

· 综述 ·

双酚 A 对骨分化及骨密度的影响及相关机制

李奕丰¹ 郭晓英^{2*}

1. 中国医科大学临床一系, 辽宁 沈阳 110122

2. 中国医科大学公卫学院, 辽宁 沈阳 110122

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 07-1027-04

摘要: 双酚 A (BPA) 是一种内分泌干扰物, 能破坏机体内分泌系统, 引发代谢异常。由于 BPA 在生活环境中存在的广泛性及其对健康的损害, 一直被广泛关注。既往研究多集中在 BPA 诱发肥胖、生殖障碍、致癌等方面的机制研究。BPA 是人体雌激素的类似物, 而骨组织对雌激素敏感, 故 BPA 对骨组织具有重要调控作用, 国内外渐有相关研究, 本文就 BPA 对骨分化及骨密度的影响及其作用的分子机制等研究进展作以综述。

关键词: 双酚 A; 骨分化; 骨密度; 骨质疏松

Effect of bisphenol A on osteogenic differentiation and bone mineral density and related mechanisms

LI Yifeng¹, GUO Xiaoying^{2*}

1. 101K, the First Clinical Department of China Medical University, Shenyang 110122, China

2. School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110122, China

* Corresponding author: GUO Xiaoying, Email: guoxy@cmu.edu.cn

Abstract: Bisphenol A (BPA) is an endocrine disrupting chemical that destroys the endocrine system and leads to metabolic disorders. BPA has been widely concerned due to its ubiquity in the environment and damage to health. Previous studies have focused on the physiological functions of BPA involved in obesity, reproductive system disorders, and carcinogenesis. BPA is generally recognized as a xenoestrogen so that plays an important role in the regulation of bone, a hormone-sensitive tissue. However, underlying mechanism is still under debate. This article reviews the research progress on the effects of BPA on osteogenic differentiation and bone mineral density and its molecular mechanism.

Key words: bisphenol A; osteogenic differentiation; bone mineral density; osteoporosis

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是一种已知的内分泌干扰物 (endocrine-disrupting chemicals, EDCs), 广泛存在于环境和日常用品中, 如食物、饮料的碳酸聚酯包装材料、金属罐头的树脂内膜及其他产品的添加剂等。据报道一般人群血清中 BPA 浓度约为 $0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ^[1]。BPA 与雌激素结构相似, 能通过竞争结合雌激素受体调节或破坏内分泌系统, 影响神经、生殖、免疫系统和代谢, 与前列腺癌和乳腺癌、肥胖、骨质疏松等疾病密切相关^[2]。

骨是一种对激素敏感的器官, 骨骼的发育和重建受激素的精细调控。BPA 通过与雌激素受体

(estrogen receptor, ERs) 和雄激素受体 (androgen receptor, AR) 结合, 干扰内源性激素的稳态, 抑制破骨细胞和成骨细胞分化并诱导细胞凋亡, 降低血浆钙水平, 进而造成骨骼几何形态、强度等方面的改变, 甚至因骨代谢失常造成全身疾病^[3]。本文就 BPA 对骨分化和骨密度影响及其机制作以综述。

1 双酚 A 暴露对骨分化及骨密度的影响

1.1 骨分化。

骨骼的形成包括膜内成骨和软骨内成骨。膜内成骨为间充质细胞经钙化后直接成骨, 多见于扁平骨, 如颅盖骨及面骨。躯干骨及四肢骨则是以软骨内成骨方式形成, 先形成软骨雏形, 随之软骨逐渐被替换, 形成骨组织。BPA 对膜内成骨的影响尚未见报道。目前 BPA 对软骨内成骨的研究多集中在对

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573100); “中国医科大学大学生创新创业训练计划”资助项目 (201810159113)

* 通信作者: 郭晓英, Email: guoxy@cmu.edu.cn

股骨、椎体等的影响。骨重建的过程由成骨细胞及破骨细胞两者的动态平衡实现,受雌激素的影响。因为不同骨龄、类型的骨骼中成骨细胞、破骨细胞和骨髓细胞的 ERs 各亚型的数量和比例不同,而 BPA 对各 ERs 亚型有不同的亲和力。因此,特定的细胞类型和暴露的时间可能引起 BPA 对骨细胞的独特反应,表现出高度的发育阶段相关性及性别相关性^[4],且不同实验条件(剂量、染毒时间、实验对象)产生的效应不同。

