

## • 骨代谢疾病专栏 •

## 骨质疏松发病机制研究进展

王涛 马信龙

**【摘要】** 骨质疏松是以骨量减少、骨组织微结构破坏进而导致骨脆性和骨折危险性增加为特征性疾病。激素在骨代谢中具有重要作用,但近年来又发现其他危险因素,如骨硬化蛋白、胶原蛋白基因、G 蛋白耦联受体、骨形态发生蛋白、胰岛素样生长因子等。探讨危险因素对骨质疏松形成的影响,将为寻找新的治疗靶点提供方向。

**【关键词】** 骨质疏松;骨代谢;骨硬化蛋白;G 蛋白耦联受体;胶原蛋白基因

**Research progress on pathogenesis of osteoporosis** Wang Tao, Ma Xinlong. Department of Spine Surgery, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

Corresponding author: Ma Xinlong, Email: maxinlong8686@126.com

**【Abstract】** Osteoporosis is characterized by decrease of bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue with a consequent increase in bone fragility and susceptibility to fractures. Hormones play an important role in regulating bone metabolism, however, other risk factors are identified including collagen protein gene, G protein-coupled receptor, bone morphogenetic protein and insulin-like growth factor, etc. Investigating the effects of risk factors on osteoporosis will provide new therapeutic targets.

**【Key words】** Osteoporosis; Bone metabolism; Bone sclerosis; G protein-coupled protein; Collagen protein gene

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34:99-102)

骨质疏松是一种以骨量减少、骨组织微结构破坏进而导致骨脆性增加为特征的全身代谢障碍性疾病。其发病率高,病程长,常伴有严重并发症,严重威胁人类健康。大量研究已经证实雌激素缺乏在骨质疏松的发生、发展中起重要作用,本文将对其其他几种目前研究较多的影响因素进行总结,以期今后的研究提供帮助。

### 1 骨硬化蛋白与骨质疏松

Arasu 等<sup>[1]</sup>对老年女性的调查发现,血清骨硬化蛋白水平较高会增加髋关节骨折的危险性;且若同时伴有骨密度降低,骨折的发生风险会更高。Li 等<sup>[2]</sup>发现 SOST 基因(编码骨硬化蛋白)敲除小鼠骨折愈合速度、新骨形成和钙化强度均明显优于未敲除基因小鼠,提示骨硬化蛋白可能是骨形成过程中的一个负反馈调节因子。

骨吸收主要依赖于核因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体(RANKL),RANKL 与核因子- $\kappa$ B 受体活化因子(RANK)结合后可调节破骨细胞的形成、活性及功能。而骨

保护素作为 RANKL 的诱饵受体(decay receptor),与 RANKL 结合后可以阻断 RANKL 与 RANK 的结合,从而抑制破骨细胞的功能。因此破骨细胞的活性取决于 RANKL 与骨保护素的比值变化。Wijenayaka 等<sup>[3]</sup>在体外培养的人骨原细胞和鼠骨细胞样细胞(MLO-Y4)中加入重组人骨硬化蛋白,结果发现,骨硬化蛋白可上调 RANKL mRNA 水平,同时下调骨保护素的 mRNA,使 RANKL/骨保护素比值上升,进而增加破骨细胞的吸收作用。因此认为骨硬化蛋白可能通过 RANKL 途径抑制骨的合成代谢,并促进其分解代谢。

Wnt 信号通路也与骨代谢密切相关。Wnt 信号经典途径主要通过与受体结合发挥作用,包括低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)5/6,而骨硬化蛋白通过抑制 LRP5/6 的活性参与 Wnt 信号通路进而影响骨代谢<sup>[4]</sup>。Genetos 等<sup>[5]</sup>在缺氧条件下体外培养成骨细胞和骨原细胞发现,细胞内 SOST 基因表达被抑制,骨硬化蛋白转录和合成减少, $\beta$ -catenin 表达增加,Wnt 经典信号通路活性提高,提示骨硬化蛋白通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 经典途径参与调节胚胎骨形成和骨骼修复。Lin 等<sup>[6]</sup>建立去负荷小鼠模型并进行了一系列实验研究,发现骨硬化蛋白可以选择性抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin

信号通路,同时抑制成骨细胞和骨原细胞的活性;且 SOST 基因敲除小鼠可以抵抗去负荷所造成的骨质流失,其 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路几乎未受到任何影响。还有实验显示骨硬化蛋白可以通过 Wnt 途径调节甲状旁腺激素水平,从而进一步影响骨代谢<sup>[7]</sup>。

