

骨髓脂肪细胞生成及其在骨质减少性疾病中的意义

万超 杨庆铭 邓廉夫

骨髓基质系统由基质细胞谱系构成,包括未分化的基质干细胞及定型分化的脂肪细胞、成骨细胞、造血支持细胞等多种细胞类型。在定型分化的细胞中,以脂肪细胞最为丰富。骨髓脂肪细胞生成在机体的能量储存、骨代谢、脂肪代谢、造血支持中发挥重要的病理生理学作用。尤其因增龄、绝经、代谢性异常等导致的多种骨质减少性疾病中,骨体积的减少则伴随骨髓脂肪成分的增加,脂肪细胞生成是骨质减少性疾病中的重要并发症。笔者旨就骨髓脂肪细胞功能、分化机制及其在骨质减少性疾病发生机理及临床治疗中的意义作一综述。

一、骨髓脂肪细胞的病理生理学功能

对骨及骨髓器官发生的研究证实,胚胎及新生儿的骨髓中不含脂肪细胞,因充满红细胞而称为“红骨髓”。出生后,骨髓中脂肪细胞开始形成,其数量和大小随年龄的增长呈线性增加;至成人时,逐渐变为“黄骨髓”,占据骨髓腔容积的50%以上;至老年人,四肢长骨髓腔中的脂肪细胞则占据90%以上。通常,骨髓基质中脂肪细胞的生成与骨骼的发育阶段、年龄、造血组织的水平等多种因素相关,具有多方面的病理生理功能。如发挥被动作用以充填不再需要造血组织生成的髓腔空间;参与机体的脂肪代谢,消除存在于血液循环中的甘油三酯;在造血组织生成或骨形成受到影响的病理情况(如失血、骨折)下,发挥局部能量储存库的作用;脂肪细胞与其它基质细胞间存在表型重叠,在造血过程中充当促进血细胞成熟的支持细胞,在骨形成过程中充当成骨细胞^[1,2];脂肪酸氧化是支持氧化代谢的乙酰辅酶A的主要来源,在破骨细胞能量代谢中发挥活化作用^[3];在增龄或骨质疏松、骨坏死、成骨不全等病理状态下,骨体积减少伴随骨髓脂肪成分增加,骨髓基质干细胞的数量及其分化模式也随之发生变化。对成纤维细胞克隆形成单位(CFU-Fs)的分析表明,老年小鼠骨髓中的基质干细胞数量明显少于幼年小鼠^[4];在加速衰老小鼠模型(SMAP6)中,成骨细胞生成减少,伴随骨髓造血功能的增强及脂肪细胞数量的增加^[5]。在卵巢切除大鼠中,雌激素水平的降低导致骨体积减少、骨表面吸收增加,同时伴随骨髓脂肪体积的增加^[6]。临床研究也表明,绝经后骨

质疏松症病人骨髓中脂肪成分增加,骨小梁体积减少,与雌激素水平的降低直接相关。对于激素性股骨头坏死的研究表明,使用类固醇诱发的脂肪细胞数量增多、体积增大可能是骨坏死的重要发病机理。发现在外源性类固醇作用下,股骨头内的骨髓基质干细胞分化为脂肪细胞,“干细胞库”不能提供足够的成骨细胞以满足坏死骨的修复和重建^[7]。目前认为,脂肪细胞生成是骨质减少性疾病发生发展的重要机制,此时的脂肪细胞可由骨髓基质干细胞分化而来,也可能在某个“触发点”由成骨细胞通过“转分化”(Trans-differentiation)转变而来,或由成骨细胞去分化(dedifferentiation),返回至未分化状态,再分化(redifferentiation)为脂肪细胞。因此,脂肪细胞可作为治疗干预的靶细胞,通过抑制脂肪细胞的生成,为骨质疏松症、骨坏死、成骨不全等骨质减少性疾病开创新的防治手段。