以往的研究认为毒性水平的 BPA 以剂量依赖性方式(0.5~12.5 $\mu\text{mol/L}$)在体外有效抑制成骨细胞和破骨细胞的分化和活性,刺激两种细胞的凋亡^[2]。不同学者对不同发育阶段的不同性别和品系鼠、采用不同剂量进行了 BPA 对股骨及椎体影响的研究。

Katherine 等以 10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ BPA 灌胃 C57BL/6 J 小鼠,从妊娠第 11 天到产后第 12 天,结果显示 BPA 增加股骨长度且在雄性中更具统计学意义,增强雄性而减弱雌性股骨抗扭承载力^[4]。这种股骨长度增加和拉伸减少的综合效应导致扭转极限减小,这些结果提示了发育暴露于环境相关水平的 BPA 对骨分化的负面作用。由同一小组的两项不同研究,则提示了不同剂量 BPA 对不同性别大鼠后代的骨分化的不同影响:对 Wistar 大鼠孕哺期染毒[0、25、250、5 000 μg 和 50 000 μg BPA/ $(\text{kg}\cdot\text{d})$]的结果为 25 和 5 000 μg 的雌性后代股骨伸长分别为 1.8%和 2.1%,暴露于 25 μg BPA 的雄性后代股骨干骨皮质显著较厚(4.7%)^[3];更低剂量的研究发现,在妊娠 3.5 d 直到出生后第 22 天分别用 0.5 和 50 μg BPA/ $(\text{kgBW}\cdot\text{d})$ 感染 Fischer 344 大鼠,5 周龄时处死子代,结果提示雄性子代股骨分别变短 2.2%和 1.8%,降低了雄性子代总矿物质含量、总横截面积、小梁面积、骨膜周长以及骨内膜周长,而对雌性无明显作用^[5]。此外,Auxietre 等^[6]在妊娠和哺乳期间口服给予雌性 Wistar 大鼠 BPA,在出生后第 30、110 天(d30,d110)研究 F1 和 F2 后代的骨骼异常。对椎骨的研究数据显示 F1 雌性横突间宽度增加,椎骨变短,生长板厚度特别是肥大区厚度减少,而对 F1 雄性及所有 F2 个体无明显影响,这种效应在雌性 F1 大鼠出生 30 d 达到最大并于 110 d 消失。

间充质干细胞具有多种分化潜能,可以分化为脂肪、骨及肌肉组织,BPA 促进间充质干细胞脂肪分化,抑制骨分化^[1]。但近期在人间质干细胞分化

研究中的结果则表明:非毒性低浓度(1 和 10 nmol/L)的 BPA 会刺激成骨,但没有明显的剂量-效应关系,且仅出现于间质干细胞分化前预处理的情况下^[7]。

1.2 骨密度。

尽管在前述实验条件下观察 BPA 对骨密度无明显影响^[3,5],更多研究证实 BPA 暴露可降低骨密度。Zhang 等^[8]给 4 周龄雌性 F344 大鼠灌胃给药 50、200、400 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,13 周后测定椎体及股骨骨密度,结果显示 200 mg BPA/ $(\text{kg BW}\cdot\text{d})$ 组椎体骨密度最低,50 mg BPA/ $(\text{kg BW}\cdot\text{d})$ 组股骨骨密度最低,提示 BPA 降低骨密度,而苯甲酸雌二醇 EB 增加椎体骨密度增高,证实雌激素可减少骨流失。

如前所述 BPA 刺激间质干细胞脂肪分化而抑制其骨分化,而有学者在绝经前女性群体中证实 BPA 增加脂肪,但并未出现明显的骨密度改变,说明 BPA 对骨密度的影响可能与脂肪代谢无关^[9]。

