

激素性股骨头坏死的骨质疏松学说

张华峰 马信龙

1957 年由 Pietrogrande 和 Mastommarino 报道了第一例由糖皮质激素引起的股骨头坏死的病例,其后关于激素性股骨头坏死的病例逐渐增多,也日益受到关注。由于免疫性疾病长期的激素治疗,器官移植术后的激素使用等因素,由激素诱发的股骨头坏死越来越多,陈卫衡等^[1]对 86 例经激素治疗后痊愈的非典型性肺炎康复者做出了分析后,确诊股骨头坏死的达到 46 例,发病率达 53.5%。此发现更加提高了医学界对激素性股骨头坏死的重视。

激素性股骨头坏死的原因有很多,如凝血功能障碍学说、血管内凝血学说、免疫复合物沉积引起动脉血管炎学说、脂质代谢障碍学说、骨内压增高学说、骨质疏松学说等。笔者通过激素对骨组织内各种成分的作用及骨质疏松的可能机制的分析,认为骨质疏松学说是最重要的学说。

1 激素对成骨细胞的影响

成骨细胞被定义为可以产生骨质或者基质的细胞。成骨细胞可产生 I 型胶原、骨钙素、碱性磷酸酶、骨黏蛋白、骨特异性细胞外基质蛋白等多种物质。成骨细胞分泌类基质(主要是骨胶原纤维和有机基质)并向类基质中释放基质小泡(内有各种酶、钙和骨盐的结晶),类基质被基质小泡的分泌物钙化而形成了骨的基本骨架,而成骨细胞被未钙化的类基质包埋而形成骨细胞。

糖皮质激素改变成骨细胞的分化、数量和功能从而产生骨质疏松^[2],通过抑制 BMP(骨形态发生蛋白)和 Cbfa1(核心结合因子 α1)来降低成骨细胞的分化^[3]。糖皮质激素抑制成骨细胞增殖,Eijken 等^[4]发现激素对成骨细胞的影响是双向性的,呈现明显的浓度依赖性,低浓度激素可轻度刺激成骨细胞的增殖,而高浓度则抑制成骨细胞增殖。

糖皮质激素还可通过调节细胞周期来影响成骨细胞增殖,Smith 等^[5]报道糖皮质激素降低成骨细胞

周期素 A 和 CDK 2(细胞周期蛋白依赖激酶 2)水平,并减弱激酶的活性,使周期素 A-CDK 2 与 E 2 F 4-p 130 复合物分离,阻止其由 G 1 期向 S 期转变,同时改变 p 27 蛋白和 p 21 蛋白的水平。

糖皮质激素可促进成骨细胞凋亡,使骨形成降低,最终表现为骨量减少。Canalis^[6]研究表明糖皮质激素通过抑制成骨细胞的形成和促进成骨细胞和骨细胞的凋亡而最终导致骨质疏松。Calder 等^[7]对 40 例行全髋置换术的患者进行研究,其中 20 例为股骨头坏死,包括 7 例激素性股骨头坏死,20 例为骨性关节炎为对照组。分别进行 eNOS(表皮一氧化氮合酶)和 iNOS(诱发性一氧化氮合酶)的测定,并同时通过 DNA 检测来反应组织内细胞凋亡情况。结果显示股骨头坏死特别是激素性股骨头坏死的患者中,eNOS 和 iNOS 的表达明显高于对照组($P < 0.001$),产生大量的凋亡细胞,并通过 TUNEL 反应显示凋亡的细胞是成骨细胞、骨细胞和骨髓细胞,eNOS 和 iNOS 的表达和细胞凋亡程度呈正相关。eNOS 反映骨组织重建的程度,而 iNOS 反映 NO 的水平^[8],从中我们可得知股骨头坏死患者中特别是激素性股骨头坏死患者中,NO 出现高水平,NO 的毒性造成了细胞的凋亡并促进了骨组织的重建,特别是成骨细胞大量凋亡后,产生基质的能力明显下降,并最终导致骨质疏松和应力性股骨头坏死。

2 激素对破骨细胞的影响

破骨细胞是骨的主要吸收细胞,1873 年 Kolliker 发现破骨细胞。破骨细胞、巨噬细胞、单核细胞共同来源于同一造血前体细胞—粒巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM),最早的破骨细胞前体细胞为 CFU-GM。破骨细胞是由循环着的破骨细胞前体细胞融合而成的,而这些前体细胞为血系起源。它们存在于骨髓,脾等造血组织中和外周循环血液中,它们组成了单核巨噬细胞的一部分,在局部特定微环境中可形成破骨样细胞。破骨细胞的主要作用就是通过它的皱褶缘来进行骨的吸收^[9]。

