

他汀类药物防治骨质疏松症的基础及临床研究进展

刘铭 朱振安

他汀类药物 (statins) 属于 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂, 在体内具有显著的多靶器官效应性^[1]: ①通过抑制胆固醇代谢途径的关键限速酶—HMG-CoA 来遏制甲基戊酸的产生, 降低 LDL-C, 治疗高脂血症; ②治疗心血管系统疾病, 动脉粥样硬化或心肌缺血等; ③亦有拮抗炎症、抗增殖、抗血栓形成及免疫抑制等诸多对机体有益的作用。目前, 临床应用的他汀类药物主要有: 辛伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、阿托伐他汀和西力伐他汀, 前三种为天然药物, 后三种为人工合成化合物。他汀类药物吸收不佳, 口服给药仅不到 5% 可进入循环系统且需经过肝脏代谢, 因此循环水平较低。虽然他汀类药物在骨髓的浓度尚不了解, 但毫无疑问成骨细胞及破骨细胞将暴露于较低浓度的他汀类药物之中。近几年不断有研究发现, 他汀类药物具有刺激骨形成、恢复骨骼细微结构、增加骨强度及降低骨折风险等作用, 是一类新兴的极有潜力的促进骨形成药物, 因此已成为基础及临床试验中骨质疏松药物治疗的研究热点。

1 他汀类药物对骨代谢作用的基础研究

1.1 对体外培养的骨样细胞系的作用

Mundy 等^[2]于 1999 年首次报道了他汀类药物对骨代谢的生物学作用。他们将荧光素酶标记的报告基因与 BMP-2 启动区 (- 2736/ + 114 bps) 相连转染鼠 (2T3) 或人 (MG-63) 永生型成骨样细胞系, 再以 3 万多种天然化合物刺激细胞, 结果发现惟有他汀类药物 (洛伐他汀 lovastatin) 可增强荧光素酶的活性, 继而通过酶联免疫吸附及 Northern blot 验证了他汀类药物可增加骨形态发生蛋白-2 (BMP-2) 及其基因的表达。Simvastatin, mevastatin 及 fluvastatin 皆有该作用, 但水溶性更好的 pravastatin 却无此作用^[3]。

Maeda T 等^[4,5]评价了他汀类药物对前成骨细胞系 (MC3T3-E1) 的作用, 发现辛伐他汀 (simvastatin) 呈时间—剂量依赖性地促进了胞外矿化及碱性磷酸酶 (ALP) 活性, 增加了 BMP-2、血管内皮生长因子 (VEGF)、骨涎蛋白及骨钙素 (OCN) 的基因表达, 轻度提高了 I 型胶原基因的表达; 同时显著地抑制了 I 型、III 型胶原酶的基因表达, 如 10 (- 7) M 辛伐他汀或 10 (- 8) M 西力伐他汀 (cerivastatin) 即可促进 VEGF、胶原酶消化蛋白及非胶原蛋白的胞外积聚。因此认为他汀类药物可促进成骨细胞分化, 具有骨的合成代谢作用, 有望成为将来治疗骨质疏松症的药物之一。

Ohnaka 等^[6]研究了 Pitavastatin 对人的原代培养的成骨细胞的作用, 发现 Pitavastatin 呈时间—剂量依赖性地增加了 BMP-2 和 OCN 的基因表达。同时进一步分析了 Pitavastatin 与 Rho 蛋白-Rho 蛋白激酶通路的相互关系, 阐明了其在体外可通过抑制 Rho 蛋白激酶的活性, 影响 Rho 蛋白生成而增强上述基因表达, 从而促进骨的合成代谢。

Li 等^[7]研究了 Lovastatin 对多功能骨髓间充质细胞—D1 细胞系 (具有成骨或成脂双向分化潜能) 的作用。结果显示, Cbfa1/Runx 2 (骨细胞转录因子) 表达增高 1.8 倍, 骨钙素启动子活性增强 5 倍, 而 PPAR γ (脂肪细胞转录因子) 表达降低 60%, 认为 Lovastatin 可增高成骨细胞基因表达、降低成脂细胞基因表达, 具有促进未定向骨前体细胞向成骨细胞分化的作用。于纪珠^[8]、宋纯理^[9,10]等亦证实了辛伐他汀 (simvastatin) 可在体外促进骨髓基质细胞的成骨分化, 同时抑制了骨髓基质细胞向成脂细胞的分化。然而, Parhami 等^[11]以美伐他汀 (mevastatin) 或洛伐他汀 (mevinolin) 作用于小鼠骨髓基质干细胞 (MSCs) M 2-10 B 4 细胞系, 结果显示, 胞外矿化和 ALP 的基因表达及活性受到抑制, 而对 OCN 的基因表达无明显影响。同时发现, 美伐他汀 (mevastatin) 抑制了 ALP 基因启动子的活性, 但甲醛戊酸

