

## 综述

## 细胞因子的破骨作用

上海市第八人民医院(200233) 朱建民 金宗达

本文主要讨论某些细胞因子的破骨作用。

单核和淋巴细胞因子:许多研究显示,免疫细胞参与生理或病理性骨重建过程,例如在人和某些动物的骨质石化病中,T-淋巴细胞的功能是缺陷的。而在免疫细胞功能异常的情况下,破骨细胞的分化也可发生缺陷。免疫细胞及其产物也与某些病理性骨吸收有关,例如骨恶性肿瘤和类风湿关节炎病变。许多年前人们就发现丝裂原(mitogen)或抗原可刺激正常人周围血液中单核细胞产生某些细胞活性物质,并称这类活性物质为“破骨细胞激活因子”(OAF)。目前的研究证实,这种OAF活性物质就是IL-1。此外,TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 也可能是白细胞源性骨吸收刺激因子。IL-1和TNF均可促进骨细胞产生PGE<sub>2</sub>,这种内源性前列腺素具有细胞因子诱导骨吸收作用<sup>[1]</sup>。

细胞因子间的相互作用、细胞因子和骨激素间的相互作用在调节骨吸收方面也起着很重要的作用,例如低浓度IL-1可协同PTH或TNF促进骨吸收,同时可促进内源性前列腺素合成。IL-1和TNF也可通过其他方式促进骨吸收,如IL-1可增强表皮细胞生长因子(下简称EGF)或 $\alpha$ -转化生长因子(下简称TGF- $\alpha$ )刺激骨吸收活性。某些研究显示,IL-1和TNF可诱导破骨细胞活性,但它们的诱导活性又可能受到破骨细胞或其他骨中间细胞的影响,降钙素则可阻断它们的活性。此外,IL-1和TNF并不直接影响破骨细胞分化,在长期骨髓的培养中,它们只刺激破骨细胞的形成<sup>[2]</sup>。由此可见,IL-1和其他细胞因子在结缔组织重建失调和炎性病变(如类风湿关节炎)中具有明显作用。目前认为,IL-1(类风湿病可产生IL-1)具有刺激滑膜成纤维细胞合成胶原酶和其他蛋白水解酶的能力,从而破坏关节软骨,使软骨类风湿病相互融合扩大。一般情况下,胶原酶只局限在正常和佝偻病鼠的生长终板之中,胶原酶的出现意味着肥厚带内有软骨基质丧失。也说明在基质钙化过程中存在着一种胞浆素依赖性蛋白水解酶系统(Plasmin-dependent proteolytic system)可参与激活某些潜隐中性金属蛋白水解酶(latent neutral metalloproteinases),并在骨吸收激素的作用下,破骨细胞可产生血浆纤维蛋白溶酶元激活因子,至于胶原酶和其他中性蛋白水

解酶是否直接参与骨吸收尚不清楚。

在中性pH下,胶原酶具有分解胶原特异部位的能力。但在生理性骨重建过程中,破骨细胞的骨吸收作用则发生在低pH环境中。半胱氨酸蛋白水解酶(如组织蛋白水解酶B、L和N)在低pH条件下具有降解胶原的能力,并在破骨细胞的皱褶缘内发现了溶酶体和吸收陷窝。破骨细胞释放这些蛋白水解酶可为生理性骨重建过程中骨基质分解提供基础。采用特异蛋白水解酶抑制剂的体内和体外研究也证明了这一点。类风湿关节炎病人的炎性滑膜可释放一些细胞因子,这些细胞因子可刺激破骨细胞释放一些酸性蛋白水解酶,从而导致骨吸收和软骨钙化增加。<sup>[3]</sup>

