

老年男性骨质疏松及雌激素受体的研究进展

田军 陶天遵 王凯夫 石义刚 马韵伟 赵志滨

骨质疏松是常见的老年病,由于男性骨质疏松症的发病年龄较女性晚,发病率较女性低,以至对男性骨质疏松症的研究颇为不足。近年来,男性骨质疏松越来越受到广大学者的重视,而骨质疏松的发病机理更成为研究的热点。老年人的骨量不断丢失,并随着年龄的增长而增加。原发性骨质疏松症的发生、发展与内分泌紊乱密切相关,其中雌激素、降钙素、维生素 D、雄激素发挥着重要作用,他们的受体则起着枢纽作用^[1]。而骨量的丢失与性激素的变化是导致骨质疏松的主要因素。传统观点认为:体内雄激素的缺乏及雄激素受体表达的减少在男性骨质疏松中占主要地位。但最近有研究表明,睾丸酮可以在脂肪和骨髓的芳香化酶的作用下转化为雌激素,睾丸酮对骨的作用很大程度上要通过雌激素的介导。并且有资料表明男性骨量的丢失主要相关于雌激素水平的降低,其次相关于雄激素水平的降低^[2]。因此,雌激素受体(ER)的表达就是性激素发挥作用的重要因素。本文就有关文献作一简要综述,以期能进一步展开对老年男性骨质疏松发病机理的研究。

1 雌激素受体的功能、结构

雌激素受体属于能与小分子疏水配体结合的核受体超家族成员,是激素调节的转录因子的主要代表。它可分为 ER α 和 ER β 两个型^[3]。ER α 基因位于人 6 号染色体上。它主要翻译产生分子量为 66 KD 的蛋白质。ER α 由 596 个氨基酸组成。它包括 5 个独立并具有特殊功能的 A/B、C、D、E、F 区域构成。中央 C 区是 ER α 的 DNA 结合区,主要由两个亚区 C I、C II 构成,每个亚区含有 4 个以上的半胱氨酸和一个 Zn 形成锌指结构。E 区是一功能复合区,其功能包括与配体结合。促进受体形成同源二聚体,与协同激活因子结合形成复合物及配体依赖的转录激

活等功能,所以 E 区又被称为雌激素受体的配体结合区域,A/B 区为配体非依赖性转录激活区。D 区的主要作用是 ER α 在核内的定位。F 区则对 ER α 的转录活性有调节作用。ER α 对靶基因的激活是以其两个转录激活区域 AF-1、AF-2 为中介的,AF-1 位于 A/B 区,AF-2 位于 E 区。在 α 及鼠的组织中均存在由独立基因编码的 ER β ,它由 485 个氨基酸组成,分子量为 54.2 KD,在 C 区与 ER α 有高度同源性,两者与雌激素(E)亲和力相似,且结合到相同的 DNA 位点^[4,5]。ER β 与 ER α 的不同点是细胞末端配基结合点及 N 末端转录激活点。此外 ER β 可与 ER α 形成二聚体。在两者共存的细胞类型内对 DNA 的转录有协同作用^[6]。有关 ER β 的具体作用机制尚待进一步研究。

2 雌激素受体与骨代谢

人在发育期骨密度(BMD)迅速持续增加,30~40 岁达峰值,以后随年龄增加骨量丢失速度加快;补充雌激素后骨量丢失受到有效的抑制,说明雌激素对维持女性骨量起着非常重要的作用。1988 年 Komm,1990 年 Peniser 分别在成骨细胞及破骨细胞上发现了雌激素受体,进一步明确了雌激素对骨细胞的直接作用。1994 年根据 Korach 的研究结果,Smith 首次报道了雌激素受体基因突变的一男性病例(28 岁)。该患者以骨发育障碍和高度的 BMD 降低为特征,BMD 与 15 岁的 BMD 相当,比正常青年骨峰值低 2 SD 以下,这说明雌激素受体在成骨细胞中的表达在老年男性骨质疏松中占有重要作用。

雌激素对维持骨吸收和骨形成之间的平衡有着极其重要的作用。由于雌激素受体在骨细胞内数量少,最初的研究没能在骨中检测到雌激素受体的存在,这使得雌激素对骨的作用长期以来被认为是间接的。随着免疫学、分子生物学的进步,人们应用更敏感、更先进的技术,例如免疫组化、半定量的逆转录多聚酶链式反应(RT-PCR)、原位杂交(ISH)及原位杂交多聚酶链式反应(IS-RT-PCR)等,发现雌激素

作者单位:150056 哈尔滨医科大学二院骨外科(田军、陶天遵、王凯夫、石义刚);黑龙江邮电医院骨外科(马韵伟);黑龙江宜春市第一医院骨科(赵志滨)