(mevalonate)可逆转这种抑制作用。由此认为,某些他汀类药物可能会抑制 MSCs 向功能性成骨细胞分化,而胆固醇合成路径的代谢产物对骨髓基质干细胞(MSCs)分化成为具有矿化作用的功能性成骨细胞则可能起着重要作用。

他汀类药物对破骨细胞系的作用的相关报道较少。Woo^[12]及 Takahashi^[13]等研究了他汀类药物在体外对破骨细胞的影响,结果表明,Mevastatin 可干扰破骨细胞前体细胞向多核破骨细胞的融合过程,从而抑制了破骨细胞的分化,此过程可被 HMG-CoA 还原酶的代谢产物—甲羟戊酸(mevalonate)所逆转。因此认为他汀类药物可能具有拮抗骨吸收的作用。他汀类药物在某些细胞系中具有诱导细胞凋亡的作用^[14],但尚未有诱导破骨细胞凋亡的报道。

1.2 在动物试验中的作用

Mundy 等^[2]将 Lovastatin、Simvastatin 及 Fluvastatin 与新生大鼠颅骨共同孵育,发现在所有分化阶段的新骨和成骨细胞数目增加 2~3 倍;不同浓度的 Lovastatin 或 Simvastatin($5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)注射到大鼠颅骨皮下,连续 5 和 21 d 后发现新骨形成增加约 50%,给去势大鼠及正常大鼠口服 Simvastatin 35 d,取右胫骨、右股骨和腰椎,测定其骨小梁容量、成骨细胞及破骨细胞数量,发现破骨细胞数量减少、骨小梁增加 39%~94%,认为他汀类药物即可促进骨形成又可抑制骨吸收。Oxlund 等^[15]给 12 月龄大鼠口服 Simvastatin($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)3 个月,CT 水平扫描第五腰椎,亦发现松质骨体积增加 23%,抗压强度增加 24%,但对皮质骨无明显影响。Ohno 等^[18]以 cerivastatin($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)处理环孢菌素 A 诱导的高转换骨质减少大鼠模型。发现 BMD 及骨强度增加、尿脱氧吡啶酚(DPD)减少,认为 cerivastatin 可通过抑制骨吸收来改善高转换的骨质减少。李伟民等^[16]亦研究了辛伐他汀对去势大鼠的作用,发现骨钙素(OCN)、骨特异碱性磷酸酶(BALP)、骨形成表面(FS)、骨小梁体积(TBV)和骨小梁平均厚度(MTT)明显升高,尿吡啶酚(PYD)和脱氧吡啶酚(DPD)较去势对照组降低不明显,但与空白对照组比较降低较明显,认为辛伐他汀可促进骨形成和抑制骨转换速率,可改善骨组织的形态。

然而,Maritz 等^[17]发现给予 SD 大鼠口服低剂量的 Simvastatin($1 \text{ mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)却抑制骨形成,刺激骨吸收,骨密度(BMD)明显减少,高剂量 Simvastatin($20 \text{ mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)则骨形成及骨吸收均明显增加,但 BMD 无明显改变,对去势鼠主要刺激骨形成,对骨吸收则没

有作用。Banu J 等^[19,20]以老年雄性 SD 大鼠作为增龄性骨丢失模型,给予 cerivastatin 低($0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)中($0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)高($0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)三种剂量分组口服 6 个月,应用 pQCT 进行骨密度分析,分别检测胫骨近侧干骺端、胫骨干、胫腓联合、股骨干和第四腰椎。结果发现,松质骨骨量及骨密度较对照组明显降低,皮质骨骨量、骨密度、厚度及骨内外直径皆有所降低但无统计学意义。由此认为,不同剂量的 cerivastatin 不能够防止年龄相关的骨丧失。

