

益生菌干预骨质疏松症相关机制的研究进展

陈剑^{1,2} 孙海飏^{2*} 韩晓强² 张子楠¹ 郑彩玉³

- 1. 山西医科大学第一临床学院,山西 太原 030001
- 2. 山西医科大学第一医院骨科,山西 太原 030001
- 3. 厦门大学附属第一医院内分泌科,福建 厦门 361000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 01-0107-04

摘要: 骨质疏松症是一种以骨量减低和骨组织微结构退化为特征的骨骼疾病。随着社会人口老龄化的进展,骨质疏松症的发病率将会越来越高,尤其是绝经期女性,其发生骨质疏松症的风险较男性更高。骨质疏松症所带来的问题日趋严重,其给社会及家庭带来巨大的负担,尤其是骨质疏松症导致的身体重要部位的骨折。目前骨质疏松症的治疗方法有限,药物的治疗虽然有一定成效,但是药物并不能彻底根治骨质疏松症且药物需长期使用,因此药物的副作用的问题不容忽视。在人类的肠道定植着数量繁多且对机体健康有着重要作用的菌群,其中益生菌的健康效应也逐渐被挖掘。目前研究发现益生菌对机体诸多的疾病有显著的疗效,其中益生菌和骨质疏松症也有着密切的关系。益生菌可以通过复杂的方式干预骨质疏松症,但其具体机制仍未阐明。本文通过相关的报道进行综述,并从①炎症因子;②基因、配体及信号通路;③破骨细胞;④钙离子吸收等方面探讨益生菌干预骨质疏松症的可能机制,为骨质疏松症的防治提供新的思路。

关键词: 骨质疏松症;肠道菌群;益生菌;机制

Advance on the mechanisms of probiotics intervention on osteoporosis

CHEN Jian¹, SUN Haibiao^{2*}, HAN Xiaoqiang², ZHANG Zinan¹, ZHENG Caiyu³

- 1. First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China
- 2. Department of Orthopedics, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China
- 3. Department of Endocrinology, First Hospital of Xiamen University, Xiamen 361000, Fujian, China

* Corresponding author: SUN Haibiao, Email: suny0607@163.com

Abstract: Osteoporosis is a bone disease characterized by loss of bone mass and tissue microstructure deterioration. With the aging of our society, the incidence rate of osteoporosis is going to increase gradually, especially among postmenopausal women, who have higher risk for osteoporosis than man. Such disease brings the society and the family a huge burden, poses serious threat to human health, especially when major fractures occur. Nowadays, the treatments of osteoporosis are limited. Although drug treatment has certain effect, osteoporosis cannot be cured completely. Due to the need for long-term medication, the side effects of drugs cannot be ignored. In the human intestinal tract, a large number of bacteria colonize, which are beneficial to human health. The health effects of probiotics are gradually being excavated. Current studies found that probiotics have a significant effect on many diseases; moreover, there is a close relationship between probiotics and osteoporosis. Probiotics could intervene in the development of osteoporosis through complicated pathways, but the specific mechanisms remain unclear. In order to provide new ideas for the prevention and treatment of osteoporosis, this paper reviews related reports, and discusses the possible mechanisms of 1) inflammatory factors, 2) genes, ligands and signaling pathways, 3) osteoclasts, and 4) calcium absorption.

Key words: Osteoporosis; Gut microbiota; Probiotics; Mechanism

1 骨质疏松症概述

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种表现为骨量减低和骨组织微结构退化的骨骼疾病。OP引起的脆性骨折会导致严重的残疾,使医疗费用的支出

基金项目: 山西省应用基础研究项目(201701D121097)
* 通讯作者: 孙海飏,Email:suny0607@163.com

和死亡率增加^[1]。OP 患者骨折主要发生在应力集中的部位,如椎体、股骨近端和前臂远端^[2]。在美国,OP 的男性患者发生骨折的几率为 13%,女性为 40%,其死亡率也随之增加^[3]。随着社会人口步入老龄化,OP 的发病率不断增加。其中,绝经期的女性随着体内雌激素水平的下降或者消失,加剧了骨质的流失。OP 给卫生保健系统带来很大的经济负担,是一个很严重的公共健康问题^[4]。研究表明,到 2020 年将会有超过一半的美国人会发生骨密度减低甚至 OP。

目前,药物在减少骨质流失或者增加骨钙含量方面有着一定的成效。临床上常用的治疗 OP 的药物有维生素 D、钙制剂、钙的复合制剂和抗骨吸收药等。然而药物在长时间、大剂量使用后其副作用也随之出现^[5],如钙制剂会引起高钙血症,双膦酸盐类会发生胃肠道反应,雌激素替代疗法会增加乳腺癌风险等。因此寻找和研发新的且副作用小的抗 OP 治疗方法将会是一场革命。

