

葡萄糖及吡格列酮对大鼠骨髓间充质干细胞脂肪分化的影响

方海宁 刘志平 邓丽萍 李裕明

中图分类号: R965 文献标识码: B 文章编号: 1006-7108(2008)08-0561-06

摘要:目的 观察不同糖浓度下吡格列酮对大鼠骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)向脂肪细胞分化的影响,探讨葡萄糖和吡格列酮对骨代谢的影响。方法 采用体外细胞培养技术自大鼠股骨和胫骨中分离 BMSCs 进行纯化、培养,在诱导成脂培养基(地塞米松、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx)、胰岛素)中诱导 BMSCs 分化为脂肪细胞,实验分为高糖组(葡萄糖浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)及正糖组(葡萄糖浓度为 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),两组分别用不同浓度的吡格列酮($0, 0.1, 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)干预分化过程各 21 d,油红 O(Oil Red O)染色鉴定分化后的脂肪细胞,光镜下观察橙红色脂滴沉着的细胞比例。实时荧光定量 PCR 测定脂肪细胞特异性标志 LPL、PPAR γ mRNA 的表达。结果 诱导分化培养 21 d 后,油红 O 染色结果显示随糖浓度增加脂肪细胞数量增多,PCR 结果显示 HG + NC 组比 NG + NC 组 LPL、PPAR γ mRNA 表达分别增加 1.40 倍($P < 0.05$)和 1.63 倍($P < 0.05$),在两种糖浓度下,分别加入吡格列酮后脂肪细胞分化均显著增加,数量明显增多,体积明显增大。与 NG + NC 组相比,NG + LP 组 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达分别增加 1.43 倍($P < 0.05$)和 1.50 倍($P < 0.05$),NG + GP 组 mRNA 水平增加更明显,HG + LP 组和 HG + HP 与 HG + NC 组相比,LPL 和 PPAR γ mRNA 表达增加更明显。结论 高糖会促进 BMSCs 向脂肪细胞分化,可能为糖尿病性骨质疏松形成的重要机制。吡格列酮有显著增加 BMSCs 向脂肪细胞方向分化的作用,且随药物剂量的增加,其诱导成脂分化的效应越明显。吡格列酮可能通过诱导 BMSCs 向脂肪细胞分化增多而向成骨细胞分化减少从而导致成骨作用减弱,这可能是吡格列酮致骨质疏松的重要机制。

关键词:骨髓间充质干细胞;脂肪细胞;诱导分化;吡格列酮;骨质疏松

Effect of glucose and pioglitazone on rat bone mesenchymal stem cells differentiation into adipocytes

FANG Haining, LIU Zhiping, DENG Liping, et al. Dept. of Endocrinology, Union Hospital of Tongji Medical College of HUST, Wuhan 430022, China

Abstract: **Objective** To examine the effect of pioglitazone on rat bone mesenchymal stem cells(BMSCs) differentiation into adipocytes in different glucose concentrations and to investigate the modulation of glucose and pioglitazone on bone metabolism. **Methods** BMSCs were harvested from the femurs and tibias bones of the rat, then separated, purified, proliferated and treated with an adipogenic medium(including dexamethasone, 3-isobutyl-1-methyl-xanthine, insulin), using different doses of pioglitazone($0, 0.1, 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) to intervene the adipogenic differentiation in high glucose group($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) and normal glucose group($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 21 days, respectively. Differentiated adipocytes were identified by Oil Red O and the expression of adipose-specific mRNAs: LPL and PPAR γ were assayed by real time PCR. **Results** After adipogenic had been induced for 21 days, the number of adipocytes detected by Oil Red O increased in high glucose group, the mRNAs expression of LPL and PPAR γ increased 1.40 and 1.63 folds in high glucose group compared with normal glucose group. Addition of pioglitazone dramatically promoted the differentiation of adipocytes in a dose-dependent manner in both concentrations of glucose. Compared with NG + NC group, the mRNA expression of LPL and PPAR γ grew 1.43 and 1.50 folds in NG + LP group and 2.41 and 2.17 folds in NG + GP group respectively. The effect of

