

模拟微重力环境对骨代谢的影响

宋淑军 司少艳 张建中 王宗烨

中图分类号: R856 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)06-0463-04

摘要: 骨是一种多功能器官,重力或机械力刺激对动物及人类骨骼系统的生长、发育及功能维持均起着非常重要的作用,因此缺乏重力或机械刺激会造成明显的骨骼变化。早在上世纪六十年代人们就发现太空微重力环境造成宇航员骨代谢的变化和快速骨质丢失,太空微重力环境可以导致骨吸收增强和骨形成的抑制作用,这种骨代谢的失平衡造成的骨质丢失,但导致骨代谢不平衡的原因尚不清楚。人长期卧床和鼠尾悬吊使负重骨处于一种失负荷状态,是地面上常用的模拟微重力模型,两种模型均表现为和太空环境相似的骨代谢改变以及骨质的快速丢失,鼠尾悬吊模型提供的骨形态测量学结果也表明骨质丢失、骨吸收的增强和骨形成功能的降低。骨吸收和骨形成分别由破骨细胞和成骨细胞完成,细胞分子学水平的研究表明微重力环境抑制成骨细胞的增殖,促使细胞凋亡,降低成骨细胞转录因子和特异性因子的表达,抑制成骨细胞的分化,并通过增加 RANKL/OPG 的比例促进破骨细胞的形成。微重力环境成骨细胞功能的降低和破骨细胞功能的增强所致的骨代谢的不平衡导致了骨质丢失,因此恢复平衡的骨代谢可能是防治微重力环境骨质丢失的必要手段。

关键词: 微重力;骨;骨代谢;太空

doi: 10.3969/j.issn.1006-7108.2009.06.019

Impact of simulated microgravity on bone metabolism SONG Shujun, SI Shaoyan, ZHANG Jianzhong, et al. PLA 306 Hospital, Beijing 100101, China

Abstract: Bone is a multifunctional organ. Gravity or mechanical force is important for development, growth and function of bone. Weightlessness or lack physical force can induce significant changes on bone. Bone mass of astronauts have revealed significant reduction during spaceflight since 1960s. Microgravity environment in space can cause increase in bone resorption and decrease in bone formation. The imbalance of bone metabolism (bone resorption and bone formation) results in bone loss under microgravity. However, the mechanism of the imbalance of bone metabolism remain unclear. Bed rest of human and rat tail suspension, making weight-bearing bone unloading, are commonly used to simulate the effect of microgravity condition during spaceflight. Both result in quick bone loss and the changes of bone metabolism are similar to that during spaceflight. The results of bone histomorphometry study in rat tail suspension also demonstrate bone loss, increases bone resorption and decreases bone formation. Osteoblasts and osteoclasts are responsible for bone formation and bone resorption respectively. Cellular and molecular studies show that microgravity inhibits osteoblast proliferation, induces the cell apoptosis and suppresses osteoblast marker gene expression and osteoblast differentiation. Stimulate osteoclast differentiation by increase the ratio of RANKL/OPG. The imbalance of bone metabolism caused by the function of osteoblast and osteoclast results in bone loss under microgravity. To recover the balance of bone metabolism is necessary measure for prevention the bone loss induced by microgravity.

Key words: Microgravity; Bone; Bone metabolism; Space

太空飞行或微重力(缺乏负荷)环境对人体造成的影响是多方面,可以导致许多脏器长期或短期的功能异常,如体液重新分布、肾小球滤过增加、心血

管功能改变、肌肉萎缩、骨质丢失、代谢紊乱、免疫功能的改变等,其中微重力所致宇航员骨质的丢失是航天事业所面临的最严重的问题,也是长期太空飞行最大的障碍。

骨是一种多功能器官,其主要功能是对身体器

作者单位: 100101 北京 中国人民解放军第 306 医院

通讯作者: 王宗烨, Email: wangzye@163.com

官的机械支撑和维持体内矿物质内环境稳定。骨结构的形成是在生长发育和成年后在不断的骨代谢重建过程中,通过适应外界机械刺激(包括重力),而形成的一种最适合其功能的应力性结构。重力或机械力刺激对动物及人类维持正常的骨代谢,从而对骨骼系统的生长、发育及功能维持均起着非常重要的作用,也是必需的。因此缺乏重力、机械刺激或长期骨骼失负荷,如太空飞行(微重力环境)或长期的卧床、制动则会造成骨代谢异常和骨骼的改变^[1]。

