

• 综述 •

骨桥蛋白与动脉粥样硬化和骨质疏松的关系

张娜 刘蕴玲

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2012)10-0949-04

摘要: 骨桥蛋白作为体内广泛存在的细胞因子和趋化因子,可介导细胞黏附、聚集及迁移,具有抗炎和促炎的双重作用,近年来逐渐认识到它在心血管疾病中起着不可估量的作用。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,刺激骨吸收及骨重建,增加骨吸收陷窝的数量和面积,并抑制骨组织的矿化过程。本文就骨桥蛋白在骨质疏松症与动脉硬化的发病中所起作用作一综述。

关键词: 骨桥蛋白;骨质疏松症;动脉粥样硬化

The relationships among osteopontin, atherosclerosis, and osteoporosis ZHANG Na¹, LIU Yunling^{2, 1}

Department of Endocrinology, Chinese Medicine Hospital of Dezhou, Dezhou 253000; ²Department of Health Care, Qianfo Mountain Hospital of Ji'nan, Ji'nan 250002, China

Corresponding author: ZHANG Na, Email: lxp198193@163.com

Abstract: Osteopontin (OPN), a cytokine and chemotactic factor extensively expressed in the body, is able to mediate cell adhesion, aggregation, and migration. Meanwhile, it has dual function of both anti-inflammatory and proinflammatory. Recently, people gradually realize the inestimable role of OPN played in cardiovascular diseases. OPN may have a function on stimulating cell proliferation and calcification of osteoblasts, promoting the adhesion between osteoclasts and bone matrix, improving the osteolytic activity, stimulating bone absorption and bone reconstruction, increasing the number and area of bone absorptive lacunae, and inhibiting the mineralization of bone tissue. This article reviews the function of OPN on the genesis of osteoporosis and arteriosclerosis

Key words: Osteopontin; Osteoporosis; Atherosclerosis

骨质疏松症的特征是骨密度减低和骨组织结构的退化,导致骨的脆性增加并容易骨折,且随着年龄的增长,其发病率不断上升^[1]。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)由矿化的骨基质中分离,因其可介导骨组织细胞与骨基质的连接、参与骨基质矿化和重吸收过程而得名^[2]。随后的研究发现,OPN是细胞外基质中的一种重要的多功能糖蛋白,可由多种组织细胞合成和分泌,参与介导细胞黏附、增殖和迁移,在骨质疏松和动脉粥样硬化(AS)经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)后再狭窄、高血压等疾病引起的血管重构过程中发挥着重要的调节作用^[3]。

1 骨桥蛋白的结构特征及生理功能

OPN是一种带负电的非胶原性骨基质糖蛋白,由多种组织细胞合成与分泌。是一种磷酸化糖蛋白,在1985年,Franzen等^[4]在大鼠矿化的骨基质中分离出一种含“精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸”序列(RGD sequence)的磷酸化糖蛋白,命名为骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)。它是一种相对分子质量约为44 kDa的分泌型糖基化磷蛋白,约含300个氨基酸残基,其氨基酸序列富含谷氨酸、丝氨酸和天门冬氨酸,在不同天门冬氨酸残基位置上发生不同程度的磷酸化^[5]。氨基酸序列分析表明,骨桥蛋白分子含有特异的RGD(Arg-Gly-Asp)基元——细胞黏附功能域,该基元是骨桥蛋白分子发挥黏附功能的基础,具有高度保守性。近来揭示,骨桥蛋白分子氨基端区域与外分泌有关,羧基端区域参与黏附功能的调节。骨桥蛋白含有13个磷酸化位点(12个丝

作者单位: 250002 德州,德州市中医院内分泌科(张娜); 济南千佛山医院保健科(刘蕴玲)

通讯作者: 张娜, Email: lxp198193@163.com

氨酸,1 个苏氨酸)、1 个 N-糖基化位点和 5~6 个 O-糖基化位点。多种蛋白激酶,如酪氨酸蛋白激酶 II、蛋白激酶 C 等能够催化骨桥蛋白分子中的不同丝氨酸和苏氨酸残基发生磷酸化,这可能是调节骨桥蛋白分子功能的方式之一。例如磷酸化的骨桥蛋白是羟磷灰石晶体形成的抑制剂,其脱磷酸化形式则失去抑制羟磷灰石晶体形成的功能,对破骨细胞的黏附作用也较磷酸化骨桥蛋白显著降低。人的 OPN 基因由 7 个外显子和 6 个内含子组成^[6],定位于 4 q 13 上。在骨桥蛋白基因的表达具有组织细胞特异性,并且受多种激素、生长因子、肿瘤促进剂及原癌基因表达产物的调控。目前,人的骨桥蛋白基因的 1,25-(OH)₂D₃反应元件尚未被确定。诸多生长因子和细胞因子也可调控骨桥蛋白基因的转录。

