

激素性骨质疏松模型兔骨髓脂肪分数及脂肪细胞时序性变化

龚健¹ 李冠武² 汤光宇^{1*} 邵泓达¹ 邱裕友¹ 刘勇¹

1. 同济大学附属第十人民医院放射科
2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院医学影像科

中图分类号: R589.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 01-0038-08

摘要: **目的** 探索糖皮质激素性骨质疏松(GIOP)模型兔骨髓脂肪分数及脂肪细胞时序性变化的规律。**方法** 20只20周龄雌性新西兰大白兔随机分为对照组及GIOP组,每组兔10只。分别于基线时(0周)、4、8、12周行腰3-4及股骨近端骨密度扫描及磁共振波谱检查,以获得骨密度(BMD)及骨髓脂肪分数(FF)。在第8周及12周各处死实验兔一半行骨髓脂肪细胞定量分析。**结果** 第4周时,两组兔FF值有显著性差异,而组间BMD至第8周时才有显著性差异(P 均 <0.05)。于第4及12周时,GIOP组FF值较基线时分别增高35.9%、75.2%(P 均 <0.001)。于第8周及12周时GIOP组骨髓脂肪细胞密度较对照组分别增高57.1%、35.4%,而骨髓脂肪细胞直径分别降低13.3%、增高22.7%,骨髓脂肪细胞面积分别增高30.8%、53.8%。FF值与腰椎BMD、股骨近端BMD呈中度负相关(r 分别为 -0.598 、 -0.675 , P 均 <0.05),而FF值与骨髓脂肪细胞面积呈高度正相关($r=0.874$, $P<0.001$)。**结论** GIOP初期骨髓脂肪形成以小尺寸脂肪细胞堆积为主,而后期则以大尺寸脂肪细胞堆积为主。磁共振波谱是动态评估骨髓脂肪含量变化规律的方法之一。

关键词: 糖皮质激素性骨质疏松;骨密度;骨髓脂肪;磁共振波谱成像

The time-sequential changes of marrow fat fraction and adipocytes in rabbits with glucocorticoid-induced osteoporosis

GONG Jian¹, LI Guanwu², TANG Guangyu¹, SHAO Hongda¹, QIU Yuyou¹, LIU Yong¹

1. Department of Radiology, the Affiliated Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072
2. Department of Medical Imaging, Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, China

Corresponding author: TANG Guangyu, Email: tgy17@126.com

Abstract: Objective To explore the time-sequential changes of marrow fat fraction and adipocytes in rabbits with of glucocorticoid-induced osteoporosis (GIOP). **Methods** Twenty 20-week female New Zealand rabbits were randomly divided into control group and GIOP group, and each group had 10 rabbits. Bone mineral density (BMD) and the marrow fat fraction (FF) of the left proximal femur and the L₃-L₄ vertebrae were detected using dual energy X-ray absorptiometry and magnetic resonance spectroscopy (MRS) at the baseline (0week), the 4th, the 8th, and the 12th week, respectively. At the 8th week and the 12th week, half rabbits were executed and the quantitative analysis of bone marrow adipocytes was performed. **Results** At the 4th week, the FF in 2 groups showed significant difference, while the significant difference of BMD between 2 groups appeared at the 8th week ($P < 0.05$). At the 4th week and the 12th week, FF in GIOP group showed a significant increase (35.9% and 75.2%, respectively), comparing with that in baseline ($P < 0.05$). At the 8th week and the 12th week, the marrow adipocyte density (Ad. D) in GIOP group increased by 57.1% and 35.4%, respectively, comparing with that in control group. On the contrary, a reduction ($-13.3%$) at the 8th week and an increase ($+22.7%$) at the 12th week of the adipocyte mean diameter (Ad. MD) were observed in GIOP group comparing with that in control group ($P < 0.05$). The percentage area of marrow adipocytes in the GIOP group was $62.8 \pm 8.7\%$ at the 8th week and $79.2 \pm 7.7\%$ at the 12th week, respectively, and both were significantly higher than that in control

group ($P < 0.05$) The value of FF was moderately negatively correlated with BMD of the lumbar vertebrae and the proximal femur ($r = -0.598$ and -0.675 , respectively, $P < 0.05$), while highly negatively correlated with the percentage area of marrow adipocytes ($r = 0.874$, $P < 0.05$). **Conclusion** Marrow adipogenesis is characterizes by the accumulation of small sized marrow adipocytes at the early stage of GIOP, while at the late stage of GIOP it is characterized by the accumulation of large sized adipocytes. MRS is a method to dynamically evaluate the sequential changes of marrow fat content.