pioglitazone on adipogenesis in high glucose group exceeded normal glucose group. **Conclusion** High concentration glucose promoted the differentiation of BMSCs into adipocytes. This observation provides a potential mechanisms of diabetes-related osteoporosis. Pioglitazone dramatically increased BMSCs differentiating into adipocytes and this effect shows dose-dependent augmentation. Pioglitazone decreases bone mass by promoting adipogenesis and inhibiting osteoblastic differentiation and it may be the important potential pathogenesis of osteoporosis caused by pioglitazone.

Key words: Bone mesenchymal stem cells; Adipocyte; Differentiation; Pioglitazone; Osteoporosis

骨质疏松症中,骨体积的减少总是伴随骨髓脂肪成分的增加。骨髓脂肪细胞增多可能是骨质减少的原因。1968 年, Fridenstein 等^[1]在实验中发现了骨髓中存在除造血细胞以外的一类骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs), BMSCs 具备自我增殖能力及多向分化潜能,能在特定诱导条件下分化为包括成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等在内的多种细胞。大量研究表明骨髓间充质干细胞向脂肪细胞和成骨细胞的分化之间存在密切的互反关系,即当 BMSCs 脂肪分化增加时,成骨分化则减少,反之亦然^[2]。骨髓脂肪细胞的增加与导致骨质疏松症的条件密切相关,例如增龄^[3]、绝经^[4]、代谢性异常等可能导致的骨质疏松或骨质疏松症的重要并发症。在临床和动物实验中,糖尿病引起的高血糖症会导致骨量减少和骨质疏松症的产生,但是具体机制尚不完全清楚。

噻唑烷二酮类药物(Thiazolidinediones, TZDS)作为一种胰岛素增敏剂被广泛用于治疗 2 型糖尿病^[5],其疗效已得到广泛认可,但长期使用除导致水肿、贫血、体重增加以外,另一重要不良反应——骨质疏松及骨质疏松性骨折的发生率增加已日益受到重视。TZDS 是通过激活核转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体(nuclear transcription factor peroxisome-proliferator-activated receptor, PPAR γ)起作用的,PPAR γ 是脂肪细胞形成的重要转录因子也是脂肪细胞的特异性表达标记^[6]。TZDS 的不良反应是否也与 PPAR γ 有关还不得而知。在本研究中,笔者以高糖和 TZDS 的代表药物之一——吡格列酮分别干预 BMSCs 的脂肪分化过程以探讨糖尿病和 TZDS 所致的骨质疏松的潜在机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:健康 wistar 大鼠,雌雄随机,体重 120 ~ 150g,由同济医学院试验动物中心提供。

1.1.2 试剂和药品:L-DMEM(GIBCO),胎牛血清

(GIBCO),青霉素,链霉素,重组人胰岛素(Novo Nordisk 公司),地塞米松(SIGMA 公司), β -异丙基-1-甲基黄嘌呤(SIGMA 公司),吡格列酮原药(由中美华东制药有限公司提供),油红-O(SIGMA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:无菌条件下取出大鼠胫骨和股骨中骨髓细胞,贴壁法分离并纯化其中的 BMSCs,接种于 50 mL 含基本培养基(L-DMEM, 10% FBS, 100 U $\cdot$ mL⁻¹青霉素, 100 μ g $\cdot$ mL⁻¹链霉素)的培养瓶中,置于 37 $^{\circ}$ C, 饱和湿度, 5% CO₂ 孵箱培养, 24 h 后首次换液,以后每 2 天换液 1 次。传 4 代后形态一致的 MSCs 细胞培养接近融合时换成脂肪细胞诱导培养基(于基本培养基中再加入 0.5 mmol $\cdot$ L⁻¹ IBMX, 1 mmol $\cdot$ L⁻¹地塞米松, 10 mg $\cdot$ mL⁻¹胰岛素),并按不同的糖浓度分为正常糖浓度组(normal glucose 即 25 mmol $\cdot$ L⁻¹)根据大量文献关于成脂培养条件的研究最佳脂肪分化的糖浓度为 25 mmol $\cdot$ L⁻¹^[7]和高糖组(high glucose, 即 50 mmol $\cdot$ L⁻¹)组,每个糖浓度组又按照吡格列酮干预的不同而分为未加药物组(control), 0.1 μ g $\cdot$ mL⁻¹组(low dose pioglitazone), 1 μ g $\cdot$ mL⁻¹组(high dose pioglitazon)分别培养,即①NG + NC;②NG + LP;③NG + HP;④HG + NC;⑤HG + LP;⑥HG + HP。每 2 天换液 1 次,共培养 21 d,另按上述分组,取 10⁴/孔细胞接种于留有预先消毒处理的盖玻片的 6 孔板中,同样的方法诱导成脂。

