

失重与骨代谢调节失衡

孙平 综述 蔡德鸿 黄震 审校

在失重飞行引起的所有人体生理系统变化中,其骨代谢的调节失衡为最严重的危害。其他生理系统的变化在航天飞行中会达到一种新的平衡状态,返回地面后经过一段时间可以很快得到恢复。但骨钙的丢失却持续发展,且在返回地面后需要很长时间恢复。今后载人航天的重点在于长期飞行,太空失重导致航天员骨质疏松引起的危害就更大,因此失重状态下骨质丢失的研究已成为目前航天医学研究的重点。

1 失重性骨质丢失的特点

失重导致骨骼结构功能变化是由于重力环境变化引起的,是一快速、明显的过程。主要表现为骨量丢失、骨骼脱矿、骨密度降低、骨质疏松和骨生物力学性能下降。可观测到尿钙和粪钙排出量增加、血钙升高,出现负钙平衡。这一过程在航天飞行中呈进行性改变,且与飞行时间呈一定相关。

失重导致骨矿物质的持续丢失,骨密度平均每月减少 1.0% ~ 1.6%,相当于绝经后妇女 1 年的丢失量^[1]。失重 11.5 d 的猴子的骨矿化率和参与矿化的小梁骨表面积的比例都显著减少^[2]。航天飞机搭载的胎鼠骨细胞矿化区的成分和密度都少于地面对照细胞^[3]。动物试验证明,大白鼠在失重飞行 9 d 后的骨密度降低 9.6%,飞行 22 d 后的骨密度降低 11%,鼠骨切片发现典型的骨质疏松表现。骨矿物质减少增加了骨折、骨质疏松的危险性,血钙升高可引起机体其他系统的代谢紊乱,例如容易发生肾结石,出现血管钙化等。

骨生物力学性能是评价骨质量最可靠的指标。失重引起力学特性显著降低,马进等^[4]利用尾吊大鼠模型模拟失重 90 d 后测量长骨的生物力学性能发现股骨的强度、硬度、刚度各项参数均较对照显著下降。Shaw 等^[5]利用后肢悬吊大鼠模型发现股骨

所有生物力学参数(硬度、负荷、能量)较对照显著降低。表明失重状态下骨力学性能降低且主要发生在承重骨。

2 失重对骨重建的影响

正常的骨重建过程依赖于骨吸收和骨形成过程的动态平衡,而这一过程分别与破骨细胞和成骨细胞的功能密切相关。业已证实失重状态下骨量丢失主要是骨形成的减少而不是骨吸收的增强。在实际失重和模拟失重导致的骨质丢失中,主导骨形成的成骨细胞的功能变化成为研究的重点。

2.1 成骨细胞

成骨细胞起源于骨髓基质的间质细胞,是骨形成、骨骼生长和发育的重要细胞。在实际失重和模拟失重导致的骨质丢失中,成骨细胞成熟障碍和骨形成减少是主要原因。空间飞行导致成骨细胞数量和活性的下降,主要是分化功能受到抑制。通过研究上颌骨牙周韧带模型发现,失重阻止了成骨细胞的分化过程,表现为未分化的成骨祖细胞增多,而前成骨细胞数量减少^[6]。小鼠后肢悬吊去负荷状态 14 d,成骨细胞和前成骨细胞数量均降低,其中胫骨干骺端的成骨细胞数、骨形成率分别降低了 35%、46%^[7]。Doty 等^[8]认为失重对分化的成骨细胞的细胞周期、增殖或死亡程序产生了不利影响,从而使细胞活性下降,即细胞分化进程本身受损。Sarkar 等^[9]在模拟太空环境中进行成骨细胞培养,发现大量成骨细胞凋亡,推测这是宇航员常发生骨质疏松的重要原因。Fu 等^[10]在鼠尾悬吊模拟失重模型研究中发现,动物在悬吊 4 w 时,股骨基质细胞数明显减少,约是对照组的 50%,这必然导致骨基质细胞的分化和骨髓成骨能力的下降。成骨细胞碱性磷酸酶(alkaliphosphatase, ALP)和 I 型胶原(COL-I)的表达是成骨细胞分化最重要的指标。ALP 由成骨细胞合成、分泌,是成骨细胞矿化过程中主要的功能活性酶。在骨形成的增殖期,细胞数量增加,合成并分泌 COL-I。ALP 活性增高可使钙、磷的吸收增加。失重状态下大鼠成骨细胞、血清、小肠 ALP 活性和 ALP