二、骨髓脂肪细胞的分化

骨髓脂肪细胞由出生后髓腔中的基质干细胞分化而来,并受一系列转录因子的调控。研究证实,在脂肪细胞分化过程中,骨髓基质细胞表达CCAATT加强子连接蛋白(C/EBP)和过氧化物酶体增殖物活化受体(PPAR)基因。其中,过氧化物酶体增殖物活化受体(PPAR)属配体活化转录因子核受体超家族成员,在脂肪细胞分化的早期表达,并与CCAATT加强子连接蛋白 α (C/EBP α)协同调节脂肪细胞分化的一系列级联反应^[8]。过氧化物酶体增殖物活化反应元件(PPRE)位于与甘油三酯代谢相关的几种酶的启动子区域^[9]。启动子分析表明,转录因子间存在反馈环,如PPAR γ 启动子中含有C/EBP和肝脏核因子3(HNF3)的连接位点。HNF3属freak(forkhead related activators)蛋白家族成员,调控脂肪细胞标记基因脂蛋白脂酶(LPL)基因的表达^[10]。脂肪细胞定型分化依赖因子1(ADD1)、甾醇调节元件连接蛋白1(SREBP-1)也是脂肪细胞分化的转录因子,可调节低密度脂蛋白受体基因的转录^[11]。另外证实,上述转录因子的强制表达,可使非脂肪细胞发生表型转化,如将C/EBP α 和/或PPAR γ 2基因转染至成纤维细胞,则成纤维细胞转变为脂肪细胞^[12];PPAR γ 和C/EBP α 联合转染可抑制C8成肌细胞的肌细胞表型,而呈现脂肪细胞表型^[13]。

三、骨髓脂肪细胞生成的调控因子、作用靶点及其临床意义

1. 脂肪细胞分化的调控因子

目前已知,至少3种主要的生长因子家族调节骨髓基质

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070759);上海科委曙光计划资助项目(30000SG42)

作者单位:200025 上海,上海市伤骨科研究所、上海第二医科大学附属瑞金医院骨科

细胞的分化,包括类固醇、转化生长因子 β (TGF- β)、前炎症细胞因子。这些因子介导骨髓基质脂肪细胞和成骨细胞之间的细胞因子通讯网络。如胰岛素、1-甲基-3-异丁基-黄嘌呤(IBMX)、糖皮质激素、生长激素、噻唑烷二酮(thiazolidinediones, TZD)等可诱导脂肪细胞分化,而这一过程可被白细胞介素(IL)-1 β 、维甲酸、转化生长因子(TGF)- β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 所拮抗。

业已证实,多种外源性激素是骨髓脂肪细胞分化的调控因子。体内研究表明,高剂量糖皮质激素可导致骨量减少,刺激脂肪细胞分化;而类固醇激素体外诱导还可促进人、犬骨髓基质干细胞向成骨细胞分化,如地塞米松诱导成骨特异性或相关基因如碱性磷酸酶(ALP)、骨桥蛋白、骨钙素、核心蛋白多糖(decorin)、二聚糖(biglycan)的表达,加入1,25(OH) $_2$ D $_3$ 可加强地塞米松的作用,并获得最大量骨钙素和骨桥蛋白mRNA的表达^[14]。然而,1,25(OH) $_2$ D $_3$ 对脂肪生成的作用仍存争议,如单纯使用1,25(OH) $_2$ D $_3$ 或再合并地塞米松可刺激原代培养的大鼠颅盖骨成骨细胞的脂肪生成^[15];而同时使用1,25(OH) $_2$ D $_3$ 和糖皮质激素可拮抗大鼠骨髓基质细胞、小鼠颅盖骨成骨细胞或骨髓基质细胞的脂肪生成^[16]。雌激素具有骨生成增效剂和脂肪细胞生成拮抗剂的作用。研究表明,人骨髓脂肪细胞表达细胞色素酶P450和芳香酶,可使血液循环中的雄激素转化为雌酮或雌二醇,这样脂肪细胞便充当局部雌激素的来源,可部分补偿雌激素的丢失^[17]。有人提出,外源性雌激素可使大鼠骨髓外脂肪细胞体积减少、代谢活性降低,并推测骨髓基质细胞也可能呈现相似的反应。因此,雌激素可能通过拮抗脂肪细胞生成、维持成骨细胞表型的机制而发挥治疗骨质疏松症等骨质减少性疾病的作用。

