

骨桥蛋白与骨质疏松症研究进展

茅文斌 综述 邵增务 审校

摘要：骨桥蛋白作为体内广泛存在的细胞因子和趋化因子，在骨代谢中起到重要作用。骨桥蛋白可能刺激成骨细胞增殖、钙化，促进破骨细胞与骨基质的黏附并提高破骨细胞的溶骨活性，介导机械应力引起的骨代谢变化，并抑制骨组织的矿化过程。本文就骨桥蛋白在骨质疏松症的发病中所起作用作一综述。

关键词：骨桥蛋白；骨质疏松症

Research development of osteopontin and osteoporosis MAO Wenbin, SHAO Zengwu. Department of Orthopaedics, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract： Osteopontin is an extensive existing cytokine and chemotactic factor and play an important role in bone metabolism. It may stimulate osteoblast proliferation and calcification, encourage osteoclast adhere to bone matrix and enhance its osteolytic activity, mediate bone metabolism induced by mechanical stress, and inhibit bone mineralization. This article reviews the effect of osteopontin on onset of osteoporosis.

Key words： Osteopontin；Osteoporosis

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是中老年人群中常见的一种进行性退变性疾病，其病理特征为骨量减低，骨组织微结构退行性变，骨脆性增加从而容易发生骨折。流行病学调查显示 60~70 岁老人中约 1/3 患有骨质疏松症，而 80 岁以上老人则有半数以上患有此病。随着世界老龄化人口的增加，OP 的发病率也呈现逐年上升的趋势。OP 的患者出现疼痛，严重者发生骨折和脊柱变形，使老年人生活质量下降，带来肉体和精神上的双重痛苦，OP 所带来的危害已引起全世界的广泛关注，对 OP 的基础及临床方面的研究也成为医学科研人员研究的重点。

OP 的发病机制较为复杂，涉及到激素、细胞因子、机械应力等多方面因素，目前尚未完全阐明。各种原因引起的骨代谢异常，骨的吸收和重建平衡破坏，可能是导致骨质疏松症发生的中心环节。近年来研究发现骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)在骨代谢中起到重要作用，可能与骨质疏松症的发病有关，笔者就骨桥蛋白与骨质疏松症的关系综述如下。

1 骨桥蛋白的一般特性

1.1 骨桥蛋白的结构特点和生理功能

OPN 是一种富含丝氨酸、谷氨酸和天冬氨酸的分泌型糖基化磷蛋白，属于细胞外的基质蛋白。人的 OPN 基因由 7 个外显子和 6 个内含子组成，定位于 4q13 上。在不同的物种中，OPN 的大小和形式并不完全相同，但它们都具有相同的特异性保守序列：信号肽序列、7~10 个连续的 Asp 序列、RGD 序列和酪氨酸激酶 II 磷酸化识别序列^[1]。RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)序列是 OPN 分子中的一种特殊结构，在体内经凝血酶酶切后 RGD 序列得以暴露，可与细胞表面的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素受体结合，促进细胞黏附，从而介导许多重要的生理功能。OPN 在体内通常以磷酸化和去磷酸化两种形式存在，这可能与它的功能要求有关，Gericke 等^[2]指出 OPN 的磷酸化是其调节骨组织矿化的先决条件，去磷酸化的 OPN 对骨组织矿化过程是无作用的。OPN 作为体内广泛存在的细胞因子和趋化因子，可结合多种物质如整合素受体、CD 44、H 因子和羟基磷灰石等，参与介导许多生理和病理学现象如血管生成、细胞凋亡、炎症、骨代谢和肿瘤转移等，在其中发挥重要作用^[3]。

