

吡格列酮对正常 MC3T3-E1 成骨细胞增殖、凋亡以及功能蛋白表达的影响

冯霖 沈喜妹 严孙杰

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)02-0096-06

摘要: 目的 探讨不同浓度吡格列酮(PIO)对正常糖浓度培养下 MC3T3-E1 小鼠早期成骨细胞增殖、凋亡及功能蛋白分泌表达的影响。方法 体外培养 MC3T3-E1 细胞,分为正常对照组、不同浓度 PIO 干预组(5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、40 $\mu\text{mol/L}$),分别干预 24、48 h。CCK-8 检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞凋亡率,RIA 法和 ELISA 法分别检测相关功能蛋白骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP),RT-PCR 检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、成骨因子 runt 相关基因 2(Runx2)及骨形成蛋白-2(BMP-2) mRNA 表达水平。结果 (1)与对照组比较,MC3T3-E1 细胞增殖能力在 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组增加显著($P < 0.05$)、在 PIO 大于 5 $\mu\text{mol/L}$ ~ 10 $\mu\text{mol/L}$ 干预组则降低($P < 0.05$)。干预时间由 24 h 延长至 48 h,各组细胞增殖能力呈不同程度增加,但在 20、40 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预的两组增加无统计学差别。(2)对照组及各 PIO 浓度干预 24 h,细胞凋亡率分别为:1.97%、0.43%、13.0%、48.30%、81.00%;(3)随着 PIO 浓度从 0 ~ 40 $\mu\text{mol/L}$ 范围内的增加,MC3T3-E1 细胞的 PPAR γ mRNA 表达水平呈增加趋势($P < 0.05$);Runx2 mRNA 表达量在 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 浓度组时较对照组增加,在剂量较高时(PIO ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$)随浓度升高表达下降。(4)细胞功能蛋白 ALP、OCN 的分泌及 BMP-2 的表达在 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 浓度组时最高,PIO ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,上述蛋白量逐渐下降($P < 0.05$);随干预时间从 24 ~ 48 h 延长,各 PIO 浓度干预组 ALP 以及 BMP-2 量增加($P < 0.05$),而 OCN 无显著改变($P > 0.05$)。结论 PIO 对正常糖浓度培养的 MC3T3-E1 细胞具有双向作用:低浓度促进细胞增殖,高浓度则促进凋亡。PPAR γ 适当激活可促使成骨细胞通过 Runx2 增加功能蛋白的合成;过度激活,则表现出细胞毒性。

关键词: 吡格列酮; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 成骨因子 runt 相关基因; 骨钙素; 骨形成蛋白-2

The effects of pioglitazone on proliferation, apoptosis and expressions of functional proteins in the osteoblastic cell MC3T3-E1 FENG Lin, SHEN Ximei, YAN Sunjie. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 352100, China

Corresponding author: YAN Sunjie, Email: ysj@medmail.com.cn

Abstract: Objective To investigate the effects of pioglitazone (PIO) on proliferation, apoptosis and expressions of functional proteins in mouse preosteoblastic cells MC3T3-E1 exposed to normal glucose concentration. **Methods** MC3T3-E1 cells were cultured and divided into control group, PIO administration group with different PIO concentrations (5, 10, 20 and 40 $\mu\text{mol/L}$, respectively) and were exposed for 24 or 48 hours. Cell proliferation was tested with CCK-8. Cell apoptosis was detected using quantitative flow cytometry. The secretions of osteocalcin (OCN) and alkaline phosphatase (ALP) were measured using RIA or ELISA, respectively. The mRNA expressions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ), osteogenic factor runt related gene 2 (Runx2), and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) was

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2009J01135)