TGF- β 超家族成员(TGF- β 、BMPs)是强效的骨生成增效剂。各种浓度的TGF- β 均是脂肪生成的拮抗剂^[18];BMPs则呈现剂量依赖作用,低剂量BMPs可促进脂肪细胞分化,而较高剂量则呈现抑制作用^[19]。而且,骨髓前脂肪细胞和脂肪细胞均表达BMPs和TGF- β 样生长因子的受体。

在骨髓微环境中,多种前炎症细胞因子调节骨吸收与骨重塑,巨噬细胞谱系产生大部分肿瘤坏死因子(TNF α)和白介素1(IL-1),骨髓基质源性细胞则是含有gp130受体的细胞因子的主要来源^[20]。体外条件下,TNF α 、IL-1、PGE $_2$ 、PTH可刺激骨髓基质干细胞表达IL-6、IL-11,进而通过造血祖细胞刺激破骨细胞的分化,促进骨吸收,雌激素则部分拮抗这一作用^[21];同时,IL-6、IL-11以及其它含有gp130受体的细胞因子可通过自分泌作用抑制骨髓基质细胞的脂肪生成,是有效的脂肪生成拮抗剂^[22]。

2. 作用靶点

受体蛋白可作为药物调控骨髓基质细胞分化的靶分子。已经证实,可调节基质细胞分化的受体包括核激素受体(过氧化物酶体增殖物活化受体PPARs、糖皮质激素受体GR、雌激素受体ER、雄激素受体AR、维生素D $_3$ 受体VDR)、跨膜激酶受体(骨形态发生蛋白受体/丝氨酸-苏氨酸激酶、leptin受体/酪氨酸激酶)、G-蛋白偶联受体(谷氨酸受体、甲状旁

腺激素受体)等。

体内、外研究均证实,与PPARs、糖皮质激素、雌激素、雄激素、VD $_3$ 受体结合的配体可调节骨髓基质细胞的脂肪生成和骨生成。如糖皮质激素的应用可导致骨丢失伴随骨髓脂肪增加,并设想骨髓脂肪细胞数量的增加与体积的膨大阻止了骨的血供,导致骨坏死或骨折。组织选择性核激素受体配体如PPAR或糖皮质激素受体拮抗剂,在促进骨髓基质细胞成骨性定型分化的同时阻止骨髓脂肪细胞的生成^[23]。表明通过阻断过氧化物酶体增殖物活化受体途径的药物可抑制脂肪细胞的生成。

骨形态发生蛋白受体和leptin(瘦素)受体是调节骨髓基质细胞分化的两种激酶受体复合物。骨形态发生蛋白受体作为一种异二聚体丝氨酸苏氨酸激酶,其I型成分具有多种亚型。其中,结构活性BMP I B受体的转染可促进骨髓基质细胞分化为成骨细胞,而BMP I A受体的转染则促使骨髓基质细胞向脂肪细胞分化。而且,将该受体的结构阴性形式导入未定型分化的基质细胞,能可逆性调节其表型。截断性BMP I A受体转染导致骨生成,而截断性BMP I B受体转染导致脂肪生成^[24]。因此,选择性结合BMP I型受体亚型的配体可调节骨髓基质细胞谱系的分化方向。骨髓脂肪细胞分泌的leptin,是一种活化骨髓基质细胞跨膜酪氨酸激酶受体的细胞因子^[25]。已知leptin受体具有多种亚型,短片段缺乏长片段所具有的胞浆酪氨酸激酶结构。通常认为,存在于下丘脑的leptin通过其受体长片段形式发挥中枢调节食欲的作用,而存在于外周的不同受体亚型对骨髓基质细胞的作用尚不清楚。体外研究证实leptin在阻止骨髓基质细胞向脂肪细胞分化的同时促进其向成骨细胞分化。这与临床上发现的肥胖症儿童血清leptin水平升高、骨量增加一致。体内研究证实,leptin缺陷小鼠(ob/ob)和leptin受体缺陷小鼠(db/db)均因Letin信号转导途径的阻断而导致骨量增加。将leptin注射于ob/ob小鼠脑室内,则导致骨量丢失,提示leptin通过中枢神经系统途径调节骨形成^[26]。可见Leptin在成骨细胞水平发挥促进骨形成作用,而在中枢神经系统则发挥促进骨量丢失作用。因此,Leptin受体除了作为抗肥胖病的靶分子,还可考虑作为防治骨质减少性疾病的靶分子。