作者单位：430022 武汉，华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科

通讯作者：茅文斌，Email: maowenbin77@163.com

1.2 骨桥蛋白基因的表达和转录调控

OPN 主要由体内成骨细胞、破骨细胞、巨噬细胞、T 细胞、造血细胞和血管平滑肌细胞等合成和分泌^[4], 正常情况下其表达具有一定的组织特异性, 主要分布于骨、肾、皮肤等组织里, 在其他组织表达较少, 但在病理情况下大多数组织均有明显表达。已发现多种因素可调控 OPN 基因的转录与表达: VitD3 可通过结合 OPN 启动子维生素 D 受体反应元件 (Vitamin D Responsive Elements, VDRE) 刺激 OPN 基因的转录, Shen 等^[5]研究发现 VitD 与 RunX 2 基因对于诱导成骨细胞内 OPN 的转录和蛋白表达具有协同作用, 当中断 VitD 受体和 RunX 2 途径时可显著抑制成骨细胞内 OPN 的表达; 甲状旁腺激素 (Parathyroid Hormone, PTH) 也可调节 OPN 在成骨细胞内的表达; 一些细胞因子对 OPN 表达也具有重要作用, 白介素-1 (Interleukin-1, IL-1) 能上调大鼠新月形肾小球肾炎表达 OPN, 并能调节成骨细胞表达 OPN mRNA, 转化生长因子- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β) 与成纤维细胞生长因子 (Fibroblast Growth Factor, FGF) 对 OPN 也均有调控作用; 此外, 肾素-血管紧张素系统 (RAS)、低氧等也可调节体内 OPN 的转录与表达并各自发挥不同的生理功能。

2 骨桥蛋白与骨质疏松症的关系

2.1 骨桥蛋白对成骨细胞 (Osteoblast, OB) 的作用

正常骨组织由骨细胞和骨基质共同组成, 其中骨细胞包括成骨细胞、破骨细胞和由成骨细胞衍生的骨细胞, 这 3 种细胞通过有序的、紧密耦联的方式吸收骨基质和形成新骨, 维持骨的生物学性能和内环境中钙离子的平衡。OPN 是 OB 的表型之一, 在 OB 中广泛存在。体外试验发现在骨基质矿化开始后, OB 中的 OPN-mRNA 水平开始升高。一般认为 OPN 可诱导 OB 的分化, 促进矿化组织的重建, 但 Huang 等^[6]的实验显示 OPN 可抑制 OB 的增殖和分化, 并且抑制骨组织内矿物质沉积, 由此认为 OPN 可能是引起骨质疏松症的重要原因; Noda 等^[7]研究发现骨重建过程中 OPN 在骨质线和骨膜板中含量明显较高, 提示 OPN 可能对 OB 的黏附过程和骨代谢循环的起始和中止过程起到重要作用; 此外, Wan 等^[8]观察到在模拟失重状态下骨组织内 OPN 的表达明显减少, 引起 OB 钙化功能受到抑制, 同时碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, ALP) 的活性降低, 骨钙素 (Bone Gla Protein, BGP) 的分泌量也明显减少, 骨丢失增多, 认为 OPN 的表达下降可能是长期卧床和