作者单位: 350005 福州,福建医科大学附属第一医院内分泌科,第一作者现在福建省宁德市医院内分泌科工作

通讯作者: 严孙杰, Email: ysj@medmail.com.cn

detected using semi-quantitative RT-PCR. **Results** (1) Compared to the control group, cell proliferation was promoted in PIO 5 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$). In cultures administered with PIO concentration higher than 5-10 $\mu\text{mol/L}$, cell proliferation was decreased significantly compared to that in control group ($P < 0.05$). Extending the interfering time from 24 h to 48 h, cell proliferation in each group increased in a certain extent; however the increase was not statistically significant in 20 and 40 $\mu\text{mol/L}$ PIO groups. (2) In cultures of control and PIO groups exposed for 24 h, the apoptotic rates were 1.97%, 0.43%, 13.0%, 48.30%, and 81.00%, respectively. (3) In cultures with PIO concentration from 0 to 40 $\mu\text{mol/L}$, PPAR γ mRNA expression levels of the cell showed a dose-dependent increase ($P < 0.05$). Runx2 mRNA expression increased in PIO 5 $\mu\text{mol/L}$ group, but it decreased in groups with PIO doses higher than 10 $\mu\text{mol/L}$. (4) The secretions of ALP, OCN, and the expression of BMP-2 were the highest in PIO 5 $\mu\text{mol/L}$ group. Those were decreased dose-dependently when PIO concentrations were more than 10 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). Expressions of ALP and BMP-2 increased in each group when the exposing time extended from 24 to 48 h ($P < 0.05$), but the expression of OCN did not change ($P > 0.05$). **Conclusion** PIO had a biphasic effect on mouse preosteoblastic cell MC3T3-E1 exposed to normal glucose. Low concentrations of PIO promoted cell proliferation, while high concentrations of PIO stimulated cell apoptosis. Appropriate activation of PPAR γ could stimulate cells to increase functional protein synthesis by increasing Runx2. Over activation of PPAR γ showed cellular toxicity.

Key words: Pioglitazone; Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; Osteogenic factor runt related gene 2; Osteocalcin; Bone morphogenetic protein-2

噻唑烷二酮类药物(TZDs)是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)的人工合成配体,已广泛用作 2 型糖尿病的基础用药及全程用药。随着对 TZDs 研究的不断深入,其独立于降糖作用之外的多效性受到医学界的广泛关注,除在糖尿病领域应用外,还被试用于代谢综合征、肿瘤、心血管疾病、肾脏疾病、多囊卵巢综合征等^[1]。此外若干临床试验也支持其应用于糖调节受损(IGR)的患者^[2]。近年来多项研究表明糖尿病高糖状态下,应用 TZDs 对骨存在不利的影响,但 TZDs 对正常糖代谢亦或 IGR 的人群是否有类似的骨骼抑制作用或有别于此,目前仍少见报道。为此本研究采用不同浓度吡格列酮(PIO)干预正常糖浓度(5.6 $\mu\text{mol/L}$)培养下的 MC3T3-E1 小鼠早期成骨细胞,分别从细胞增殖、凋亡、相关功能蛋白分泌及表达等方面观察 PIO 在正常糖浓度下对成骨细胞的影响,并初步探讨其可能的机制,以期对 TZDs 的临床用药提供进一步的参考。

1 材料和方法

1.1 细胞和试剂

小鼠早期成骨细胞株 MC3T3-E1 购自上海拜力生物科技有限公司,低糖 DMEM 培养基(LDMEM)购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自美国 Hyclone 公司,流式 AnnexinV-FITC/PI 凋亡试剂盒购自 BestBio 上海公司,碱性磷酸酶酶联免疫分析试剂盒(ALP 万方数据

ELISA)购于美国 R&D 公司,骨钙素放免试剂盒(OCN RIA)购于北京原子高科股份有限公司(批内 CV < 10%;批间 CV < 15%),半定量逆转录-聚合酶链反应试剂盒(RT-PCR)购自天根生化科技北京有限公司,Cell Counting Kit-8 试剂盒(CCK-8)和 BCA 蛋白定量试剂盒均购自碧云天生物技术研究所,吡格列酮原粉由江苏德源药业有限公司提供(批号 23070201)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及实验分组: MC3T3-E1 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 LDMEM 培养液中,当细胞进入对数生长期时进行药物干预。根据 PIO 干预浓度的不同将实验分为正常对照组、5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组、10 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组、20 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组及 40 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组,共五组,干预 24、48 h。