G-蛋白偶联受体也调节基质细胞的分化。对转基因和重组缺陷型小鼠模型的研究表明,表达特定的fosB亚型的转基因小鼠呈现骨硬化、骨髓脂肪细胞数量减少,同时与G-蛋白偶联的谷氨酸盐受体相关的中枢神经系统功能发生改变^[27]。基质细胞和成骨细胞均表达谷氨酸盐受体,而且基质细胞具有调节谷氨酸盐摄取、储存、小泡释放所必需的结构;在体外,谷氨酸盐增效剂可调节骨髓基质细胞的脂肪生成和骨生成,表明谷氨酸盐信号转导途径在基质细胞分化中发挥旁分泌作用^[28]。谷氨酸盐对成骨细胞受体的活化有利于骨形成,而中枢神经系统受体的活化可能引发神经性副作用。缺乏甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)基因的杂合型小鼠于成熟前期即发生骨不全,伴随骨髓脂肪增多。体外研究证实,PTHrP通过改变PPAR蛋白的磷酸化状态抑制基质细胞

的脂肪生成,而通过甲状旁腺激素受体的信号转导需要 G-蛋白的偶联^[29]。对 McCune-Albright 综合征(纤维性骨炎)的研究发现,患者骨髓基质呈现异常的纤维发育不良,以非矿化类骨质、骨髓造血支持性基质包括脂肪细胞不能形成特征,并证实该病由刺激性 G-蛋白(Gs) α 亚单位的错义突变所导致^[30];在进行性骨发育异常疾病(POH)也发现相同的 G-蛋白突变,而且这些病人的皮下脂肪组织出现异位骨化^[31];另有证实,Gs 蛋白 α 亚单位的反义寡核苷酸序列可促进成纤维细胞向脂肪细胞的分化^[32],均表明 G-蛋白在基质细胞的定型分化中发挥调控作用。

因此,研制调控骨髓基质干细胞向成骨细胞方向分化、抑制向脂肪细胞分化的药物是防治骨质减少性疾病药物设计的重要方向。作用于受体蛋白的药物可有效抑制骨髓脂肪生成、促进骨形成,然而,亦存在不少问题,如瘦素(leptin)既可直接作用于成骨细胞表面受体促进骨形成,又可通过中枢神经系统(下丘脑)引起骨丢失;谷氨酰胺既可通过活化成骨细胞受体促进骨形成,又可引发神经性副作用,对于这两种信号途径,重要的是研制不通过血脑屏障的制剂。而且,所设计的药物还必须具有器官选择性,即设计选择性促进骨髓基质干细胞向成骨细胞分化、抑制向脂肪细胞分化,且对骨髓外脂肪组织无副作用的药物才是符合临床要求的。