1.2.2 油红-O 染色:油红-O 干粉 0.4 g 加入到 10 mL 异丙醇(分析纯)中,密封,置于 37 $^{\circ}$ C 水浴加温,使其充分溶解,干液与三蒸水以 3:2 比例混合,混匀后过滤,取滤液作为新鲜染液,此染色液 2 h 内使用。取细胞爬片用 PBS 冲洗 3 次,用滤纸吸去多余水份, 10% 中性甲醛固定 10 min;油红-O 染液中浸染 10 min,染色时需加盖, 60% 异丙醇洗去多余染液,三蒸水冲洗 3 次;Mayer 氏苏木素复染 5 ~ 10 min, 1% 盐酸稍分化,三蒸水漂洗 10 min。倒置显微镜下观察并拍照记录。

1.2.3 实时定量 PCR 测定 LPL 和 PPAR γ mRNA 的

表达:各组细胞经 21 d 诱导分化后,用 Trizol 溶液(购自 GIBCO 公司)按一步法分别提取总 RNA,在逆转录酶 M-MLV 的作用下,按试剂盒说明将 mRNA 逆转录成 cDNA 分子,应用 SYBR Green I 荧光染料技术行实时定量 PCR 反应分析 LPL 和 PPAR γ 的表达,对每个 cDNA 样本,以每个反应管内荧光强度达到系统认为的有目的 DNA 合成时的循环数作为 CT 值,每个基因的相对含量以 $2^{-\Delta Ct}$ 表示。

1.2.4 统计学处理:用 SPSS 统计软件处理数据,结果以均数 $\pm$ 标准差表示,采用一元方差分析(ANOVA),继以 LSD 行组间比较。

2 结果

2.1 油红-O 染色结果

2.1.1 高糖对 BMSCs 成脂分化的影响:以随机记数显微镜下每个非重复视野($\times 100$)内油红-O 染色阳性的细胞占总细胞数的比例作为脂肪细胞分化率,结果用($\bar{x} \pm s$)表示, $n=3$ 。在 NG + NC 组中脂肪细

胞分化率为(27.69 ± 2.61)%,而 HG + NC 组脂肪细胞分化率达到(40.4 ± 2.13)%,HG + NC 组比 NG + NC 组脂肪细胞分化率提高 1.46 倍, ($P < 0.01$),差异有统计学意义,表明高糖能够促进 BMSCs 向脂肪细胞分化。见图 1、图 2 所示。

2.1.2 吡格列酮对 BMSCs 成脂分化的影响:与 NG + NC 组相比,在 NG + LP 组中脂肪细胞分化率提高 1.89 倍(52.29 ± 1.59)% VS (27.69 ± 2.61)%, $P < 0.01$,而 NG + HP 组比 NG + NC 组分化率提高 2.83 倍(78.42 ± 0.67)% VS (27.69 ± 2.61)%, $P < 0.01$,差异有显著性。HG + LP 组与 HG + NC 相比,脂肪细胞分化率由(40.4 ± 2.13)% 提高至(59.52 ± 5.84)%,提高 1.47 倍($P < 0.01$),HG + HP 组比 HG + NC 组分化率提高 2.14 倍(86.31 ± 3.96)% VS (40.4 ± 2.13)%, ($P < 0.01$)差异均有显著性。可见,随着吡格列酮浓度增加,脂肪分化率也显著增加,表明吡格列酮有显著促进 BMSCs 成脂分化的作用,且呈剂量依赖性关系,如图 1、图 2 所示。