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(20042070062)

作者单位:510282 广州,南方医科大学附属珠江医院内分泌科

通讯作者:孙平 Email: sing_ping@163.com

mRNA 含量明显降低。Senia 等^[11]的研究结果表明,骨 ALP 活性降低与骨矿盐丢失有关,同时也提示骨质中骨基质形成期向矿化期转变过程受抑制,即骨成熟受抑制。Majd 等^[12]模拟微重力状态 7 d 发现大鼠颅盖骨 ALP 活性仅是正常大鼠的 1/3,且矿化作用降低,同时 ALP、降钙素和 COL-I 的基因表达也降低,通过体外培养人成骨细胞,发现其向成骨细胞的分化过程受抑制。Majd 等认为骨形成减少是由于 ALP、COL-I 和骨连接素的活性降低所致。Basso 等^[7]实验发现小鼠去负荷后肢悬吊 14 d 导致 ALP 活性降低了 66%,胫骨骨量减少 50%,但破骨细胞未见改变;随后负荷 14 d 小鼠 ALP 活性可完全恢复,骨量达到对照水平,但成骨细胞数和骨形成速度均低于对照组。破骨细胞数量低于对照组,且骨重吸收较对照组显著减少。

2.2 破骨细胞

破骨细胞来源于造血前体细胞,是骨组织吸收的主要功能细胞。在失重状态下,破骨细胞的数量和功能可能发生短期改变,但总体骨吸收功能未受影响。有研究发现,破骨细胞的活动在失重环境下会有短暂升高,尤其在第 1、2 周明显,随时间推移其功能可恢复到正常状态,这与空间飞行(1~6 个月)中未发现破骨细胞数目改变及骨吸收增强的结果一致^[13]。

3 失重对骨代谢调节因子的影响

骨形成需要骨细胞因子的调节,这些因子包括:骨形成蛋白(Bone morphogenetic protein, BMPs)、胰岛素样生长因子(Insulin-like growth factor, IGFs)、成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor, FGFs)、血小板衍生生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGFs)等。对骨代谢调节因子的深入研究,有助于揭示在失重环境下骨代谢异常的机理。

3.1 骨形成蛋白(Bone morphogenetic protein, BMPs)

骨形成蛋白是 TGF- β 超家族成员,具有刺激成骨的作用,是一种高效的骨诱导物质。BMPs 可由成骨细胞产生,主要与骨基质结合,很少释放到骨外,其生物学作用是诱导未分化的间质细胞分化形成软骨和新生骨,促进骨基质的形成和骨的矿化。BMP-2(Bone morphogenetic protein-2)可诱导前成骨细胞分化为成骨细胞,故可间接调节破骨细胞生成^[14]。MC 3 T 3-E 1 小鼠成骨样细胞的培养, BMP-2 能增加 ALP 活性和 COL-I 合成。体外研究证实, BMP-2 能够促使成骨细胞产生骨钙蛋白和 ALP,是成骨细胞

分化和骨细胞形成的有效促进剂, rhBMP-2 可增加骨层次,加速骨结节钙化^[15]。Wang 等^[16]模拟失重状态发现, BMP-2 使 ROS 17/2.8 细胞的 COL-I α 1 和 ALP mRNA 表达增加,并且在时间上表现出一定的规律性。“宇宙 1129 号”生物卫星飞行 18.5 d 后,骨质中未分化的成骨细胞祖母细胞数量增加^[17],表明骨质中 BMP 缺乏或活性低下,影响成骨细胞祖母细胞的分化,从而影响骨形成。Fu 等^[18]实验发现尾吊大鼠骨髓细胞中 BMP-2 的含量降低,随尾吊时间延长越明显,去负荷时间越长,成骨细胞数量和 BMP 含量越少,骨形成受抑制越明显,进而引起失重性骨量丢失。Bikle 等^[19]认为 BMP 通过调控间质细胞向成骨细胞的更新过程从而对失重时局部的骨变化发挥着重要调节作用,但具体机制尚不清楚。

3.2 胰岛素样生长因子(Insulin-like growth factor, IGFs)