1.2.2 CCK-8 检测细胞增殖活性: 取对数生长期的 MC3T3-E1 细胞,按 3×10^4 个/孔接种于 96 孔培养板。培养 24 h,按上述实验分组分别加入相应浓度 PIO 的培养液,分别培养 24 h 和 48 h。最后每孔加入 10 μL CCK-8,孵育 3 h,于 450 nm 波长下测定各孔光密度值(OD 值)。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡率: 取对数生长期的 MC3T3-E1 细胞,按 3×10^5 个接种于培养瓶中,培养 24 h。将细胞随机分为上述实验组,用含不同浓度 PIO 的培养液干预 24 h 后收集细胞悬液, PBS 洗细胞两次,1000 r/min 离心 10 min,最后剩余

100 μL 重新悬浮细胞。按试剂盒说明加入 AnnexinV 和 PI, 流式细胞仪进行凋亡率定量检测。

1.2.4 细胞 OCN 和 ALP 分泌的检测: 接种于 6 孔板的细胞培养至对数生长期, 加入相应浓度 PIO 的 LDMEM 培养液, 干预 24、48 h, 收集上清液于 EP 管, 4 $^{\circ}\text{C}$, 1000 r/min 离心 5 min, 取上清液 -20 $^{\circ}\text{C}$ 储存备检。分别采用 RIA 法检测 OCN 和 ELISA 法检测 ALP 的分泌情况, 具体步骤参照说明书进行。所得的功能蛋白分泌结果用 ALP、OCN 浓度与细胞蛋白总量之比 (ALP/PRO、OCN/PRO) 表示。

1.2.5 RNA 和蛋白质的分离: 上述细胞完成上清液的收集后, 按 Trizol 法分离纯化蛋白质和 RNA。纯化的蛋白质按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书检测其总浓度。

1.2.6 RT-PCR 检测 PPAR γ 、Runx2、BMP-2 的表达: 引物委托 Invitrogen 上海公司设计合成, 按 RT 说明书将 mRNA 逆转录为 cDNA 后进行 PCR 扩增反应。

引物序列如下:

β -actin 上游: 5'-TGGACTTCGAGCAAGAGA TGG-3',

下游: 5'-ATCTCCTTCTGCATCCTGTGCG-3', 289 bp;

PPAR γ 上游: 5'-GCCCAGGCTTGCTGAACGTG AAG-3'

下游: 5'-CACGTGCTCTGTGACGATCTGCC-3', 147 bp;

Runx2 上游: 5'-CCGCACGACAACCGCACCAT-3',

下游: 5'-CGCTCCGGCCCAAAATCTC-3', 289 bp;

BMP-2 上游: 5'-AGTTCTGTCCCAGTGACGAG TTT-3',

下游: 5'-GTACAACATGGAGAT TGCGCTGAG-3', 708 bp。

反应条件如下:

β -actin: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 30 cycles, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min;

PPAR γ : 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 36 cycles, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min;

Runx2: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 32 cycles, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min;

BMP-2: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 62 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 36 cycles, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min;

万方数据

PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳, 图像扫描仪行灰度扫描, 实验结果以各组 PPAR γ 、Runx2、BMP-2 mRNA 与 β -actin mRNA 的灰度比值表示 mRNA 的相对表达量。

1.3 统计学处理

实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。应用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞形态学观察

正常 MC3T3-E1 细胞形态伸展呈长梭形或多角形, 有集落样分布, 分布不均匀; 细胞间胞突相互连接, 无明显的极性, 细胞核圆, 高倍镜下可见。PIO 干预浓度在 5 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞形态并未见明显变化, 而浓度从 20 ~ 40 $\mu\text{mol/L}$, 细胞逐渐出现变异, 且随干预时间的延长, 这种趋势越明显。出现细胞突起变钝、变圆, 细胞贴壁能力减退, 细胞间连接汇合减少, 胞浆内颗粒增多, 核浓缩, 有细胞脱壁漂浮。