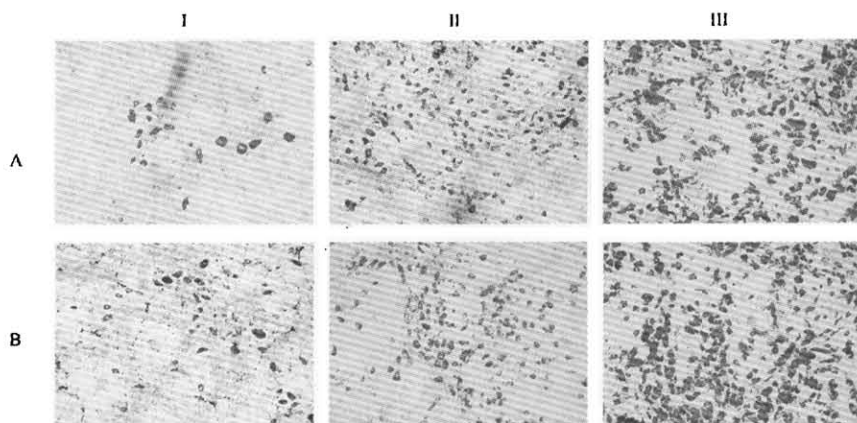


图 1 成脂诱导 21 d 后油红-O 染色脂滴形成比较

A. 25 mmol·L⁻¹糖浓度;B.50 mmol·L⁻¹糖浓度。I. 未加吡格列酮;II. 加入 0.1 μg·mL⁻¹吡格列酮;III. 加入 1 μg·mL⁻¹吡格列酮($\times 10$ 倍)

注:各组均可见不同程度被染成橙红色的细胞,胞核蓝色,胞浆含大量大小不等的脂滴,胞核被胞浆挤向一侧。50 mmol·L⁻¹糖浓度组和 25 mmol·L⁻¹糖浓度组相比,被橙红染色细胞数目增多,脂滴变大。25 mmol·L⁻¹和 50 mmol·L⁻¹中加入吡格列酮后,被橙红染色细胞均显著增多,且随加入的药物浓度增加而增加

2.2 实时定量 PCR 结果

2.2.1 高糖对 BMSCs 成脂分化过程中 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的影响:经过 21 d 的诱导成脂培养,PCR 测定的结果显示:HG + NC 组比 NG + NC 组 LPL 和 PPAR γ mRNA 的表达分别增加 1.40 倍(1.69 ± 0.02 vs 1.21 ± 0.03)和 1.63 倍(1.77 ± 0.05 vs 1.08 ± 0.04), P 值分别为 0.02 和 0.016,差异有统计学意义,表明高糖环境刺激了 BMSCs 向脂肪细胞分化,

见图 3。

2.2.2 吡格列酮对 BMSCs 成脂分化过程中 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的影响:经过 21 d 诱导成脂培养,PCR 结果显示:与 NG + NC 组相比,NG + LP 组 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达分别提高 1.43 倍(1.73 ± 0.03 vs 1.21 ± 0.03 , $P < 0.05$)和 1.50 倍(1.63 ± 0.05 vs 1.08 ± 0.03 , $P < 0.05$),而 NG + HP 组二者的表达分别提高 2.41 倍(2.92 ± 0.42 vs 1.21 ± 0.03 , P