综上所述,在他汀类药物的体外试验中,多数学者认为他汀类药物有促进成骨、增加松质骨骨量及抗压强度、可能抑制骨吸收的作用,然而也有部分试验结果与之相矛盾,这可能与选择不同的他汀药物,不同的剂量及作用时间有关。因此,有必要进一步探讨他汀类药物在体外影响骨代谢的作用机理,以期明确骨特异性的他汀药物及合理的用药方式。

2 他汀药物对骨骼作用的临床研究

2.1 对 BMD 及骨代谢指标的影响

近年来,他汀类药物对 BMD 及骨代谢指标影响的研究报道日渐增多,主要集中于临床回顾研究、临床前瞻研究及临床对照试验三方面。Solomon 等^[21]回顾 339 名绝经后妇女,用药组 162 名,阴性对照组 177 名。结果用药组髌部 BMD 明显高于对照组,腰椎 BMD 亦有增高趋势。Pasco 等^[22]大样本回顾 1375 名妇女,服用他汀类药物者脊柱、股骨颈及全身 BMD 亦明显增高。Lupattelli 等^[23]设计前瞻对照试验,Simvastatin(40 mg/d)治疗 40 名绝经后伴高脂血症妇女,对照组 20 名仅予低脂饮食,历时 2 年,用药组腰椎及髌部 BMD 明显升高,对照组则略有下降。Montagnani 等^[24]Simvastatin(40 mg/d)治疗 30 名绝经后伴高脂血症妇女,等样本对照组,历时 1 年,脊柱、股骨、股骨颈 BMD 升高,且有脊柱 BMD > 股骨 BMD > 股骨颈 BMD 的趋势。然而,Rejnmark 等^[25]设计随机双盲安慰剂对照试验,治疗组(Simvastatin 40 mg/d)及安慰剂对照组各 82 名绝经后伴高脂血症妇女,历时 1 年;结果发现,腰椎、髌部、股骨颈乃至全身 BMD 无明显变化,血清骨代谢指标及 PTH 亦无差异,因此不支持他汀类药物对骨代谢的正性作用。Rejnmark 等^[26]设计交叉对照试验,他汀类药物治疗 140 名绝经后妇女,设等样本对照组,历时平均 4 年,BALP 及 OCN 显著降低,CTX 明显升高,腰椎、髌部、前臂乃至全身 BMD 无明显变化,认为他汀类药

物对骨的作用更可能是抗骨吸收。

然而 ,Tikiz 等^[27]前瞻观察研究 Simvastain(20 mg/d)治疗 38 名绝经后伴高脂血症妇女历时 3 个月 ,血清骨碱性磷酸酶(BALP)及 OCN 显著升高 ,CTX 无明显改变 ,肿瘤坏死因子($TNF\alpha$)水平显著降低 ,且 $TNF\alpha$ 与 BAP、OCN 呈负相关 ;认为 Simvastain 具有骨合成代谢作用 ,但不影响骨吸收。Montagnani 等^[24]在试验中亦发现他汀类药物可使 BALP 显著升高 ,而 CTX 无改变 ,对骨吸收亦无明显影响。

Meta 分析 :Hatzigeorgiou 等^[28]报告一项最新的 meta 分析 ,包含有关他汀药物的 24 例观察研究及 7 例随机对照试验 ;结果发现 ,髋部 BMD 在回顾性病例对照试验中明显增高 ,但在 8 项前瞻研究及 2 项随机对照试验中却无明显改变 ,椎体 BMD 在所有试验中皆无明显改变 ,骨代谢标记物的变化亦较小 ,仅表现为 ALP 降低、NTX 升高而对 OCN 及 CTX 无影响。

综上所述 ,多数试验认为他汀类药物可增强 BMD 提高骨的合成代谢生化指标 ,但却存在诸多矛盾 ,尤其在他汀药物是否可抑制骨吸收的论断上分歧较大。因此 ,今后有必要设计大样本的、随机对照、安慰剂双盲试验来进一步研究他汀药物对骨代谢的作用。

