

骨髓脂肪细胞与骨质疏松症

金明柱(韩国) 郑洪新

近年来,随着细胞分子生物学研究进展,骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cell, BMS)分化方向,及其调控机制在原发性、继发性骨质疏松症发生机理中的意义引起高度关注。各种原因通过某种机制导致成骨细胞分化减少,脂肪细胞分化增加,脂肪细胞进一步刺激更多的造血干细胞,分化为破骨细胞,进而引起成骨细胞——破骨细胞的偶联失衡,最终导致骨丢失和骨质疏松。因此,骨髓脂肪细胞生成及其调控机制的阐明,对骨质疏松症的预防和治疗具有重要意义。

1 骨髓脂肪细胞的生成

骨髓分造血和基质两大系统,其中造血系统是更新循环血细胞的成体造血干细胞(Hematopoietic stem cell, HSCs)的主要来源;而基质系统则含有间叶干细胞或骨髓基质干细胞(BMS),再生或更新许多间充质组织如骨、软骨、脂肪、肌腱、肌肉和骨髓支持基质等。骨髓基质干细胞(BMS)具有分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肌细胞,甚至神经细胞等多向分化的潜能^[1]。

在正常骨髓中,骨髓基质干细胞的分化多潜能性具有重要的生理意义。骨髓基质干细胞具有分化为成骨细胞的特性,可为骨生长及骨修复提供细胞来源,可分化为破骨支持细胞,在骨转换时对破骨细胞发出信号,亦可分为脂肪细胞,可为不同的造血需要提供灵活反应的空间。由于成骨细胞和脂肪细胞共祖,具有相同的细胞表型,在特定条件下可相互转化,存在“此消彼长”的关系。

张维成等^[2]观察了体外定向诱导大鼠骨髓基质细胞分化为脂肪细胞和成骨细胞的过程。在细胞传代培养中,用地塞米松、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、胰岛素和吡哆美辛诱导骨髓基质细胞,实现了向脂肪细胞的定向分化,同时用地塞米松、 β -甘油磷酸钠、维生素 C 诱导骨髓基质细胞实现了向成骨细胞的

定向分化。实验证实随着诱导条件的不同,成骨细胞和脂肪细胞均可由骨髓基质细胞分化而来。因此,如何抑制骨髓基质干细胞的脂肪细胞分化,促进成骨细胞分化为骨质疏松症治疗的研究提供了新方向。

2 骨髓脂肪细胞分化的转录调控因子——过氧化物配体增殖物活化受体 γ 2 (PPAR γ 2)

在骨髓基质干细胞向脂肪细胞分化的多种因子参与的级联反应过程中 PPAR γ 2 起了关键性作用。

2.1 过氧化物配体增殖物活化受体(PPARs)的分型与结构

PPARs 是一类由配体激活的核转录因子,属于 II 型核激素受体超家族,包括由不同基因编码的 3 种亚型 PPAR α 、PPAR β 、PPAR γ 。PPAR γ 最具有脂肪组织特异性,在许多脂肪细胞基因转录激活前被诱导,可转录翻译为 3 种亚种 PPAR γ 1、PPAR γ 2、PPAR γ 3,其中 PPAR γ 2 主要在脂肪细胞分化过程中起关键作用,可通过不同的调节通路促进成脂和抑制成骨,并与在增龄过程中成脂活性增强和成骨活性减弱有关。

PPARs 的 4 个功能结构域由 6 个结构区 A~F 组成:①氨基端结构域由 A/B 结构区形成;②DNA 结合域由 C 结构区形成;③转录活性调节结构域由 D 结构区形成;④配体结合域(LBD)由 E/F 结构区形成^[3]。

2.2 PPAR γ 2 信号通路及配体环带上的调节

2.2.1 PPAR γ 2 信号通路:激动剂小分子进入核内,与 PPAR γ 2 配体结合物的氨基酸残基结合,激活 PPAR γ 2,活化的 PPAR γ 2 一方面与核内的视黄酸受体(RXR)结合形成异二聚体,再以异二聚体方式与 DNA 上 PPAR 反应元件(PPRE)结合。另一方面,PPAR γ 2 的 AF-2 功能区构象发生变化,利于核内的一些共激活分子与 AF-2 功能区结合,从而激活靶基因转录,最终导致脂肪细胞的形成。