2 益生菌概述

人体胃肠道内定植着巨大而又复杂的微生物群落,其中绝大多数的微生物属于专性厌氧菌,这些菌群与机体的健康息息相关,这部分菌群称为正常的肠道菌群(gut microbiota, GM)^[6]。GM 由万亿的细菌组成,其所含有的基因组数量比人类多 150 倍^[7]。GM 在出生的时候获得,随着接触外界环境及各种刺激因素后,菌群也在不断的变化和完善。GM 与人类基因组存在明显的相互作用,能够以多种方式与宿主进行反馈并影响宿主^[8]。益生菌属于 GM,是指适当摄取后能够给予机体健康效应的有生命的微生物^[9]。益生菌的种属繁多,现乳杆菌属、双歧杆菌属、埃希氏杆菌属、肠球菌属和芽孢杆菌属的益生菌已经得到广泛的使用^[10]。

3 研究现状

相关报道证实益生菌对诸多疾病有确切的疗效,如婴儿腹泻、坏死性小肠结肠炎、抗生素相关性腹泻、复发性艰难梭菌结肠炎、幽门螺杆菌感染、癌变倾向的炎症性肠病、女性泌尿生殖器感染和手术感染等^[11]。随着研究的深入,研究者逐渐意识到益生菌可以作为一种新的治疗手段来干预 OP,并且在实验室已经获得了初步的成果,而其中涉及到相关机制的文章目前少有报道^[14-16, 19, 23-25, 29]。益生菌干预 OP 的机制不同于以往的认识,其不只局限于影

响钙离子的吸收。随着研究的不断深入,发现益生菌与机体的免疫系统、基因的表达、配体及通道的调节存在着密切的关系,益生菌可能通过复杂的方式对 OP 进行干预。为此,积极探索益生菌干预 OP 的机制,能够为未来 OP 的治疗及益生菌的研究提供更多帮助。

4 益生菌干预骨质疏松机制

4.1 益生菌影响炎症因子的表达

炎症因子与成骨、破骨细胞关系密切, Yang 等^[12]发现 TNF- α 、IL-1b 与牙槽骨的体积、密度关系密切, TNF- α 、IL-1b 减少时,牙槽骨的体积和密度增加。Wu 等^[13]发现 TNF 受体家族的新成员骨保护素(osteoprotegerin, OPG)能够以剂量依赖性的方式阻断破骨细胞分化。

肠道菌群内的某些菌群发生变化时,可以出现相应的炎症因子水平的改变,与此同时,成骨细胞和破骨细胞的数量也随之发生改变。Sjögren 等^[14]发现缺少肠道菌群的无菌(germ-free, GF)小鼠骨和骨髓中 TNF- α 表达减少时,其骨密度增加。Ohlsson 等^[15]通过实验证实副干酪乳杆菌、植物乳杆菌能够减少卵巢切除(ovariectomy, OVX)小鼠体内的炎症因子 TNF- α 和 IL-1b 表达,增加具有抑制溶骨作用的 OPG 表达,最终导致小鼠皮质骨的骨量丢失减少。McCabe 等^[16]用罗伊氏乳杆菌(*L. reuteri*) ATCC PTA 6475 饲喂雄性小鼠 3~4 周,检测发现 *L. reuteri* 6475 抑制了雄性小鼠空肠及回肠内 TNF- α mRNA 表达,使 TNF- α 表达减少,小鼠的骨密度增加。实验还证实了 *L. reuteri* 6475 的治疗能够增加雄性小鼠的股骨远端干骺区及腰椎的松质骨参数,如骨矿物密度、骨体积分数、骨小梁数和小梁厚度,但对皮质骨的相关参数没有影响。但在雌性小鼠的实验中并未得出以上结论,可见益生菌干预 OP 存在受体性别的差异。因此,益生菌可能通过调节与相关炎症因子的表达,来控制破骨细胞的生成和分化,以实现 OP 的干预,其对促进成骨作用的炎症因子是否有作用,仍需进一步研究来证实。

4.2 益生菌影响基因表达,参与配体及信号通路的调节

Sparc 基因和 Bmp-2 与骨骼的钙化、形成及发育关系密切。Sparc(secreted protein, acidic and rich in cysteine)是一种细胞基质糖蛋白,它与组织重塑、修复、发育、细胞转化以及骨的矿化有关^[17],其也是一种钙结合的受体^[18], Sparc 基因的表达能够增加