运动量较少的人易患骨质疏松症原因之一。对于以上两种不同的研究结果目前尚未定论, 这也表明 OPN 对 OB 可能具有复杂的双重作用机制。

2.2 骨桥蛋白对破骨细胞 (Osteoclast, OC) 的作用

OPN 对于 OC 的生理功能非常重要, 它可促进 OC 与骨基质的黏附, 诱导 OC 的破骨过程, 可能是骨质疏松症发病机制中的重要环节。OPN 分子中的 RGD 序列对于 OC 与骨基质间黏附以及 OC 的活化和 OC 介导的骨吸收非常重要, 在 OC 表面存在 $\alpha_v\beta_3$ 整合素受体, 可以结合 OPN 分子中的特殊的 RGD 序列, 从而激活整合素受体, 通过信号系统的传递调控某些水解酶基因的表达, 促进 OC 在骨基质内的黏附和迁移, 为骨吸收创造条件。此外, OPN 对 OC 还有趋化作用, 可增强 OC 的移动和聚集。Uemura 等^[9]证实 OPN 可通过与 $\alpha_v\beta_3$ 整合素受体间相互作用来调节 OC 的活性, OPN 可诱导 OC 表达金属蛋白酶-9、组织蛋白酶-K 和抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 来降解骨基质; Chellaiah 等^[10]实验显示 OPN 可刺激 OC 表面 CD 44 的表达, 而 CD 44 可显著提高 OC 的活力以及促进骨吸收作用, 当在实验中敲除 OPN 基因后, 观察到 CD 44 在 OC 的表达明显减少, 同时发现 OC 功能异常和骨吸收减少; Ihara 等^[11]也观察到 OPN 基因敲除后骨内 OC 数量明显减少, PTH 诱导的骨吸收作用也明显减弱; Koyama 等^[12]研究了 OPN 在高磷负荷饮食诱导的骨丢失中所起的作用, 发现野生型小鼠在给予高磷饮食后出现明显的骨密度降低和骨量减少, 而 OPN 基因敲除小鼠则无此改变, 进一步研究显示两种小鼠的骨生成参数无明显差别, 而野生型小鼠的骨吸收参数 (OC 的数量、活性) 却明显高于 OPN 基因敲除小鼠, 提示 OPN 可能对刺激 OC 的数量和活性具有重要作用。以上研究均证明 OPN 对 OC 的生理功能起到积极的促进作用, 其原因可能是 OPN 促进 OC 的黏附和提高 OC 的溶骨活性, 其中具体的作用机制还有待更深入的研究。

2.3 骨桥蛋白对机械应力引起的骨代谢的作用

骨组织是一种特殊的生物组织, 在失去机械应力刺激和受到机械应力刺激的状态下都可发生骨吸收和骨重建, 研究表明 OPN 可能在这两个过程中均起到重要作用。Ishijima 等^[13]认为 OPN 是无应力负荷状态下诱导的骨丢失 (废用性萎缩) 中重要的调节因素, 他们对野生型小鼠和 OPN 基因敲除小鼠进行实验, 发现前者在无机机械应力负荷下出现了明显的骨丢失而后者却无此表现, 进一步研究显示 OPN 调节机械应激的信号通路位于编码细胞凋亡相关分子

的基因上游区域,而 Fujihara 等^[14]研究发现由于机械应力刺激引起的骨重建过程在 OPN 基因敲除小鼠中受到明显抑制,提示 OPN 在骨重建中也起到重要作用;Morinobu 等^[15]建立一个用膨胀应力诱导的成骨模型,观察 OPN 在应力刺激下对骨形成的作用,发现野生型小鼠在应力刺激下成骨作用明显,同时在新骨形成区域有明显的 OPN 蛋白表达,而 OPN 基因敲除小鼠在同样情况下却无明显的新骨形成。机械应力引起的骨代谢状态的改变其具体机制目前还不十分明确,可能当机械应力作用于骨上时,触发骨细胞和骨基质中相应的压力感受器,引起某些离子通道的开放和释放一些细胞因子和蛋白激酶等,通过信息传递和转导,趋化破骨细胞和成骨细胞的聚集,对骨吸收和骨重建过程发挥作用。OPN 在这些过程中可能起到促进成骨细胞和破骨细胞在骨基质中的黏附和聚集,调节两者功能,协助降解骨基质,以及参与传递信号和激活通路等作用。