2.2.2 PPAR γ 配体环节上的调节:PPAR γ 的配体可

分为内源性配体和外源性配体。内源性配体包括体内的不饱和脂肪酸及其衍生物,外源性配体包括降脂药氯贝特、抗炎剂吲哚美辛以及胰岛素增敏剂罗格列酮等。

根据功能又可分为激动剂和拮抗剂。通过抑制体内脂加氧酶活性、使用谷胱甘肽来调节内源性激动剂的量或使用 PPAR γ 拮抗剂,均可抑制 PPAR γ 活化状态,抑制骨髓基质干细胞向脂肪细胞分化,促进向成骨细胞的分化^[4]。

2.3 PPAR γ 的骨代谢效应

2.3.1 在成骨细胞形成中的应用:骨髓基质干细胞向成骨细胞分化需要核蛋白结合因子 al (cbf al) 的存在,cbf al 可以激活成骨细胞特有基因的表达,如骨钙素基因、骨桥蛋白基因以及 I 型胶原纤维基因等。如果缺少该因子的小鼠则成骨细胞数量减少,骨矿化过程减弱。PPAR γ 在骨髓基质干细胞分化中起重要作用,它可抑制 cbf al 的表达从而抑制成骨细胞特有基因的表达。

2.3.2 在破骨细胞分化中的作用:破骨细胞来源于骨髓基质中的前体细胞,其分化形成过程中涉及 3 种蛋白质:OPG-L、RANK 配体、OPG。向 CD34⁺ 造血干细胞(CD34⁺ HSCs)和人类间质细胞(hMSCs)的共培养系中加入外源性 OPG-L 后,破骨细胞生成增加;同时还发现 CD34⁺ HSCs 表达 PPAR γ ,而 hMSCs 不表达 PPAR γ ^[5]。

2.3.3 与骨密度(BMD)的关系:骨质疏松症的特征是骨量水平显著降低,骨量水平通常以骨密度(BMD)表示,BMD 值的高低与遗传和环境因素有关。Sumito 等^[6]采用 PCR-RELP 方法检测了日本妇女 PPAR γ 基因中第 6 位外显子的 C $\rightarrow$ T 突变产生的等基因多态性。结果发现 C/C 型纯合子最多,且总体 BMD 水平显著高于 C/T 型和 T/T 型杂合子,提示 PPAR γ 基因对 BMD 的作用可能发生在早期,如机体生长发育阶段。这种影响可能是直接的,也有可能是间接的。

3 参与调节骨髓脂肪分化的调控因子

一系列研究表明,多种激素、细胞因子或生长因子是脂肪细胞分化的重要调节因子,诸如类固醇激素、雌激素、生长激素、转化生长因子- β 、1,25(OH) $_2$ D $_3$ 等。这些因子介导骨髓脂肪细胞和成骨细胞之间的通讯网路,它们通常与其相应受体结合而激活调控级联反应。体内、外研究已证明,与 PPARs、糖皮质激素受体、雌激素受体、VDR 结合的

配体可调节骨髓基质干细胞的脂肪细胞生成和骨生成。

3.1 促进骨髓脂肪细胞分化的调控因子

3.1.1 糖皮质激素及其受体:董友等^[7]研究 PPAR γ 在糖皮质激素诱导的骨质疏松中的表达中,观察了实验组的骨密度及骨量明显低于正常对照组,且髓腔内脂肪细胞也明显多于对照组,出现脂肪细胞堆积,进一步的免疫组化结果表明,PPAR γ 在正常组少量表达,而模型组的表达明显增高,且 PPAR γ 的表达量与骨丢失量呈正相关,表明 PPAR γ 的高表达使骨髓腔内脂肪细胞增多,而成骨细胞数相应减少,可能是糖皮质激素诱导骨质疏松的发生机理。糖皮质激素受体可能介导脂肪细胞分化的全过程。体外研究表明,糖皮质激素通过糖皮质激素受体的配体结合域介导的非转录因子机制刺激髓外前脂肪细胞系 3T3L1 的分化,进而通过 C/EBP β 的转录活化启动 C/EBP α 的表达,并推测这一反应也存在于骨髓前脂肪细胞^[8]。对糖皮质激素受体信号的调控可能有助于骨质疏松症的治疗。

3.1.2 PPAR γ 配体:目前,针对 PPAR γ 治疗骨质疏松等骨丢失疾病的研究主要集中在 PPAR γ 配体方面。PPAR γ 配体不仅可以激活 PPAR γ 同时可抑制成骨细胞转录调控核蛋白结合因子 al 的表达和作用,从而促进干细胞的成脂分化。罗格列酮是噻唑烷二酮类(TZDs)胰岛素增敏剂,是 PPAR γ 的配体。罗格列酮通过激活 PPAR γ 转录活性,明显增加骨髓内脂肪组织量,同时减少骨密度和骨小梁面积。因此抑制 PPAR γ 配体合成可能是减少骨髓基质干细胞脂肪化的关键^[9]。