激素对破骨细胞的作用一直以来是人们研究的

重点,到目前为止,破骨细胞上还没有发现激素的受体,激素主要通过间接作用来影响破骨细胞的活性和功能。已经发现很多的对破骨细胞的功能调节起重要作用的细胞因子,而 OPG(骨保护蛋白),RANK(NF- κ B 受体活化因子),RANKL(NF- κ B 受体活化因子配体)^[3] 因子系统对于破骨细胞的成熟、分化及功能起重要的作用^[10]。

1997 年 OPG 被两个工作组分别独立发现,OPG 是一种分泌性的 TNFR(肿瘤坏死因子超家族受体),但是没有跨膜区,是一种游离的受体,由 401 个氨基酸组成并有一个 21 个氨基酸的信号肽,OPG 在很多的细胞和组织中都有着广泛和丰富的表达。OPG 在生理条件下具有抑制骨吸收的活动,OPG 也能抑制高钙血症和骨量丢失,OPG 能抑制佐剂性关节炎引起的骨破坏并在抑制绝经后妇女的骨吸收活动方面具有显著的作用。RANKL 也是一种 TNF 超级族配体,它表达 3 种截然不同的方式,很多的骨组织细胞和骨组织外细胞,包括破骨细胞、成骨细胞、软骨细胞和间充质细胞都表达 RANKL^[11]。RANKL 有成骨细胞谱系细胞产生,是破骨细胞的形成、分化、激活的必须因子,并最终导致骨的吸收。RANK 存在于破骨细胞和树突状细胞表面,它代表 I 型跨膜受体,包含 616 个氨基酸,并有 4 个富含半胱氨酸的重复序列。

成骨细胞表面表达的 RANKL 和它的特异性受体—破骨细胞表面的 RANK 结合后激活 c-jun/c-fos, NF- κ B 和丝氨酸/苏氨酸激酶 PKB/Akt 路径,c-jun/c-fos 和 NF- κ B 路径最终可以促进破骨细胞的形成和活化,而第三个途径可以产生抗凋亡信号并促细胞骨架的重建。已经有研究显示,TNF- α 和 IL-1 介入 RANKL-RANK 途径并分别可活化破骨细胞的形成和刺激破骨细胞的活性^[12]。OPG 作为一种拮抗剂与 RANK 竞争性结合 RANKL,从而阻断骨吸收信号的传递,抑制破骨细胞的分化与激活,阻止骨吸收的进行。已经证明,前成骨细胞大量的表达 RANKL 却只分泌少量 OPG,RANKL/OPG 比值高而此时形成破骨细胞能力以及破骨细胞的活性都很强。随着成骨细胞的分化和成熟,RANKL 的表达降低,RANK/OPG 比值下降,同时形成破骨细胞的能力以及其活性都下降,RANKL/OPG 的基因表达受很多因素的调节,如糖皮质激素、1,25(OH)₂D₃、PTH、VIP、TGF- β ₁ 等。

糖皮质激素通过诱导 RANKL、成骨细胞 CSF-1(集落刺激因子-1)的产生,减少骨保护蛋白的表达,阻止成熟破骨细胞的凋亡等方式来促进骨的吸

收^[13]。糖皮质激素通过下调 OPG mRNA 的表达^[14],提高 RANK 和 RANKL 的结合水平,从而增加破骨细胞的生成和活性。破骨细胞活性增强,数量增多,大量的破坏骨基质,造成骨质疏松,最终造成骨塌陷引发股骨头坏死。

3 激素对骨细胞的影响

骨组织中含有最多的细胞是骨细胞,激素可引起骨细胞大量凋亡^[15]。Weinstein 等^[16]对激素性股骨头坏死和其他类型股骨头坏死的患者进行了骨细胞凋亡的检查,结果显示,激素性股骨头坏死组中近端股骨头松质骨区存在大量凋亡的骨细胞,可见大量骨细胞的空泡陷窝,并将其作为股骨头坏死的一个重要指标。同时认为,因为大量的骨细胞的凋亡,会形成一种累积的、不可修复的缺陷,并导致骨细胞的小管系统机械功能下降,骨细胞对钙磷代谢调节能力下降,局部骨强度丧失而促成了股骨头坏死。激素致骨细胞凋亡同样解释了为什么股骨头坏死的发病率与激素用量正相关,因为激素用量与骨细胞的凋亡呈正相关。

