

细胞因子对骨代谢的调节

周振雷 陶庆树 胡丹 侯加法

骨组织是循环、免疫、心血管系统重要的组成部分,对于维持机体正常的功能具有重要的作用。骨代谢的平衡的维持需要破骨细胞(osteoclast, OC)引发的骨吸收和成骨细胞(osteoblast, OB)引发的骨形成作用间的动态平衡和偶联。多种细胞因子参与了该过程中的调控。在多种代谢性骨病发病机制研究中,细胞因子对骨代谢的调控作用日益受到人们的广泛关注。

1 骨保护素(osteoprotegerin, OPG)

OC表面的受体非常少,从其分化启动、功能激活到最后凋亡都需要其他细胞主要是OB的调节。OC与OB细胞的直接接触和相互作用是诱导破骨细胞形成的必要条件。近年来发现的3个新的肿瘤坏死因子配体和受体家族成员,即骨保护素、细胞核因子 κ B受体活化因子(receptor activation of NF- κ B, RANK),细胞核因子 κ B受体活化因子配基(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)所形成的OPG/RANKL/RANK环路介导了OC形成、分化过程中所必须的细胞-细胞间信号^[1]。

骨关节、免疫、心血管系统的多种组织和细胞均可产生和分泌OPG、RANKL、RANK,并受多种激素和细胞因子的调节。IL- α 、IL- β 、TNF- α 、TGF- β 以及雌激素均可刺激OPG mRNA的表达和OPG的形成^[2]。OPG缺乏小鼠骨量减少,骨折发生率增加,表现为严重的骨质疏松症,静脉注射重组OPG可有效抑制OPG缺乏小鼠的骨丢失^[3];转基因小鼠肝脏OPG的表达可导致肝脏石骨症(osteopetrosis)的发生,同时减少OC的分化和抑制胸腺细胞的发育成熟^[4]。

RANKL是目前发现的唯一能直接诱导破骨细胞分化并参与破骨细胞功能调节的细胞因子。RANKL与OC表面的跨膜受体RANK结合后启动了一系列信号级联反应,如激活转录因子NF- κ B和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),后者经激活细胞外信号

调节激酶(ERK)和c-Jun的N端激酶(JNK)可诱导转录因子c-fos和c-Jun活性反应,从而刺激破骨细胞前体的分化、生存、融合及活化成熟的破骨细胞^[5]。RANKL基因敲出小鼠除发生石骨症外,还可导致小鼠乳腺发育异常,导致新生儿的死亡^[6]。研究表明,多种激素和细胞因子调节骨代谢的过程全部或部分由OPG、RANKL介导。OPG作为一种诱饵受体能与RANKL结合,阻断RANKL所启动的信号传导途径,破坏OB与OC或者OC前体细胞间的作用,因而抑制了OC的形成和分化,阻止骨吸收的进行。事实上,RANKL和OPG表达的比例决定了骨吸收的程度。已经证明,绝经后骨质疏松症,与骨丢失相关的类风湿关节炎、糖皮质激素所致的骨丢失、Paget骨病等代谢性骨病的发病机理是OPG/RANKL/RANK信号途径紊乱所致^[7-9]。

2 白细胞介素(interleukin, IL)

白细胞介素不仅对机体免疫系统,而且在骨代谢平衡调节过程中起着关键作用。IL-3对破骨细胞、成骨细胞的分化具有重要影响。骨质破坏是骨髓瘤患者的主要临床症状。该病由破骨细胞显著增加,成骨细胞的形成严重削弱导致。骨髓瘤患者血浆中IL-3的水平显著高于健康人群。在体外实验中,IL-3促进骨髓瘤细胞的增殖和破骨细胞的形成。骨髓基质细胞和成骨细胞样的骨髓瘤细胞表达IL-3 α 受体。IL-3存在剂量依赖性抑制成骨细胞的分化和骨结节的形成。细胞培养基中碱性磷酸酶水平降低,TNF- α 水平增加,表明成骨细胞的活性受到广泛的抑制^[10]。

IL-4具有直接抑制破骨细胞前体分化为成熟的破骨细胞的作用。IL-4直接作用于破骨细胞和巨噬细胞的前体,使定向分化为抗酒石酸酸性磷酸酶阳性单核细胞的前体细胞转向分化为巨噬细胞,使破骨细胞数目减少。同时IL-4具有抑制成熟的破骨细胞骨活性作用。IL-4通过信号传导与转录激活物(signal transducer and activator of transcription 6, STAT 6)抑制破骨细胞RANK mRNA的表达,促进破骨细