3.2 抑制骨髓脂肪细胞分化的调控因子

3.2.1 转化生长因子- β (TGF- β)及其受体:TGF- β 是成骨细胞中含量较多的生长因子,TGF- β 在成骨细胞的促进作用,可通过刺激骨髓成骨细胞祖细胞克隆数量和增殖能力,从而达到增加成骨细胞数量和活性的作用;TGF- β 对破骨细胞的抑制作用主要通过抑制破骨细胞前体细胞的增殖与分化,从而抑制破骨细胞形成。现已知道,骨髓基质细胞和脂肪细胞上都有 TGF- β 相关因子的受体和 BMP 的受体。TGF- β 和高浓度的 BMP 能延迟骨髓基质细胞向脂肪细胞分化^[10]。

3.2.2 雌激素及其受体:雌激素在维持骨量平衡中具有重要作用。袁成良等^[11]研究 17 β -雌二醇(E $_2$)对大鼠骨髓基质细胞 PPAR γ mRNA 表达的影响,探讨 E $_2$ 对成骨细胞的作用,结果表明 E $_2$ 能促进骨髓

基质细胞 PPAR γ 2 mRNA 及蛋白的表达,且呈剂量依赖性,降低 ALP 活性及 I 型胶原的合成,促进其向脂肪细胞分化,抑制成骨细胞的生成。雌激素缺乏时骨髓基质细胞 PPAR γ 2 mRNA 表达减弱,cbf a1 mRNA 表达增强使其向成骨细胞分化,进而影响破骨细胞生成及活性,产生高转换型骨代谢。

最近,植物雌激素被选作防治骨质疏松症的药物,如植物雌激素 Genistein 可通过雌激素受体,包括自分泌或旁分泌 TGF- β 信号途径,促进骨髓基质细胞向成骨细胞分化同时抑制向脂肪细胞的分化和成熟。然而 Genistein 的作用十分复杂,在低浓度时其作用类似于雌激素,可刺激骨生成,抑制脂肪细胞的生成,在高浓度时则作为 PPAR γ 配体,导致脂肪细胞生成增加,骨生成抑制^[12]。

3.2.3 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 与其受体(VDR):1,25(OH) $_2$ D $_3$ 是重要的骨形成促进剂,表现在促进骨髓基质细胞向成骨细胞的分化而降低骨吸收的作用。1,25(OH) $_2$ D $_3$ 除了能促进成骨细胞的形成外,还可抑制多种细胞的脂肪形成。1,25(OH) $_2$ D $_3$ 抑制培养小鼠骨髓基质细胞,通过激活 PPAR 受体诱导的脂肪形成,其中对 PPAR γ 激活诱导的脂肪形成抑制作用较弱^[13]。

有关 VDR 对脂肪细胞生成的作用的研究很少。有报道 VDR 通过 VD $_3$ 依赖的方式抑制 PPAR α 而非 PPAR γ 的转录活性,VDR 信号可作为经由 PPAR α 通路调节脂质代谢的因子^[14]。

4 骨髓脂肪细胞与骨质疏松症

骨质疏松症(OP)是以骨量减少、骨显微结构退化为特征,致使骨脆性增加,易于发生骨折的一种全身性骨骼疾病。增龄、去卵巢及其他原因造成的骨质疏松症都存在骨量减少和骨髓脂肪增加,在各种类型的骨质疏松症患者中发现骨髓中的脂肪细胞与松质骨的骨量成反比。

4.1 老年性骨质疏松症

又称退化性骨质疏松症,是生理衰老在骨骼方面的一种特殊表现,属原发性骨质疏松症 II 型。

衰老过程中脂肪细胞会出现再分布,使得脂肪在应该存在的部位(如皮下)沉积减少,而不应存在的部位(如肌肉、骨髓)沉积增加,对机体造成不良影响。现在研究认为随着年龄的增长,骨髓腔内的脂肪细胞不仅是体积增大,数目也大大增加,呈直线上升趋势,尤其是四周骨髓的骨髓腔中约 90% 被脂肪细胞占据。在临床研究中也发现儿童的骨髓腔中脂

肪细胞含量较少,主要为具有造血功能的“红骨髓”,老年人骨髓腔内主要是没有造血功能的“黄骨髓”。在老年性骨质疏松病人中,骨髓腔的脂肪细胞也大大增加,成骨能力降低^[15]。