4 激素对骨基质的影响

激素可以影响 I 型胶原、骨钙素、骨桥蛋白、透明质酸和黏多糖等多种细胞外基质的合成。并因此而引起骨质疏松、骨强度下降,最终骨塌陷而引起股骨头坏死。

4.1 激素对 I 型胶原的影响

I 型胶原由成骨细胞分泌,构成了骨小梁的有机基质框架。Monegal 等^[17]用地塞米松作用于体外培养的成骨细胞,并用 IMP(免疫过氧化物酶)技术来测定成骨细胞内 I 型原胶原的合成,结果表明,地塞米松作用 24 h 后 I 型原胶原的合成降低($P = 0.012$),而成骨细胞的数量没有变化。由此可知地塞米松直接影响胶原的合成,而不是通过减少成骨细胞的数量间接影响其数量。

Cutroneo 等^[18]证明了糖皮质激素通过抑制 I 型胶原基因远端启动子 TGF- β 元件来抑制 I 型胶原的合成。

4.2 激素对骨基质蛋白的影响

骨的基质蛋白包括很多种,如骨钙素、骨桥蛋白、骨涎蛋白、透明质酸和黏多糖等,这些基质蛋白可以调控骨的矿化,连接细胞,调节矿质成熟,起到十分重要的作用。激素对骨基质蛋白的影响主要表现在对骨钙素的影响。

骨钙素是由成骨细胞产生的由 43 个氨基酸组成的多肽,是骨组织中最丰富的非胶原性蛋白,同时是成骨细胞分化的标志之一,其作用为促进羟磷灰石在骨基质的沉着。成骨细胞产生和分泌的骨钙素,2/3 与羟磷灰石结晶结合沉积于骨基质,1/3 进入血循环。因此,血清骨钙素浓度能特异性反映成骨细胞活性,可用于判断成骨细胞活性受抑制的程度。在骨吸收过程中,基质骨钙素又可释放于血液。因此,血清骨钙素水平又可作为判断骨转换状况的指标。Leclerc 等^[19]用地塞米松作用于鼠类的 MC 3 T 3-E 1 成骨细胞培养基,发现骨钙素的含量下降,并进一步研究发现,骨钙素基因的启动子的 RunX 2 位点的上游有一个 Egr 2/Krox 20 结合位点,并且此位点是骨钙素基因的增强子,地塞米松通过抑制成骨细胞中 Egr 2/Krox 20 的表达而抑制骨钙素的生成。

5 激素对骨髓基质细胞的影响

骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSC)是位于骨髓中的一种干细胞,因在体外经适当的培养条件可以向成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞等多种间充质来源的组织细胞分化,又称间充质干细胞。激素可以促进 BMSC 分化成脂肪细胞,而抑制其分化为成骨细胞,从而使得骨组织强度下降,而导致应力下骨塌陷的产生。Cbfa 1/Runx 2(核心结合因子 a1/Runt 相关性转录因子 2)是诱导成骨细胞转录的特异性因子^[20],PPAR γ 2(过氧化物酶增殖体激活受体 γ 2)主要存在于脂肪细胞,PPAR γ 2 基因的表达可引起 BMSC 向脂肪细胞的分化。Li 等^[21]通过用地塞米松作用于体外培养的 BMSC 中,用光镜观察可见激素组脂肪细胞大量分化,用 RT-PCR 的方法测定激素作用后 PPAR γ 2 mRNA 的表达明显高于对照组($P < 0.05$),并且其增加程度和激素的用量和激素的作用时间成正相关。激素作用后 Cbfa 1/Runx 2 mRNA 的表达明显低于对照组($P < 0.05$),其减低的程度与激素的用量和激素的作用时间成正相关。因此,可得出激素是通过上调 PPAR γ 2 mRNA 的表达和下调 Cbfa 1/Runx 2 mRNA 的表达而引起骨髓基质细胞向脂肪细胞分化的。

Marom 等^[22]研究发现,体外培养的人或鼠的骨髓基质干细胞表达 CReMM(染色质相关性间叶细胞调节器),是 DNA 结合染色区螺旋酶家族的一种, CReMM 的表达与碱性磷酸酶的表达呈负相关。用地塞米松作用于体外培养的骨髓基质干细胞,

CReMM 的表达在蛋白和 mRNA 水平上都降低,并通过免疫沉淀反应发现了 CReMM 和激素受体间有密切的关系,由此得知激素引起骨量改变的新途径。

6 总结

激素性骨质疏松是一个骨吸收大于骨形成的过程,这个过程涉及到了激素对很多因素的影响,笔者通过综述激素对骨组织各成分的作用,得出了激素会引起股骨头骨质疏松的结论并对其机制作了相应的剖析。