Key words: Glucocorticoid-induced osteoporosis; Bone mineral density; Bone marrow adipose tissue; Magnetic resonance spectroscopy

糖皮质激素诱导的骨质疏松 (Glucocorticoid-induced osteoporosis, GIOP) 是一种由内源性或外源性糖皮质激素所引起的以骨密度 (bone mineral density, BMD) 的减少、骨质脆弱以及骨折的风险性增加为特征的代谢性骨病, 是最为常见的继发性骨质疏松。由于 GIOP 常常无症状或症状不明显, 临床中很容易被漏诊。糖皮质激素治疗后一般第一年骨丢失量为 6~12%, 以后每年丢失量为 3%。长期接受糖皮质激素治疗的患者约 30~50% 出现脆性骨折^[1-2]。GIOP 脆性骨折具有更高的 BMD 阈值, 糖皮质激素增加骨折风险的机制并不完全取决于 BMD 的下降, 还与骨质量有关^[2]。近年来研究表明, 骨髓脂肪组织与骨量存在着密切的联系, 与增龄、绝经、糖皮质激素使用相关的骨质疏松^[3-5], 甚至是胰岛素增敏剂噻唑烷二酮类等药物^[6], 利用先进的影像技术可以探测其个体出现骨髓脂肪含量增多的有趣现象。因此, 深入研究骨髓脂肪组织对评估 GIOP 及其引发的脆性骨折具有重要意义。本研究拟通过建立兔 GIOP 模型, 采用纵向研究方法对该模型进行磁共振波谱成像 (MR spectroscopy, MRS) 动态评估, 结果与组织病理学骨髓脂肪细胞定量分析对照, 为探索 GIOP 的防治新策略奠定新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验设计

20 只 5 月龄雌性新西兰大白兔 (体重 2.59 ~ 3.19 kg, 由复旦大学实验动物科学部提供及饲养) 随机分为对照组及 GIOP 组, 每组实验兔 10 只。GIOP 模型组肌注甲强龙 (methylprednisolone Sodium Succinate, Pfizer manufacturing Belgium NV), 剂量为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[7], 持续 28 d, 之后将剂量改为 0.35 mg/kg 以维持骨量持续丢失^[8], 每周 3 次, 持续 8 周。对照组则给予同等量生理盐水。标准兔笼分笼饲养, 饲养温度 25℃, 相对湿度 40%~65%, 给予 12 h 光照/12 h 黑暗循环, 自由进水、食物。每周称重 1 次以调整给药剂量。3% 戊巴比妥钠注射液

(1 ml/kg) 经耳缘静脉注射麻醉实验兔, 分别在基线 (0 周)、4 周、8 周、12 周行 MRS 扫描及 BMD 扫描。于第 8 周、12 周时注射过量甲强龙各处死实验兔一半行骨髓脂肪细胞定量分析。

1.2 骨密度扫描

双能 X 线吸收测量仪 (dual X-ray absorptiometry, DXA) (Prodigy Lunar, GE Healthcare, USA) 配置专用动物成像软件 (Software Version enCORE 13.40.038) 对各组实验兔行骨密度扫描, 获取股骨近端 BMD 及 L3-L4 BMD, BMD 单位为 g/cm^2 。扫描条件: 电压 76 kV, 电流 0.15 mA, 扫描时间约 4 min。

扫描前完成一次质量保证测试, 研究期间其测量结果波动在 DXA 的质控 Shewhart 图范围内。各部位 BMD 测量的精确性用变异系数 (Coefficient of variation, CV) 表示, CV 均 < 0.98%。

1.3 MRS 扫描

应用 3.0 Tesla MRI 扫描仪 (MAGNETOM Verio, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) 进行扫描, 膝关节线圈 (兼容兔)。仰卧位, MRS 扫描前先行矢、冠、轴位 T2WI 扫描以利于体素块准确定位。FOV 160 ■ 60 mm^2 , 层厚 2 mm, 间距 0.2 mm, TR 3800 ms, TE 92 ms, 矩阵 256 ■ 256。MRS 采用单体素点分辨表面波谱 PRESS 序列, 采集部位为股骨近端, 体素 VOI 为 6 mm × 6 mm × 14 mm, 分别在 VOI 6 个方向上添加饱和带避免周围组织干扰。采集数据前进行常规自动预扫描 (包括自动匀场), 在预扫描的研究模式下将 suppress water 修改为 none, 然后进行不抑水的 MRS 扫描, 具体参数: TR/TE 3000/30 ms, 波宽 2000 Hz, 激励 64 次, 扫描时间 3 min 24 s。

扫描结束后, 数据导入系统自带的新沟通 MR 图像专用后处理工作站 (Syngo Multimodality Workplace [MMWP]; 版本号 syngo MR B17_43.1_1.0), 对 MRS 进行波谱后处理和分析: 完成图像滤过重建、零填充、相位和基线校正, 将波谱原始数据转化为标准谱线, 并进行分析得出水峰峰高 (4.65

ppm)、脂质峰高 $(-(\text{CH}_2)_n-, 1.30 \text{ ppm})$ 。计算骨髓脂质分数 (bone marrow lipid fraction, FF) = $[\text{I}_{\text{fat}} / (\text{I}_{\text{fat}} + \text{I}_{\text{water}})] \times 100\%$, FF 表示脂质相对信号强度振幅与总信号强度振幅(水与脂质)的百分比^[3,4], 式中 I_{fat} 、 I_{water} 分别指脂质和水峰值。MRS 测量的精确性用 CV, FF 值测量的重复性 CV 为 2.18%。

1.4 组织病理学检查

左侧股骨近端采用脱钙 Leica 冰冻切片机沿冠状面切成 4 μm 厚薄片行苏木精-伊红染色 (H&E), 甘油明胶封片。采用 Leica Q-win Plus 图像分析系统对骨髓脂肪细胞进行定量测定, 每张连续切片随机选择 5 个 400 倍光镜视野计算其平均值。按照以往报道方法^[9] 分别获取骨髓脂肪细胞平均直径、脂肪细胞密度(即脂肪细胞数/骨髓面积, 骨髓面积不包括骨小梁的面积)、脂肪细胞面积百分比(骨髓面积不包括骨小梁的面积)。