研究发现 OPN 广泛存在于多种组织中,包括肾、胆囊、肺部、乳房、肠胃以及尿道。此外,OPN 作为一种炎症因子,参与各种组织的病理性纤维化过程,在多种肿瘤组织内也发现 OPN 的表达^[7]。OPN 的主要功能有:①参与细胞的移动过程;②钙离子结合位点:酪氨酸蛋白激酶 II、蛋白激酶 C 等能催化骨桥蛋白分子中丝氨酸和苏氨酸残基发生磷酸化,磷酸化的 OPN 可与多个 Ca²⁺ 结合在一起;③与骨的羟基磷灰石基质相结合,刺激骨的矿化;④RGD 序列结合于细胞表面,介导细胞-基质,细胞-细胞的相互作用;⑤破坏晶体网阵,从而抑制草酸钙晶体的增长;⑥刺激巨噬细胞和淋巴细胞的黏附和迁移,参与对微生物感染的非特异性反应过程;⑦影响一氧化氮的产生;⑧参与组织修复过程,OPN 作为一种炎症因子,参与了多种组织的病理性纤维化过程。最近的研究发现抑制 ICR 小鼠 OPN 的表达可加速其皮肤创口愈合,并减少肉芽组织及瘢痕的形成^[8]。EGFR 作为表皮生长因子的受体具有促进表皮细胞增殖和爬行、促进成纤维细胞增殖和增加胶原合成等独特的生物学作用^[9]。

2 骨桥蛋白表达的诱导因素

研究发现,正常情况下其表达甚微的细胞,如:巨噬细胞、SMC、T 淋巴细胞、成纤维细胞等在一些诱导因素下可以大量表达 OPN,包括:(1)高血压:通过构建两肾一夹 SD 大鼠高血压模型,观察高血压状态对 SD 大鼠胸主动脉 OPN 的影响,并利用阿托伐他汀钙进行干预,观察到高血压可导致动脉血管 OPN 高表达,阿托伐他汀钙可能通过抑制 OPN 万方数据

的过度表达而改善动脉血管重构^[10];(2)高血糖:糖尿病人群中动脉粥样硬化及骨质疏松的患病率较高,在糖尿病状态下,大鼠近端小管细胞中 OPN 表达上调;(3)低氧:对大鼠主动脉平滑肌细胞进行研究发现,在缺氧(3% O₂)2 h 后 OPN mRNA 及 OPN 蛋白的表达增加,6、12 h 后下降,24 h 后又增加。PKC 和 P38 丝裂原活化蛋白激酶抑制剂可以明显减弱缺氧诱导的 OPN 表达,高浓度葡萄糖可以加强缺氧诱导的 OPN 表达;(4)干扰素:IFN-γ(1 000 U/mL)明显刺激平滑肌细胞内骨桥蛋白的表达,Western-blotting 分析 24 h 干预组 OPN 量较对照组提高 71.18%,48 h 后较对照组提高 75.66%,说明 IFN-γ 能在基因水平上刺激大鼠平滑肌细胞内 OPN 的表达;(5)其他因素:吸烟^[11],内皮素-1、胰岛素样生长因子(IGF)、血小板源生长因子(PDGF)内皮细胞生长因子样因子(EGF 样因子)、转化生长因子 B(TGF-β)、Ang II 和 UTP 等均能刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞表达骨桥蛋白分子。

3 OPN 在动脉粥样硬化形成和发展过程中起重要作用

在人主动脉、颈动脉及冠状动脉粥样硬化斑块中均存在高水平的 OPN mRNA 和蛋白。OPN 在心血管特别是血管重塑过程中起重要调节作用。血管壁的平滑肌细胞正常位于中膜,AS 发生时内膜斑块中有大量的平滑肌细胞来源的泡沫细胞,血管平滑肌细胞(VSMC)的迁移和增殖是 AS 发生的关键内容之一。根据功能和结构不同,ASMC 可以分为收缩型和合成型两种,OPN 被认为是平滑肌细胞由收缩表型向合成表型转化的标志基因。OPN 与 VSMC 结合还能刺激基质金属蛋白酶(MMP)产生,从而更利于 VSMC 通过细胞外基质而发生迁移。OPN 是一个强大的巨噬细胞黏附趋化因子,巨噬细胞表面表达大量与 OPN 有高度亲和力的受体。OPN 是血管细胞的主要黏附及趋化因子,与动脉粥样硬化斑块的钙化密切相关。作用机理可能是 OPN 与羟基磷灰石晶体结合成一层蛋白衣,阻止羟磷灰石晶体的进一步析出,抑制动脉钙化。对于慢性稳定型心绞痛患者,高血浆 OPN 水平是其未来不良心血管事件的一个独立预测因子,并且可能对危险分层有用。临床试验表明,冠心病患者中血浆骨桥蛋白水平明显升高,与冠状动脉病变的狭窄程度密切相关^[12]。同时建立大鼠 AS 模型,应用抗 OPN 抗体阻断 OPN 的功能,进而减轻 AS 的病变,进一步证实了 OPN 在