骨正常的情况下都承担一定的应力,正常的骨组织在超应力条件下会产生骨折。激素可以引起骨质疏松,造成局部骨组织强度下降,此时在正常的应力下就会产生骨小梁的微骨折,骨组织并开始进行重建,最终导致股骨头的坏死。但也有学者认为激素直接影响股骨头的血运而造成缺血性股骨头坏死。笔者认为激素对骨组织的作用是一个复杂的病理过程,先造成骨质疏松后,骨强度下降,骨小梁局部受力增强引起血管的破坏,而产生股骨头坏死。但是这两个过程的时间前后问题仍需要我们继续研究。

【参考文献】

- [1] 陈卫衡,张强,刘道兵. SARS 并发股骨头坏死的发病特点分析及临床意义. 中国骨伤,2004,17(7) 338-340.
- [2] Canalis E. Mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. Curr Opin Rheumatol,2003,15 454-459.
- [3] Olmos JM, Amado JA, Valero C, et al. Factors other than glucocorticoids are involved in the osteoblast activity decrease caused by tissue injury. Clin Endocrinol (Oxf),2006,64(3) 280-287.
- [4] Eijken M, Koedam M, van Driel M, et al. The essential role of glucocorticoids for proper human osteoblast differentiation and matrix mineralization. Mol Cell Endocrinol,2006,27 87-93.
- [5] Smith E, Redman RA, Logg CR, et al. Glucocorticoids inhibit developmental stage-specific osteoblast cell cycle. Dissociation of cyclin A-cyclin-dependent kinase 2 from E2F4-p130 complexes. J Bio Chem,2000,275 19992-20001.
- [6] Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. Curr Osteoporos Rep,2005,3(3) 98-102.
- [7] Calder JDF, Buttery L, Revell PA. Apoptosis-a significant cause of bone cell death in osteonecrosis of the femoral head. Bone Joint Surg, 2004,86 1209-1214.
- [8] Oktem G, Uslu S, Vatansever SH, et al. Evaluation of the relationship between inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity and effects of melatonin in experimental osteoporosis in the rat. Surg Radiol Anat,2005,15 1-6.
- [9] Wang YD, Wang L, Li DJ, et al. Dehydroepiandrosterone Inhibited the Bone Resorption through the Upregulation of OPG/RANKL. Cell

- Mol Immunol, 2006, 3(1): 41-45.
- [10] Li Z, Kong K, Qi W, et al. Osteoclast and its roles in calcium metabolism and bone development and remodeling. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 2: 60-65.
- [11] Holen I, Shipman CM. Role of osteoprotegerin (OPG) in cancer. Clin Sci (Lond), 2006, 110(3): 279-291.
- [12] Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. Division of Gastroenterology Endocrinology and Metabolism, 2001, 3: 243-253.
- [13] Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. JAMA, 2004, 292: 490-495.
- [14] Humphrey EL, Williams JH, Davie MW, et al. Effects of dissociated glucocorticoids on OPG and RANKL in osteoblastic cells. Bone, 2005, 16: 45-49.
- [15] Tian WM, Wang WZ, Wang XG, et al. Effect of Gufuhuo decoction on local apoptosis of steroid-induced necrosis of femoral head. Zhong Guo Zhong Yao Za Zhi, 2005, 30(23): 1848-1851.
- [16] Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC. Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85: 2907-2912.
- [17] Monegal A, Peris P. Immunocytochemical Evidence on the Effects of Glucocorticoids on Type I Collagen Synthesis in Human Osteoblastic Cells. Calcified Tissue International, 2004, 74: 284-293.
- [18] Cutroneo KR, Sterling KM Jr. J Cell Biochem. How do glucocorticoids compare to oligo decoys as inhibitors of collagen synthesis and potential toxicity of these therapeutics. Bone, 2004, 92(1): 6-15.
- [19] Perez JR, Shull S, Gendimenico GJ, et al. Glucocorticoid and retinoid regulation of alpha-2 type I procollagen promoter activity. J Cell Biochem, 1992, 50: 26-34.
- [20] Phillips JE, Gersbach CA, Wojtowicz AM, et al. Glucocorticoid-induced osteogenesis is negatively regulated by Runx2/Cbfa1 serine phosphorylation. J Cell Sci, 2006, 119: 581-591.
- [21] Xudong Li, Li Jin, Quanjun Cui. Steroid effects on osteogenesis through mesenchymal cell gene expression. Osteoporosis, 2004, 16: 101-108.
- [22] Marom R, Shur I, Hager GL, et al. Expression and regulation of CREMM, a chromodomain helicase-DNA-binding (CHD) in marrow stroma derived osteoprogenitors. J Cell Physiol, 2006, 2: 17-23.

(收稿日期: 2006-05-10)