胞的凋亡,进而抑制骨吸收^[11]。

IL-6 属于 gp130 细胞因子家族,多种细胞均可分泌。骨组织中的 IL-6 主要来源于成骨细胞和基质细胞分泌。IL-6 即可以促进骨形成也可以促进骨吸收。IL-6 通过其受体发挥作用。骨形成蛋白-1 是反映了成骨细胞的活性的生化标志物,该蛋白诱导新生骨的形成。IL-6 和 IL-6 受体联合使用可显著提升大鼠成骨细胞骨形成蛋白-1 导致的碱性磷酸酶活性的升高以及促进骨形成蛋白-3 mRNA 的表达。这种促进作用呈剂量依赖性^[12]。此外,IL-6 可通过破骨细胞上的受体直接作用于破骨细胞,也可以通过促进成骨细胞分泌 RANKL 促进破骨细胞前体分化形成破骨细胞,提高破骨细胞的活性,促进骨吸收^[13]。

3 转化生长因子- β (Transforming growth factor, TGF- β)

TGF- β 是一种具有多种功能的多肽生长因子。成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞和骨髓细胞通过自分泌和旁分泌途径均能产生 TGF- β 。TGF- β 以潜在的活性形式贮存于细胞外基质中。TGF- β 通过存在于软骨细胞、软骨膜、间质细胞表面上的 TGF- β 受体结合发挥生物学作用^[14]。

TGF- β 既是骨与软骨形成的促进因子,也是骨吸收抑制因子和促进因子,是骨吸收和骨形成之间有力的调节和偶联因子,在骨和软骨代谢中起着十分重要的作用。研究表明,TGF- β 促进成骨细胞的增殖和募集,促进成骨细胞前体细胞分化为成骨细胞。促进 I 型胶原合成和骨钙素的分泌,提高碱性磷酸酶和活性,促进矿物质在骨小梁上的沉积^[15]。在骨折愈合期,在软骨形成、骨形成过程中 TGF- β 高度表达。短期应用 TGF- β 可促进软骨的形成,长期应用则抑制软骨细胞的成熟和小梁骨钙质的沉积^[16]。

TGF- β 对破骨细胞分化也有重要的影响。研究表明,低浓度的 TGF- β 通过提高巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony stimulating factor, M-CSF)和 RANKL/OPG 的比例,促进破骨细胞的分化;破骨细胞的分化以及 M-CSF 的表达和 RANKL/OPG 比例,在高浓度的 TGF- β 下受到抑制^[17]。此外,TGF- β 对破骨细胞的前体分化也具有重要的调节作用。在人的单核细胞(破骨细胞前体细胞)培养液中添加 TGF- β 可显著诱导抗酒石酸酸性磷酸酶阳性细胞的产生,添加骨保护素并不能抑制骨吸收,表明 TGF- β

可直接诱导单核巨噬细胞分化成破骨细胞,发挥促进骨吸收的作用^[18]。

4 前列腺素 E₂(Prostaglandin E₂, PGE₂)

骨组织中的 PGE₂ 主要由成骨细胞分泌,是强有力的骨形成和骨吸收刺激因子。研究表明,PGE₂ 呈剂量依赖性促进小鼠成骨细胞胞内 cAMP 合成,并通过 cAMP-PKA 信号传导途径,促进成骨细胞骨基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)与 IL-1 β 基因的表达,促进成骨细胞合成和分泌 MMP-1 与 IL-1 β ,从而有效抑制骨吸收^[19,20]。进一步的研究表明,PGE₂ 还可通过诱导 PKC-ERK 蛋白激酶信号传导途径中 ERK 激酶的激活,介导 TGF- β 促进成骨细胞增殖的效应^[21]。此外,PGE₂ 介导多种细胞因子引起的骨吸收。环氧化酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)与酪氨酸激酶与 PGE₂ 的合成密切相关。IL- β 、TNF- α 、IL-6 可通过提高小鼠颅骨成骨细胞 COX-2 mRNA 水平,促进 PGE₂ 合成,促进骨吸收,该效应可被酪氨酸激酶抑制剂抑制^[22]。