1.5 统计学处理

SPSS 17.0 统计软件包, 计量资料用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。Shapiro-Wilk 检验做数据正态性检验。FF 及 BMD 参数采用重复测量方差分析分析时间-分组的交互作用, 并比较同组不同时间点研究参数的差异, 同时点不同组研究参数的比较采用多元方差分析(组间比较采用 Bonferroni 法)。采用独立样本 t 检验比较同组不同时间点、同时点不同组别间骨髓脂肪细胞定量参数差异。采用 Pearson 检验分析 FF 值与 BMD、骨髓脂肪细胞面积的相关性。

以 $P < 0.05$ 判为差异有统计学意义, 得到的概率值均表示双侧概率。

2 结果

2.1 实验兔体重变化

1 只大白兔在实验期间由于麻醉意外死亡, 最终进入数据分析为 19 只实验兔。表 1 为不同时间点两组实验兔体重变化情况。实验兔在基线时体重具有可比性, 随着实验周期延长, 对照组体重有所增高, GIOP 组体重基本稳定, 组间体重比较无统计学差异。

表 1 两组实验兔各时点体重(kg)变化规律($\bar{x} \pm s$)

组别	基线 Baseline	4 周 4 th week	8 周 8 th week	12 周 12 th week
对照组 Control group	2.90 \pm 0.18	3.09 \pm 0.17	3.12 \pm 0.18	3.20 \pm 0.16
GIOP 组 GIOP group	2.83 \pm 0.22	2.90 \pm 0.22	2.94 \pm 0.21	2.95 \pm 0.20

2.2 实验兔股骨近端及 L3-L4 骨密度变化

表 2 为不同时序对照组及 GIOP 组实验兔股骨近端及 L3-L4 BMD 值比较。GIOP 组股骨近端与 L3-L4 BMD 呈进行性降低, 且重复测量的方差分析显示, GIOP 组股骨近端 BMD 及 L3-L4 BMD 组内各时间点差异有显著性意义。第 4、8 周时对照组 BMD

表 2 两组实验兔各时点 L3-L4 及股骨近端 BMD 比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of BMD of L₃-L₄ vertebrae and the left proximal femur of rabbits at different time between two groups ($\bar{x} \pm s$)

参数 Parameters	分组 Groups	基线 Baselin	4 周 4 th week	8 周 8 th week	12 周 12 th week			
		BMD(g/cm ²)	BMD(g/cm ²)	Δ BMD(%)	BMD(g/cm ²)	Δ BMD(%)	BMD(g/cm ²)	Δ BMD(%)
股骨近端 骨密度 Proximal femur BMD	对照组 Control group	0.350 \pm 0.018	0.351 \pm 0.017	0.3 \pm 1.1	0.352 \pm 0.017	0.6 \pm 1.3	0.356 \pm 0.017	1.0 \pm 1.0
	GIOP 组 GIOP group	0.353 \pm 0.018	0.337 \pm 0.019	-4.5 \pm 2.0	0.306 \pm 0.020 *	-13.2 \pm 3.1	0.303 \pm 0.020 #	-14.0 \pm 4.2
腰 3-4 骨密度 L3-L4 BMD	对照组 Control group	0.260 \pm 0.015	0.261 \pm 0.015	0.7 \pm 1.5	0.263 \pm 0.014	1.1 \pm 1.3	0.266 \pm 0.018	2.6 \pm 1.7
	GIOP 组 GIOP group	0.263 \pm 0.015	0.246 \pm 0.017	-6.4 \pm 2.7	0.225 \pm 0.021 *	-14.4 \pm 4.1	0.210 \pm 0.019 *	-19.8 \pm 3.8

注: Δ BMD 表示与基线比较时 BMD 增加百分比, # $P < 0.01$, * $P < 0.001$ (同时点两组比较)

Δ BMD represents the percentage of change with respect to baseline conditions.

$P < 0.01$ and * $P < 0.001$ compared to control group.

也稍高于基线时 BMD 值,但组内各时间点 BMD 差异无统计学意义(P 均 >0.05)。第8周开始,两组间股骨近端 BMD 及 L3-L4 BMD 均有显著性统计学差异(P 均 <0.01)。第4周时对照组股骨近端 BMD 与 L3-L4 BMD 分别较基线时增高 0.6%、1.1%,第12周时对照组股骨近端 BMD 与 L3-L4 BMD 分别较基线时增高 1.0%、2.6%;而 GIOP 组第4周时股骨近端 BMD 与 L3-L4 BMD 分别较基线时降低 4.5%、6.4%,第12周时 GIOP 组股骨近端 BMD 与 L3-L4 BMD 分别较基线时降低 14.0%、19.8%。

2.3 实验兔股骨近端骨髓脂肪含量变化

表3 两组实验兔各时点股骨近端 FF 值的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the FF value of the left proximal femur of rabbits at different time between two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组 Groups	基线 Baseline	4周 4 th week	8周 8 th week		12周 12 th week		
	FF (%)	FF (%)	ΔFF (%)	FF (%)	ΔFF (%)	FF (%)	ΔFF (%)
对照组 Control group	31.5 ± 5.1	32.5 ± 6.5	2.8 ± 9.8	33.9 ± 6.3	7.4 ± 9.0	34.9 ± 6.8	7.0 ± 9.2
GIOP 组 GIOP group	31.1 ± 3.8	42.4 ± 6.3 [#]	35.9 ± 7.3	49.9 ± 6.8 [*]	61.1 ± 12.8	55.8 ± 7.1 [*]	75.2 ± 16.5

注:ΔFF 表示与基线比较时 FF 增加百分比,[#] $P < 0.01$,^{*} $P < 0.001$ (同时点两组比较)

ΔFF represents the percentage of change with respect to baseline conditions.