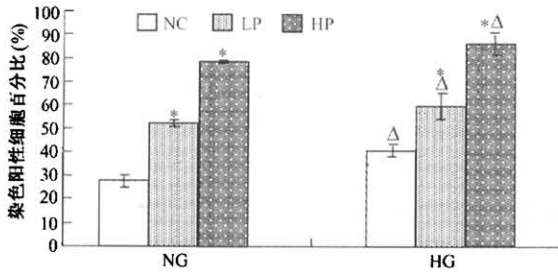


图 2 油红-O 染色脂肪细胞分化率

注:以随机计数每个非重复视野($\times 100$)内脂肪细胞占总细胞数的比例作为分化率,结果用($\bar{x} \pm s$)表示, $n = 3$ 。* $P < 0.01$,加入吡格列酮与不加药物以及不同剂量药物浓度组相比。Δ $P < 0.05$, 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 25 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 糖浓度分别相比

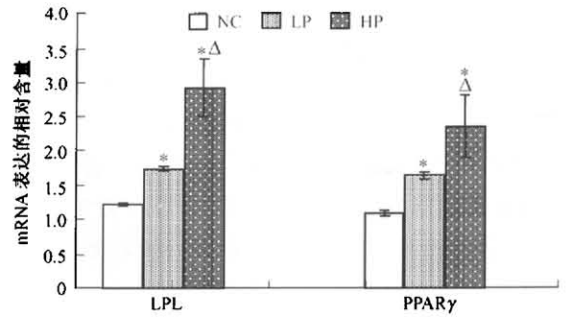


图 4 NG 组吡格列酮作用时 LPL 和 PPARγ 的表达

注:* $P < 0.05$ 代表与未加药物相比,加入吡格列酮后 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的差异;Δ $P < 0.05$ 表示 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吡格列酮 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的差异

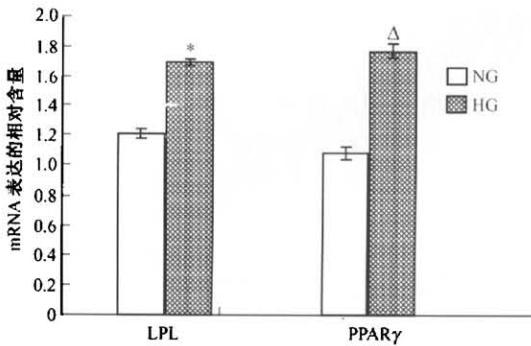


图 3 不同糖浓度下 LPL 和 PPARγ 的表达

注:* $P = 0.02$ 表示 LPL 在不同糖浓度组间的表达差异有显著性;Δ $P = 0.016$ 表示 PPARγ mRNA 在两组糖浓度组的表达差异有显著性

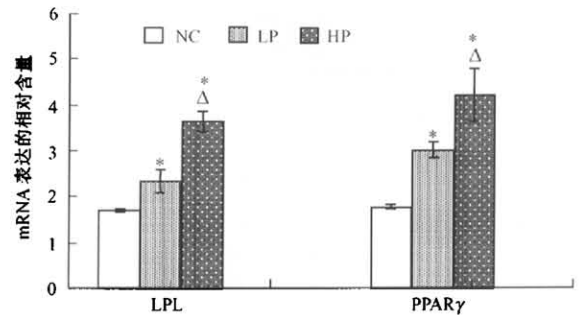


图 5 HG 组吡格列酮作用时 LPL 和 PPARγ 的表达

注:* $P < 0.01$ 代表与未加药物相比,加入吡格列酮后 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的差异;Δ $P < 0.01$ 表示 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吡格列酮 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达的差异

< 0.01) 和 2.17 倍 (2.35 ± 0.45 vs 1.08 ± 0.03 , $P < 0.01$), 且与 NG + LP 组相比, NG + HP 组 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达也增加了 1.69 倍 ($P < 0.01$) 和 1.44 倍 ($P < 0.05$), 表明吡格列酮有促进 BMSCs 向脂肪细胞分化的作用, 且该作用随吡格列酮剂量的增大而增强, 见图 4。在 HG 各组间比较也显示出相似的趋势, P 值均小于 0.01, 表明高糖和吡格列酮共同促进了 BMSCs 向脂肪细胞分化, 见图 5。