胰岛素样生长因子是一个复杂的生长因子家族,包括 IGF-I、IGF-II、6 种胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBPs)和特异性细胞外胰岛素样生长因子受体。IGFs 由成骨细胞产生,通过旁分泌和自分泌方式影响成骨细胞几乎所有的发展阶段(募集、增殖、分化、基质产生和矿化)。IGFs 的作用很大程度上受 IGFBPs 调控,后者也是由成骨细胞产生(IGFBP-1 除外)并存在于骨基质中。IGFBP-3、IGFBP-5 可促进 IGFs 对成骨细胞的刺激作用。失重条件下 IGFBP-3 的 mRNA 表达增加,而 IGFBP-5 和 IGFBP-4 的 mRNA 水平下降。IGFBPs 对 IGFs 骨形成效应的调控表现为双向性,即正调节和负调节作用。由于 IGFs 对骨形成有很强的促进作用,因此 IGFs 在骨吸收时的大量增加介导了骨吸收和骨形成之间的耦联作用,使骨吸收后骨形成增加^[20],有利于骨重建正常进行。IGF-I、IGF-II 在成骨细胞培养中刺激成骨细胞的增殖和 COL-I 的产生,且与剂量呈相关性。同时 IGF-I、IGF-II 还可刺激 ALP 及骨钙素的产生。在 6 周龄大鼠中,同步模拟失重 6 d,空间飞行和下肢提高组都短暂地提高了 ALP、IGF-I、IGF-I 受体的 mRNA 水平,但降低了骨钙素的 mRNA 水平,骨钙素和 ALP mRNA 的改变与骨骼成熟性下降一致,而 IGF-I 和 IGF-I 受体 mRNA 水平的升高反映了机体对骨形成下降的代偿反应。

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

成骨细胞表达的 TGF- β 超家族成员包括 TGF- β 和 BMPs,两者是重要的促骨形成因子。TGF- β 是骨

代谢重要的调节因子,能够增强分化的成骨细胞表型表达,抑制破骨细胞的形成和功能。Kassem 等^[21]发现,TGF- β 能直接刺激成骨细胞中 DNA 的合成与重组,促进成骨细胞的增殖,亦可诱导成骨细胞分化、成熟。研究表明外源性 TGF- β 能够促进骨折的修复,其本身骨诱导能力要比 BMP 小,但 TGF- β 可加强 BMP 的骨诱导能力^[22]。Takai 等^[23]发现 TGF- β 能抑制破骨细胞生成,减少破骨细胞数量。在体内 TGF- β 明显刺激大鼠的骨形成,使得骨量增加。在体外 TGF- β 可增加成骨细胞分化标志物,如 ALP、COL-1、骨粘连蛋白的表达,且可与 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 协同而增加 ALP 水平。在人成骨细胞中,BMP-2 能够增加 TGF- β 表达,而且 TGF- β 可自身诱导 TGF- β 表达。Zhang 等^[24]利用原位杂交法检测大鼠去负荷骨时表明,大鼠 TGF- β 2 mRNA 阳性的前成骨细胞、成骨细胞的数量,较正常对照明显减少,骨细胞中 TGF- β 2 mRNA 水平也明显降低,但 TGF- β 2 mRNA 在生长板处软骨细胞中的水平未发生变化。通过免疫组化证实,尾吊大鼠后肢承重骨 TGF- β 含量降低。TGF- β 在成骨细胞中的减少,可能是引起去负荷大鼠骨质丢失的重要因素。

3.4 成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor, FGFs)

成纤维细胞生长因子是一类调节细胞生长的多功能肽类生长因子,软骨的生长和分化必须有酸性 FGF(FGF-1/aFGF)和碱性 FGF(FGF-2/bFGF)的参与。FGF-2/bFGF 活性比 FGF-1/aFGF 强 30~100 倍,两者均能刺激内皮细胞复制和新血管的生成,对骨骼发育和骨折愈合有重要作用。在活体内 FGF-1/aFGF 和 FGF-2/bFGF 能增加分化较差的前成骨细胞的数量,能诱导包括成纤维细胞、成软骨细胞、成骨细胞、平滑肌细胞、神经外胚层和骨骼肌细胞的复制。bFGF 还能明显促进兔成骨细胞增殖,且促增殖作用较 TGF- β 、IGF- II 显著。Farhadi 等^[25]研究发现 FGF-2 在人骨髓基质细胞的分化阶段,正调节 TGF- β 、BMP-2 和 VEGF 的表达。多数研究表明 FGF-2/bFGF 可增加 TGF- β 在骨内膜细胞中的分布,通过 FGF-2/bFGF 刺激成骨细胞可增加 TGF- β 的 mRNA 表达,推测两者之间可能存在着诱导与被诱导的关系。FGF-2/bFGF 能够刺激新生毛细血管的生成,同时促进纤溶酶激活物和胶原酶分泌,使毛细血管向创区长入,为组织修复提供营养,使组织中骨岛数量增加,促进软骨内骨化,加速软骨痂的成熟和骨化。失重环境下骨矿盐含量减少,骨脆性增加,易导致骨折且延缓愈

