

骨保护素与糖尿病性骨质疏松的研究进展

朱明明 梁玮 王微

中图分类号: R58 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2008)11-0814-04

摘要: 骨保护素(Osteoprotegerin, OPG)是肿瘤坏死因子受体超家族成员,是骨代谢的一个重要调节因子,具有抑制破骨细胞分化,抑制其骨吸收活性及其凋亡的作用。随糖尿病(Diabetes mellitus, DM)患病率的逐年增加,糖尿病骨质疏松的患病率也明显增高,并成为 DM 患者致死、致残的重要原因,严重影响患者的生活质量,给患者家庭和社会都带来沉重的经济负担。近年来,糖尿病与骨质疏松的关系备受关注,通过对 OPG 的深入研究,可能为糖尿病骨质疏松的防治提供依据,对指导临床监测、治疗糖尿病骨质疏松具有重要价值。

关键词: 骨保护素; 骨质疏松; 骨密度; 糖尿病; 糖尿病微血管并发症

The investigation advancement of the relationship between osteoprotegerin and diabetic osteoporosis ZHU Mingming, LIANG Wei, WANG Wei. The Second Clinical College, Harbin Medical University, Harbin 150086, China

Abstract: Osteoprotegerin (OPG), a member of the tumor necrosis factor (TNF) receptor family, has been identified as a regulator of bone resorption, and has effects in inhibiting osteoclast differentiation as well as its activity of bone resorption and apoptosis. With the increase of DM morbidity, the morbidity of Diabetic Osteoporosis (DO) is dramatically increasing, and has become an important cause of diabetic patients' mutilation and death, seriously affects living quality of diabetic patients, and adds heavy economic burden to family and society. In the past few years, with the increase of DO, the relationship between Diabetes mellitus and Osteoporosis has been paid close attention to. Through the study and research in OPG, evidence of prevention and cure of DO could be provided. And it probably shows instructive value of monitoring therapy of osteoporosis in clinic.

Key words: Osteoprotegerin; Osteoporosis; Bone mineral density; Diabetes mellitus; Diabetic microvascular complications

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体家族的新成员,也称破骨细胞抑制因子(osteoclast inhibitory factor, OCIF)。它具有抑制破骨细胞(osteoclast, OC)分化,抑制成熟破骨细胞的骨吸收活性并诱导其凋亡的作用,是骨代谢中的一个研究热点。近年来,由于 OPG 的发现,推动了骨代谢机制的研究,使人们对骨质疏松有了更进一步的认识,并发现 OPG 是一重要的血管调节因子,与糖尿病及其微血管并发症密切相关,可能在糖尿病微血管并发症的发生、发展中起重要的调节作用。

1 OPG 概述

1.1 OPG 的发现与命名

1997 年, Simonet 等^[1]发现一个基因,其编码的蛋白与 TNF 的受体(TNF receptor, TNFR)类似,该蛋白与骨含量及骨代谢密切相关,过度表达该蛋白的转基因小鼠骨质坚硬,相反,敲除该基因的小鼠会发生严重的骨质疏松,因此其被命名为 OPG,中文译名目前有骨保护素、护骨素或骨保护蛋白 3 种。同年,日本研究人员从人成纤维细胞的条件培养基中分离纯化出一种能抑制破骨细胞生成的因子,命名为 OCIF。后来,另有学者发现肿瘤坏死因子受体相关分子 1(TNFR 分子 1, TR-1)和滤泡树突状细胞受体 1(FDCR-1),经 cDNA 和氨基酸序列比较,证实 OPG、OCIF、TR-1 和 FDCR-1 为同一种物质^[2]。