现在认为,破骨细胞并不合成和缓放胶原酶,但对于小鼠颅骨和长骨的研究显示,其他细胞可合成胶原酶。在胚胎或新生鼠、鼠和家兔浓缩破骨细胞和子鼠骨的培养中,一些破骨样细胞群可释放胶原酶,并发现PTH或IL-1可刺激破骨样细胞释放胶原酶。但在从人骨小梁中分离出来的破骨细胞,即使在IL-1存在的情况下,尽管可产生大量的PGE<sub>2</sub>,但也无产生胶原酶的活性<sup>[4]</sup>。有人认为,这种破骨细胞不分泌胶原酶的原因可能是破骨细胞内产生了大量的金属蛋白水解酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases-T.I.M.P.)所致。但目前人们对人破骨细胞的研究显示,即使在IL-1存在的条件下,也无胶原酶mRNA的表达。这些研究说明,在成年期骨重建过程中,胶原酶并不起任何作用,但在骨发育某个时期,胶原酶可能起着一定的作用<sup>[5]</sup>。

众所周知,在炎性(如类风湿关节炎)或退行性关节病变的软骨吸收过程中,胶原酶可能起着极其重要的作用。完整软骨、软骨细胞和滑膜细胞培养显示,IL-1和TNF可刺激产生胶原酶。IL-1也可刺激软骨细胞和滑膜成纤维细胞的基质溶解酶(stromelysin)和血浆纤维蛋白溶酶元激活因子的表达<sup>[6]</sup>。基质溶解酶具有广泛的底物特异性<sup>[7]</sup>,血浆纤维蛋白溶酶元激活因子可激活潜隐性前胶原酶,这时IL-1即可诱导软骨吸收,但这两种蛋白水解酶对于骨和钙化软骨的吸收作用尚不清楚<sup>[8]</sup>。

在许多细胞因子中,r-干扰素(T简称IFN-r)可

能具有骨吸收抑制作用，但它的作用是有选择性的，因为IL-1、TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 可增强IFN- $\gamma$ 骨吸收抑制作用；而1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 或PTH却没有这种作用。另外，IFN- $\gamma$ 可阻断游离鼠颅骨破骨细胞产生胶原酶，且1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 、PTH、PGE $_2$ 和EGF具有促进作用，而IL-1和TNF- $\alpha$ 则无此作用。在骨髓培养过程中，IFN- $\gamma$ 还可抑制破骨细胞形成，且可通过对破骨细胞分化和功能活动的影响来调节骨吸收过程。<sup>[11]</sup>

$\beta$ -转化生长因子和其他生长因子；许多生长因子刺激骨形成时也可增加骨吸收。采用<sup>45</sup>Ca预先标记骨和定量分析钙释放技术测定培养胎儿或新生儿颅骨成长骨吸收变化，也可采用长期骨髓培养技术使骨髓细胞诱导形成溶骨性巨细胞来研究一些生长因子对破骨细胞分化的作用。研究显示，成纤维细胞生长因子（下简称FGF）和IGF-I均有骨吸收作用。在骨器官培养中，它们可刺激胶原和DNA的合成。其中FGF具有促进成纤维细胞胶原酶mRNA表达，促进软骨细胞在IL-1的作用下释放中性蛋白水解酶。EGF、TGF- $\alpha$ 和血小板源性生长因子（下简称PDGF）均可刺激骨吸收，在新生儿鼠颅骨培养中，它们调节骨吸收的作用依赖于前列腺素的存在。而在胚胎鼠长骨中，IGF- $\alpha$ 和EGF刺激骨吸收作用则依赖于前列腺素的合成，且IL-1具有促进作用。TGF- $\alpha$ 和EGF还可使小鼠血浆钙浓度升高，在长期骨髓培养中并可刺激破骨样细胞形成，但需要1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 的参与。由此可见，TGF- $\alpha$ 和EGF通过促进原始破骨细胞的增殖和分化可调节骨吸收。研究还显示，在高钙血症中某些骨恶性病变中，一些生长因子如TGF- $\alpha$ 和IL-1与溶骨性破坏密切相关<sup>[3,9]</sup>。