Ominsky 等<sup>[8]</sup>向性腺完好的雌性猕猴体内注射人源化骨硬化蛋白中和单克隆抗体(Scl-Ab)IV后发现,该抗体具有明显的促进合成代谢作用,在猕猴的骨小梁、骨膜以及骨皮质内表面均出现了剂量依赖性的骨形成增加现象,骨密度检测显示其股骨颈、桡骨干骺端和胫骨干骺端的骨矿含量/骨密度均明显增加,此外,在用药剂量最高的实验组里还观察到腰椎骨小梁厚度和骨强度明显上升。McDonald 等<sup>[9]</sup>使用去卵巢后雌激素缺乏所致骨质疏松大鼠建立模型,经过 3 周培养后发现,给予骨硬化蛋白抗体治疗组的骨量增加,骨形成明显高于对照组,证实骨硬化蛋白抗体治疗的确可以促进骨骼修复。

大量实验结论提示,骨硬化蛋白是骨形成的重要负反馈调节因子。Scl-Ab 治疗能够明显加强骨修复作用,且具有强有力的合成代谢潜能及低频率给药等优势,因此可能成为治疗骨质疏松相关疾病的新型手段,尤其是对于修复能力已经受损的骨骼,如已发生骨质疏松的骨骼<sup>[9]</sup>。

## 2 G 蛋白耦联受体 48(GPR48)与骨质疏松

研究发现,GPR48 广泛表达于人和鼠类组织中,提示其在器官组织发育中可能发挥重要作用<sup>[10]</sup>。在胚胎发育阶段骨骼形成主要是通过软骨骨化,出生后的骨骼修复主要依赖于成骨细胞的骨形成作用和破骨细胞的骨吸收作用,在这些过程中活化的转录因子 4(Atf4)发挥重要作用<sup>[11]</sup>。

Luo 等<sup>[10]</sup>等研究显示,敲除 GPR48 基因后,胎鼠骨形成过程中成骨细胞分化和矿化作用延迟,出生后骨骼重塑也受到影响,包括骨形成率和骨密度下降,而破骨细胞活性和数量却明显增加。研究其分子机制发现,GPR48 通过激活 cAMP-蛋白激酶 A-cAMP 反应元件信号通路从而调节成骨细胞内 Atf4 的表达水平,进而调节 Atf4 靶基因和靶蛋白的表达水平,如骨钙素、骨唾液酸糖蛋白和胶原。而实验发现,敲除小鼠 Atf4 基因后会导致严重的骨质疏松,成骨细胞终末分化被破坏,I 型胶原蛋白合成下降,进而明显影响骨量、骨小梁数量、骨脆性以及骨生成速率<sup>[12]</sup>。

上述研究证实,GPR48 可增加成骨细胞的数量和活性,并抑制破骨细胞的吸收作用,因而 GPR48

激动剂可能用于治疗骨质疏松。但必须仔细评估用药的时机、剂型及剂量,因为 Atf4 基因激活后可参与癌症的发生、发展<sup>[13]</sup>。

## 3 骨形态发生蛋白(BMP)与骨质疏松

BMP 的受体是丝氨酸/苏氨酸激酶受体,分为 I 型和 II 型。BMP 与 I 型受体结合后募集 II 型受体并与其结合形成复合物,通过转化生长因子- $\beta$  活化激酶 1/转化生长因子- $\beta$  活化激酶 1 结合蛋白 1 激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路,调节成骨细胞表达碱性磷酸酶(ALP)和骨钙素<sup>[14]</sup>。I 型受体可被活化的 II 型受体磷酸化,进而通过结合并磷酸化特异性 Smad 蛋白转导细胞内转化生长因子- $\beta$  信号。特异性 Smads 活化后与 I 型受体分离再与 Co-Smad 和 Smad4 结合转入细胞核内增强 Runx-2 和成骨相关转录因子抗体(Osterix)的基因转录,进而调控成骨细胞分化和骨形成<sup>[15]</sup>。Papathanasiou 等<sup>[16]</sup>发现 BMP-2 可增强  $\beta$ -catenin 的核内转录,且 Smad1,2,8 与 LRP-5 启动子结合后,BMP-2 可以提高 LRP-5 的表达。Tang 等<sup>[17]</sup>也证实 Wnt 途径拮抗剂可以抑制 BMP-9 诱导的 ALP 激活,敲除  $\beta$ -catenin 基因后甚至可以阻断 BMP-9 诱导的 ALP 激活,导致骨钙素合成减少,骨形成被抑制,矿化作用和异位骨形成作用减弱,从而导致不成熟骨形成。此外,Kamiya 等<sup>[18]</sup>还发现 BMP 与 I 型受体结合后可以直接通过 RANKL/骨保护素途径上调破骨细胞生成,或通过骨硬化蛋白间接下调 Wnt 途径,从而限制内源性骨量增加。国内有学者构建骨质疏松大鼠模型,给予重组人 BMP-2 后发现,实验组动物种植体周围新生骨组织包绕,骨质致密,结构优良,说明重组人 BMP-2 可以促进骨质疏松大鼠的骨矿化作用,加快成骨速度,使骨愈合良好。