[#] $P < 0.01$ and ^{*} $P < 0.001$ compared to control group

2.4 实验兔股骨近端骨髓脂肪细胞定量分析结果

表4为两组实验兔第8、12周时点骨髓脂肪细胞定量分析结果。与对照组比较,GIOP组第8周、12周时骨髓脂肪细胞密度分别增加 57.1%、35.4% (P 均 <0.05),但骨髓脂肪细胞平均直径在第8周降低 13.3%而在第12周时增加 22.7%。GIOP组脂肪细胞密度在第8周与第12周差异无统计学意义($P = 0.286$)。GIOP组在第8周、12周时骨髓脂肪细胞面积百分比均较对照组大(P 均 <0.05),且GIOP组脂肪细胞面积百分比在两时间点差异有统计学意义($P = 0.014$)。图2为不同时间点两组实验兔股骨近端骨髓脂肪细胞连续病理切片图,也显示GIOP早期以小尺寸脂肪细胞为主,而晚期阶段以大尺寸脂肪细胞为主。

2.5 骨髓 FF 值与 BMD、股骨近端骨髓脂肪细胞面积相关性分析

MRS 测定骨髓 FF 值与 L3-L4 BMD、股骨近端 BMD 呈中度负相关,相关系数分别为 -0.598、-0.675 (P 均 <0.05);而 FF 值与骨髓脂肪细胞面积呈高度正相关($r = 0.874, P < 0.001$)。

表3为不同时间点两组实验兔股骨近端 FF 值。图1为两组兔股骨近端 MRS 波谱图。从表3及图1可看出,对照组 FF 随实验周期延长呈现出稍微增高,但组内各时间点 FF 差异无统计学意义;而 GIOP 组 FF 值呈进行性增高,且重复测量的方差分析显示,GIOP 组组内各时间点 FF 值差异有显著性意义,且第4周开始,两组间 FF 有显著性统计学差异($P = 0.003$)。第4周及第12周时对照组 FF 较基线时分别增高 2.8%、7.0%,而 GIOP 组较基线时 FF 分别增高 35.9%、75.2%。

3 讨论

本研究的优点是采用纵向研究的方法,一方面可见显著减少实验动物的使用量,符合动物使用 3R 原则,即动物实验中采用减少 (Reduction)、优化 (Refinement) 和替代 (Replacement) 的方法,是维护实验动物福利的一个重要原则。另一方面,纵向研究方法可以提高统计效能,通过自身对照,最大限度降低实验兔个体差异,使结果更加客观性、科学性。

大白兔由于其具有明显的 Haversian 重建能力,可以较好的应用于 GIOP 动物模型。BMD 仍然是目前诊断骨质疏松的金标准,目前尚未见关于新西兰大白兔 OP 诊断标准值,按照 WHO 推荐的 OP 诊断标准^[3],该标准采用 T 分数 (T-Score) (即所测得的 BMD 值减去同性别的 BMD 峰值除以同性别峰值 BMD 的标准差) 作为 OP 分级诊断依据,将 T-Score ≤ -2.5 SD 判为 OP。在本实验中,GIOP 组实验兔 BMD 随着实验周期延长呈渐进性降低趋势,在第4周时 BMD 值虽然较对照组有所降低,但两组间差异无明显差异;至第8周时,GIOP 组实验兔腰椎 BMD 及股骨近端 BMD 均较对照组 BMD 显著减低,计算