受体存在于人的骨髓基质细胞、成骨细胞、破骨细胞中。

2.1 雌激素受体与成骨细胞

雌激素受体存在于成骨细胞中,揭示了雌激素对骨的直接作用。1996 年 Sutherland 等用蛋白质印迹及 RNA 印迹方法证明人成骨样 SaOS-2 细胞中存在雌激素受体。而碱性磷酸酶的活性与其水平有关,并指出雌激素并不影响雌激素受体 mRNA 的水平,有可能是通过提高其移动的速率及抑制其降解来提高雌激素受体水平的。此后 Heape 等^[7]证实,在成骨细胞增殖分化过程中一直伴随着雌激素受体 mRNA 的表达。雌激素能提高 ALP、OC 及 TGF- β mRNA 的表达,并加快细胞外基质矿化。上述作用能被雌激素受体拮抗剂 IC 1182,780 所阻断,说明雌激素是通过受体结合途径起作用。Bondine 等^[8]用 RT-PCR 的方法进一步观察到雌激素受体 mRNA 水平在成骨细胞增殖初期较低,当碱性磷酸酶出现时雌激素受体 mRNA 表达迅速增强,到骨钙素分泌达到最高峰时,其水平达最大值,矿化期之后雌激素受体 mRNA 水平随 ACP 及 OC mRNA 水平下降而下降,证实了雌激素受体在成骨细胞中的作用具有有时相性及量效关系。

2.2 雌激素受体与破骨细胞

1996 年 Shevde 等^[9]在去势大鼠模型上证明,雌激素可通过受体结合途径,直接抑制破骨细胞前体形成细胞—骨髓造血干细胞(FU-GM)的募集、分化,从而抑制破骨细胞活性;并利用细胞形态学方法证明雌激素的这种作用是通过影响细胞周期、诱导细胞凋亡来实现的。另外有研究发现在破骨细胞前体中有 ER α 的表达,但是在破骨细胞成熟和骨吸收时 ER α 表达消失。这一现象表明 ER α 的表达和调控可能在破骨细胞形成中发挥重要作用^[10,11]。

3 雌激素受体的作用途径

男性成骨细胞内雌激素受体的作用途径尚不清楚,可能的作用途径有 3 种:

3.1 雌激素直接进入细胞内与雌激素受体结合,变构后进入细胞核与特异的 DNA 序列结合,促进特异的 mRNA 合成。

3.2 雌激素经 P 450 芳香化酶作用,芳香化为雌激素,然后与雌激素受体结合,调节骨代谢。

3.3 最近有研究表明,雌激素与雌激素受体的结合间接调节骨的代谢^[12,13],即通过骨微环境中的局部调节因子介导。这些因子在骨微环境中以自分泌、

旁分泌方式产生,包括白介素-6(IL-6)、类胰岛素样生长因子系统(IGFS)、转化生长因子(TGF- β)、成纤维细胞因子(FGF)等调节因子,通过调节这些局部调节因子的产生来调控骨代谢过程^[14]。

4 雌激素受体基因与骨质疏松

随着分子生物学水平不断提高,对雌激素受体基因的研究成为热点。流行病学资料表明:体内雌激素水平高低与骨质疏松的发生并无相关性,其骨质疏松的发生可能与 ER 改变有关。这表明 ER 在骨质疏松发生中有重要作用,ER 基因突变可导致 BMD 降低,ER 基因突变可能是某些患者发生骨质疏松的遗传学基础。

4.1 雌激素受体基因多态与骨密度关系

目前已发现,根据 ER 基因存在 PvuII 和 XbaI 2 个多态酶切位点;酶切可分别产生以下基因型:PP、Pp、pp,XX、Xx、xx。研究表明,ER 基因多态与男性骨质疏松的发生存在相关性。Ongphiphadhanakul 等^[15]测定 81 名年龄在 20~81 岁的男性腰椎前后位(AP)及侧位、股骨颈、股骨转子、Ward's 三角、桡骨远端及中部 BMD,ER 基因多态只与腰椎 L₂₋₄ AP BMD 相关($P < 0.05$);PP 基因型者 BMD 高,pp 型者 BMD 相对较低,而与体内雌激素水平无相关性。分析原因可能是 PvuII 多态性与 ER 编码区内其他核苷酸变化连锁不平衡,或者 ER 基因多态与性别相关;由于不同部位骨骼 ER 对雌激素应答存在位点特异性差别,PP 基因型与腰椎 L₂₋₄ AP BMD 相关。