2.2 吡格列酮对 MC3T3-E1 细胞增殖的影响

在相同干预时间点, 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组细胞增殖能力高于对照组 ($P < 0.05$), 而在 PIO 大于 5 $\mu\text{mol/L}$ 各组中, 除干预 48 h 的 10 $\mu\text{mol/L}$ 干预组外, 均低于对照组 ($P < 0.05$)。在相同浓度 PIO 干预组, 随时间由 24 h 延长至 48 h, 各组细胞增殖能力呈不同程度增加, 但在高浓度 PIO 的两组 (20、40 $\mu\text{mol/L}$) 增加趋势无统计学差别 ($P = 0.100$ 和 0.457), 见图 1。

2.3 吡格列酮对 MC3T3-E1 细胞凋亡的影响

与对照组相比, 干预 24 h PIO 各组, 细胞凋亡率在 5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时低于对照组, 但两者无统计学差别 ($P = 0.09$); 而浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 逐渐增加, 各组细胞凋亡率均较对照组增加, 差别有统计学意义 ($P < 0.05$), 且细胞凋亡率随着药物浓度的增加呈上升趋势。

2.4 吡格列酮对 MC3T3-E1 细胞相关转录因子 PPAR γ 和 Runx2 mRNA 表达的影响

干预 24 h 和 48 h 后, 随着 PIO 浓度从 0 ~ 40 $\mu\text{mol/L}$ 范围内增加, MC3T3-E1 细胞的 PPAR γ mRNA 表达水平呈增加趋势, 但与对照组相比, 5 $\mu\text{mol/L}$ 组并无统计学差别 (P 值分别为 0.708 和 0.118); 而 Runx2 mRNA 表达量在 5 $\mu\text{mol/L}$ 组时增加, 在剂量较高时 (PIO ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$) 随浓度升高表

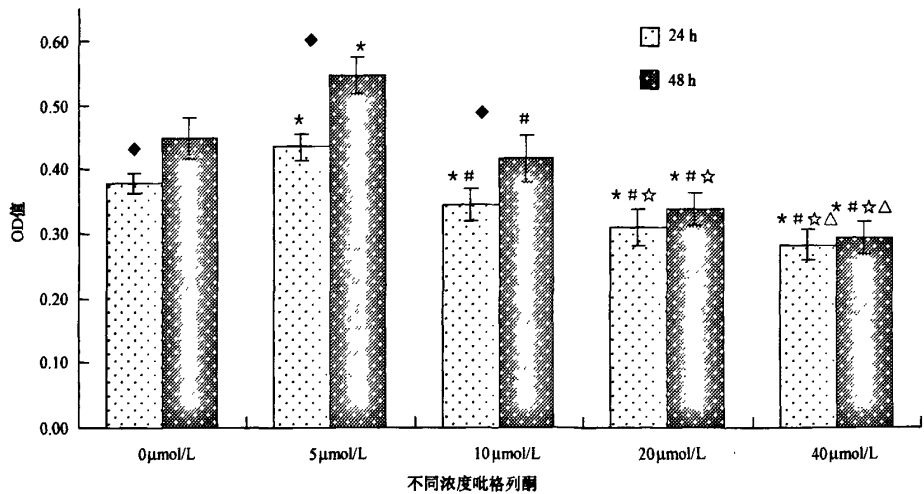


图 1 PIO 的干预浓度和时间对 MC3T3-E1 细胞增殖能力的影响

注:在相同干预时间点,与对照组比较,* $P < 0.05$;与 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,# $P < 0.05$;与 10 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,☆ $P < 0.05$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,△ $P < 0.05$ 。在相同干预浓度,与不相同干预时间点比较,♦ $P < 0.05$

表 1 不同浓度吡格列酮干预 24 h 细胞的凋亡率% ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	凋亡率%
对照组	3	1.97 $\pm$ 0.351
5 $\mu\text{mol/L}$ 干预组	3	0.43 $\pm$ 0.252
10 $\mu\text{mol/L}$ 干预组	3	13.30 $\pm$ 0.721 * [#]
20 $\mu\text{mol/L}$ 干预组	3	48.30 $\pm$ 1.212 ** [☆]
40 $\mu\text{mol/L}$ 干预组	3	81.00 $\pm$ 1.682 *** [△]