由于在真正的太空中进行试验的机会极少且相当困难,而且手续繁琐,费用昂贵,因此很难实施。所以采用地面模拟微重力试验技术已经成为研究太空生物学非常重要的手段。微重力实验技术可以模拟生物体在微重力环境下的生物学效应,这种实验技术已经被许多学者所利用来研究失重对动植物生长发育的影响。卧床和鼠尾悬吊动物模型也是目前常用并且较成熟的人和动物模拟微重力模型,这些技术的使用为研究人类在太空失重状况下的病理生理改变及其防治措施提供了有力的工具。

1 模拟微重力环境对骨及骨代谢的改变

太空飞行对骨的影响早在上世纪六十年代第二次载人航天飞行时就被人们关注,此后一直是航天医学研究的重要课题。持续卧床造成下肢缺乏机械负荷和太空微重力环境对下肢的影响相似,因此多年来卧床即被作为地面上仿太空微重力模型,用于地面上研究微重力对骨骼肌肉系统的影响。卧床(头低倾斜6度-模拟太空中头部血流的改变)21 d即发现全身骨矿含量、大转子和髌骨的骨密度均已明显减少^[2],美国宇航局通过对一组17 w卧床者的骨密度的测量,发现不同部位的骨质丢失不尽相同,分别为腰椎1.3%,股骨颈1.5%,大转子3.6%,整个髌骨质丢失3.4%,骨盆为3.3%,和太空飞行相似骨质丢失最快的为髌骨和骨盆^[3]。对卧床所致骨质丢失的探讨有助于进一步了解太空微重力环境的骨质丢失,同时对长期卧床患者骨质丢失的防治也具有重要意义。

骨作为身体的一种器官,和其他器官一样无时无刻都在进行代谢,正常情况下骨形成和骨吸收处于一种平衡状态,骨代谢的平衡是骨组织结构完整和功能正常必要保障,这一过程对机械刺激或外力(包括重力)非常敏感,机械刺激是骨代谢平衡重要的影响因子,如微重力环境,使负重骨处于一种无负荷状态,可以干扰在正常重力状态下骨代谢的平衡,

如长期卧床可以导致骨吸收指标吡啶啉、脱氧吡啶啉以及I型胶原交联氨基端肽的升高,且升高可达50%^[4],骨吸收指标可在卧床1 w内即明显升高^[3],而骨的形成指标则变化较晚,主要表现为血中I型胶原C-端肽显著降低^[4]。正是这种骨代谢的改变导致了微重力环境的骨质丢失。

鼠尾悬吊可使后肢处于一种无负荷状态,此模型是研究太空微重力环境生理改变最常用的动物研究手段。David对鼠尾悬吊14 d雄性大鼠使用双能X-线骨密度仪测股骨密度每天降低0.003 g/cm²,同时组织测量学技术观察证实胫骨干骺端骨质丢失,在两周的鼠尾悬吊期间表现为骨体积下降54%,骨小梁数减少33%,皮质骨的面积下降12%^[5]。可见骨量对缺乏负重非常敏感,数天即可显示骨质的丢失,鼠尾悬吊模型为微重力环境骨质丢失防治的研究提供了有力的工具。

鼠尾悬吊动物模型无论是生化指标还是骨组织形态测量学指标均显示鼠尾悬吊鼠骨吸收增强,骨形成功能降低,表现为尿的脱氧吡啶啉排泄增加,而血钙和碱性磷酸酶水平降低。骨组织形态测量学结果显示骨形成指标骨钙的沉积率和骨形成率均明显降低,而骨吸收指标为破骨细胞数量和破骨细胞的表面则明显增加^[6],可见地面模型无论是人卧床或是鼠尾悬吊均表现为和太空微重力环境对骨代谢相似的影响,由于太空实验的机会有限,因此这些模型的使用是人类进一步理解太空微重力对人体器官机能影响有力的措施。