而 Lorentzon 等^[16]测定 90 名健康高加索青春男性(年龄 16.9 ± 0.3)体内雌激素水平,并分析 ER 基因与 BMD 关系,结果发现:XbaI 基因型与全身、头骨 BMD 及脊柱 vBMD(容积 BMD)相关($P \leq 0.05$),xx 基因型比 Xx 基因型者脊柱 vBMD($P = 0.04$)雌激素水平与 BMD 无相关性。这提示 ER 基因多态对于决定青春期男性峰值骨量和 BMD 有重要意义。

ER 基因内含子多态性可通过以下机制影响骨代谢:①内含子多态可能与外显子突变连锁而引起 ER 蛋白功能改变,或其他内含子或调节单元突变连锁而通过转录调节影响表达蛋白水平;②ER 基因多态可能与另一邻近的基因突变连锁直接或间接引起 BMD 降低^[17]。

4.2 雌激素受体基因突变与 BMD 关系

ER 位点的遗传学标记与骨代谢的关系已被分子生物学研究证实,雌激素受体基因突变可引起 BMD 降低。Smith^[18]报道—28 岁男性雌激素受体基

因外显子 2 上第 157 位密码子无义突变(胞嘧啶变为胸嘧啶, 导致 CGA, 成为终止密码子)的病例, 尽管其体内雌激素水平比正常人高 10 倍, 但其腰椎骨密度仅为 0.745 g/cm^2 , 低于同龄正常人 3.1 SD , 骨转换增加。这是雌激素通过其受体发挥维持骨骼成熟及态化作用的例证, 提示雌激素对于男女性骨骼发育和骨量维持都必不可少。

综上所述, 在老年男性骨质疏松症中, 雌激素受体在调节骨代谢方面有着重要的作用。进一步认清雌激素受体的作用途径, 和其在骨质疏松症中水平及功能的变化, 以及如何能促进成骨细胞中雌激素受体的表达, 是临床医生诊断和治疗骨质疏松症的关键所在, 并且是为新药物的开发提供新的理论基础。

【参 考 文 献】

- [1] 刘忠厚, 主编. 骨质疏松学, 北京: 科学出版社, 1998: 142.
- [2] 金世鑫. 男性骨质疏松症诊断和治疗. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6(3): 72-75.
- [3] Kuiper G, Enmark E, Peltö Huikko M, et al. Cloning of a novel estrogen receptor expression in rat prostate and ovary. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 5925-5930.
- [4] Peter VN, Ruth A, Henderson JG, et al. Estrogen receptor α is developmentally regulated during osteoblast differentiation and contributes to selective responsiveness of gene expression. Endocrinology, 1998, 139: 2048-2057.
- [5] Salman MH, Constance C, George MS, et al. Interaction of human estrogen receptor α and β with the same naturally occurring estrogen response elements. Biochem Pharmacol, 1999, 57: 597-601.
- [6] Enmark E, Peltö HM. Human estrogen receptor β gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 4258-4265.
- [7] Qu Q, Peralta HM, Kapanen A, et al. Estrogen enhances differentiation of osteoblasts in mouse bone marrow culture. Bone, 1998, 22: 201-209.
- [8] Westerlind KC, Wronski TJ, Ritman EL, et al. Estrogen regulates the rate of bone turnover but bone balance in ovariectomized rats is modulated by prevailing mechanical strain. Proc Natl Acad Sci, 1997, 94: 4199-4204.
- [9] Mano H, Yuasa T, Kameda T, et al. Mammalian mature osteoclast as estrogen target cells. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 223: 637-642.
- [10] Mano H, Yuasa T, Kameda T, et al. Mammalian mature osteoclast as estrogen target cells. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 223: 637-642.
- [11] Oreffo R, Kusec V, Virdi AS, et al. Expression of estrogen receptor α in cells of the osteoclastic lineage. Histochem. Cell Biol, 1999, 111: 125-133.
- [12] Abu EO, Homer A, Kusec V, et al. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 3493-3497.
- [13] Saito H, Yanihara T. J Int Med Res, 1998, 26: 1-12.
- [14] 孙磊. 骨再建局部调节因子与骨质疏松. 国外医学老年分册, 1999, 20(2): 52-55.
- [15] Ongphiphadhanakul B. Clinica Endocrinology, 1998, 49: 803-809.
- [16] Lorentzon M. J Clin Endocrinol Metab. 1999, 84: 4597-4601.
- [17] Vanderschueren D, Van Herck, De Coster, et al. Aromatization of androgens is important for skeletal maintenance of aged male rats. Calcif Tissue Int, 1996, 59: 179-183.
- [18] Smith EP. N Eng J Med, 1994, 331: 1056-1061.