AS 中的病理生理作用。为临床寻找防治 AS 提供新的思路^[13]。

4 OPN 与骨质疏松症的关系

OPN 是体内广泛存在的细胞因子和趋化因子,最先在骨骼中被发现,是成骨细胞的表型之一。OPN 由成骨细胞分泌以后存在于基质中,与骨基质连接在一起,另外在编织骨向板层骨的转化过程中起重要作用。在骨吸收时从骨基质中暴露出来,继而对周围的成骨细胞又产生黏附作用,OPN 改善成骨细胞分化,有助于创口愈合^[14]。OPN 在结构上除了具有 RGD 三肽序列外,结构上另外的一个特异性在于含有 10~12 个连续的天冬氨酸残基,使 OPN 局部带有高负电性,这在 OPN 与骨及其他组织钙化基质的结合中发挥着重要作用^[15]。

OPN 对于破骨细胞(Osteoclast, 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 可通过与 $\alpha\gamma\beta 3$ 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;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;Koyama 等^[16]研究 OPN 在高磷负荷饮食诱导的骨量丢失中所起的作用,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。

免疫细胞化学研究发现,OPN 在编织骨中成骨细胞、骨细胞的胞浆中都有分布,骨内化骨、膜内化骨区域含量丰富。在骨代谢中、骨基质的矿化和吸收过程中起重要作用。OPN 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。Nagao 等^[17]基于细胞和小鼠遗传学方法发现 OPN 在骨吸收和骨形成的相关基因表达是通过激活交感

万方数据

神经完成的,异丙肾上腺素刺激交感神经增加血浆和骨骼中的 OPN 的表达,使成骨细胞和破骨细胞活动增强。

Fujihara 等^[18]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;在骨基质中,OPN 与骨基质中的一些组分相互作用,OPN 可与骨连蛋白(osteonectin)以共价方式结合,进而与胶原纤维结合,骨涎蛋白(bone sialoprotein)也与 I 型胶原形成共价结合的复合物,而骨钙素抑制 OPN 与这种复合物的进一步结合,但它们在骨重建中的意义不明。

5 动脉硬化和骨质疏松

骨质疏松症和动脉粥样硬化是衰老相关性疾病,与年龄增长相关。很多老年疾病都可能是骨质疏松的危险因素,促进骨质疏松症的发生和发展。动脉粥样硬化也是老年人的一种常见病和多发病,是一种全身弥漫性的病理状态,可同时累及冠状动脉、颈动脉、下肢动脉及其他动脉^[19]。近年来研究表明,老年人骨质疏松与动脉硬化具有一定的相关性^[20]。

骨质疏松时钙从骨中溶出增加,体循环中的钙可沉积在动脉壁内膜中,造成血管壁粥样硬化、钙化,使血管顺应性降低。而另一方面,动脉硬化不仅能引起心脑血管的病理变化,而且能造成骨组织的病理变化,表现为骨矿物质含量下降,严重时导致骨质疏松^[21, 22]。动脉硬化和骨质疏松两者既可互为因果,也可能受某一共同因素的影响^[23]。动脉粥样硬化常与骨质疏松共存,国内外学者在其可能的共同的致病因素或致病步骤方面做了大量的研究,发现其与遗传基因、糖脂代谢紊乱、激素水平的变化具有相关性,骨代谢指标如骨钙素(OC)等有可能反映二者的共同的病理生理过程。关于骨质疏松多病因的学说现已得到国内外专家的认可。而近年来,人们发现动脉硬化的相关因素,包括高血压、高血脂、高血黏、高血糖、吸烟、肥胖、缺乏运动、精神因素、遗传因素等,这些对骨质疏松也有影响。李春林等^[24]观察老年患者 320 例,分为骨质疏松组和无骨质疏松组,记录其存在的心血管病危险因素,并采用多因素 Logistic 回归分析骨质疏松与冠心病危险因素的相关性。结果显示骨质疏松组中女性、吸烟、高脂血症、糖尿病、冠心病者的比例明显较高,与无骨质疏松组比较差别有统计学意义($P < 0.05$)。多