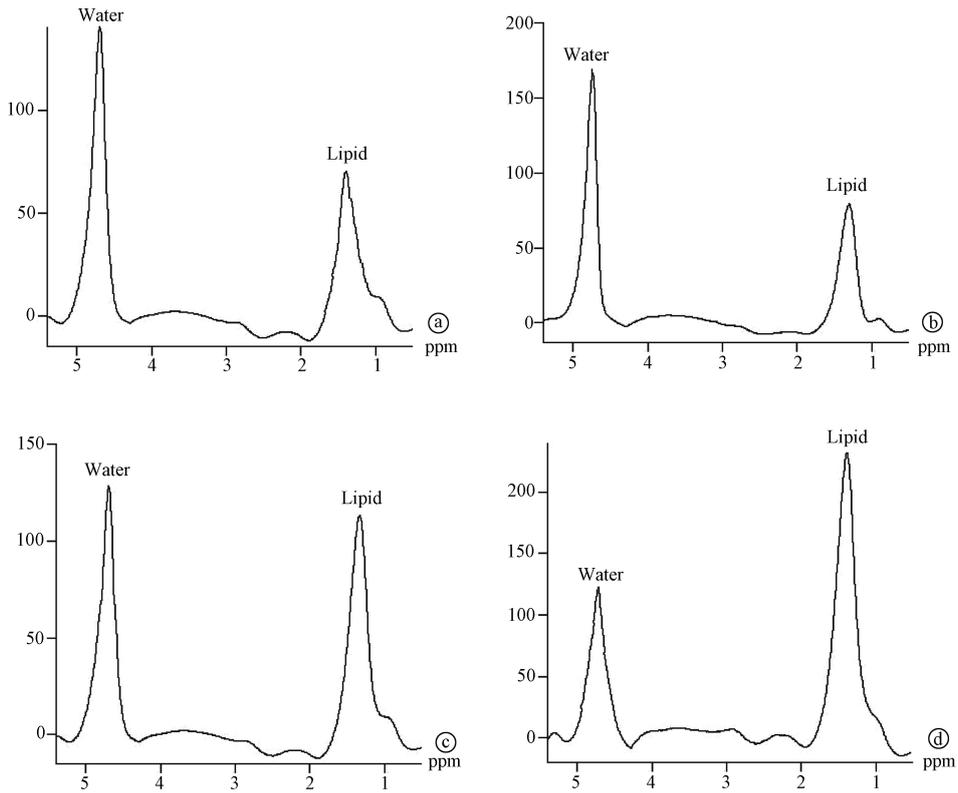


图1 不同时间两组实验兔股骨近端 MRS 谱线图

(a 图为对照组第 12 周时谱线图,显示 1.3 ppm 处水峰明显高于 4.65 ppm 脂质峰;b ~ d 图为 GIOP 组基线、4、12 周时谱线图,显示脂质峰逐渐增高,直至水峰/脂质峰倒置)

Fig. 1 MRS of the proximal femur of rabbits at different time in two groups

a; the MRS at the 12th week in control group, showing that the water peak at 1.3 ppm was significantly higher than the lipid peak at 4.7 ppm; b-d; the MRS at the baseline, the 4th week, and the 12th week, respectively, in GIOP group, showing that the amplitude of lipid peak increased until the inversion of water peak/lipid peak

表4 两组实验兔第 8、12 周时点骨髓脂肪细胞定量分析结果($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Quantitative analysis of the marrow adipocytes of rabbits at the 8th week and the 12th week in two groups ($\bar{x} \pm s$)

时间点 Time point	参数 Parameter	对照组 Control group	GIOP 组 GIOP group	<i>t</i>	<i>P</i> -values
第 8 周 8 th week	骨髓脂肪细胞密度 (No./mm ²) adipocyte density	32.6 ± 6.3	51.2 ± 6.7	-4.230	0.004
	骨髓脂肪细胞平均直径 (μm) adipocyte mean diameter	195.3 ± 14.8	169.4 ± 12.2	2.890	0.023
	骨髓脂肪细胞面积百分比 (%) percentage adipocyte volume per marrow volume	48.0 ± 8.5	62.8 ± 8.7	-2.556	0.038
第 12 周 12 th week	骨髓脂肪细胞密度 (No./mm ²) adipocyte density	33.9 ± 6.8	45.9 ± 7.9	-2.582	0.033
	骨髓脂肪细胞平均直径 (μm) adipocyte mean diameter	195.5 ± 17.9	239.8 ± 5.8 [#]	-5.254	0.001
	骨髓脂肪细胞面积百分比 (%) percentage adipocyte volume per marrow volume	51.5 ± 9.0	79.2 ± 7.7 [*]	-5.222	0.001

注: #、* 表示 GIOP 组脂肪细胞定量参数在第 8 周与第 12 周比较有统计学差异 (*P* 均 < 0.05)

and * denote a significant difference in GIOP group at different time points (12th week vs. 8th week)