合,可能与 FGFs 骨质中缺乏,影响骨修复有关^[26]。

3.5 血小板衍生生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGF)

血小板衍生生长因子来源于结缔组织细胞的强力促有丝分裂原,是一组多肽生长因子,含有 A、B 两条多肽链,其中 PDGF-B 是成骨细胞增殖的促进因子。PDGF 只有通过靶细胞表达的受体(PDGFR)结合才能发挥作用。PDGFR 有 α 、 β 两种亚单位。PDGF 主要通过对成骨细胞的作用,加速骨形成。PDGF 能够促进胶原合成,抑制胶原降解^[27],刺激骨内 DNA 和蛋白质的合成,促进成骨细胞早期的 DNA 合成,使成骨细胞从静止状态的 G0/G1 期进入到有复制潜能的 S 期,使分泌细胞增多,同时还能增强单核细胞、成纤维细胞的游走性,使局部成纤维细胞增殖、分化,从而促进骨形成;也可通过前列腺素合成促进骨吸收。TGF- β 能诱导 PDGF-A 链和 PDGFR- β 亚单位的基因表达,使 PDGF 与 PDGFR 的结合增加。PDGF 与 IGF- I 二者有相加作用,IGF- I 可作为 PDGF 的一种促进因素。Davidson 等^[28]通过对失重大鼠创伤愈合的实验发现,失重状态下 PDGF-B 和 bFGF 较地面对照组显著降低。太空失重中培养的大鼠成骨细胞,在用 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 处理后,PDGFR- β 的 mRNA 水平在失重第 4 d、第 5 d 时分别下降为地面对照的 62%、47%。结果表明失重可使大鼠成骨细胞在生长因子受体的信号传导功能减弱^[29]。空间飞行导致成骨细胞的分化功能受到抑制,可能与 PDGF 的合成降低有关。

综上所述,失重状态下骨丢失的主要病理生理变化是成骨细胞的数量和功能降低、骨形成和矿化受到抑制,与骨代谢有关的生长因子含量下降或功能降低,很可能是其导致骨质疏松的重要因素。随着对其发病机制研究的进一步深入,人们期待能通过补充外源性骨细胞生长因子或促进内源性骨细胞生长因子的表达,从而减轻航天员在失重环境下的骨丢失,降低骨质疏松的发生。

【参考文献】

- [1] Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*, 1998, 13: 763-773.
- [2] Zerath E, Novikov V, Leblanc A, et al. Effects of spaceflight on bone mineralization in the rhesus monkey. *J Appl physiol*, 1996, 81: 194-200.
- [3] Klement BJ, Spooner BS. Mineralization and growth of cultured