因素 logistic 回归分析显示,女性、糖尿病、高脂血症是老年人骨质疏松的主要危险因素。血脂是动脉粥样硬化斑块中重要的脂质成分,能促进血栓形成,导致心脑血管病变。Parhami 等^[25]提出高脂血症是动脉粥样硬化和骨质疏松的共同危险因子,其可能的机制是:升高的血脂及脂蛋白沉积于动脉壁内以及骨血管内皮下层的基质中,造成脂质过氧化。过氧化的脂质不仅加速了动脉血管壁的炎症反应,启动了动脉粥样硬化斑块的形成,而且抑制了骨细胞的分化与骨矿化。

总之,动脉硬化和骨质疏松的相关关系中存在着一个复杂的生理病理机制,若能在与二者共同发病的中心环节及相关检测指标的研究上有进一步的进展,必将为骨质疏松和动脉硬化的早期诊断和治疗开辟新的途径。就目前的研究显示 OPN 过高促进破骨,加速动脉粥样硬化的形成,可能 OPN 是二者联系的枢纽。纠正高 OPN 血症,可能对二者的治疗都有意义。

【参 考 文 献】

- [1] Verhaar HJ. Medical treatment of osteoporosis in the elderly. *Aging Clin Exp Res*, 2009, 21(6): 407-413.
- [2] Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, et al. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(6): 1087-1097.
- [3] 方欣,管思明. 骨桥蛋白与高血压血管重构. *心脏杂志*, 2009, 19(2): 232-233.
- [4] Franzen Heinegard D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix. *Biochem J*, 1985, 232(3): 715-724.
- [5] Jain SC, Akraoay G, Bulbule A, et al. Osteopontin: an emerging therapeutic target for anticancer therapy. *Expe Opin Ther Targets*, 2007, 11(1): 81-90.
- [6] Philip Y, Wai Paul C, Kuo, et al. Osteopontin: regulation in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27(1): 103-118.
- [7] Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, et al. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(6): 1087-1097.
- [8] Moil R, Shaw TJ, Martin P. Molecular mechanisms linking wound inflammation and fibrosis: knock down of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring it. *J Exp Med*, 2008, 205(1): 43-51.
- [9] Chang PL, Harkins L, Hsieh YH, et al. Osteopontin expression in normal skin and non-melanoma skin tumom. *J Histochem Cytochem*, 2008, 56(1): 57-66.
- [10] 杨松,周建中,陈永宏. 阿托伐他汀钙对肾性高血压大鼠骨桥蛋白的影响. *北京大学学报(医学版)*, 2010, 42(2): 147-150.
- [11] 耿雷,刘国男. 烟草烟雾刺激通过骨桥蛋白对大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的影响. *中国现代医生*, 2010, 3(48): 7-9.
- [12] 李晓涛,夏岳. 血浆骨桥蛋白水平与冠状动脉病变狭窄程度的关系研究. *中国循环杂志*, 2011, 26(4): 271-274.
- [13] 温进坤. 抗骨桥蛋白抗体防治大鼠动脉粥样硬化的研究. *中国老年学杂志*, 2007, 27(1): 38-40.
- [14] McKee MD, Pedraza CE, Kaartinen MT, et al. Osteopontin and wound healing in bone. *Cells Tissues Organs*, 2011, 194(2-4): 313-319.
- [15] Wang L, Qiu SR, Zachowicz W, et al. Modulation of calcium oxalate crystallization by linear aspartic acid rich peptides. *Langmuir*, 2006, 22: 7279-7285.
- [16] 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.
- [17] Nagao M, Feinstein TN, Ezura Y, et al. Sympathetic control of bone mass regulated by osteopontin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(43): 17767-17772.
- [18] 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.
- [19] Manolio TA, Arnold AM, Post W, et al. Ethnic differences in the relationship of carotid atherosclerosis to coronary calcification: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2008, 197(1): 132-138.
- [20] 陈晓红,黄海燕,林杨. 老年人骨质疏松与动脉硬化关系的初步探讨. *福建医药杂志*, 2009, 31(6): 4-6.
- [21] Larothe M. Arteriosclerosis and osteoporosis. *Presse Med*, 1996, 25(2): 52-54.
- [22] Laree M, Pouilles JM, Rlbot C, et al. Comparison of the bone Mineral content of the lower limbs in men with ischaemic atherosclerotic disease. *Clin Rheumatol*, 1994, 23(4): 611-614.
- [23] 陶国枢,张京立. 骨质疏松症与老年病. *中国骨质疏松杂志*, 2000, 6(4): 47-49.
- [24] 李春林,司全金,李大伟. 老年骨质疏松症与心血管病危险因素的相关性. *军医进修学院学报*, 2011, (06).
- [25] Parham IF, Mody N, Gharavi N, et al. Role of the cholesterol biosynthetic pathway in osteoblastic differentiation of marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(11): 1997-2003.

(收稿日期:2012-03-30,修回日期:2012-07-15)