相关,本研究检测在绝经后激素替代治疗妇女中发生与不发生骨质疏松的两组人群,某些细胞因子水平的改变。诊断标准采用最近的 WHO 定义。使用全血细胞在暴露于多克隆刺激因子后产生细胞因子的实验模型^[6]。本研究发现,在骨质疏松的绝经后激素替代治疗妇女中,较之无骨质疏松的同组人群,细胞因子 IL-6 水平升高,IFN- γ , LIF 水平降低。虽然同样绝经后立即开始激素替代治疗,一些妇女依旧发生骨质疏松,说明一些其他致病因素在起作用。细胞因子是一个非常重要的机

制,本研究发现 IL-6 在这部分病人中可能是一种致病因素,而 IFN- γ 、LIF 是一种保护因素。

参 考 文 献

- 1 Abrahamsen B, Shalhoub V, Larson EK, et al. Cytokine RNA levels in transilac bone biopsies from healthy early postmenopausal women. *Bone*, 2000, 26: 137-145.
- 2 Bamberger AM, Erdmann I, Bamberger CM, et al. Transcriptional regulation of the human leukemia inhibitory factor' gene: modulation by glucocorticoids and estradiol. *Mol Cell Endocrinol*, 1997, 127: 71-79.
- 3 Klaushofer K, Horandner H, Hoffmann O, et al. Interferon gamma and calcitonin induce differential changes in cellular kinetics and morphology of osteoclasts in cultured neonatal mouse calvaria. *J Bone Miner Res*, 1989, 4: 585-606.
- 4 Hattersley G, Dorey E, Horton MA, et al. Human macrophage colony-stimulating factor inhibits bone resorption by osteoclasts disaggregated from rat bone. *J Cell Physiol*, 1988, 138: 199-203.
- 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 William B, Ershlew MD. Interleukin-6: a cytokine for gerontologists. *J Am Geriatr Soc*, 1993, 41: 176-181.

(收稿日期:2002-02-06)