2.4 骨桥蛋白对骨组织内骨矿代谢的作用

OPN 可诱导矿化骨基质的成熟,调节羟基磷灰石的形成,促进矿化组织的重建。体外实验显示磷酸化的 OPN 可抑制羟基磷灰石晶体的形成,而体内实验表明 OPN 在骨基质的矿化过程中主要影响骨基质的矿化速率,而不影响羟基磷灰石的结晶生长成核^[16]。Hunter 等^[17]的研究也显示磷酸化的 OPN 可抑制羟基磷灰石的形成和晶体生成,并呈一定的剂量-效应关系,而非磷酸化的 OPN 却无此作用。Shapses 等^[18]的实验显示 OPN 不仅能抑制骨矿晶体的生成和增殖,而且促进破骨细胞的复原和聚集,在骨吸收中起到重要作用。OPN 抑制晶体生长的机制还不明确,有研究者认为 OPN 分子中大量存在的天冬氨酸和磷酸丝氨酸能够帮助其结合于矿化组织中的钙磷晶体的表面,从而抑制该晶体的生长。Kitahara 等^[19]发现野生型小鼠在给予 PTH 治疗后其骨矿密度和骨量并无明显改变,而 OPN 基因敲除小鼠却出现明显的诱导 PTH 刺激骨矿沉积和皮质骨生成的作用,从反方面证明了 OPN 抑制骨矿形成的作用。骨基质矿化是一个复杂的过程,钙磷代谢是其核心环节,其中可能涉及到多种激素和细胞因子的共同作用,OPN 在其中的具体作用机制虽然还不清楚,但可能起到对多个因子的调节作用,其最终效应是抑制骨矿形成而促进骨质疏松症的发生。

2.5 骨吸收-重建平衡过程中各激素、细胞因子的相互作用

成熟骨组织主要依靠骨吸收和骨重建进行着持

续的、循环的破骨与成骨过程,这一过程的有序性耦联调节是维持正常骨量和骨的生理功能的基础。许多激素、细胞因子、生长因子相互作用和相互制约,控制着骨的代谢水平和破骨/成骨作用的平衡。VitD 是调节骨组织内钙磷代谢最重要的激素,研究表明 VitD 可通过诱导 OB 内 OPN 基因的转录和蛋白表达而促进 OB 的分化和骨基质中钙盐沉积,PTH 也可通过调节 OPN 在 OB 和 OC 内的表达而发挥其促进骨吸收的作用;TNF、IL 等均可刺激 OB 分泌 OPN,与 OC 表面 $\alpha_V\beta_3$ 整合素受体结合,促使 OC 发挥溶骨作用。基质金属蛋白酶(MMPS)是促进骨基质降解的重要物质,OPN 能够通过 IkBa/Ikk 信号途径诱导核因子 κB 介导的 MMP-2 活性增高,促进 MMP-2 的增殖和表达^[20];OPN 还可使骨形态发生蛋白-2(Bone Morphogenetic Protein-2, BMP-2)诱导的 ALP 活性下降,矿物质沉积减少,而持续的 BMP-2 刺激反过来又可增加 OPN 的表达,提示 OPN 可能是 BMP-2 长期作用的反馈抑制信号^[6];体内诱导型一氧化氮合酶(Inducible Nitric oxide Synthase, iNOS)在多种炎症因子刺激下可释放大一氧化氮(Nitric Oxide, NO),促进 OB 的增殖和抑制 OC 的活性,而 OPN 能够抑制 iNOS 的表达,减少 NO 的生成^[21],从而减低 NO 对 OB 和 OC 的作用。因此,在 OP 的骨代谢中 OPN 可能起着对多个激素和细胞因子的调节作用。

3 小结

骨质疏松症是一种涉及多种因素共同作用的复杂疾病,OPN 作为体内重要的细胞因子和趋化因子,在促进细胞黏附、迁移、细胞间信号传递和参与免疫应答等各方面起到重要作用,可能是引起骨质疏松症发病的一个重要环节。对 OPN 的研究丰富了对骨质疏松症发病机制的认识,并可能在未来对临床治疗起到一定的作用。然而由于骨质疏松症是一个复杂的病变过程,OPN 在其中的具体作用机制还有许多不明确之处,有必要进行更深入的探索和研究。

【参考文献】

- [1] 黄仕和,许四宏,李云春. 骨桥蛋白的生物学功能. 生命的化学, 2001, 21(5): 389-391.
- [2] Gericke A, Qin C, Spevak L, et al. Importance of phosphorylation for osteopontin regulation of biomineralization. Calcif Tissue Int, 2005, 77(1): 45-54.
- [3] Standal T, Borset M, Sundan A. Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling. Exp Oncol, 2004, 26