5 巨嗜细胞集落刺激因子(Granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)

G-CSF 单独使用或者配合化学疗法具有促进骨代谢,促进动员的造血干细胞从骨髓微环境进入外周血液的作用。Carstamjen 等^[23]的研究表明,进行骨髓造血干细胞移植患者或骨髓造血干细胞捐献者采用 G-CSF 治疗和处理 4~5 d 后,外周血液中的 CD 34⁺ 细胞数量增加,与此同时,主要的骨代谢标志物如 IL-6 水平,骨碱性磷酸酶活性(BALP),尿脱氧吡啶(DPD)含量显著升高,表明 G-CSF 具有显著促进骨代谢,促进骨吸收的作用,其促进骨代谢的作用主要通过 IL-6 介导。这一研究结果解释了长期采用 G-CSF 治疗引发骨髓干细胞移植患者小梁骨的丢失和骨髓干细胞捐献者骨痛的原因。

破骨细胞的分化与成熟依赖于成骨细胞。Sutherland 等^[24]的研究结果证实,在成骨细胞、破骨细胞前体细胞共培养下,IL-6、G-CSF 抗体呈剂量依赖型的显著减少 TRAP⁺ 破骨细胞的数量。选择性雌激素受体调节剂呈剂量依赖型的减少 IL-6、G-CSF 的形成的同时减少 TRAP⁺ 破骨细胞的数量。同时,在共培养条件下,成骨细胞可自身产生 G-CSF,不依赖于 RANKL 系统而促进破骨细胞的分化,G-CSF 提供了破骨细胞分化、形成、成熟的新的途径。

6 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)

TNF- α 为 TNF 家族重要成员之一,对破骨细胞的形成和活性具有重要的调节作用。TNF- α 通过其受体(TNFR 1、TNFR 2)发挥作用。TNFR 1 含有 DD 结构域,TNFR 2 缺乏 DD 结构域,TNF- α 与 TNFR 1 结合促进破骨细胞的形成和激活,TNF- α 与 TNFR 2 结合抑制破骨细胞的形成和激活。虽然 TNFR 2 与 TNF- α 具有更高的亲和力,但 TNF- α 主要通过 TNFR 1 结合发挥其生理学作用。TNF- α 与 TNFR 1 结合后,启动破骨细胞或者破骨细胞前体细胞 NF-KB、JNK、p38、ERK、Akt 等信号传导途径促进破骨细胞的活化和存活,促进破骨细胞前体细胞分化形成成熟的破骨细胞^[25]。

TNF- α 在风湿性关节炎(RA)的发病中也起着关键作用。由 TNF- α 通过介导炎性细胞的募集和激活,促进纤维原细胞的增值,导致组成关节的骨和软骨的破坏。过度表达 TNF- α 可诱导转基因小鼠发生同 RA 类似的病理变化。关节内的 TNF- α 主要由滑液中被激活的巨嗜细胞分泌产生。巨嗜细胞与淋巴细胞通过细胞间接触而被激活。其机制在于:TNF- α 通过诱导 IL-12、IL-18 的合成上调 1 型辅助性 T 细胞(Th1)的免疫反应,Th1 促进 CD 4⁺ T 细胞的激活,同时,IL-12、IL-18 还是 IFN- γ 的合成强有力的促进因子。CD 4⁺ T 细胞的激活和 IFN- γ 促进巨嗜细胞分泌产生 TNF- α ,进一步促进了关节内炎症反应的发生和进行^[26,27]。

骨组织局部的细胞因子主要来源于骨母细胞(干细胞)和基质细胞以及骨髓中的各种免疫细胞。这些细胞因子与全身内分泌骨钙代谢调节激素相互作用,形成内分泌调节网络以维持骨代谢的平衡。

【参 考 文 献】

- [1] Sandrine T, Yohann W, Steeve KT, et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 457-475.
- [2] Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine Rew*, 1999; 20: 345-357.
- [3] Min H, Morony MH, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000; 192: 463-474.