骨的钙化^[19]。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的关键因素^[20],而其中的 BMP-2 主要参与出生后骨骼内稳态的维持,提供骨固有的修复能力所需要的成骨信号^[21]。Parvaneh 等^[19]在实验中发现饲喂了长双歧杆菌(*B. Longum*)的 OVX 小鼠的股骨微观结构发生了改变,其中骨形成的相关参数如血清骨钙蛋白、成骨细胞增加,而骨吸收的相关参数如血清 C-末端肽、破骨细胞减少。该研究发现 *B. Longum* 引起 OVX 小鼠股骨的骨密度增加是由 *Sparc* 和 *Bmp-2* 基因表达的上调引起的。

Wnt10 是骨形成过程中表达的一种典型的 Wnt 配体,其与间充质祖细胞的功能相关。Stevens 等^[22]在研究中证实 Wnt10 在维持成体骨髓间充质祖细胞的活性中起重要作用,而 Wnt 信号通路在胚胎发育和出生后骨稳态的维持起重要作用。Baron 等^[23]证实人类 Wnt 信号通路的激活能够显著促进骨的形成和骨量的增加,其中 Wnt10b 是骨形成的正向调节剂,能够促进成骨细胞分化。众所周知,1 型糖尿病(T1D)的患者常发生 OP,而 OP 的发生与 Wnt10b 和 Wnt 信号通路有着密切的联系。Zhang 等^[24]的研究发现 *L. reuteri* 的治疗能够防止由 T1D 引起的 Wnt10b 和 Wnt10 信号通路的抑制,并且能够阻止 T1D 小鼠成骨细胞活性及骨形成的抑制。以上可见益生菌可以通过调节基因表达、参与配体及信号通路的调节的方式干预 OP,其中成骨细胞扮演重要角色。

4.3 益生菌抑制破骨细胞形成

成骨细胞及破骨细胞参与骨代谢的调节,两者数量及活性的相对平衡状态对骨量的维持及其重要。Britton 等^[25]使用 *L. reuteri* 治疗 OVX 小鼠,研究发现 *L. reuteri* 的治疗显著保护了 OVX 小鼠免受骨质的流失。研究发现经过 *L. reuteri* 治疗的 OVX 小鼠的破骨细胞重吸收的标志物 Trap5、激活物 RANKL 以及破骨细胞的数量都显著减少,并且骨髓 CD4⁺ T 淋巴细胞的生成受到抑制(CD4⁺ T 淋巴细胞具有促进破骨细胞发生的作用)。在体外实验中发现 *L. reuteri* 能够直接抑制破骨细胞形成。由此可见益生菌可以直接或间接的方式抑制破骨细胞形成,实现 OP 的干预。

4.4 益生菌影响钙离子的吸收

骨骼的主要的矿物质是钙,美国膳食指南将钙认定为机体缺乏的营养素^[26],钙的摄入量增加能够提升骨量^[27]。机体钙的来源主要来自肠道吸收的

钙离子,影响钙离子吸收的因素包括活性维生素 D、肠道内酸碱度、钙离子通道和载体数量、体内相关的激素水平变化等^[28]。Gilman 等^[29]在 Caco-2 细胞模型中发现唾液乳杆菌能够增加钙的吸收,这种钙代谢的调节可能是通过促进肠上皮细胞吸收钙离子实现的,但该研究未说明具体的转运方式。实验发现其他益生菌无该作用,例如双歧杆菌无法增加钙离子的吸收,由此可见益生菌影响钙离子的吸收存在菌种间的差异。另外, Sjögren 等^[14]发现 GF 小鼠与正常的小鼠相比其皮质骨与松质骨的骨密度增加,但两者血清钙、25-羟维生素 D [25-(OH)D₃] 及血浆甲状旁腺激素的水平无显著变化,可见钙离子可能不是益生菌干预 OP 的主要机制。

5 总结与展望

益生菌与 OP 关系的研究是一个全新、充满未知和挑战的领域。益生菌干预 OP 是通过复杂的方式实现的,并且存在菌种、菌属和受体性别等的差异。根据目前的研究来看,益生菌干预 OP 可能机制是:①通过免疫系统(如炎症因子、免疫细胞等)、基因、配体及信号通路等影响成骨和破骨细胞生成和分化,实现 OP 的干预;②直接影响成骨和破骨细胞生成和分化干预 OP;③增加钙离子的吸收干预 OP 等等。益生菌作为一种副作用小甚至是没有副作用的治疗方法,其干预 OP 的具体机制仍需进一步的实验研究及临床试验来阐明。相信未来益生菌在 OP 治疗方面的研究会有巨大的突破,并且益生菌对于其他疾病的治疗也会有新的进展。其会改变未来诸多疾病治疗的理念,为患者创造福音。