尽管由于暴露剂量及实验对象的种属差异等因素,研究结论不甚一致,但基本的共识是环境剂量暴露 BPA 负向影响成骨分化和骨密度,引起骨质减少、微结构恶化、增加骨质疏松性,诱发骨质疏松症。不同时期 BPA 暴露会产生不同的效应,生命早期暴露于 EDCs 可产生不可逆的损害,并造成一些成人时期疾病。相反,成人接触 EDCs 的影响往往是可逆的,但鉴于 BPA 存在的广泛性和强脂溶性,其对于成年个体骨质的损害也不容忽视。

2 双酚 A 影响骨代谢的作用机制

2.1 BPA 的抗雌激素效应及雌激素效应

BPA 与雌激素(estrogen, E2)没有结构同源性,但通常作为异雌激素并选择性调节 ERs。研究表明,虽然 BPA 对 ERs 的亲和力较低,但它的影响强于 E2,尤其是对非经典途径的作用,如 G 蛋白偶联受体(GPER)和雌激素相关受体(ERR)。BPA 通常表现出雌激素拮抗效应,少数情况会显示雌激素效应,取决于 ER 亚型和所涉及的组织^[2]。

E2 有维持骨骼的功能,如抑制促破骨细胞形成配体(receptor activator of nuclear factor- κB ligand, RANKL)表达,抑制白细胞介素(IL-1、6 和 11)、前列腺素(PGE-2)、TNF- α 、TGF- β 和胰岛素样生长因子(IGF)系统,通过减弱破骨细胞活性或直接调节破骨细胞功能来减少骨吸收。E2 促进成骨细胞的增殖和分化,并维持钙稳态,保证血浆钙水平。BPA 通过结合雌激素相关受体- γ (ER γ)产生雌激素拮抗

作用,增加 RANKL 的表达,提高破骨细胞的活性,抑制成骨细胞分化,降低血浆钙水平^[10]。

区别于 ER γ , BPA 结合 ER α 造成雌激素效应,如 BPA 改变蛋白激酶 C 的亚型,加速哺乳动物软骨的老化和骨骺闭合。Auxietre 等^[6]研究 BPA 对椎骨横突的形态改变,发现孕哺乳期染毒使雌性个体到椎体生长板特别是肥大区的缩小,这种效应在出生后 30 d 达到最大,提示骨骼的早熟,该现象为雌激素效应。研究者通过加入雌激素受体的抑制剂和激动剂,证实了上述改变为 BPA 的雌激素效应导致。

2.2 BPA 对雄激素受体(AR)的作用

雄激素受体在骨发育和骨转换中发挥着重要的作用,能增加培养中骨细胞的 ALP 阳性细胞的数量和阳性强度,促进骨细胞分化。在对大鼠的研究中,雌激素对雌性骨骼发育的作用更加明显,使股骨更短更薄。而 BPA 对雄性骨骼的影响更显著,这表明 BPA 暴露的影响可能不仅仅是雌激素受体相关效应^[5]。有基因测定报告证明,BPA 是 AR 拮抗剂,通过多种机制作用于雄激素受体。

2.3 BPA 调控凋亡相关因子

在各种病理及生理状态下凋亡参与调控骨组织的发育、生长和稳态。前期研究证实 BPA 调控凋亡相关通路,促进凋亡。BPA 调控 Bcl-2 家族 Bad 元件,从而影响凋亡效应因子 Caspase8、9 和 3 的激活。同时,BPA 影响调控凋亡的 NFATc1、MAPK、ERK 和 AKT 等重要信号通路。体内体外研究均证实 BPA 还通过诱导氧化应激来刺激凋亡,总尿 BPA 水平与氧化应激水平呈高度正相关^[2,10-11]。

2.4 BPA 参与 DNA 表观修饰

位于细胞核的雌、雄激素受体分别与相应激素结合后激活,配体-受体复合物进入细胞核,作为转录因子结合 DNA 特定基因,调节基因表达,这种效应不会遗传给子代。早期研究认为,BPA 孕哺期染毒对软骨内成骨的影响不能够遗传,然而 Jacques 等^[12]的研究中,BPA 使雄性大鼠足趾比例雌性化可以遗传给子代,猜测与 DNA 表观修饰有关。表观遗传机制包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰(乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等)以及 microRNAs 在内的非编码 RNA 的表达。BPA 暴露可以诱导持久的表观遗传破坏,BPA 很可能通过 CpG 位点的甲基化作用影响表观遗传机制,并诱导了组蛋白修饰,改变了染色质结构和转录活性。双酚 A 促进小鼠乳腺中组蛋白甲基转移酶 EZH2(Enhancer of Zeste Homolog 2)蛋白的翻译,通常会增加 H3K27me3 而导致基因