TGF- $\beta$ 的骨吸收作用是复杂的，在颅骨中，TGF- $\beta_1$ 和TGF- $\beta_2$ 均可刺激骨吸收，但在胎鼠长骨中则无这一效应，这可能与TGF- $\beta_1$ 和TGF- $\beta_2$ 抑制了IL-1和1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 诱导的骨吸收作用有关。在长期骨髓培养中，TGF- $\beta$ 抑制破骨细胞形成，但在骨器官培养模型中只有短暂的抑制作用。研究显示，TGF- $\beta$ 具有短暂的抑制胶原酶和基质溶解酶表达和促进金属蛋白水解酶组织抑制因子的表达作用，从而认为TGF- $\beta$ 具有骨吸收抑制作用<sup>[10]</sup>。将小鼠颅骨与PTH、1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 或IL-1一起培养，可增强TGF- $\beta$ 活性，且骨吸收也增加。若采用降钙素处理后可降低TGF- $\beta$ 活性。研究结果显示，TGF- $\beta$ 通过对成骨细胞和破骨细胞分化和活性的影响可导致骨吸收和骨形成的耦合作用<sup>[11]</sup>。

造血生长因子：造血生长因子是在研究糖蛋白激

素调节原始造血细胞增殖和分化过程中发现的。人或小鼠骨髓培养研究显示，粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（下简称GM-CSF）和含量较高的集落因子-1（下简称CSF-1，又称巨噬细胞集落因子M-CSF）可促进多核巨细胞的形成和破骨细胞的表型特征。如果在培养基中加入1.25(OH) $_2$ -D $_3$ ，CSF则可增强这一效应。而经过1.25(OH) $_2$ -D $_3$ 处理的周围血细胞培养中，某些细胞因子如TGF- $\alpha$ 、EGF、IL-1和PTH并不促进多核细胞的形成。由于多核巨细胞的表型与多核巨噬细胞和破骨细胞非常相似，从而认为，在周围血细胞和骨髓培养中，这些细胞因子具有促进细胞分化作用<sup>[12]</sup>，许多结缔组织细胞包括破骨细胞可产生CSFs，而TNF和IL-1可刺激CSFs mRNA的表达。PTH和脂多糖（lipopolysaccharide）可诱导游离小鼠颅骨成骨细胞和鼠成骨肉瘤细胞株ROS17/2.8产生GM-CSF<sup>[13]</sup>，而破骨细胞则产生M-CSF。除了成骨作用外，在某些因子如PTH、IL-1和TNF的作用下，成骨细胞也可间接参与骨吸收过程，同时伴有CSFs释放增加，从而促进破骨细胞分化和增殖。同样，骨吸收过程中基质分解所释放的一些细胞因子如TGF- $\beta$ 又可反馈作用于骨形成细胞<sup>[14]</sup>。

参考文献

1. Gospodarowicz D. Fibroblast growth factor. Clin Orthop 1990; 257:231.
2. Bonnewald LF, et al. Bone growth factors. Clin Orthop 1990; 257:261.
3. Einhorn TA, et al. Neutral proteases in regenerating bone. Clin Orthop 1991; 262:286.
4. Goldring SR, et al. Biological effects of interleukin 1 on human osteoblast like cells. J Bone Miner Res 1989; 4:257.
5. Womer RB. The cellular biology of bone tumors. Clin Orthop 1991; 262:286.
6. He C, et al. Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86:2632.
7. Bunning RAD, et al. The effect of tumor necrosis factor. Arthritis Rheum 1989; 32:780.
8. Dodge GR, et al. Immunohistochemical detection and immunochemical analysis of type II collagen degradation. J Clin Invest

起较大时也是如此。借助X线侧位片,测量突起在髓腔前后径中占据的宽度,来确定骨突起所引起的髓腔狭窄程度,狭窄程度在E<sub>1</sub>组中是34.7%±10.9( $\bar{X}$ ±SD),在E<sub>2</sub>组中是42.8%±12.3,在E<sub>3</sub>组中是46.4%±13.9。E<sub>1</sub>组和E<sub>3</sub>组的结果明显不同(P<0.05,t检验),表明骨突起随时间的延长而增长。