1.2 OPG 的结构和功能

作者单位: 150086 哈尔滨, 哈尔滨医科大学第二临床医学院内分泌科

通讯作者: 梁玮, Email: zhumingminglzh@163.com

OPG 是一种可溶性分泌型糖蛋白,其前体为一段含有 401 个氨基酸的多肽,N-末端的 21 个氨基酸裂解后成为成熟 OPG。OPG 的结构主要分为 3 个部分: N 端高度保守的半胱氨酸富集区(Cysteine rich domain, CRD), C 端的肝磷脂结合位点以及中间的 2 个死亡域同源区(Death domain homologous, DDH)。三维结构显示 CRD 之间通过链内及链间二硫键连接在一起,形成特殊的配体结合域。CRD 是 OPG 与配体结合的主要作用区域, 2 个 DDH 功能还不清楚,由于它们位于细胞外,因此认为不太可能调控细胞的死亡。OPG C 端的肝磷脂结合位点可将 OPG 锚在细胞膜上。OPG 在体内以单体和同源二聚体两种形式存在,实验表明,细胞裂解物中 OPG 主要以单体形式存在,而分泌型的 OPG 成熟蛋白主要以二聚体形式存在,包含一定程度的单体。OPG 存在于人体许多组织中,除了在人体的骨组织中有较高的表达外,在甲状腺、肺、心脏、肝、肠、肾等组织中均有表达。OPG mRNA 在骨髓基质细胞、成骨细胞、成纤维细胞、主动脉平滑肌细胞、成骨肉瘤细胞、乳腺癌细胞以及单核细胞、树突状细胞、B 淋巴细胞中均有表达。其表达受很多因素调控,体内的一些激素和细胞因子如甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、一氧化氮(NO)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、 Ca^{2+} 、肾上腺素等都会影响 OPG 的表达^[3,4]。

OPG 的主要作用是影响骨代谢,抑制破骨细胞的发生分化、活化成熟及促进其凋亡。OPG 作为核因子 κB 受体活化因子配体(Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)的假受体,可以与核因子 κB 受体活化因子(RANK)竞争结合 RANKL,阻断破骨细胞的分化及活化成熟。OPG 还可影响破骨细胞的存活,通过增加破骨细胞凋亡,减少破骨细胞数量等抑制溶骨作用。

2 OPG 与骨质疏松

1.1 老年性骨质疏松

Cao 等^[5]分别对 6 周(青年)、6 月(成年)和 24 月(老年)的小鼠测量松质骨量、RANKL 和 OPG 的 mRNA 水平,结果发现,成年鼠松质骨量较青年鼠减少了 20%,老年鼠松质骨量较中年鼠减少了 52%;成年鼠和老年鼠的 RANKL mRNA 水平分别比青年鼠高 2.1~4.4 倍;OPG mRNA 水平随年龄的增长有轻微的减少。RANK/RANKL/OPG 信号通路的靶向作用已作为一种治疗骨质疏松的新手段^[6]。

2.2 雌激素缺乏或绝经后骨质疏松

绝经后骨质疏松是由雌激素水平下降所致,而雌激素通过对 RANKL/OPG 的比率来调节骨吸收。体内外实验表明^[7],OPG 可介导雌激素的抗骨吸收作用。实验发现^[8],雌激素可直接上调体外培养成骨细胞中 OPG 的表达 3~4 倍。在卵巢切除大鼠的骨组织中 OPG 含量明显下降,RANKL 含量上升,而雌激素替代疗法可阻止此现象。

3 糖尿病与骨质疏松症

糖尿病(DM)可以引起骨代谢紊乱已为大家所共识,大多数研究认为成人及儿童 1 型 DM 患者 BMD 降低,但 2 型 DM 患者是否比一般人更容易合并骨质疏松(OP)尚有争议。多数研究报道 2 型 DM 患者 BMD 降低或无明显变化,也有升高的报道。有的学者认为,2 型 DM 患者的骨密度与胰岛功能有关,胰岛功能明显减退者的骨密度而明显减低,易患骨质疏松^[9]。有研究表明^[10],DM 早期骨密度高于正常,后期骨密度减低,推论早期与胰岛功能代偿高胰岛素血症、成骨细胞活性增加有关,后期因胰岛功能失代偿,胰岛素水平降低,成骨细胞活性减弱,骨吸收大于骨形成。林兵等^[11]的研究观察了 2 型 DM 患者的骨密度变化,结果发现,2 型 DM 患者其骨密度显著降低,骨质疏松发生率高。这与 Akin 等^[12]的研究一致。