抑制^[13]。

然而表观遗传不表现在对股骨长度的影响上。近期 Xin 等^[14]研究了 BPA 对骨的作用有无母系传代效应,综合 Auxietre 等^[6]对父系传代效应的研究,BPA 造成的影响在实验条件下不能证明影响 F2 股骨形态和强度。

2.5 BPA 参与 Wnt/ β -catenin 信号对骨代谢的调控

Wnt/ β -catenin 信号是调节胚胎发育的经典通路,BPA 通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路影响干细胞增殖分化的学说被广泛认同。在骨分化的调控中,BPA 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路从而干扰骨骼代谢。一项应用斑马鱼的研究表明 BPA 暴露上调凋亡是由于 Wnt3a 诱导的促凋亡改变。Wnt/ β -catenin 信号既受到活性氧簇的调节(即受氧化应激条件的干扰),又参与由 ROS 改变细胞存活程序造成的细胞死亡;Wnt/ β -catenin 能抑制 RANKL 的表达和上调成骨细胞分泌的骨保护素(osteoprotegerin, OPG)的表达,OPG 能结合 RANKL 而抑制破骨细胞的活化^[10,15]。可见 BPA 干扰骨骼的多种信号通路之间、成骨细胞和破骨细胞之间相互联系与制约。

3 小结

BPA 复杂的分子使其影响具有双重性,例如 BPA 一方面提高破骨细胞的活性,另一方面通过凋亡相关蛋白和氧化应激途径引起成骨细胞和破骨细胞凋亡。因此,BPA 对不同物种、相同物种不同发育阶段的影响差异很大。不同品系、剂量、染毒方式干扰对实验结果的分析,以往实验结论停留在与上述因素相关,具体影响的方式还需更加系统的实验。目前 BPA 对骨骼机制的研究多为推测,尚不能确定。因此,为了解 BPA 对人类骨骼发育的干扰和损伤效果,有必要进行关于 BPA 对特定组织特定发育阶段的作用机制的研究。

【参考文献】

- [1] Jalal N, Surendranath AR, Pathak JL, et al. Bisphenol A (BPA) the mighty and the mutagenic[J]. Toxicol Rep, 2018,5: 76-84.
- [2] Jin Kyung Hwang, Kwan Hee Min, Kyoung Hee Choi, et al. Bisphenol A reduces differentiation and stimulates apoptosis of osteoclasts and osteoblasts[J]. Life Sciences, 2013, 93(9-11): 367-372.

(下转第 1039 页)

- 2016,23(7):1128-1139.
- [33] Cui Y, Luan J, Li H, et al. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression [J]. FEBS Lett, 2016, 590(1):185-192.
- [34] Ekstrom K, Omar O, Graneli C, et al. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells [J]. PLoS One, 2013, 8(9):e75227.
- [35] 王姿, 丁丽, 郑晓丽, 等. 树突状细胞外泌体诱导间充质干细胞向成骨细胞分化 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(3): 600-604.
- [36] Xu JF, Yang GH, Pan XH, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. PLoS One, 2014, 9(12):e114627.
- [37] Deng L, Wang Y, Peng Y, et al. Osteoblast-derived microvesicles: A novel mechanism for communication between osteoblasts and osteoclasts [J]. Bone, 2015, 79:37-42.
- [38] Huynh N, VonMoss L, Smith D, et al. Characterization of Regulatory Extracellular Vesicles from Osteoclasts [J]. J Dent Res, 2016, 95(6):673-679.
- [39] Sun W, Zhao C, Li Y, et al. Osteoclast-derived microRNA-containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity [J]. Cell Discov, 2016, 2:16015.
- [40] Farr JN, Fraser DG, Wang H, et al. Identification of senescent cells in the bone microenvironment [J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(11):1920-1929.
- [41] Farr JN, Xu M, Weivoda MM, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice [J]. Nat Med, 2017, 23(9):1072-1079.
- [42] Sylvia Weilner, Verena Keider, Melanie Winter, et al. Vesicular Galectin-3 levels decrease with donor age and contribute to the reduced osteo-inductive potential of human plasma derived extracellular vesicles [J]. Aging, 2016, 8(1):16-30.
- [43] Li D, Liu J, Guo B, et al. Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation [J]. Nat Commun, 2016, 7:10872.
- [44] Qi X, Zhang J, Yuan H, et al. Exosomes secreted by human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells repair critical-sized bone defects through enhanced angiogenesis and osteogenesis in osteoporotic rats [J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(7):836-849.