3 讨论

骨量减少、骨质疏松以及骨折发生率增加是糖尿病患者常见的骨骼系统并发症。目前可以肯定的是 1 型糖尿病患者与非糖尿病患者相比, 骨折的危险性增加。成年 1 型糖尿病患者均显示骨矿密度 (bone mineral density, BMD) 降低^[8], 一项最近的临床研究表明, 在 20 ~ 56 岁的 1 型糖尿病患者中有 14% ~ 20% 存在不同程度的骨量丢失和骨质疏

松^[9]。2 型糖尿病患者伴随高胰岛素血症和肥胖, 似乎会因此增加骨密度, 但事实上临床观察到 2 型糖尿病患者也表现出快速的骨量丢失^[10]。有学者认为不论是 1 型还是 2 型糖尿病患者其骨密度均是降低的, 因而骨折的危险性均增加^[10]。但是其发病机制尚不完全清楚。

近年来的研究表明在增龄、绝经、代谢性异常等导致的骨质疏松症中, 骨体积的减少总是伴随骨髓脂肪成分的增加^[11]。有学者通过对糖尿病动物模型进行研究指出糖尿病是通过改变骨髓构成, 使成熟成骨细胞减少而增加脂肪细胞的蓄积从而导致骨量丢失的^[12]。因此, 骨髓中脂肪细胞和成骨细胞的构成比例的改变可能是糖尿病所致骨质疏松的重要因素, 在骨髓中脂肪细胞和成骨细胞来源于共同的祖细胞^[13], 大量研究表明骨形成和脂肪形成之间存在密切的反相关关系, 在笔者诱导骨髓间充质干细胞成脂分化的细胞培养实验中, 笔者观察到随着糖

浓度增加脂肪细胞的分化率提高,脂肪细胞的特异性标记物 LPL 和 PPAR γ mRNA 表达显著增加,与上述糖尿病动物研究的结论相一致。而在笔者的另一项研究中确实证实了随着培养基中糖浓度的增加成骨细胞的分化明显减少,与 Gopalakrishnan 等^[14]的研究结果相一致,Gopalakrishnan 等探讨了 5.5、16.5 和 49.4 mmol·L⁻¹ 糖浓度对 BMSCs 分化为成骨细胞的影响,表明高糖通过诱导细胞凋亡,减少成骨细胞 DNA 的合成来抑制 BMSCs 向成骨细胞分化。有人指出高糖及高渗透压状态可以抑制成骨细胞分化的晚期标记如骨钙素,并增加脂肪细胞分化的标记如 PPAR γ 2,使得骨髓中成骨细胞的晚期成熟及其功能受到抑制,成骨细胞数目降低,而骨髓中含致密脂质的脂肪细胞增多^[12]。可见,高糖对骨骼产生不利影响的原因可能是高糖通过调节骨髓中 BMSCs 向脂肪细胞和成骨细胞分化的转录因子,增强 PPAR γ 的表达,使得 BMSCs 向脂肪细胞分化增多,因为 BMSCs 成骨分化和成脂分化的互反原理,增强成脂分化的结果必然抑制骨钙素的表达,抑制成骨分化,使得成骨细胞减少,骨矿含量降低以至骨质疏松的发生。通过笔者的这项研究结果可以解释在糖尿病患者,尤其是血糖未获控制的糖尿病患者出现骨矿含量降低明显,以及可能发生骨质疏松和骨折危险性增加的原因。

噻唑烷二酮类是一种通过激活核转录因子过氧化氢酶增殖活化受体 PPAR γ 来提高胰岛素敏感性的有效治疗 2 型糖尿病药物^[15]。但 TZDs 的长期使用会导致诸如水肿、贫血、体重增加等在内的有重要临床意义的不良反应^[15],除此之外,TZDs 对骨骼的影响也倍受关注,Rzonca 等^[16]报道了用罗格列酮处理的小鼠模型出现骨量丢失。也有学者发现瑞士 Webster 小鼠用罗格列酮处理 28 d 后出现骨量丢失及骨髓脂肪细胞的增多,成骨细胞和破骨细胞之比下降和骨形成率降低^[17]。同时一项由 666 名糖尿病患者参与的临床实验也证实在年老的女性患者中发现显著的骨量丢失^[18]。噻唑烷二酮类药物的药理作用主要通过活化 PPAR γ 实现的,那么 TZDs 对骨骼系统的影响是否也与 PPAR γ 有关呢?一个针对 404 位携带 PPAR γ 变异基因的日本绝经期妇女的调查发现这些妇女显示有中度的骨密度减低^[19]。