参 考 文 献

- 1 Gimble JM. The function of adipocytes in the bone marrow stroma. *New Biol*, 1990,2:304-312.
- 2 Gimble JM, Robinson CE, Wu X, et al. The function of adipocytes in bone marrow stroma: an update. *Bone*, 1996,19:421-428.
- 3 Dodds RA, Gowen M, Bradber JN. Microcytophotometric analysis of human osteoclast metabolism: lack of activity in certain oxidative pathways indicates inability to sustain biosynthesis during resorption. *J Histochem Cytochem*, 1994,42:599-606.
- 4 Jiang D, Fei RG, Pendergrass WR, et al. An age-related reduction in the replicative capacity of two murine hematopoietic stroma cell types. *Exp Hematol*, 1992,20:1216-1222.
- 5 Uchiyama Y, Miyama K, Katagiri T, et al. Adipose conversion is accelerated in bone marrow cells of congenitally osteoporotic SAMP6 mice. *J Bone Miner Res*, 1994,9(Suppl.1):365.
- 6 Martin RB, Zissimos SL. Relationships between marrow fat and bone turnover in ovariectomized and intact rats. *Bone*, 1991,12:123-131.
- 7 Wang GJ, Cui KJ, Balian G. The pathogenesis and prevention of steroid induced osteonecrosis. *Clin Orthop*, 2000,370:295-310.
- 8 Tontonoz P, Hu E, Graves RA, et al. mPPAR γ 2: a tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev*, 1994,8:1224-1234.
- 9 Tontonoz P, Hu E, Devine J, et al. PPAR γ 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Mol Cell Biol*, 1995,15:351-357.
- 10 Pierrou S, Hellqvist M, Samuelsson L, et al. Cloning and characterization of seven human fork head proteins: binding site specificity and DNA bending. *EMBO J*, 1994,13:5002-5012.
- 11 Tontonoz P, Kim JB, Graves RA, et al. ADD1: a novel helix-loop-helix

- transcription factor associated with adipocyte determination and differentiation. *Mol Cell Biol*, 1993,13:4753-4759.
- 12 Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*, 1994,79:1147-1156.
- 13 Hu E, Tontonoz P, Spiegelman BM. Transdifferentiation of myoblasts by the adipogenic transcription factors PPAR γ and C/EBP α . *Proc Nat Acad Sci USA*, 1995,92:9856-9860.
- 14 Beresford JN, Joyner CJ, Davlin C, et al. The effects of dexamethasone and 1, 25 dihydroxyvitamin D3 on osteogenic differentiation of human marrow stromal cells *in vitro*. *Arch Oral Biol*, 1994,39:941-947.
- 15 Leboy PS, Beresford JN, Devlin C et al. Dexamethasone induction of osteoblast mRNAs in rat marrow stromal cell cultures. *J Cell Physiol*, 1991,146:370-380.
- 16 Bellows CG, Wang YH, Heersche JNM, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ stimulates adipocyte differentiation in cultures of fetal rat calvaria cells: comparison with the effects of dexamethasone. *Endocrinology*, 1994,134:2221-2229.
- 17 Frisch RE, Canick JA, Tulshinsky D. Human fatty marrow aromatizes androgen to estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980, 51:394-396.
- 18 Gimble JM, Dorheim MA, Cheng Q, et al. Response of bone marrow stromal cells to adipogenic antagonists. *Mol Cell Bio*, 1989,9:4587-4595.
- 19 Ashina I, Sampath TK, Huaschka PV. Human osteogenic protein-1 induces chondroblastic, osteoblastic, and/or adipocytic differentiation of clonal murine target cells. *Exp Cell Res*, 1996,222:38-47.
- 20 Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. *New Engl J Med*, 1995,332:305-311.
- 21 Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science*, 1992, 257:88-91.
- 22 Gimble JM, Wanker F, Wang CS, et al. Regulation of bone marrow stromal cell differentiation by cytokines whose receptors share the gp130 protein. *J Cell Biochem* 1994,54:122-133.
- 23 Cui Q, Wang GJ, Su SS, et al. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop*, 1997,344:8-19.
- 24 Chen D, Ji X, Harris MA, et al. Differential roles for bone morphogenetic protein(BMP) receptor type IB and IA in differentiation and specification of mesenchymal precursor cells to osteoblast and adipocyte lineages. *J Cell Biol*, 1998,142:295-305.
- 25 Thomal T, Cori F, Khosla S, et al. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinology*, 1999,140:1630-1638.
- 26 Ducy P, Amling M, Takeda S, et al. leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000, 100:197-207.
- 27 Sabatakos G, Sims NA, Chen JS, et al. Overexpression of delta-fosB, a splice variant of FosB, promotes osteoblast differentiation at the expense of adipocytes and increases bone formation. *J Bone Miner Res*, 1999,14 (Suppl. 1):171.