3.1 糖尿病微血管并发症与骨质疏松

糖尿病微血管病变影响骨的血管分布,毛细血管通透性增加,毛细血管周围基底膜增厚,影响骨的血管分布,造成骨组织供血不足和缺氧,引起骨代谢异常,使微血管并发症患者骨量进一步丢失^[13]。在 1 型糖尿病患者,并发视网膜病变的患者发生骨量减少和骨质疏松的比例明显高于无并发症者^[14]。Clausen 等^[15]将 1 型糖尿病患者按白蛋白排泄率分为正常白蛋白尿组、微量白蛋白尿组、大量白蛋白尿组,与对照组进行对比研究发现,尿白蛋白排泄率增高时,股骨颈、大转子、瓦氏三角骨密度降低,这表明随着肾脏受损程度的加重,骨质疏松的发生率明显增加。黄萍等^[16]通过对 2 型糖尿病老年男性患者血糖水平、糖化血红蛋白(HbA1c)、尿白蛋白排泄率(AER)与骨密度(BMD)变化关系的研究也表明,糖尿病患者 BMD 比正常人显著降低,血糖控制不达标并 AER 升高患者的 BMD 下降比血糖控制达标尿蛋白阴性患者更为显著。

糖尿病肾病引起 BMD 下降及骨质疏松的发病

机理主要与胰岛素分泌减少及肾脏的 Ca、P 转运障碍,骨 Ca、P 代谢失调和肾脏羟化酶活性下降等因素有关。糖尿病肾病时肾小管重吸收 Ca、P 下降,尿 Ca、P 上升,引起负平衡后造成继发甲状旁腺机能亢进,骨吸收增加,骨矿化减少,骨量下降,发生 OP。糖尿病肾病时,12A 羟化酶活性下降,使肾脏合成 1,25-(OH)₂-D₃ 减少,继发甲旁亢,使骨钙动员增加致骨量减少。

3.2 OPG 与糖尿病及其微血管并发症

有研究表明糖尿病患者血管壁中的 OPG 含量增加。Olesen 等^[17]对 21 例糖尿病死亡患者尸解,取胸主动脉研究动脉壁中 OPG 的含量。结果发现,糖尿病患者胸主动脉中膜 OPG 含量显著高于年龄、性别相匹配的非糖尿病患者,即使在正常的无动脉粥样硬化的血管部位也是如此。最近的一项动物实验发现,糖尿病大鼠在早期阶段其主动脉壁中的 OPG 含量即明显升高,显著高于正常大鼠^[18]。也有许多研究证实,糖尿病患者血清 OPG 水平显著高于非糖尿病患者,在新诊断无并发症的 1 型及 2 型糖尿病患者中均是如此,而且血清 OPG 水平与空腹血糖、糖化血红蛋白 A_{1c} 呈显著正相关。最近的两项研究观察了新诊断无血管并发症的 1 型和 2 型糖尿病患者的血清 OPG 水平。结果发现,在治疗前,血清 OPG 水平显著高于年龄、性别相匹配的健康对照组,经治疗血糖下降后,血清 OPG 亦明显下降,相关分析显示血清 OPG 水平与空腹血糖、糖化血红蛋白 A_{1c} 显著相关^[19,20]。糖尿病患者 OPG 升高的原因尚不清楚,高血糖可能不是直接刺激细胞产生 OPG 增加的原因。糖尿病 OPG 升高的一种可能解释是高血糖状态下,炎症反应因子和促骨质疏松等因子分泌增加,OPG 对抗其作用而反应性增加。已知糖尿病是一种慢性炎症反应状态,许多研究表明 OPG 与炎症反应因子如肿瘤坏死因子(TNF)2 α 、高敏 C 反应蛋白呈明显正相关,且体外试验表明,炎症反应因子如 TNF2 α 、白细胞介素(IL)26 可刺激血管内皮细胞和 HVS MC 分泌 OPG 增加^[21]。有实验表明体外培养的人血管平滑肌细胞(HVS MC)可分泌 OPG,但高浓度的葡萄糖并不刺激 OPG 分泌增加,而加入胰岛素可导致 OPG 分泌减少^[17],说明糖尿病状态下 OPG 升高可能与胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗有关,而且临床研究发现糖尿病患者血清 OPG 与反映胰岛素抵抗的 HOMA-IR 明显相关^[22]。Knudsen 等^[23]观察了非糖尿病患者正常血糖和高血糖钳夹试验过程中血浆 OPG 的变化,发现急性血糖升高并不刺激血浆