注:干预 24 h,与对照组比较,* $P < 0.05$;与 5 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,# $P < 0.05$;与 10 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,☆ $P < 0.05$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ PIO 组比较,△ $P < 0.05$ 达下降,见图 2、3。

2.5 吡格列酮对 MC3T3-E1 细胞功能蛋白分泌表达的影响

随着 PIO 浓度从 0 ~ 40 $\mu\text{mol/L}$ 范围内增加,细胞功能蛋白 ALP、OCN、BMP-2 的分泌表达量呈先增加后下降的趋势,且在 5 $\mu\text{mol/L}$ 组时最高,PIO 剂量 $\geq 10 \mu\text{mol/L}$ 时,上述蛋白分泌表达量逐渐下降 ($P < 0.05$);随干预时间从 24 ~ 48 h 延长,各组 ALP 以及 BMP-2 含量增加 ($P < 0.05$),而 OCN 仅在 5 $\mu\text{mol/L}$ 组有略微差别 ($P = 0.034$),而其余各组中均无显著性改变 ($P > 0.05$)。见表 2。

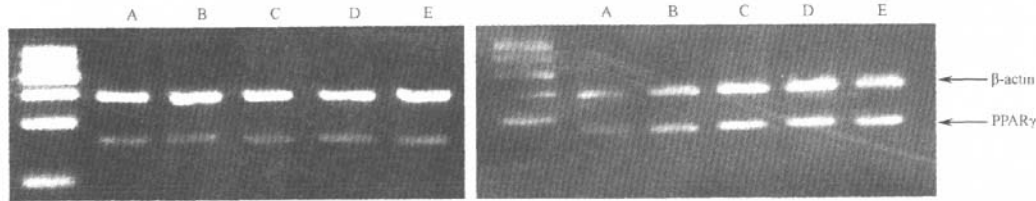


图 2 PIO 干预 24 和 48 小时 PPAR γ mRNA 电泳图

注:A、B、C、D、E 分别为对照组、5、10、20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组细胞内参 β -actin;与 PPAR γ ;Marker 从上到下依次是 600 bp、500 bp、400 bp、300 bp、200 bp、100 bp)

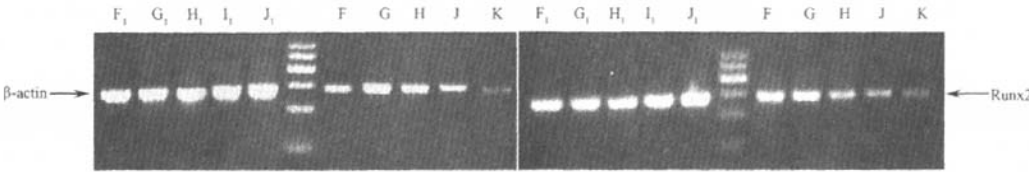


图 3 PIO 干预 24 和 48 小时 Runx2 mRNA 电泳图

注:F、G、H、I、J 分别为对照组、5、10、20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组细胞 Runx2;F₁、G₁、H₁、I₁、J₁ 分别为对照组、5、10、20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ PIO 干预组细胞内参 β -actin;Marker 同上)

表 2 PIO 对 OCN、ALP 分泌及 BMP-2 mRNA 表达的影响(±s)

组 别	上清液 OCN 量/细胞总蛋白量 (ng/mL · mg pro)		上清液 ALP 量/细胞总蛋白量 (IU/L · mg pro)		BMP-2 mRNA 的表达量 (BMP-2 吸光度值/β-actin 吸光度值)	
	干预 24 h	干预 48 h	干预 24 h	干预 48 h	干预 24 h	干预 48 h
对照组	16.42 ± 0.753	15.95 ± 0.611	3.74 ± 0.155	4.01 ± 0.091*	0.55 ± 0.029	0.70 ± 0.016*
5 μmol/L PIO 组	17.47 ± 0.894*	16.59 ± 0.573*	4.02 ± 0.178*	4.29 ± 0.134*♦	0.60 ± 0.029*	0.72 ± 0.022*
10 μmol/L PIO 组	15.81 ± 0.586*	15.48 ± 0.910*	3.64 ± 0.187*	3.86 ± 0.072***	0.27 ± 0.012**	0.46 ± 0.033***
20 μmol/L PIO 组	14.04 ± 0.675***	13.79 ± 0.522***	3.33 ± 0.121***	3.56 ± 0.083***	0.16 ± 0.019***	0.40 ± 0.032***♦
40 μmol/L PIO 组	12.92 ± 0.866***Δ	13.03 ± 0.679***Δ	3.22 ± 0.118***	3.44 ± 0.104***	0.08 ± 0.014***	0.14 ± 0.015***Δ♦