【参考文献】

- [1] Sattui SE, Saag KG. Fracture mortality: associations with epidemiology and osteoporosis treatment, *Nature reviews. Endocrinology*, 2014, 10(10): 592.
- [2] Sinaki M, Pfeifer M. Osteoporosis: diagnosis, risk factors, and prevention. *Non-Pharmacological Management of Osteoporosis*. Springer International Publishing, 2017: 1-11.
- [3] Zhao B, Zhang W, Du S, et al. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism and osteoporosis risk in post-menopausal women. *AMS*, 2016, 12(1): 25.
- [4] Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. *Lancet*, 2006, 367(9527): 2010-2018.
- [5] Cosman F, De Beur SJ, LeBoff MS, et al. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporosis International*, 2014, 25(10): 2359-2381.
- [6] Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, et al. The composition of

- the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2015, 26(1): 26050.
- [7] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464(7285): 59-65.
- [8] Martens EC, Kelly AG, Tauzin AS, et al. The devil lies in the details: how variations in polysaccharide fine-structure impact the physiology and evolution of gut microbes. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(23): 3851-3865.
- [9] Sanders ME, Lenoir-Wijnkoop I, Salminen S, et al. Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2014, 1309(1): 19-29.
- [10] McCabe LR, Britton RA, Parameswaran N. Prebiotic and probiotic regulation of bone health: role of the intestine and its microbiome. *Current Osteoporosis Reports*, 2015, 13(6): 363-371.
- [11] Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2009, 27(3): 202.
- [12] Yang H, Wen Q, Xue J, et al. Alveolar bone regeneration potential of a traditional Chinese medicine, Bu-Shen-Gu-Chi-Wan, in experimental periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 2014, 49(3): 382-389.
- [13] Wu C, Rankin EB, Castellini L, et al. Oxygen-sensing PHDs regulate bone homeostasis through the modulation of osteoprotegerin. *Genes & Development*, 2015, 29(8): 817-831.
- [14] Sjögren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2012, 27(6): 1357-1367.
- [15] Ohlsson C, Engdahl C, Fåk F, et al. Probiotics protect mice from ovariectomy-induced cortical bone loss. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92368.
- [16] McCabe LR, Irwin R, Schaefer L, et al. Probiotic use decreases intestinal inflammation and increases bone density in healthy male but not female mice. *Journal of Cellular Physiology*, 2013, 228(8): 1793-1798.
- [17] Ribeiro N, Sousa SR, Brekken RA, et al. Role of SPARC in bone remodeling and cancer-related bone metastasis. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2014, 115(1): 17-26.
- [18] Al-Dabbagh N, Al-Shahrani H, Al-Dohayan N, et al. The SPARC-related modular calcium binding protein 2 (SMOC2) gene polymorphism in primary glaucoma: a case-control study. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*, 2017, 11: 549.
- [19] Parvaneh K, Ebrahimi M, Sabran MR, et al. Probiotics (*Bifidobacterium longum*) increase bone mass density and upregulate *Sparc* and *Bmp-2* genes in rats with bone loss resulting from ovariectomy. *Biomed Research International*, 2015, 2015:10.
- [20] Kanakaris NK, Petsatodis G, Tagil M, et al. Is there a role for bone morphogenetic proteins in osteoporotic fractures? *Injury*, 2009, 40: S21-S26.
- [21] Salazar VS, Gamer LW, Rosen V. BMP signalling in skeletal development, disease and repair. *Nature Reviews Endocrinology*, 2016, 12(4): 203-221.
- [22] Stevens JR, Miranda-Carboni GA, Singer MA, et al. Wnt10b deficiency results in age-dependent loss of bone mass and progressive reduction of mesenchymal progenitor cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2010, 25(10): 2138-2147.
- [23] Baron R, Kneissel M. Wnt signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nature Medicine*, 2013, 19(2): 179-192.
- [24] Zhang J, Motyl KJ, Irwin R, et al. Loss of bone and Wnt10b expression in male type 1 diabetic mice is blocked by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Endocrinology*, 2015, 156(9): 3169-3182.
- [25] Britton RA, Irwin R, Quach D, et al. Probiotic *L. reuteri* treatment prevents bone loss in a menopausal ovariectomized mouse model. *Journal of Cellular Physiology*, 2014, 229(11): 1822-1830.
- [26] DeSalvo KB, Olson R, Casavale KO. Dietary guidelines for Americans. *JAMA*, 2016, 315(5): 457-458.
- [27] Palacios C, Martin BR, McCabe GP, et al. Dietary calcium requirements do not differ between Mexican-American boys and girls. *The Journal of Nutrition*, 2014, 144(8): 1167-1173.
- [28] Kopic S, Geibel JP. Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. *Physiological Reviews*, 2013, 93(1): 189-268.
- [29] Gilman J, Cashman KD. The effect of probiotic bacteria on transepithelial calcium transport and calcium uptake in human intestinal-like Caco-2 cells. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2006, 7(1): 1-6.

(收稿日期: 2017-07-16; 修回日期: 2017-08-06)