2.2 与骨折风险性的关系

骨折是骨质疏松的最严重的并发症 ,因此是否降低骨折风险性是评价任何骨质疏松药物有效性的关键指标。在 Rejnmark 等^[29]进行大样本的流行病学回顾调查中 ,对象包含 6660 名骨折者及 33274 名性别、年龄相匹配的对照人群 ,发现他汀药物的服用时间及累计剂量与髋部骨折的风险性呈负性相关。LaCroix 等^[30]进行一项多中心的大样本前瞻研究 ,共计 93716 人 ,服药者为 7846 人 ,未服药者 85870 为对照 ,平均随访 3.9 年 ,结论认为 ,他汀药物未能改善与年龄相关的髋部、腕部及其他临床常见骨折的风险性。

Meta 分析 :Edwards 等^[31]在含 8 例流行病学回顾性研究的 meta 分析中得出他汀药物可降低骨折的风险。Hatzigeorgiou 等^[28]在回顾研究中亦得出他汀药物可降低髋部骨折的风险。然而 ,类似论断在前瞻试验及随机对照研究中却未得到证实 ,例如 ,Bauer 等^[32]对 8 例观察研究做 meta 分析 ,得出他汀类药物可降低髋部骨折及非脊柱骨折风险 ,但在 4 例前瞻研究及 2 例临床研究中却得出相反的结论。

由此可见 ,有关他汀药物可降低骨折风险的结

论 ,在流行病学回顾研究中是得到肯定的 ,但在多数前瞻试验中却未得到证实。因此建立多中心、大样本、随机对照的双盲试验非常必要。

3 小结及研究展望

他汀类药物通过阻断胆固醇代谢路径而对骨代谢起到重要作用 ,这一重大发现极大地发展了对骨质疏松症的机理及治疗的认识。多数体内外试验认为 ,他汀药物可促进骨形成 ,可能影响骨吸收、降低髋部骨折及其他骨折的风险 ,可适度提高 BMD 及影响骨代谢指标 ,但仍然有部分试验不支持他汀药物对骨代谢的正性作用。因此 ,他汀药物在治疗骨质疏松方面仍需要更深入地研究。体外细胞研究应继续探索他汀药物对骨骼作用的机制及其影响骨代谢的特异性生理途径 ,动物试验应选择更有实际可比性的动物模型 ,临床研究则应更倾向于建立随机双盲安慰剂对照试验 ,以获得最佳的用药模式。

【 参 考 文 献 】

- [1] Bellosta S ,Ferri N ,Bernini F , et al. Non-lipid related effects of statins. *Ann Med* 2000 ;32 :164-176.
- [2] Mundy G ,Garrett R ,Harris S , et al. Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. *Science* ,1999 ;286 :1946-1949.
- [3] Sugiyama M ,Kodama T ,Konishi K. et al. Compactin and simvastatin , but not pravastatin , induce bone morphogenetic protein-2 in human osteosarcoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* ,2000 , 271 :688-692.
- [4] Maeda T ,Matsunuma A ,Kawane T , et al. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* ,2001 ;280 :874-877.
- [5] Maeda T ,Matsunuma A ,Kurashiki I , et al. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem* , 2004 ;92 :458-471.
- [6] Ohnaka K ,Shimoda S ,Nawata H , et al. Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* ,2001 ;287 :337-342.
- [7] Li X ,Cui Q ,Kao C , et al. Lovastatin inhibits adipogenic and stimulates osteogenic differentiation by suppressing PPARgamma2 and increasing Cbfa1/Runx2 expression in bone marrow mesenchymal cell cultures. *Bone* 2003 ;33 :652-659.
- [8] 于纪珠 ,刘晓民 ,等. 辛伐他汀体外促进骨形成作用的初步研究. *中国骨质疏松杂志* 2004 ;10 :230-231.
- [9] 宋纯理 ,党耕町 ,贾弘 ,等. 辛伐他汀促进骨髓基质细胞的成骨分化. *北京大学学报 (医学版)* 2003 ;35 :533-536.
- [10] 宋纯理 ,贾弘 ,马庆军 ,等. 骨髓基质细胞成脂分化及辛伐他汀对影响的实验研究. *中华老年医学杂志* 2004 ;23 :263-266.
- [11] Parhami F ,Mody N ,Gharavi N , et al. Role of the cholesterol biosynthetic pathway in osteoblastic differentiation of marrow stromal