2 模拟微重力环境对执行骨代谢的细胞-成骨细胞和破骨细胞的影响

骨代谢是通过细胞完成的,包括破骨细胞对旧骨进行吸收,成骨细胞合成新骨,为了深入的了解微重力环境对骨代谢影响的机理,人们在细胞水平做了大量的研究。在骨代谢的两种主要细胞成分-成骨细胞和破骨细胞中,认为成骨细胞在骨代谢过程中起着更重要的作用,成骨细胞不仅负责骨的形成,而且负责调节破骨细胞的生成和活性,因此微重力环境中对成骨细胞功能的影响做了大量研究。重力或机械刺激对成骨细胞的形成和功能起着非常重要的作用,在微重力情况下培养的成骨细胞,细胞呈收缩状态,细胞的数量减少、对刺激合成的信号反应能力下降,降低特异性成骨细胞的基因表达^[7],说明细胞在微重力情况下形态和功能发生了明显的改变,表现为受抑制状态。

为了进一步了解微重力对成骨细胞分化功能的影响,在地面模拟微重力下培养 MC3T3 细胞和人的成骨细胞,表现为细胞分化的抑制作用,转录因子 runx2 和 osterix,及成骨细胞的标志分子 I 型胶原的基因和蛋白表达水平均下降^[8]。微重力不仅抑制成骨细胞早期转录因子(runx2)而且还可以抑制晚期转录因子(osterix)的表达,即可能从不同的阶段抑制成骨细胞的分化功能。

在模拟微重力的情况下对更早成骨细胞的前身细胞培养,如 2T3 小鼠前成骨细胞)和人的干细胞,表现为向成骨细胞分化的转录因子 Runx2 和成骨细胞标志因子碱性磷酸酶、骨原蛋白、I 型胶原水平均显著下降^[9,10],说明微重力对成骨细胞分化的抑制作用可能从多能干细胞开始,也即最早期的分化开始。微重力对成骨细胞的多种行为如增殖、分化和凋亡等均有负面影响,可见成骨细胞功能的降低在微重力所致的骨质丢失中可能起着非常重要的作用。

此外发现模拟微重力下培养人的间质干细胞 7 d,不仅是成骨细胞分化标志分子碱性磷酸酶、骨原蛋白、I 型胶原和 runx2 表达受到抑制,而且脂肪细胞特异分子 adiponin、leptin、葡萄糖转运蛋白(GLUT4)以及脂肪细胞转录因子 peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ)的表达均明显增加^[11],即微重力抑制骨形成,促进脂肪的形成,这与老年性的骨骼改变有相似之处。在模拟微重力下培养人的间质干细胞 14 d 得到了相似的结果^[10,12]。干细胞向脂肪细胞分化受 p38MAPK/PPAR γ 通路的控制,而向成骨细胞分化受 ERK/RUNX2 通路控制,ERK 信号通路调节的 runx2 的激活是成骨细胞生成和分化所必须的^[13],微重力抑制 runx2 的表达,而且降低 ERK 的磷酸化(ERK/RUNX2 通路),也即抑制成骨细胞的分化。而磷酸化 ERK 水平的降低可导致 38MAPK 磷酸化增加,从而使 p38MAPK/PPAR γ 通路激活,此通路激活和 runx2 表达的降低是人间质干细胞向脂肪细胞分化的重要因素^[14]。p38MAPK 抑制剂 SB203580 可以抑制 p38 的磷酸化,从而抑制人干细胞向脂肪细胞分化,导致脂肪特异分子(adiponin 和 leptin)的表达减低^[10],微重力抑制成骨细胞分化和骨形成的机理可能与微重力抑制了 ERK 依赖性的 RUN2 的磷酸化有关,因此 ERK 信号通路的研究有可能为微重力所致骨质丢失的防治开辟新的思路。