天然存在和人工合成的 PPAR γ 激动剂阻碍小鼠骨形成^[20],另外,PPAR γ 杂合缺失小鼠能够增强成骨分化并导致骨量增加^[21]。此外,体外实验中 PPAR γ 单倍缺失(PPAR $\gamma^{+/-}$)促进成骨细胞分化,进

一步强烈支持 PPAR γ 的抗成骨作用^[22]。同 PPAR γ 在外周脂肪组织的作用相似,在骨髓中,PPAR γ 也起着启动成脂分化的作用^[23]。上述研究表明 PPAR γ 在调节骨髓细胞的成脂和成骨分化方面起到关键作用。有学者研究 U-33/ γ 2 细胞(用携带 PPAR- γ 2 基因的噬菌体转染骨髓间充质干细胞株 UAMS-33 细胞即成为 U-33/ γ 2 细胞)的成骨和脂肪形成受到 PPAR γ 特别是 PPAR- γ 2 亚型的控制^[24],当用罗格列酮激活 PPAR γ 2 以后,细胞分化由成骨细胞系统转向脂肪细胞系统并不可逆的抑制成骨细胞表型和成骨细胞特异性的基因表达^[24]。而 TZDs 是人工合成的 PPAR γ 配体激动剂,在笔者的实验中,以噻唑烷二酮的代表药物之一——吡格列酮干预 BMSCs 的脂肪分化过程也发现了吡格列酮能显著促进脂肪细胞的分化,使之分化率增加,脂肪细胞体积变大,同时脂肪细胞的特异性标记 PPAR γ 和 LPL mRNA 的水平增高,并与吡格列酮呈剂量依赖性关系,与国外学者用罗格列酮处理动物实验模型和细胞株的结果相一致。而在笔者的另一项研究中证实,吡格列酮同时也能随剂量增加而加强对 BMSCs 成骨分化的抑制作用。因此从该实验中可以得出以下结论:吡格列酮通过激活 PPAR γ 使 BMSCs 向脂肪细胞分化增多,而根据上述脂肪细胞和成骨细胞分化的互反原理,增强成脂分化的同时会抑制成骨分化,其结果导致骨髓腔中脂肪细胞的蓄积增多,而成骨细胞数目减少,从而引起骨矿含量降低,骨量丢失明显以及骨质疏松的发生。

近来也有文献报道,PPAR γ 的配体之一噻唑烷乙酰胺配体 GW0072 抑制成骨细胞分化,但是并不刺激成脂分化,而另一配体 9-羟基十八碳烯酸促进成脂分化但并不影响成骨细胞分化^[25]。另一种名为 MCC-555 的噻唑烷二酮类药物在诱导 U-33/ γ 2 细胞的成脂分化方面比罗格列酮的效力弱 100 倍^[24]。这些发现提示由于配体特性的不同,可能有不同的途径来分别调节 PPAR γ 的促成脂分化和抗成骨分化作用。有学者应用 TZDs 拮抗剂 PADGE 干预 D1 细胞株的脂肪分化发现其脂肪分化并未被 PADGE 所阻断^[26],这可能与所用细胞株性质的差异以及拮抗剂本身的性质差异有关。笔者的实验结果以及上述研究发现展示了未来研制开发保留胰岛素增敏作用但对骨代谢无不良影响的新型药物的必要性。