(下转第 369 页)

(PMOP)患者的肾阳虚症状。骨康能促进脾虚模型大鼠康复,并能抑制血瘀模型大鼠血小板的聚集,降低全血粘度、血浆粘度及还原粘度;方药疗效研究显示,骨康能提高骨质疏松症模型动物骨密度、骨矿含量、股骨最大扭矩,提高模型大鼠血清中 E_2 、CT、BCGP 的含量,并能提高绝经后骨质疏松症患者的骨密度^[16-18]。

研究表明,“补肾壮骨、健脾益气、活血通络”这一骨质疏松症的治疗原则是科学、合理的,它对骨质疏松症的中医药治疗具有重要的指导意义。临床应用时应根据病人所表现出来的证候不同灵活运用。

参 考 文 献

- 1 全国十三省市骨矿含量调查合作组. 骨骼生长衰老规律和原发性骨质疏松症预诊的研究. 中国骨质疏松杂志, 1995; 1:1-7.
- 2 王际孝, 林振福, 于庆元, 等. 成年人群骨矿含量及中老年人肾虚对骨矿影响的研究. 中医杂志, 1990, 31: 539-541.
- 3 赵咏芳, 张戈, 史万忠, 等. 骨质疏松症中医证型的初步临床报告. 中医正骨, 1998, 10(5): 9-10.
- 4 谷丽敏, 闫素云, 安胜军, 等. 原发性骨质疏松症的肾虚分型. 河北中西医结合杂志, 1998, 7: 580.
- 5 黄平, 王会仍. 骨质疏松症骨密度测定与中医辨证分型. 浙江中西医结合杂志, 1999, 9: 21-22.
- 6 陈维静, 刘新梅, 廉红真. 中医辩证治疗原发性骨质疏松症(附109例报告). 中医药研究, 1999, 15(3): 29-31.

- 7 魏之玉, 张洪, 朱振铎, 等. 196例原发性骨质疏松症辩证分型. 山东中医学院学报, 1996, 20: 30-31.
- 8 陈大蓉, 唐显著, 郑坤渝, 等. 中药护骨合剂防治绝经后骨质疏松症的临床研究. 中医杂志, 1994, 35: 359.
- 9 梁立, 江正玉, 刘忠厚, 等. 补肾中药治疗骨质疏松症临床观察. 中医杂志, 1992, 33(11): 36.
- 10 李芳芳, 李恩, 佟晓旭, 等. 补肾、健脾和活血化瘀方药对去卵巢大鼠骨质疏松的比较性研究. 中国骨质疏松杂志, 1998, 4(1): 5-9.
- 11 王文健, 沈自尹, 张新民, 等. 补肾法对老年男性下丘脑-垂体-性腺轴的作用的研究. 中医杂志, 1986, (4): 32.
- 12 李炳如, 余运初. 补肾中药对大鼠甲状腺、肾上腺切除后卵巢功能减退的补偿治疗作用. 中西医结合杂志, 1984, 4(4): 227.
- 13 曹飞. 腰椎骨质疏松症治阴为本治阳为标. 新中医, 1994, (12): 32.
- 14 黄勇. 老年性脊柱骨质疏松并压缩性骨折的诊治. 中医正骨, 1992, 4(3): 137.
- 15 王文健. 肾主骨理论与中西医结合治疗骨质疏松症的研究. 中国骨质疏松杂志, 1998, 4(1): 42-44.
- 16 邵敏, 刘庆思, 赵静. 中药骨康防治维甲酸造成大鼠骨质疏松的研究. 湖南中医学院学报, 2000, 20(2): 6-17.
- 17 黄宏兴, 魏合伟, 刘庆思, 等. 中药骨康对去势大鼠血清激素水平变化的影响. 广州中医药大学学报, 1999, 16: 138-142.
- 18 刘庆思, 陈仲泽, 李小依. 骨康胶囊治疗绝经后骨质疏松症 65例疗效观察. 新中医, 1995, 27(10): 31-32. (收稿日期: 2002-04-08)