Egermann 等<sup>[19]</sup>利用 BMP-2 局部用药治疗山羊骨盆骨折,证实 BMP-2 对促进其骨折愈合有很好的效果。国外学者通过临床观察研究亦证实,BMP-7 可促进不连骨的愈合。但是 BMPs 需要全身给药,半衰期较短,且制作费用昂贵,因此限制了其临床应用,不过也有学者提出可以使用小分子 BMP 诱导剂进行治疗,但可行性还有待进一步研究。

## 4 胰岛素样生长因子(IGF)与骨质疏松

Gruodyte 等<sup>[20]</sup>通过人群调查发现,骨密度和骨矿含量与体内 IGF-1 的浓度密切相关。对 C57BL/6J 小鼠模型的研究发现,IGF-1 与巨噬细胞集落刺激因子联合应用可明显提高小鼠骨膜骨形成率和股骨生物力学性能,使骨小梁体积分数和数量增加,间

隙减少,但是单独应用 IGF-1 或巨噬细胞集落刺激因子却没有上述效果,提示二者可能存在相互作用,从而进一步调节骨骼生长<sup>[21]</sup>。Breen 等<sup>[22]</sup>比较 IGF-1 与 25(OH)D<sub>3</sub> 的作用,发现 IGF-1 促骨矿化的能力强于 25(OH)D<sub>3</sub>,且 IGF-1 浓度的变化可作为评价青春前期女孩骨矿含量变化的重要指标。Lombardi 等<sup>[23]</sup>亦发现 IGF-1 可通过自分泌和旁分泌的方式调节甲状旁腺激素对骨合成代谢的作用。如前所述,BMP 与骨骼生长密切相关,而 IGF-2 可影响 BMP-9 介导的骨形成过程。虽然 IGF-2 在骨髓间充质干细胞中浓度不高,但是它可以促进 BMP-9 诱导的早期骨形成标志——ALP 的活性和后续标志因子的表达。IGF-2 可以提高干细胞移植过程中 BMP-9 诱导的异位骨形成作用。在体外培养实验中,IGF-2 除可增强 BMP-2 诱导的软骨内骨化作用外,其本身也可以促进软骨增生区域的扩张。给予 IGF-2 拮抗剂后 ALP 活性和基质矿化作用降低。进一步实验发现磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂可阻断 IGF-2 对 BMP-9 的促进作用。故认为 IGF-2 通过磷脂酰肌醇 3 激酶及其下游分子蛋白激酶 B 组成的信号通路,影响 BMP-9 在骨形成分化过程中的作用,因此 IGF-2 联合 BMP-9 治疗大节段骨缺损、骨折不愈合和骨质疏松所致骨折将成为进一步研究的方向<sup>[24]</sup>。

## 5 I 型胶原蛋白基因与骨质疏松

I 型胶原蛋白是骨有机质的重要组成部分,约占骨基质蛋白的 80%~90%。I 型胶原是由 2 条  $\alpha 1$  链和 1 条  $\alpha 2$  链组成的三螺旋结构,其编码基因分别为 I 型胶原  $\alpha 1$  基因(COL1A1)与 I 型胶原  $\alpha 2$  基因(COL1A2)。