目前对微重力下破骨细胞功能的研究明显少于对成骨细胞的研究,成骨细胞分泌的 RANKL 和 OPG

是骨代谢最主要的调节因子,也是破骨细胞分化和功能调节的重要因子, RANKL 和破骨细胞前身细胞的 RANK 结合而启动破骨细胞分化过程, OPG 可以和 RANKL 结合而影响其与 RANK 结合,抑制向破骨细胞的分化^[15]。微重力使成骨细胞 RANKL 表达增加而 OPG 的表达降低,同时成骨细胞培养液的可溶性的 RANKL 的水平增加而 OPG 的水平下降,使 RANKL/OPG 的比例增加,从而促进破骨细胞的分化,继而导致骨吸收增强^[12]。RANKL/OPG 信号传递通路可能是探讨防治微重力所致骨质丢失的重要手段。

3 结语

微重力所致的骨质丢失具体机制尚不十分清楚,有待进一步研究,但微重力可致骨代谢失衡——即骨吸收增强和骨形成功能降低已在人和动物的太空环境或地面微重力模拟实验中得以证实,因此有效的防治微重力环境中的骨质丢失应从纠正骨代谢平衡入手。

【参考文献】

- [1] LeBlanc AD, Spector ER, Evans HJ, et al. Skeletal responses to space flight and the bed rest analog: a review. *J Musculoskeletal Neuronal Interact*, 2007, 7: 33-47.
- [2] Smith SM, Zwart SR, Heer MA, et al. Effects of artificial gravity during bed rest on bone metabolism in humans. *J Appl Physiol*, 2008 Dec 12. [Epub ahead of print]
- [3] Shackelford LC, LeBlanc AD, Driscoll TB, et al. Resistance exercise as a countermeasure to disuse-induced bone loss. *J Appl Physiol*, 2004, 97: 119-129.
- [4] Inoue M, Tanaka H, Moriwake T, et al. Altered biochemical markers of bone turnover in humans during 120 days of bed rest. *Bone*, 2000, 26: 281-286.
- [5] David V, Lafage-Proust MH, Laroche N, et al. Two-week longitudinal survey of bone architecture alteration in the hindlimb-unloaded rat model of bone loss: sex differences. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 290: 440-447.
- [6] Iwasaki Y, Yamato H, Murayama H, et al. Maintenance of trabecular structure and bone volume by vitamin K2 in mature rats with long-term tail suspension. *J Bone Miner Metab*, 2002, 20: 216-222.
- [7] Hughes-Fulford M. Physiological effects of microgravity on osteoblast morphology and cell biology. *Adv Space Biol Med*, 2002, 8: 129-157.
- [8] Makihira S, Kawahara Y, Yuge L, et al. Impact of the microgravity environment in a 3-dimensional clinostat on osteoblast- and osteoclast-like cells. *Cell Biol Int*, 2008, 32: 1176-1181.

(上接第 465 页)

- [9] Pardo SJ , Patel MJ , Sykes MC , et al. Simulated microgravity using the random positioning machine inhibits differentiation and alters gene expression profiles of 2T3 preosteoblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* , 2005 , 288 :1211-1221 .
- [10] Zayzafoon M , Gathings WE , McDonald JM. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis. *Endocrinology* , 2004 , 145 :2421-2432 .
- [11] Saxena R , Pan G , McDonald JM. Osteoblast and Osteoclast Differentiation in Modeled Microgravity. *Ann NY Acad Sci* , 2007 , 1116 :494-498 .
- [12] Zheng Q , Huang G , Yang J , et al. Could the effect of modeled

microgravity on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells be reversed by regulation of signaling pathways ? *Biol. Chem* , 2007 , 388 :755-763 .

- [13] Ducy P , Zhang R , Geoffroy V , et al. *Osf2/Cbfa1* : a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* , 1997 , 89 :747-754 .
- [14] Lecka-Czernik B , Gubrij I , Moerman EJ , et al. Inhibition of *Osf2/Cbfa1* expression and terminal osteoblast differentiation by *PPAR γ 2*. *J Cell Biochem* , 1999 , 74 :357-371 .
- [15] Nakamura M , Udagawa N , Matsuura S , et al. Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption. *Endocrinology* , 2003 , 144 :5441-5449 .

(收稿日期 : 2009-02-13)