- embryonic skeletal tissue in microgravity. *Bone* ,1999 ,24 :349-359.
- [4] Ma J ,Chen J ,Ding ZP ,et al. Effects of 90 days tail-suspension on bone biomechanical properties in rats. *Di si Jun Yi Da Xue Xue Bao* , 1994 ,15 :218-220.
- [5] Shaw SR ,Vailas AC ,Grindeland RE ,et al. Effect of a 1-wk spaceflight on morphological and mechanical properties of growing bone. *Am J Physiol* ,1988 ,254 :R78-R83.
- [6] Garetto LP ,Gonzales MR ,Morey ER ,et al. Preosteoblast production 55 hours after a 12.5-day space flight on Cosmos-1887. *FASEB J* , 1990 ,4 :24-28.
- [7] Basso N ,Jia Y ,Bellows CG ,et al. The effect of reloading on bone volume , osteoblast number , and osteoprogenitor characteristics : Studies in hind limb unloaded rats. *Bone* ,2005 ,37 :370-378.
- [8] Doty SB ,Stiner D ,Telford WG. The effect of spaceflight on cartilage cell cycle and differentiation. *J Gravit Physiol* ,1999 ,6 :89-90.
- [9] Sarkar D ,Nagaya T ,Kogak K ,et al. Culture in vector-averaged gravity under clinostat rotation results in apoptosis of osteoblastic ROS17/2.8 cells. *J Bone Miner Res* ,2000 ,15 :489-498.
- [10] Fu CJ ,Yu BB ,Yang LJ. Changes of osteocalcin in bone and bone marrow in tail suspended rats. *Space Med Med Eng(Beijing)* ,2003 ,16 :260-263.
- [11] Senia K ,Sandu P ,Ayala G ,et al. Bone marrow from mechanically unloag rat bone expresses reduced osteogenic capacity *in vitro* . *J Bone Miner Res* ,1994 ,9 :321-327.
- [12] Majd Z ,William E ,Gathings ,et al. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis. *Endocrinology* ,2004 ,145 :2421-2432.
- [13] Collet P ,Uebelhart D ,Vico L ,et al. Effects of 1-and 6-month spaceflight on bone mass and biochemistry in two humans. *Bone* , 1997 ,20 :547-551.
- [14] Zheng MH ,Wood DJ ,Papadimitrion JM. What's new in the role of cytokines on osteoblast proliferation and differentiation. *Pathol Res Pract* ,1992 ,188 :1104-1121.
- [15] Ghosh-Choudhury N ,Windle JJ ,Koop BA ,et al. Immortalized murine osteoblasts derived from BMP 2-T-antigen expressing transgenic mice. *Endocrinology* ,1996 ,137 :331-339.
- [16] Wang B ,Zhang S ,Wu XY. Effects of BMP-2 on the Gene Expression of Rat Osteosarcoma Cells under Simulated Weightlessness. *Space Med Med Engin* ,2004 ,17 :176-179.
- [17] Roberts WE. Suppression of osteoblast differentiation during weightlessness. *Physiologist* ,1981 ,24 :75-76.
- [18] Fu CJ ,Yang LJ ,Cao XS. Changes of human recombination bone morphogenetic protein-2 in bone and marrow in tail suspended rats. *Space Med Med Eng(Beijing)* ,2001 ,14 :295-297.
- [19] Bikle DD ,Halliran BP. The response of bone to unloading. *J Bone Miner Me Tab* ,1999 ,17 :233-244.
- [20] Kurland ES ,Rosen CJ ,Cosman F ,et al. Insulin-like-growth factor-1 in men with idiopathic osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* ,1997 ,82 :2799-2805.
- [21] Kassem M ,Kveiborg M ,Eriksen EF. Production and Action of transforming growth factor-beta in human osteoblast cultures : dependence on cell differentiation and modulation by calcitriol. *Eur J Clin Invest* ,2000 ,30 :429-437.
- [22] Centrella M ,Horowitz MC ,Wozney JM ,et al. Transforming growth factor-beta gene family members and bone. *Endocr Rev* ,1994 ,15 :27-39.
- [23] Takai H ,Kanematsu M ,Yano K ,et al. Transforming growth factor-beta stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *J Biol Chem* ,1998 ,273 :27091-27096.
- [24] Zhang R ,Supowit SC ,Hou X ,et al. Transforming growth factor-beta2 mRNA level in unloaded bone analyzed by quantitative *in situ* hybridization. *Calcif Tissue Int* ,1999 ,64 :522-526.
- [25] Farhadi J ,Jaquiere C ,Barbero A ,et al. Differentiation-dependent up-regulation of BMP-2 ,TGF-beta1 and VEGF expression by FGF-2 in human bone marrow stromal cells. *Plast Reconstr Surg* ,2005 ,116 :1379-1386.
- [26] Davidson JM ,Aquino AM ,Woodward SC ,et al. Sustained microgravity reduces intrinsic wound healing and growth factor responses in the rat. *FASEB J* ,1999 ,13 :325-329.
- [27] Tan EM ,Qin H ,Kennedy SH ,et al. Platelet-derived growth factors-AA and-BB regulate collagen and collagenase gene expression differentially in human fibroblasts. *Biochem J* ,1995 ,310 :585-588.
- [28] Davidson JM ,Aquino AM ,Woodward SC. Sustained microgravity reduces intrinsic wound healing and growth factor responses in the rat. *FASEB J* ,1999 ,13(2) :325-329.
- [29] Akiyama H ,Kanai S ,Hirano M ,et al. Expression of PDGF-beta receptor ,EGF receptor and receptor adaptor protein Shc in rat osteoblasts during spaceflight. *Mol Cell Biochem* ,1999 ,202 :63-71.

(收稿日期 :2005-12-15)