Husted 等<sup>[25]</sup>认为位于 COL1A1 基因启动子区域的 -1997G/T、-1663indelT 及第一内含子的 +1245G/T 基因多态性位点与骨密度及骨折发生相关。携带 -1663indelT 和 +1245G/T 等位基因会降低骨密度,而携带 -1997G/T 等位基因对骨密度影响较小但会增加椎体骨折的风险。丹麦学者对 1 717 名围绝经期妇女的调查发现,-1997G/T 基因多态性及其单倍型 3 与绝经期妇女骨量变化密切相关,且这种影响会持续到绝经 10 年以后<sup>[26]</sup>。Jin 等<sup>[27]</sup>研究发现,COL1A1 基因 rs1107946, rs2412298, rs1800012 基因多态性与骨质疏松的基因表型有关,其中 Sp1 结合位点多态性,即 rs1800012 基因的表达会降低骨密度从而增加骨折的风险,但具体机制还有待证实。

## 6 小结

骨质疏松是一种全身性疾病,其患病率的增加与人口老龄化密切相关。目前对于骨质疏松发生机

制及其影响因素尚不明确,还需要大量的实验进一步证实。本文所述的几种影响因素是目前研究较多的,更清楚的作用途径以及更多重要的影响因素还有待进一步研究,从而为骨质疏松提供更多的防治手段。

## 参 考 文 献

- [1] Arasu A, Cawthon PM, Lui LY, et al. Serum sclerostin and risk of hip fracture in older Caucasian women[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(6):2027-2032.
- [2] Li C, Ominsky MS, Tan HL, et al. Increased callus mass and enhanced strength during fracture healing in mice lacking the sclerostin gene[J]. *Bone*, 2011, 49(6):1178-1185.
- [3] Wijanayaka AR, Kogawa M, Lim HP, et al. Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a RANKL-dependent pathway [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e25900.
- [4] Bonewald LF. The amazing osteocyte[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(2):229-238.
- [5] Genetos DC, Toupadakis CA, Raheja LF, et al. Hypoxia decreases sclerostin expression and increases Wnt signaling in osteoblasts [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(2):457-467.
- [6] Lin C, Jiang X, Dai Z, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(10):1651-1661.
- [7] Yu EW, Kumbhani R, Siwila-Sackman E, et al. Acute decline in serum sclerostin in response to PTH infusion in healthy men[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(11):E1848-E1851.
- [8] Ominsky MS, Vlasseros F, Jollette J, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increased bone formation, bone mineral density, and bone strength[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(5):948-959.
- [9] McDonald MM, Morse A, Mikulec K, et al. Inhibition of sclerostin by systemic treatment with sclerostin antibody enhances healing of proximal tibial defects in ovariectomized rats [J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(10):1541-1548.
- [10] Luo J, Zhou W, Zhou X, et al. Regulation of bone formation and remodeling by G-protein-coupled receptor 48 [J]. *Development*, 2009, 136(16):2747-2756.
- [11] Kajimura D, Hinoi E, Ferron M, et al. Genetic determination of the cellular basis of the sympathetic regulation of bone mass accrual[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(4):841-851.
- [12] Wang W, Lian N, Ma Y, et al. Chondrocytic Atf4 regulates osteoblast differentiation and function via Ihh[J]. *Development*, 2012, 139(3):601-611.
- [13] Horiguchi M, Koyanagi S, Okamoto A, et al. Stress-regulated transcription factor ATF4 promotes neoplastic transformation by suppressing expression of the INK4a/ARF cell senescence factors [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(2):395-401.
- [14] Huang Z, Ren PG, Ma T, et al. Modulating osteogenesis of mesenchymal stem cells by modifying growth factor availability [J]. *Cytokine*, 2010, 51(3):305-310.
- [15] Chen G, Deng C, Li YP. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(2):272-288.