OPG 水平的增加,而高胰岛素血症可降低血浆 OPG 水平,进一步表明糖尿病血浆 OPG 水平升高可能与高血糖本身无关,而与高血糖所致的代谢异常有关。

关于 OPG 与糖尿病微血管并发症的研究不多。近来一项大样本临床试验研究了 1 型糖尿病患者血清 OPG 水平与糖尿病肾病的关系,共 391 例 1 型糖尿病患者参与,其中合并糖尿病肾病患者 192 例,无糖尿病肾病患者 199 例,两组性别、年龄及糖尿病病史等均相匹配。结果发现,糖尿病肾病患者血清 OPG 水平显著高于无肾病患者($P < 0.001$)^[24]。Knudsen 等^[25]研究了 2 型糖尿病患者血清 OPG 水平与糖尿病视网膜膜病变和微量蛋白尿的关系。结果显示,存在糖尿病视网膜膜病变和微量蛋白尿的糖尿病患者血清 OPG 水平显著高于无并发症者。糖尿病微血管病变患者血清 OPG 水平升高可能是损伤的微血管内皮细胞产生过多的 OPG 所致,因为体外实验表明人微血管内皮细胞可产生 OPG,而且 OPG 可防止其凋亡^[26]。血清 OPG 水平升高可能反映了微血管的损伤程度,可作为微血管损伤的标志物。

综上所述,OPG 是重要的血管调节因子,与糖尿病及其微血管并发症密切相关,可能参与糖尿病及其微血管并发症,这为研究糖尿病并发症的发病机制及治疗提供了新的途径。糖尿病和糖尿病微血管病变容易发生骨质疏松,可将 BMD 测定作为 DM 患者的常规检查,从而在有效控制血糖,减少慢性并发症同时,及早发现和预防骨量减少和 OP,使患者得以早期治疗,防止骨折发生。糖尿病及糖尿病微血管病变患者血清 OPG 水平增高是其原因还是结果,以及糖尿病及糖尿病微血管病变患者血清 OPG 与 BMD 的关系还不是很明确,有待进一步研究,这对指导临床监测治疗糖尿病骨质疏松具有重要价值,可能为糖尿病性骨质疏松症的诊断及防治提供依据。

【参考文献】

- [1] Krieger I, Odrowaz-syoniewska G. Osteoprotegerin. J Ortop Traumatol Rehabil, 2004, 6(1): 123-129.
- [2] Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. J Endocrine Rev, 1999, 20(3): 345-357.
- [3] Fan X, Roy E, Zhu L, et al. Nitric oxide regulates receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin expression in bone marrow stromal cells. Endocrinology, 2004, 145(2): 751-759.
- [4] Bergh JJ, Yihuan Xu, Mary C, et al. Osteoprotegerin expression and secretion is regulated by calcium influx through the L-type voltage-