陈槐卿等^[16]对比研究了 3、6、9、12 个月龄大鼠的骨髓基质干细胞(BMS)向成骨与成脂能力的变化。大鼠 BMS 的成骨能力检测了 I 型胶原的 mRNA 水平。结果发现,在诱导 2 d 后大鼠 BMS 的 I 型胶原的 mRNA 水平就有明显的随年龄增长而降低的趋势,到诱导 7 d 后的 12 个月龄大鼠 BMS I 型胶原的 mRNA 表达较 3 个月龄组明显降低。大鼠 BMS 的成脂能力检测了脂蛋白脂酶(LPL)mRNA 水平。结果发现,在诱导 2 d 后大鼠 BMS 的 LPL mRNA 水平就有明显的随年龄增长而增高的趋势,到诱导 7 d 后,12 个月龄大鼠 BMS 的 LPL mRNA 表达较 3 个月龄组明显增长。结论为大鼠的 BMS 随月龄增长成骨能力降低,成脂能力增强。

丰盛梅等^[17]观察了大鼠骨髓细胞中过氧化物配体增物激活受体(PPAR γ)与核蛋白结合因子 a1(cbfa1)表达的增龄性变化。实验结果显示,增龄过程中骨髓细胞 PPAR γ mRNA 表达的增加出现在 7 月龄以后,18 月龄为最显著,表明骨髓基质细胞向脂肪细胞分化的增强,与老年性骨质疏松症常伴骨髓中脂肪组织增加的现象一致,3 月龄大鼠骨髓细胞中 cbfa1 mRNA 表达水平最高,表明该阶段骨髓细胞向成骨细胞分化加速以适应骨骼快速生长的需求,18 月龄以 cbfa1 mRNA 表达仅为 3 月龄的 6%,表明向成骨细胞分化程度减低,成骨细胞前体明显减少,与大鼠骨量增龄性变化相一致。结果提示,PPAR γ 在老年大鼠骨髓基质干细胞向成骨细胞分化抑制,同时向脂肪细胞分化增强的过程中起一定作用,这可能是老年性骨衰退发生的细胞分子机制之一。老年人由于 BMS 向成骨细胞分化受抑制,而脂肪细胞生成增多,且成骨细胞分裂增殖缓慢及骨形成因子合成分泌减少等原因,使成骨细胞数量减少、活性衰退导致骨形成期延长,骨形成率降低,表现为“低转换”型骨质疏松症。

4.2 绝经后骨质疏松症(PMOP)

由于绝经期卵巢功能减退,内源性雌激素分泌减少与绝经后骨质疏松症发生有密切关系。在卵巢切除大鼠模型中,雌激素水平降低导致骨体积减少、骨吸收表面增加、骨髓脂肪含量增加。杨丽等^[18]观察对去卵巢骨质疏松大鼠骨形态学的影响,结果显示,模型组骨小梁纤细、数目减少且形态结构完整性

差,有的部位有骨小梁间隙增大、骨髓腔增宽、骨髓腔内脂肪细胞增多。

袁成良等^[19]探讨雌二醇(E_2)对大鼠骨髓基质细胞在向成骨细胞分化过程中 BMPR-IB 与 PPAR γ 2 mRNA 表达的影响,结果提示 E_2 通过对骨髓基质细胞 BMPR-IB 与 PPAR γ 2 表达的调节,从而调控基质细胞向脂肪细胞的分化。绝经妇女因雌激素缺乏, E_2 对骨髓基质细胞 PPAR γ 2 mRNA 表达的调节作用下降,使其向成骨细胞分化,继而破骨细胞增加,引起高转换骨代谢,可能是绝经后高转换骨代谢发生的机制之一。

4.3 继发性骨质疏松症

继发性骨质疏松症,是指由于某此疾病或长期服用某些药物等诱发的骨量减少、骨的微观结构退化,致使骨的脆性增加,导致易于发生骨折的一种全身性骨病。其中长期的糖皮质激素治疗导致骨量丢失,增加骨折的发生率是继发性骨质疏松症的最常见原因。

王华松等^[20]观察地塞米松诱导骨髓基质细胞向脂肪细胞分化的作用,结果表明骨髓基质细胞内脂滴出现,随着诱导的时间延长细胞内的脂滴逐渐增加,并融合成大的脂泡。在高浓度的地塞米松诱导下骨髓基质细胞可分化为脂肪细胞,这可能是激素性骨质疏松症的发病原因之一。

殷力等^[21]进行了地塞米松调节骨髓基质细胞成脂及成骨分化的研究,结果表明,地塞米松能够诱导骨髓基质细胞表达脂肪特异性基因 $\alpha p2$ mRNA,同时降低成骨基因 I 型胶原的 mRNA 表达,即从基因调控水平直接诱导其向脂肪细胞分化,减少向成骨细胞分化。