注:在相同干预时间点,与对照组比较,*P<0.05;与 5 μmol/L PIO 组比较,*P<0.05;与 10 μmol/L PIO 组比较,*P<0.05;与 20 μmol/L PIO 组比较,*P<0.05。在相同干预浓度,与干预 24 h 组比较,♦P<0.05

3 讨论

TZDs 类药物是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ(PPARγ)的人工合成配体,该类药物与 PPARγ 核受体结合,并激活其活性,调控与胰岛素效应有关的多种基因的转录,目前广泛用于治疗以胰岛素抵抗为主的 2 型糖尿病。TZDs 通过激活 PPARγ 对骨骼产生的作用是近年来研究热点。临床试验、动物及细胞实验研究均报道了高糖状态下,应用 TZDs 对骨骼存在不利的影响,能抑制骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,抑制骨形成,诱导成骨细胞凋亡,损伤成骨细胞正常功能,导致骨量丢失和骨折风险增加^[3-5]。近年来,随着 TZDs 在其他非糖尿病领域的应用,有学者发现在正常糖浓度下,TZDs 对骨的影响并未如高糖环境一样,而是依赖剂量和种类的不同对骨表现出不同的效应^[6-8]。有研究显示环格列酮、曲格列酮、奈格列酮等干预成骨细胞后,对其功能的影响呈现一种先促进后抑制的趋势,但对于临床常用的 TZDs—吡格列酮(PIO),是否有类似影响,目前尚未见相关报道。

本研究显示:PIO 干预浓度在 5 和 10 μmol/L 时,MC3T3-E1 细胞形态未见明显变化,并能随干预时间的延长,细胞增殖力升高;而浓度从 20 ~ 40 μmol/L,细胞逐渐出现变异,且细胞增殖力不随干预时间的延长而有所增加。PIO 在 5 μmol/L 时促进细胞增殖并对细胞凋亡产生一定抑制作用,同时促进成骨标志物—骨形成蛋白 2(BMP-2)的表达,相应的功能蛋白骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP)分泌亦增强;而在浓度大于 5 μmol/L,特别是在 20、40 μmol/L 两组则明显抑制细胞的增殖能力,促进细胞的凋亡,相关蛋白合成减少,表现出对成骨细胞功能的抑制作用。这种对蛋白分泌表达的低剂量促进,高剂量抑制的双向作用,其机制可能为:①正常

成骨细胞能表达多种信号蛋白,PIO 激活 PPARγ 的同时还可能活化 ROS、ERK、GSH、PPARα 等多种复杂的信号通路^[9,10],它们与成骨细胞的增殖、凋亡及功能密切相关。如 PPARα,已经证实其特异性激动剂非诺贝特等在用于正常糖代谢小鼠或人的降脂过程时具有一定的促成骨细胞增殖及增加骨密度的作用^[11]。这些具有相反作用信号的激活强弱,决定了该药物具有双向性作用的可能;②PPARγ 与成骨特异性转录因子 Runx2 之间存在交互作用,而这种作用影响着成骨细胞的功能^[12]。在正常糖代谢时,成骨细胞能行使正常功能,小剂量 TZDs 适度激活 PPARγ,可以刺激正常细胞代偿性增加 Runx2 的表达量,从而实现短时间内的刺激作用;而高浓度药物可能超过这种自身负反馈调节范围,损害成骨细胞的正常功能,表现出毒性作用。本实验通过对 PPARγ 和 Runx2 检测结果支持这种推测。