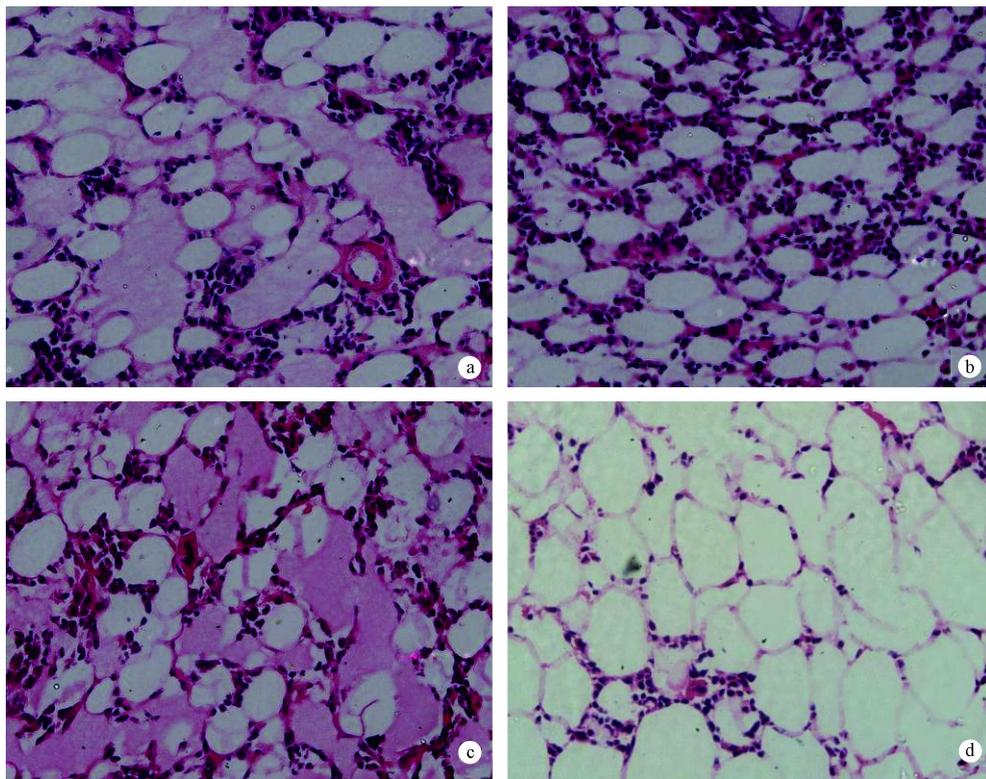


图2 不同时间两组实验兔股骨近端骨髓脂肪细胞连续病理切片图

a, c 图为对照组第8周、12周时, b, d 图为 GIOP 组相应时间点病理切片图, 显示 GIOP 早期以小尺寸脂肪细胞为主, 而晚期阶段以大尺寸脂肪细胞为主 (HE 染色, $\times 400$ 倍)

Fig. 2 Representative serial sections of marrow adipocytes of rabbits at different time in two groups (HE staining, $\times 400$)

a and c: the bone marrow sections at the 8th week and the 12th week in control group; b and d: the bone marrow sections of at the 8th week and the 12th week in control group, showing the characteristic of the accumulation of small sized marrow adipocytes at the early stage of GIOP and the accumulation of large sized adipocytes at the late stage of GIOP).

T-Score 可知均 < -2.5 SD。因此, 可以认为第8周时兔 GIOP 模型复制成功。Castaneda 等^[10-11]研究发现, 利用去势法加肌注糖皮质激素可以使骨量在短时间内显著降低, 以利于更快的诱导 OP 模型。但是, 雌激素缺乏诱导的 OP 与糖皮质激素诱导的 OP 两者机制不同, 这样一个联合去卵巢 + 糖皮质激素注射法诱导的 OP 模型的合理性有待进一步研究。

在骨重建时, 生理浓度的糖皮质激素发挥的是一种允许作用, 有益于成骨细胞, 它能促进骨和骨胶原生成, 促进人类骨髓干细胞分化为成骨细胞, 同时抑制单核细胞转化为破骨细胞。尽管骨吸收是 GIOP 的重要原因, 最近的研究也表明长期糖皮质激素应用的主要后果是成骨细胞功能的障碍。成骨细胞与脂肪细胞拥有共同的祖先—骨髓间充质干细胞, 糖皮质激素也能使处于成骨分化的骨髓间充质干细胞转向脂肪细胞分化。其中的机制和 CAAT 增

强结合蛋白家族的核因子调节有关, 从而间接地减少了成骨细胞增生和降低类胰岛素生长因子 (IGF-1) 转录, 并且诱导产生了了过氧化物酶增殖体激活受体 g (Peroxisome proliferator-activated receptor $g2$, PPAR $g2$)。PPAR $g2$ 除了能诱导脂肪细胞基因表达外, 还能结合 $\alpha 1$ 核心结合因子/runt-相关结合因子-2 (core-binding factor $\alpha 1$ /runt-related transcription factor 2, Cbfa1/Runx2) 并抑制 Cbfa1/Runx2 的转录活性^[5,12]。以前大多认为, 骨髓腔内的脂肪组织只是填充髓腔中没有造血功能的髓腔空间, 现已明确髓腔内的脂肪组织是具有重要生理功能的内分泌器官, 它可分泌多种脂肪因子 (如内脏素、脂联素、瘦素等) 以调节骨髓造血和骨形成, 骨髓脂肪组织在 OP 发病机理中的作用就如同脂质与高血压、冠状动脉粥样硬化之间的关系, 起到重要作用^[13]。在本实验中, 第4周时发现实验兔股骨近端骨髓脂肪含量

FF 值显著性增高而骨量降低并不明显,而在第 8 周时 FF 值增高更为显著。第 4 周、第 12 周时 GIOP 组 FF 值分别较基线时增高 35.9%、75.2%,而股骨近端 BMD 与 L3-L4 BMD 分别较基线时降低 19.8%、14.0%与 6.4%、4.5%。这表明,GIOP 组实验兔骨髓脂肪含量 FF 值的增高与骨量衰败的速度及程度不同,这就解释了为什么 GIOP 患者发生沉默性脆性骨折风险时具有更高的 BMD 阈值原因。并且,本研究 MRS 的结果与骨髓脂肪细胞定量分析的结果互相印证,GIOP 组 FF 值增高与骨髓脂肪细胞面积百分比呈现一致性变化。骨髓脂肪是单纯占据空间,还是积极的参与其中,单纯的“看客”,不作为。OP 可能归因于骨的肥胖^[14]。与年龄匹配的健康女性受试者比较,OP 人群骨髓脂肪容积增高而骨小梁容积减低,表明骨髓脂肪组织与骨折风险增高有关^[15]。Wehrli 等^[16]研究也表明,腰椎体成脂分化增高是预测骨折风险的独立因子。