- (3):179-184.
- [4] Minenna G , D'Amore S , Maggiolini P , et al. RANKL/RANK , OPG and OPT in a group of patients affected by chronic arthritis. Preliminary report. *Recenti Prog Med* 2005 96(9) 431-432.
- [5] Shen Q , Christakos S. The vitamin D receptor , Runx2 , and the Notch signaling pathway cooperate in the transcriptional regulation of osteopontin. *J Biol Chem* 2005 280(49) 40589-40598.
- [6] Huang W , Carlsen B , Rudkin G , et al. Osteopontin is a negative regulator of proliferation and differentiation in MC3T3-E1 pre-osteoblastic cells. *Bone* 2004 34(5) 799-808.
- [7] Noda M , Tsuji K , Nifuji A. Osteopontin : a topic from the point of bone morphology. *Clin Calcium* 2003 13(4) 464-466.
- [8] Wan YM , Ma YJ , Zhang XY , et al. Effects of rotation on osteonectin and osteopontin mRNA level of cultured osteoblasts in rats. *Sheng Li Xue Bao* 2005 57(3) 384-388.
- [9] Uemura T , Liu YK , Kuboki Y. Preliminary communication. MRNA expression of MT1-MMP , MMP-9 , cathepsin K , and TRAP in highly enriched osteoclasts cultured on several matrix proteins and ivory surfaces. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000 64(8) 1771-1773.
- [10] Chellaiah MA , Kizer N , Biswas R , et al. Osteopontin deficiency produces osteoclast dysfunction due to reduced CD44 surface expression. *Mol Biol Cell* 2003 14(1) 173-189.
- [11] Ihara H , Denhardt DT , Furuya K , et al. Parathyroid hormone-induced bone resorption does not occur in the absence of osteopontin. *J Biol Chem* 2001 276(16) 13065-13071.
- [12] Koyama Y , Rittling SR , Tsuji K , et al. Osteopontin deficiency suppresses high phosphate load-induced bone loss via specific modulation of osteoclasts. *Endocrinology* 2006 147(6) 3004-3009.
- [13] Ishijima M , Ezura Y , Tsuji K , et al. Osteopontin is associated with nuclear factor kappaB gene expression during tail-suspension-induced bone loss. *Exp Cell Res* 2006 312(16) 3075-3083.
- [14] Fujihara S , Yokozeki M , Oba Y , et al. Function and regulation of osteopontin in response to mechanical stress. *J Bone Miner Res* , 2006 21(6) 956-964.
- [15] Morinobu M , Ishijima M , Rittling SR , et al. Osteopontin expression in osteoblasts and osteocytes during bone formation under mechanical stress in the calvarial suture *in vivo* . *J Bone Miner Res* , 2003 18(9) 1706-1715.
- [16] 张红军 祝学光. 骨桥蛋白的功能及与消化系等疾病的关系. 国外医学生理、病理科学与临床分册 ,1999 ,19(6) 524-527.
- [17] Hunter GK , Hauschka PV , Poole AR , et al. Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins. *J Biochem* 1996 317 59-64.
- [18] Shapses SA , Cifuentes M , Spevak L , et al. Osteopontin facilitates bone resorption , decreasing bone mineral crystallinity and content during calcium deficiency. *Calcif Tissue Int* 2003 73(1) 86-92.
- [19] Kitahara K , Ishijima M , Rittling SR , et al. Osteopontin deficiency induces parathyroid hormone enhancement of cortical bone formation. *Endocrinology* 2003 144(5) 2132-2140.
- [20] Philip S , Kundu GC. Osteopontin induces nuclear factor kappa B-mediated promatrix metalloproteinase-2 activation through I kappa B alpha/IKK signaling pathways , and curcumin (diferulolylmethane) down-regulates these pathway. *J Biol Chem* , 2003 278(16) 14487-14497.
- [21] Wai PY , Guo L , Gao C , et al. Osteopontin inhibits macrophage nitric oxide synthetase to enhance tumor proliferation. *Surgery* , 2006 , 140(2) 132-140.