(收稿日期: 2018-10-03; 修回日期: 2018-10-21)

(上接第 1029 页)

- [3] Lejonklou MH, Christiansen S, Orberg JL, et al. Low-dose developmental exposure to bisphenol A alters the femoral bone geometry in wistar rats [J]. Chemosphere, 2016, 164: 339-346.
- [4] Katherine E Pelchia, Stephanie M Carleton, Charlotte L Phillips, et al. Developmental exposure to xenoestrogens at low doses alters femur length and tensile strength in adult mice [J]. Biol Reprod, 2012, 86(3):691-699.
- [5] Thomas Linda, Margareta H Lejonklou, Linda Dunder. Low-dose developmental exposure to bisphenol A induces sex-specific effects in bone of Fischer 344 rat offspring [J]. Environm Res, 2017, 159:61-68.
- [6] Auxietre TA, Dumontier MF, Balguy I, et al. Sub-NOAEL amounts of vinclozolin and xenoestrogens target rat chondrogenesis in vivo [J]. Biochimie, 2014, 99: 169-177.
- [7] Dong H, Yao X, Liu S, et al. Non-cytotoxic nanomolar concentrations of bisphenol A induce human mesenchymal stem cell adipogenesis and osteogenesis [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2018, 164:448-454.
- [8] Zhang Jing, Hao Lanxiang, Zhang Xiaochen, et al. Effects of bisphenol A on the bone mineral densities of vertebrate and femoral bone in rats [J]. J Shandong University (Health Sciences). 2016, 54(3):36-40.
- [9] Zhao HY, Bi YF, Ma LY, et al. The effects of bisphenol A (BPA) exposure on fat mass and serum leptin concentrations have no impact on bone mineral densities in non-obese premenopausal women [J]. Clin Biochem, 2012, 45:1602-1606.
- [10] Thent ZC, Froemming GRA, Muid S. Bisphenol A exposure disturbs the bone metabolism: An evolving interest towards an old culprit [J]. Life Sci, 2018, 198:1-7.
- [11] Leem YH, Oh S, Kang HJ, et al. BPA-toxicity via superoxide anion overload and a deficit in β -catenin signaling in human bone mesenchymal stem cells [J]. Environ Toxicol, 2017, 21: 344-352.
- [12] Jacques Auger, Dominique Le Denmat, Raymond Berges. Environmental levels of oestrogenic and antiandrogenic compounds feminize digit ratios in male rats and their unexposed male progeny [J]. Proc Royal Society, 2013, 280(1768):20131532.
- [13] Shafei A, Ramzy MM, Hegazy AI. The molecular mechanisms of action of the endocrine disrupting chemical bisphenol A in the development of cancer [J]. Gene, 2018, 647:235-243.
- [14] Xin F, Smith LM, Susiarjo M, et al. Endocrine-disrupting chemicals, epigenetics, and skeletal system dysfunction: exploration of links using bisphenol A as a model system [J]. Environ Epigenet, 2018, 4(2):1-12.
- [15] stündag ÜV, Ünal İ, Ateş PS, et al. Bisphenol A and di(2-ethylhexyl) phthalate exert divergent effects on apoptosis and the Wnt/ β -catenin pathway in zebrafish embryos: A possible mechanism of endocrine disrupting chemical action [J]. Toxicol Ind Health, 2017, 33(12):901-910.

(收稿日期: 2018-08-21; 修回日期: 2018-09-27)