本研究的另外一个重要发现是在 GIOP 相对早期骨髓腔以小尺寸脂肪细胞显著增加为主,而在 GIOP 相对晚期阶段则以大尺寸脂肪细胞为主。水甘油通道蛋白(Aquaporin, AQP)既能介导细胞对水的运输,又能介导对甘油等其他一些小分子溶质的运输。其中 AQP7 不仅在保持机体能量平衡和葡萄糖稳态方面发挥重要作用,还与机体脂肪细胞、脂肪组织的形态、生理变化及代谢性疾病的形成密切相关。笔者推测糖皮质激素可能会改变 AQP7 的表达情况,相关实验研究正在进行中。Hara-Chikuma 等^[17-18]研究 AQP7 基因敲除的小鼠时发现,通道蛋白的缺失导致通过脂肪细胞释放的甘油减少,因而脂肪细胞内的甘油异常蓄积;另外 AQP7 功能障碍还会增强脂肪细胞内甘油激酶活性,从而加速了甘油三酯的合成,导致了细胞内脂肪的过度蓄积,进而使脂肪细胞逐渐肥大。这些研究结果提示,如果通过设计药物选择性改善脂肪细胞 AQP7 的表达,则可以达到减少脂肪异常积累。骨髓脂肪组织参与 GIOP 的发生发展,也就是说,在 GIOP 相对早期主要以抗击 PPAR γ 2 过度表达为治疗决策,而在后期则以调控 AQP7 表达为主要治疗导向,相关研究有待进一步探索。

长期超生理剂量的糖皮质激素不仅会引起 GIOP,也可以导致骨坏死,其发生率达 9~40%。当然,短期大剂量糖皮质激素关节腔内注射也可引发骨坏死而不出现 GIOP^[19-20]。骨坏死时,骨髓脂质异常沉积表明脂肪代谢异常可能在骨坏死的发生发展

中扮演重要角色^[21],其机制可能是骨髓间充质干细胞成脂分化能力增高造成血管外脂肪异常堆积进而参与激素性骨坏死的发生。已有本研究表明,每天肌注甲强龙剂量 1.5 mg/kg 并持续 28 d 可以显著诱导骨丢失但并不会发生骨坏死^[10,22]。因此,本实验模型是成功的。

综上所述,糖皮质激素一方面通过影响各种骨组织细胞的功能及细胞因子的活性等多种途径使骨形成减少,骨吸收增加;另一方面影响骨髓脂肪稳态,共同致使骨量和骨质量下降,最终导致 GIOP 的发生和沉默性脆性骨折风险的增高。GIOP 初期阶段骨髓脂肪以小尺寸脂肪细胞为主,而在相对后期阶段则以大尺寸脂肪细胞为主。MRS 可以动态评估骨髓脂质变化规律,MRS 作为一种无创性影像学评估手段,为 GIOP 骨质量及预防其引发的脆性骨折风险评价及相关机制研究提供一个全新的思路。

【 参 考 文 献 】

- [1] Weinstein RS. Glucocorticoids, osteocytes, and skeletal fragility: the role of bone vascularity. *Bone*, 2010, 46(3):564-570.
- [2] Robert S. Weinstein, MD. Glucocorticoid-Induced Bone Disease. *N Engl J Med*, 2011, 365:62-70.
- [3] Li Guanwu, Chang Shixin, Bao Hong, et al. Primary application of marrow fat contents in determining the risk of osteoporotic vertebral fracture. *Journal of Practical Radiology*, 2012, 28(1):74-77.
- [4] Wren TA, Chung SA, Dorey FJ, et al. Bone marrow fat is inversely related to cortical bone in young and old subjects [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(3):782-786.
- [5] Lin L, Dai SD, Fan GY. Glucocorticoid-induced differentiation of primary cultured bone marrow mesenchymal cells into adipocytes is antagonized by exogenous Runx2. *APMIS*, 2010, 118(8):595-605.
- [6] Grey A, Beckley V, Doyle A, et al. Pioglitazone increases bone marrow fat in type 2 diabetes: results from a randomized controlled trial. *Eur J Endocrinol*, 2012, 166(6):1087-1091.
- [7] Castañeda S, Calvo E, Largo R, et al. Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. *J Bone Miner Metab*, 2008, 26(1):53-59.
- [8] Luppen CA, Blake CA, Ammirati KM, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances osteotomy healing in glucocorticoid-treated rabbits. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(2):301-310.
- [9] Li GW, Chang SX, Fan JZ, et al. Marrow adiposity recovery after early zoledronic acid treatment of glucocorticoid-induced bone loss in rabbits assessed by magnetic resonance spectroscopy. *Bone*, 2013, 52(2):668-675.