- sensitive calcium channel. *Endocrinology*, 2004, 145 (1) : 426-436.
- [5] Cao J, Venton L, Sakata T, et al. Expression of RANKL and OPG Correlates with age-related bone loss in male C57BL /6mice. *J Bone Miner Res*, 2003, 18 (2) : 270-277.
- [6] Hamdy NA. Targeting the RANK/RANKL /OPG signaling pathway : a novel approach in the management of osteoporosis. *J Curr Op in Investig Drugs*, 2007, 8 (4) : 299-303.
- [7] Yan T, Riggs BL, Boyl E, et al. Regulation of osteoclastogenesis and RANK expression by TGF- β 1. *J Cell Biochem*, 2001, 83 (2) : 320-325.
- [8] Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin : a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *J Curr Pharm Des*, 2001, 7 (8) : 613-635.
- [9] 韩宝玲, 张扬, 张风萍. 2 型糖尿病患者骨质疏松的临床探讨. *中国实用内科杂志*, 2001, 21 (4) : 214-215.
- [10] 李莉, 刘英敏. 2 型 DM 患者骨密度改变的初探. *中华内分泌代谢杂志*, 1999, 15 (1) : 23-26.
- [11] 林兵, 谢海宝, 赵晶晶, 等. 2 型糖尿病患者双能 X 线骨密度测定. *中国骨质疏松杂志*, 2005, 11 (2) : 218-220.
- [12] Akin O, Gol K, Akturk M, et al. Evaluation of bone turnover postmenopausal patients with type 2 diabetes mellitus using biochemical markers and bone mineral density measurements. *J Gynecol Endocrinol*, 2003, 17 (1) : 19-29.
- [13] Weber G, Baccaria L, De Angelis M, et al. Bone mass in young patients with type I diabetes. *J Bone Miner*, 1990, 8 : 23-30.
- [14] Campos-pastor MM, Lopez-ibarra PJ, Escobar-jimenez F, et al. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus : a prospective study. *J Osteoporos Int*, 2000, 11 (5) : 455-459.
- [15] Clausen P, Feldt-rasmussen B, Jacobsen P, et al. Microalbuminuria as an early indicator of osteopenia in male insulin-dependent diabetic patients. *J Diabet Med*, 1997, 14 (2) : 1038-1043.
- [16] 黄萍, 刘丰, 王衍慧, 等. 老年 2 型糖尿病患者糖化血红蛋白及尿白蛋白与骨密度变化的分析. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13 (4) : 267-268.
- [17] Olesen P, Ledet T, Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin : increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF- α . *Diabetologia*, 2005, 48 : 561-568.
- [18] Vaccarezza M, Bortol R, Fadda R, et al. Increased OPG expression and impaired OPG/TRAIL ratio in the aorta of diabetic rats. *Med Chem*, 2007, 3 : 387-391.
- [19] Xiang GD, Xu L, Zhao LS, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2006, 55 : 2126-2131.
- [20] Xiang GD, Sun HL, Zhao LS. Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 76 : 199-206.
- [21] Kim H, Shin H, Kwak H, et al. RANKL regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase /Akt signal transduction pathway. *FASEB J*, 2003, 17 : 2163-2165.
- [22] Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2006, 29 : 1664-1666.
- [23] Knudsen ST, Jeppesen P, Poulsen PL, et al. Plasma concentrations of osteoprotegerin during normo and hyperglycaemic clamping. *Scand J Clin Lab Invest*, 2007, 67 : 135-142.
- [24] Rasmussen LM, Tamow L, Hansen TK, et al. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *Eur J Endocrinol*, 2006, 154 : 75-81.
- [25] Knudsen ST, Foss CH, Poulsen PL, et al. Increased plasma concentrations of osteoprotegerin in type 2 diabetic patients with microvascular complications. *Eur J Endocrinol*, 2003, 149 : 39-42.
- [26] Kobayashi-Sakamoto M, Hirose K, Nishikata M, et al. Osteoprotegerin protects endothelial cells against apoptotic cell death induced by *Porphyromonas gingivalis* cysteine proteinases. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 264 : 238-245.