本研究结果还发现:随干预时间的延长,细胞数量有不同程度的增加,然而 OCN 却无显著性改变。可能机制是 OCN 是成骨细胞晚期成熟的标志性蛋白^[6,13],随药物干预时间的延长,虽然增殖的细胞增加了,但存在分化成熟障碍,故细胞晚期蛋白并未呈增加趋势。ALP 和 BMP-2 属于早期表达产物,并不存在这种影响,其表达量随时间延长、细胞数量增加呈上升趋势。

近年来流行病学调查显示糖尿病本身就是骨质疏松的危险因素,在糖尿病人群中骨质疏松呈“隐匿性流行”。在我们的系列研究中发现,高糖浓度(22.5 mmol/L)培养的成骨细胞,PIO 在 2.5 μmol/L 时即表现出对细胞的抑制(另文报道)。Barnett 等研究也证实,高糖环境下较低浓度的 TZDs 即可对骨产生不利的影响,其与糖毒性具有协同作用^[14]。但 TZDs 对骨细胞的抑制作用与高糖毒性作用相比,孰重孰轻,目前医学界亦尚无统一的论断。

令人可喜的是本研究显示低浓度 PIO 对正常糖环境的成骨细胞并未表现出功能抑制,相反呈一定促进作用,这一现象是否意味着在正常糖代谢乃至轻微高血糖如 IGR 伴胰岛素抵抗的个体,选择合适剂量的该类药物是具有一定安全性的?

目前 TZDs 对成骨细胞潜在的双向作用,其确切机制有待进一步完善。同时由于人体内多种激素和内环境的错综复杂,尚需继续这方面相关的基础与临床研究加以证实,以期为将来的临床合理用药,避免骨质疏松症的发生提供更多有说服力的依据。

【参 考 文 献】

- [1] Patel CB, Lemos JA, Wyne KL, et al. Thiazolidinediones and risk for atherosclerosis: pleiotropic effects of PPAR gamma agonism. *Diabetes Vasc Dis*, 2006, 3: 65-71.
- [2] Eguchi K, Tomizawa H, Ishikawa J, et al. Comparison of the effects of pioglitazone and metformin on insulin resistance and hormonal markers in patients with impaired glucose tolerance and early diabetes. *Hypertens Res*, 2007, 30: 23-30.
- [3] Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med*, 2006, 355: 2427-2443.
- [4] Rzonca SO, Suva LJ, Gaddy D, et al. Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology*, 2004, 145: 401-406.
- [5] Soroceanu MA, Miao D, Bai XY, et al. Rosiglitazone impacts negatively on bone by promoting osteoblast/osteocyte apoptosis. *Endocrinol*, 2004, 183: 203-216.
- [6] Lazarenko OP, Rzonca SO, Suva LJ, et al. Netoglitazone is a

PPAR-gamma ligand with selective effects on bone and fat. *Bone*, 2006, 38: 74-99.

- [7] Jackson SM, Demer LL. Peroxisome-proliferator activated receptor activators modulate the osteoblastic maturation of MC3T3-E1 preosteoblasts. *FEBS Lett*, 2000, 471: 119-124.
- [8] Li M, Pan LC, Simmons HA, et al. Surface-specific effects of a PPARgamma agonist, darglitazone, on bone in mice. *Bone*, 2006, 39: 796-806.
- [9] Jung JY, Yoo CI, Kim HT, et al. Role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in troglitazone-induced osteoblastic cell death. *Toxicology*, 2007, 234: 73-82.
- [10] Yasuda E, Tokuda H, Ishiaki A, et al. PPAR-gamma ligands up-regulate basic fibroblast growth factor-induced VEGF release through amplifying SAPK/JNK activation in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328: 137-143.
- [11] Syversen U, Stunes AK, Gustafsson BI, et al. Different skeletal effects of the peroxisome-proliferator activated receptor (PPAR) α agonist fenofibrate and the PPAR γ agonist pioglitazone. *BMC Endocrine Disorders*, 2009, 9: 1-13.
- [12] Ziros PG, Gil AR, Georgakopoulos T, et al. The bone-specific transcriptional regulator Cbfa1 is a target of mechanical signals in osteoblastic cells. *Biol Chem*, 2002, 277: 23934-23941.
- [13] Min JJ, Jeong AK, Kwon SH, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ inhibits the runx2-mediated transcription of osteocalcin in osteoblasts. *Biol Chem*, 2003, 278: 23270-23277.
- [14] Barnett AH. Redefining the role of thiazolidinediones in the management of type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag*, 2009, 5: 141-151.