- [16] Papathanasiou I, Malizos KN, Tsezou A. Bone morphogenetic protein-2-induced Wnt/beta-catenin signaling pathway activation through enhanced low-density-lipoprotein receptor-related protein 5 catabolic activity contributes to hypertrophy in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(2): R82.
- [17] Tang N, Song WX, Luo J, et al. BMP-9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitors requires functional canonical Wnt/beta-catenin signalling[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B): 2448-2464.
- [18] Kamiya N, Ye L, Kobayashi T, et al. BMP signaling negatively regulates bone mass through sclerostin by inhibiting the canonical Wnt pathway[J]. *Development*, 2008, 135(22): 3801-3811.
- [19] Egermann M, Lill CA, Griesbeck K, et al. Effect of BMP-2 gene transfer on bone healing in sheep[J]. *Gene Ther*, 2006, 13(17): 1290-1299.
- [20] Gruodyte R, Jürimäe J, Saar M, et al. The relationships among bone health, insulin-like growth factor-1 and sex hormones in adolescent female athletes[J]. *J Bone Miner Metab*, 2010, 28(3): 306-313.
- [21] Lloyd SA, Simske SJ, Bogren LK, et al. Effects of combined insulin-like growth factor 1 and macrophage colony-stimulating factor on the skeletal properties of mice[J]. *In Vivo*, 2011, 25(3): 297-305.
- [22] Breen ME, Laing EM, Hall DB, et al. 25-hydroxyvitamin D, insulin-like growth factor-I, and bone mineral accrual during growth[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(1): E89-E98.
- [23] Lombardi G, Di Somma C, Vuolo L, et al. Role of IGF-I on PTH effects on bone[J]. *J Endocrinol Invest*, 2010, 33(7 Suppl): 22-26.
- [24] Chen L, Jiang W, Huang J, et al. Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) potentiates BMP-9-induced osteogenic differentiation and bone formation[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(11): 2447-2459.
- [25] Husted LB, Harsløf T, Gonzalez-Bofill N, et al. Haplotypes of promoter and intron 1 polymorphisms in the COL1A1 gene are associated with increased risk of osteoporosis[J]. *Calcif Tissue Int*, 2009, 84(2): 85-96.
- [26] González-Bofill N, Husted LB, Harsløf T, et al. Effects of COL1A1 polymorphisms and haplotypes on perimenopausal bone mass, postmenopausal bone loss and fracture risk[J]. *Osteoporos Int*, 2011, 22(4): 1145-1156.
- [27] Jin H, Evangelou E, Ioannidis JP, et al. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies[J]. *Osteoporos Int*, 2011, 22(3): 911-921.

(收稿日期: 2013-09-10)

(上接第 98 页)

- leptin, adiponectin, bone mineral density, and measures of adiposity among pre-menopausal Hispanic and Caucasian women[J]. *Endocr Res*, 2010, 35(3): 106-117.
- [21] Muruganandan S, Roman AA, Sinal CJ. Role of chemerin/CMKLR1 signaling in adipogenesis and osteoblastogenesis of bone marrow stem cells[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(2): 222-234.
- [22] Muruganandan S, Dranse HJ, Rourke JL, et al. Chemerin neutralization blocks hematopoietic stem cell osteoclastogenesis[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(10): 2172-2182.
- [23] Zhang H, Xie H, Zhao Q, et al. Relationships between serum adiponectin, apelin, leptin, resistin, visfatin levels and bone mineral density, and bone biochemical markers in post-menopausal Chinese women[J]. *J Endocrinol Invest*, 2010, 33(10): 707-711.
- [24] Xie H, Xie PL, Luo XH, et al. Omentin-1 exerts bone-sparing effect in ovariectomized mice[J]. *Osteoporos Int*, 2012, 23(4): 1425-1436.
- [25] Xie H, Xie PL, Wu XP, et al. Omentin-1 attenuates arterial calcification and bone loss in osteoprotegerin-deficient mice by inhibition of RANKL expression[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 92(2): 296-306.
- [26] Assadi M, Salimipour H, Akbarzadeh S, et al. Correlation of circulating omentin-1 with bone mineral density in multiple sclerosis: the crosstalk between bone and adipose tissue[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24240.
- [27] Zhu X, Jiang Y, Shan PF, et al. Vaspurin attenuates the apoptosis of human osteoblasts through ERK signaling pathway[J]. *Amino Acids*, 2013, 44(3): 961-968.
- [28] Kamio N, Kawato T, Tanabe N, et al. Vaspurin attenuates RANKL-induced osteoclast formation in RAW264.7 cells[J]. *Connect Tissue Res*, 2013, 54(2): 147-152.
- [29] Li Y, He X, Li Y, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) affects the lineage fate determination of mesenchymal stem cells: a possible cause for reduced osteogenesis and increased adipogenesis in older individuals[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(11): 2656-2664.
- [30] Moschen AR, Geiger S, Gerner R, et al. Pre-B cell colony enhancing factor/NAMPT/visfatin and its role in inflammation-related bone disease[J]. *Mutat Res*, 2010, 690(1-2): 95-101.

(收稿日期: 2013-09-10)