综上所述,骨质疏松症可能归因于骨髓脂肪细胞生成增加和骨生成受损。骨髓脂肪细胞生成与骨生成、造血生成和破骨细胞生成之间存在复杂的关系。骨髓脂肪细胞可能被视为骨质疏松症防治的重要靶细胞,调控骨髓脂肪细胞生成过程中的信号通路,可能成为骨质疏松症防治药物设计的重要分子靶点。

【参 考 文 献】

[1] Pittenger MF, Mackey AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell. Science, 1999, 284:143-147.
[2] 张维成, 陈志信, 王和平, 等. 大鼠骨髓基质细胞体外成脂、成骨分化的研究. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(11):45-48.
[3] 刘美莲. 过氧化物配体增殖物激活受体研究的新进展. 国外医

学生理、病理科学与临床分册, 2001, 21(5):413-416.

- [4] 许莹莹, 金慰芳, 王洪复. PPAR γ 2 信号通路的调节及其对成骨特异因子的影响. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(4):523-528.
[5] 李继斌. 脂激活转录因子 PPAR 的骨生理效应. 国外医学分子生物学分册, 2002, 24(2):110-112.
[6] Sumito O, Tomohiko U. Association of Bone Mineral Density with a polymorphism of the Peroxisome Proliferator Activated Receptor- α Gene: PPAR γ Expression in Osteoblasts. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 260:122-126.
[7] 董友, 郭昭庆, 宋存理. PPAR γ 在糖皮质激素诱导的骨质疏松中的表达. 中国比较医学杂志, 2003, 13(3):150-154.
[8] Wiper-Bergeron N, Wu D, Pope L, et al. Stimulation of preadipocyte differentiation by steroid through targeting of an HDAC1 complex. EMBO J, 2003, 22:2135-2145.
[9] 李慧武, 戴戎. 骨髓腔内成骨与成脂平衡的调控. 国外医学·骨科学分册, 2005, 26(5):287-289.
[10] Gimble JM, Morgan C, Kelly K et al. Bone morphogenetic proteins inhibit adipocyte differentiation by bone marrow stromal cell. J Cell Biochem, 1995, 58(3):393-402.
[11] 袁成良, 金小岗, 侯建红, 等. 17β -雌二醇对骨髓基质细胞 PPAR γ 2 mRNA 表达的影响. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(1):67-70.
[12] Dang ZC, Audinot V, Papapoulos SE, et al. Peroxisome proliferator activated receptor gamma(PPAR γ) as a molecular target for the soy phytoestrogen genistein. J Cell Biochem, 2003, 278:962-967.
[13] Kelly KA, Gimble JM. 125-dihydroxy vitamin D $_3$ inhibits adipocyte differentiation and gene expression in murine bone marrow stromal cell clones and primary cultures. Endocrinology, 1998, 139(5):2622-2628.
[14] Sakuma T, Miyamoto T, Jiang W, et al. Inhibition of peroxisome proliferator activated receptor alpha(PPAR α) signaling by vitamin D receptor. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 312:513-519.
[15] Burkhardt R, Kettner G, Bohm W, et al. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anaemia, primary osteoporosis and old age: a comparative histomorphometric study. Bone, 1987, 8:157-164.
[16] 陈槐卿, 药蓉, 韩君, 等. 增龄对大鼠骨髓基质细胞分化的影响. 中国医学科学院学报, 2003, 25(3):244-249.
[17] 丰盛梅, 金慰芳, 高建军, 等. 大鼠骨髓细胞 PPAR γ 和 Cbfa1 mRNA 表达的增龄变化及相关性研究. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(2):164-166.
[18] 杨丽, 张荣华, 朱晓峰, 等. 益骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨形态学与血清雌二醇及肿瘤坏死因子 α 变化的干预. 中国临床康复, 2005, 9(31):175-177.
[19] 袁成良, 薛萍, 黄海, 等. 雌二醇对骨髓基质细胞分化的作用. 西南国防医药, 2005, 15(4):357-361.
[20] 王华松, 陈庄洪, 罗永相. 骨髓基质细胞定向成脂分化的实验研究. 华南国防医学杂志, 2005, 19(4):12-15.
[21] 殷力, 李月白, 许建中, 等. 地塞米松调节骨髓基质细胞成脂及成骨分化的研究. 中华实验外科杂志, 2001, 17(6):557-558.

(收稿日期:2006-05-26)