【 参 考 文 献 】

- [1] Du Yanping, Zhu Hanmin, Cheng Qun, et al. The analysis of compliance of anti-osteoporosis drug use and the influential factors in postmenopausal women. *Chin J osteoporosis*, 2012, 18 (2):139-142.
- [2] Dong Jieqiong, Zou Jun. The research progress of physical exercise for prevention and treatment of osteoporosis. *Chin J osteoporosis*, 2011, 17(1):67-72.
- [3] Kelley GA, Kelley KS, Kohrt WM. Effects of ground and joint reaction force exercise on lumbar spine and femoral neck bone mineral density in postmenopausal women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Musculoskelet Disord*, 2012, 20(9):13-177.
- [4] Zhu yan, Fang min, Yan Juntao, et al. Isokinetic evaluation on lumbar flexors and extensors in patients with primary osteoporosis. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2008, 23(9):792-793.
- [5] Song Lijun, Chang Bingyan, Guo Xuan, et al. The exploration and research of the clinical value of whole body composition and analysis on osteoporosis using double X-ray absorption method. *Chin J osteoporosis*, 2012, 18(1):8-11.
- [6] Li en, Xu yan. *Antidiastole and therapy of osteoporosis*. Beijing: People's Medical Publishing house Co. LTD, 2005:358.
- [7] Zhu Yan, Zhang Hong, Zhang Guohui, et al. A study on the validity of isokinetic concentric muscle strength of lumbar flexors and extensors. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2009, 24(5):436-438.
- [8] Iki M, Saito Y, Kajita E, et al. Trunk muscle strength is a strong predictor of bone loss in postmenopausal women. *Clin Orthop Relat Res*, 2006, 443:66-72.
- [9] Peter Wayne, Julie Buring, Roger Davis, et al. Tai Chi for osteopenic women: design and rationale of a pragmatic randomized controlled trial. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2010, 3(1):11:40.
- [10] Liu Chong, Yan Fen, Li Ying, et al. Comparison research on improving aged women's balance by Taijiquan and vigorous walk. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2009, 24(5):445-447.
- [11] Yu Yanyan, Qi Qi, Yu Bo, et al. Effect of Tai Chi on bone mineral density of Postmenopausal Women. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2012, 18(2):155-159.
- [12] Lui PP, Qin L, Chan KM. Tai Chi Chuan exercises in enhancing bone mineral density in active seniors. *Clin Sports Med*, 2008, 27(1):75-86.
- [13] Peter Wayne, Douglas P, Roger Davis, et al. The Effects of Tai Chi on Bone Mineral Density in Postmenopausal Women: A Systematic Review. *Arch Phys Med Rehabil*, 2007, 88(5):673-680.
- (收稿日期: 2013-02-15)
-
- (上接第44页)
- [10] Castaneda S, Calvo E, Largo R, et al. Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. *J Bone Miner Metab*, 2008, 26(1):53-59.
- [11] Li Guanwu, Tang Guangyu, LI Wei et al. A Rabbit Osteoporosis Model Induced by Ovariectomy and Glucocorticoid. *J Clinical Radiology*, 2011, 30(7):1055-1058.
- [12] Bultink IE, Baden M, Lems WF. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update on current pharmacotherapy and future directions. *Expert Opin Pharmacother*, 2013, 14(2):185-197.
- [13] Li Guanwu, Tang Guangyu, Liu Yong, et al. Dynamic evaluation of an osteoporosis rabbit model induced by ovariectomy and glucocorticoid with MR spectroscopy and micro-CT. *Chin J Endocrinology Metabolism*, 2011, 27(9):82-86.
- [14] Rosen CJ, Bouxsein ML. Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006, 2(1):35-43.
- [15] 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.
- [16] Wehrli FW, Hopkins JA, Hwang SN, et al. Cross-sectional study of osteopenia with quantitative MR imaging and bone densitometry. *Radiology*, 2000, 217(2):527-538.
- [17] Hibuse T, Maeda N, Funahashi T, et al. Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(31):10993-10998.
- [18] Hara-Chikuma M, Sohara E, Rai T, et al. Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7-deficient mice: adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation. *J Biol Chem*, 2005, 280(16):15493-15496.
- [19] Weinstein RS. Glucocorticoid-induced osteonecrosis. *Endocrine*, 2012, 41(2):183-190.
- [20] Liu Yuan, Wang Yongfu, Liu Zhonghou. Research progress in the association of glucocorticoid and osteoporosis. *Chin J Osteoporosis*, 2010, 16(9):201-205.
- [21] Sheng HH, Zhang GG, Cheung WH, et al. Elevated adipogenesis of marrow mesenchymal stem cells during early steroid-associated osteonecrosis development. *J Orthop Surg Res*, 2007, 2:15.
- [22] Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, et al. Dose effects of corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *J Rheumatol*, 2008, 35(12):2395-2399.
- (收稿日期: 2013-06-16)

激素性骨质疏松模型兔骨髓脂肪分数及脂肪细胞时序性变化



作者: 龚健, 李冠武, 汤光宇, 邵泓达, 邱裕友, 刘勇, GONG Jian, LI Guanwu, TANG

Guangyu, SHAO Hongda, QIU Yuyou, LIU Yong

作者单位: 龚健, 汤光宇, 邵泓达, 邱裕友, 刘勇, GONG Jian, TANG Guangyu, SHAO Hongda, QIU Yuyou, LIU Yong (同济大学附属第十人民医院放射科), 李冠武, LI Guanwu (上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院医学影像科)

刊名: 中国骨质疏松杂志



英文刊名: Chinese Journal of Osteoporosis

年, 卷(期): 2014(1)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201401009.aspx