- [4] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; 89: 309-319.
- [5] Kim HH, Lee DE, Shin JN, et al. Receptor activator of NF-kappaB recruits multiple TRAF family adaptors and activates c-Jun N-terminal kinase. *FEBS Lett*, 1999; 443: 297-302.
- [6] Fata JE, Kong YY, Li J, et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000; 103: 41-50.
- [7] Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Gene Dev*, 1998; 12: 1260-1268.
- [8] Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*, 1999; 402: 304-309.
- [9] Hofbauer LC, Schoppet M. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 1622-1623.
- [10] Lee JW, Chung HY, Ehrlich LA, et al. IL-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood* 2004; 103: 2308-2315.
- [11] Moreno JL, Kaczmarek M, Keegan AD, et al. IL-4 suppresses osteoclast development and mature osteoclast function by a STAT6-dependent mechanism: Irreversible inhibition of the differentiation program activated by RANKL. *Blood* 2003; 102: 1078-1086.
- [12] Yeh LC, Zavala MC, Lee JC. Osteogenic protein-1 and interleukin-6 with its soluble receptor synergistically stimulate rat osteoblastic cell differentiation. *J Cell Physiol* 2002; 190: 322-331.
- [13] Kwan TS, Padrine M, Theoleyre S, et al. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 49-60.
- [14] Michael OB, Erin S, Philip S, et al. Conditional deletion of the TGF- β type II receptor in Col2a expressing cells results in defects in the axial skeleton without alterations in chondrocyte differentiation or embryonic development of long bones. *Develop Biol* 2004; 276: 124-142.
- [15] Hai Z, Mansur A, Gloria G. Effects of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) on *in vitro* mineralization of human osteoblasts on implant materials. *Biomaterials* 2003; 24: 2013-2020.
- [16] Xinping Z, Navid Z, Jeffery Goater J, et al. Primary murine limb bud mesenchymal cells in long-term culture complete chondrocyte differentiation: TGF- β delays hypertrophy and PGE₂ inhibits terminal differentiation. *Bone* 2004; 34: 809-817.
- [17] Karst M, Gomy G, Galvin RJS, et al. Roles of stromal cell RANKL, OPG, and M-CSF expression in biphasic TGF-beta regulation of osteoclast differentiation. *J Cell Physiol* 2004; 200: 99-106.
- [18] Itonaga I, Sabokbar A, Sun SG, et al. Transforming growth factor-beta induces osteoclast formation in the absence of RANKL. *Bone* 2004; 34: 57-64.
- [19] Kim CH, Park YG, Noh SH, et al. PGE₂ induces the gene expression of bone matrix metalloproteinase-1 in mouse osteoblasts by cAMP-PKA signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 375-385.

(上接第 78 页)

- [20] Park YG ,Kang SK ,Noh SH ,et al. PGE₂ induces IL-1h gene expression in mouse osteoblasts through a cAMP-PKA signaling pathway. *Int Immunopharmacol* 2004 4 :779-789.
- [21] Ghayor C ,Rey A ,Caverzasio J. Prostaglandin-dependent activation of ERK mediates cell proliferation induced by transforming growth factor h in mouse osteoblastic cells. *Bone* 2005 36 93-100.
- [22] Park YG ,Kang SK ,Kim WJ ,et al. Effects of TGF- β ,TNF- α ,IL- β and IL-6 alone or in combination ,and tyrosine kinase inhibitor on cyclooxygenase expression ,prostaglandin E₂ production and bone resorption in mouse calvarial bone cells. *Int J Biochemi Cell Biol* , 2004 36 2270-2280.
- [23] Carstanjen D ,Regenfus M ,Müller C ,et al. Interleukin-6 is a major effector molecule of short-term G-CSF treatment inducing bone

metabolism and an acute-phase response. *Experiment Hematol* 2001 , 29 812-821.

- [24] Sutherland M ,Lipps SG ,Patnaik N ,et al. SP500263 ,a novel SERM , blocks osteoclastogenesis in a human bone cell model :role of IL-6 and GM-CSF. *Cytokine* 2003 23 1-14.
- [25] Feng X. Regulatory roles and molecular signaling of TNF family members in osteoclasts. *Gene* 2005 350 1-13.
- [26] Nanes MS. Tumor necrosis factor- α : molecular and cellular mechanisms in skeletal pathology. *Gene* 2003 321 1-15.
- [27] Romas E ,Gillespie MT ,Martin TJ. Involvement of receptor activator of NF-KB ligand and tumor necrosis factor- α in bone destruction in rheumatoid arthritis. *Bone* 2002 30 340-346.

(收稿日期 :2005-11-28)