【参 考 文 献】

[1] Van Danne A, Vanden Driessche T, Collen D, et al. Bone marrow

- stromal cells as targets for gene therapy. *Curr Gene Ther*, 2002, 2 (2): 195-209.
- [2] Beresford JN, Bennett JH, Devlin C, et al. Evidence for an inverse relationship between the differentiation of adipocytic and osteogenic cells in rat marrow stromal cell cultures. *J Cell Sci*, 1992, 102(Pt 2): 341-351.
- [3] Justesen J, Stenderup K, Ebbesen EN, et al. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology*, 2001, 2(3): 165-171.
- [4] Martin RB, Chow BD, Lucas PA. Bone marrow fat content in relation to bone remodeling and serum chemistry in intact and ovariectomized dogs. *Calcif Tissue Int*, 1990, 46(3): 189-194.
- [5] Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med*, 2004, 351(11): 1106-1118.
- [6] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*, 1999, 20(5): 649-688.
- [7] Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, et al. Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 2006, 24(2): 462-471.
- [8] Piepkorn B, Kann P, Forst T, et al. Bone mineral density and bone metabolism in diabetes mellitus. *Horm Metab Res*, 1997, 29(11): 584-591.
- [9] Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, et al. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus: prevalence and aspects of pathophysiology. *J Endocrinol Invest*, 2000, 23(5): 295-303.
- [10] Watts NB, D'Alessio DA. Type 2 diabetes, thiazolidinediones: bad to the bone? *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(9): 3276-3278.
- [11] Justesen J, Stenderup K, Ebbesen EN, et al. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology*, 2001, 2(3): 165-171.
- [12] Botolin S, Faugere MC, Malluche H, et al. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor- gamma 2 expression in type I diabetic mice. *Endocrinology*, 2005, 146(8): 3622-3631.
- [13] Nuttall ME, Gimble JM. Controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis and the consequent therapeutic implications. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4(3): 290-294.
- [14] Gopalakrishnan V, Vignesh RC, Arunakaran J, et al. Effects of glucose and its modulation by insulin and estradiol on BMSC differentiation into osteoblastic lineages. *Biochem Cell Biol*, 2006, 84(1): 93-101.
- [15] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*, 1999, 20(5): 649-688.
- [16] Gimble JM, Robinson CE, Wu X, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by thiazolidinediones induces adipogenesis in bone marrow stromal cells. *Mol Pharmacol*, 1996, 50(5): 1087-1094.
- [17] Lecka-Czemik B, Gubrij I, Moerman EJ, et al. Inhibition of Osf2/Cbfa1 expression and terminal osteoblast differentiation by PPARgamma 2. *J Cell Biochem*, 1999, 74(3): 357-371.
- [18] Chawla A, Schwartz EJ, Dimaculangan DD, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology*, 1994, 135(2): 798-800.
- [19] Ogawa S, Urano T, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with a polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene: PPARgamma expression in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 260: 122-126.
- [20] Rzonca SO, Suva LJ, Gaddy D, et al. Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology*, 2004, 145: 401-406.
- [21] Akune T, Ohba S, Kamekura S, et al. PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest*, 2004, 113: 846-855.
- [22] Cock TA, Back J, Eleftheriou F, et al. Enhanced bone formation in lipodystrophic PPARgamma(hyp/hyp) mice relocates haematopoiesis to the spleen. *EMBO Rep*, 2004, 5: 1007-1012.
- [23] Gimble JM, Zvonice S, Floyd ZE, et al. Playing with bone and fat. *J Cell Biochem*, 2006, 98(2): 251-266.
- [24] Lazarenko OP, Rzonca SO, Suva LJ, et al. Netoglitazone is a PPAR-gamma ligand with selective effects on bone and fat. *Bone*, 2006, 38(1): 74-84.
- [25] Lecka-Czemik B, Moerman EJ, Grant DF, et al. Divergent effects of selective peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 ligands on adipocyte versus osteoblast differentiation. *Endocrinology*, 2002, 143(6): 2376-2384.
- [26] Hung SH, Yeh CH, Huang HT, et al. Pioglitazone and dexamethasone induce adipogenesis in D1 bone marrow stromal cell line, but not through the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway. *Life Sci*, 2008, 82: 561-569.

(收稿日期: 2008-03-11)