(收稿日期:2010-08-17)

(上接第 95 页)

- [20] Zaidi M, Blair HC, Iqbal J, et al. Proresorptive actions of FSH and bone loss. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1116:376-382.
- [21] Seibel MJ, Dunstan CR, Zhou H, et al. Sex steroids, not FSH, influence bone mass. *Cell*, 2006, 127:1079.
- [22] Rajendren G, Zhou H, Moonga BS, et al. Restoration of bone mass in hpg mouse by preoptic area grafting. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1068:341-347.
- [23] Sims NA, Brennan K, Spaliviero J, et al. Perinatal testosterone

surge is required for normal adult bone size but not for normal bone remodeling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 290: E456-E462.

- [24] Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, et al. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:2266-2274.

(收稿日期:2010-07-20)

吡格列酮对正常MC3T3-E1成骨细胞增殖、凋亡以及功能蛋白表达的影响

作者: 冯霖, 沈喜妹, 严孙杰, FENG Lin, SHEN Ximei, YAN Sunjie
作者单位: 冯霖, FENG Lin(福建省宁德市医院内分泌科), 沈喜妹, 严孙杰, SHEN Ximei, YAN Sunjie(福建医科大学附属第一医院内分泌科, 福州, 350005)
刊名: 中国骨质疏松杂志 
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS
年, 卷(期): 2011, 17(2)

参考文献(14条)

1. Barnett AH Redefining the role of thiazolidinediones in the management of type 2 diabetes 2009
2. Min JJ;Jeong AK;Kwon SH Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ , inhibits the runx2-mediated transcription of osteocalcin in osteoblasts 2003
3. Ziros PG;Gil AR;Georgakopoulos T The bone-specific transcriptional regulator Cbfa1 is a target of mechanical signals in osteoblastic cells 2002
4. Syversen U;Stunes AK;Gustafsson BI Different skeletal effects of the peroxisome-proliferator activated receptor (PPAR) α agonist fenofibrate and the PPAR γ agonist pioglitazone[外文期刊] 2009
5. Yasuda E;Tokuda H;Ishisaki A PPAR- γ ligands up-regulate basic fibroblast growth factor-induced VEGF release through amplifying SAPK/JNK activation in osteoblasts[外文期刊] 2005(1)
6. Jung JY;Yoo CI;Kim HT Role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in troglitazone-induced osteoblastic cell death[外文期刊] 2007(1/2)
7. Li M;Pan LC;Simmons HA Surface-specific effects of a PPAR γ agonist, darglitazone, on bone in mice 2006
8. Jackson SM;Demer LL Peroxisome-proliferator activated receptor activators modulate the osteoblastic maturation of MC3T3-E1 preosteoblasts[外文期刊] 2000(1)
9. Lazarenko OP;Rzonca SO;Suva LJ Netoglitazone is a PPAR- γ ligand with selective effects on bone and fat[外文期刊] 2006
10. Soroceanu MA;Mian D;Bai XY Rosiglitazone impacts negatively on bone by promoting osteoblast/osteocyte apoptosis 2004
11. Rzonca SO;Suva LJ;Gaddy D Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone 2004
12. Kahn SE;Haffner SM;Heise MA Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy 2006
13. Eguchi K;Tomizawa H;Ishikawa J Comparison of the effects of pioglitazone and metformin on insulin resistance and hormonal markers in patients with impaired glucose tolerance and early diabetes 2007
14. Patel CB;Lemon JA;Wyne KL Thiazolidinediones and risk for atherosclerosis: pleiotropic effects of PPAR γ agonism 2006

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201102002.aspx