- cells. *J Bone Miner Res* 2002 ;17 :1997-2003.
- [12] Woo J ,Kasai S , Stern P ,et al. Compactin suppresses bone resorption by inhibiting the fusion of prefusion osteoclasts and disrupting the actin ring in osteoclasts. *J Bone Miner Res* 2000 ;15 :650-658.
- [13] Takahashi N ,Yamana H , Yoshiki S , et al. Osteoclast-like cell formation and its regulation by osteotropic hormone in mouse bone marrow cultures. *Endocrinology* ,1988 ;122 :1373-1382.
- [14] Stark W , Blaskovich M , Johnson B , et al. Inhibiting geranylgeranylation blocks growth and promotes apoptosis in pulmonary vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* ,1998 ;275 : L55-L63.
- [15] Oxlund H ,Dalstru M. Stain given perorally to adult rats increases cancellous bone mass and compressive strength. *Cleif Tissue Int* , 2001 ;69 :299-304.
- [16] 李伟民 徐魁.辛伐他汀对骨质疏松大鼠骨形成作用研究,中国老年学杂志 2004 ;24 :51-53.
- [17] Maritz FJ , Conradie MM. Effect of stains on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. *Arteriocler Thramb Vasc Biol* , 2001 ;21 :1636-1641.
- [18] Ohno T ,Shigetomi M , Ihara K , et al. Effects of cerivastatin on vascularized allogenic bone transplantation in rats treated with cyclosporine A. *Calcif Tissue Int* 2003 ;72 :50-56.
- [19] Banu J ,Kalu DN. Site-specific effects of cerivastatin on bone in male Sprague-Dawley rats. *Bone* 2004 ;34 :432-442.
- [20] Banu J , Kalu DN. Effects of cerivastatin and parathyroid hormone on the lumbar vertebra of aging male Sprague-Dawley rats. *Bone* 2002 , 31 :173-179.
- [21] Solomon DH ,Finkelstein JS , Wang PS , et al. Statin lipid-lowering drugs and bone mineral density. *Pharmacoevidmiol Drug Saf* ,2005 , 14 :219-226.
- [22] Pasco JA , Kotowicz MA , Henry MJ ,et al. Statin use , bone mineral density , and fracture risk : Geelong Osteoporosis Study. *Arch Intern Med* 2002 ;162 :537-540.
- [23] Lupattelli G , Scarponi AM , Vaudo G , et al. Simvastatin increases bone mineral density in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Metabolism* 2004 ;53 :744-748.
- [24] Montagnani A , Gonnelli S , Cepollaro C , et al. Effect of simvastatin treatment on bone mineral density and bone turnover in hypercholesterolemic postmenopausal women : a 1-year longitudinal study. *Bone* 2003 ;32 :427-433.
- [25] Rejnmark L , Buus NH , Vestergaard P ,et al. Effects of simvastatin on bone turnover and BMD : a 1-year randomized controlled trial in postmenopausal osteopenic women. *J Bone Miner Res* 2004 ;19 :737-744.
- [26] Rejnmark L ,Buus NH , Vestergaard P , et al. Statins decrease bone turnover in postmenopausal women : a cross-sectional study. *Eur J Clin Invest* 2002 ;32 :581-589.
- [27] Tikiz C ,Unlu Z , Tikiz H ,et al. The effect of simvastatin on serum cytokine levels and bone metabolism in postmenopausal subjects : negative correlation between TNF-alpha and anabolic bone parameters. *J Bone Miner Metab* 2004 ;22 :365-371.
- [28] Hatzigeorgiou C , Jackson JL. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis : a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2005 ;16 (8) :990-998.
- [29] Rejnmark L ,Olsen ML , Johnsen SP ,et al. Hip fracture risk in statin users-a population-based Danish case-control study. *Osteoporos Int* , 2004 ;15 :452-458.
- [30] LaCroix AZ ,Cauley JA , Pettinger M ,et al. Statin use , clinical fracture , and bone density in postmenopausal women : results from the Women's Health Initiative Observational Study. *Ann Intern Med* , 2003 ;139 :97-104.
- [31] Edwards CJ. Statins and bone morphogenetic proteins : new pathways in bone formation. *Ann Acad Med Singapore* 2002 ;31 :245-247.
- [32] Bauer DC , Mundy GR , Jamal SA ,et al. Use of statins and fracture : results of 4 prospective studies and cumulative meta-analysis of observational studies and controlled trials. *Arch Intern Med* ,2004 , 164 :146-152.