在对照组中,小鼠的正位和侧位X光片中均未见异常阴影。

组织学所见:1.黄韧带:在E<sub>1</sub>组中,可见黄韧带肥大。两个新形成的骨性突起从邻近椎板的腹侧面向髓腔内突起,与硬脊膜发生粘连并压迫脊髓。在骨突起的头尾部之间可见到纤维和软骨组织。在肥大的黄韧带腹侧骨化更加明显,而背侧出现了变性,其胶原纤维呈不规则的玻璃样变,弹性纤维也有部分破坏。

在E<sub>2</sub>组和E<sub>3</sub>组中,软骨内骨化更加明显。骨化沿肥大韧带进一步延伸,但头、尾部没有完全连接。它们之间有一些嵌插的纤维和软骨组织。在背层原始黄韧带的残余部分内,弹性纤维减少,并散在于新生的纤维软骨组织内。

在对照组中,韧带的纤维结构完整,未见新骨和软骨形成。

2.脊髓:在E<sub>1</sub>组中,脊髓因骨化的黄韧带压迫而变形。尽管如此,脊髓几乎没有变性。

在E<sub>2</sub>、E<sub>3</sub>组中,脊髓严重变形。在中等变形的标本中,白质后索和侧索可见脱髓鞘现象,白质前索却未见到。在前角,灰质完整,无神经元减少及染色质溶解现象发生。在严重变形的标本中,灰质和白质均有变性,在白质后索和侧索中有明显的髓鞘脱落和轴

突纤维丧失,但在白质前索中很少见髓鞘脱落。在前角也可见到神经元缺失和染色质溶解。E<sub>3</sub>组的脊髓变性较E<sub>1</sub>组的一般要严重得多。

在对照组中,脊髓未发生变形或变性。

### 讨 论

黄韧带骨化最先是由Polgar (1929年)报道的。正如 Yamaguchi, Tamagake和Fujita (1960)所描述的那样,它被视为一种胸部脊髓病的重要原因。有几篇报导讨论了OLF的病理、诊断和治疗,但其发生原因仍不清楚。

Okada等(1991年)详细描述了OLF的病理:黄韧带丧失了正常的纤维结构,并被含有大量纤维软骨细胞的肥大纤维组织所代替。OLF是由沿肥大韧带腹侧发展的软骨内骨化所引起。

本研究显示:动物模型的病理学变化与 Hattori等报道的人类情况极为相似。在小鼠体内,BMP在黄韧带中诱导产生的损害同人类患者的OLF非常相似,提示BMP可能是某些自发性疾病、黄韧带骨化、强直性脊柱骨质增生症和前纵韧带骨化的起因。然而,本研究所使用的BMP并未完全纯化,其中可能含有一些污染物如转化性生长因子β (TGF-β),有人认为它可能是一种软骨-骨生长因子,因此TGF-β在骨化过程中起了部分作用。

虽然在实验动物中未出现神经学症状,但有脊髓的缓慢受压和变形,从而导致脊髓的组织学改变,因此本实验模型可能适合于慢性压迫引起的脊髓病方面的研究。为了弄清脊髓病的病理机制,进一步研究是必要的。

(上接46页)

1989; 83:647.

9. Yan I, et al. Some recombinant human cytokines stimulate glycosaminoglycan synthesis. Chin Orthop 1990; 259:233.

10. O'Conner MI, et al. Ewing's sarcoma. Clin Orthop 1991; 262:78.

11. Overall CM, et al. Independent regulation of collagenase. J Biol Chem 1989; 264:1860.

12. Takahashi N, et al. Osteoclast-Like cells

form in long-term human bone marrow. J Clin Invest 1989; 83:543.

13. Horowitz MC, et al. Parathyroid hormone and Lipopolysaccharide induce murine osteoblast-like cells to secrete a cytokine. J Clin Invest 1989; 83:149.

14. Weir EY, et al. Osteoblast-like cells secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Endocrinology 1989; 124:899.