

雌激素缺乏在 PMO 发病中的作用机制研究进展

李立军 综述,倪东旭 审校

(天津医科大学第二医院骨科,天津 300211)

摘要 绝经后骨质疏松症(PMO)是由于女性雌激素缺乏骨重塑失衡引起的骨量减少、骨折风险增加的一种骨骼疾病。大量研究已证实,雌激素缺乏在 PMO 的发生、发展中发挥主要作用。雌激素缺乏通过雌激素受体的介导,调控下游通路以及破骨与成骨;雌激素作为抗氧化剂,调控骨微环境中氧化应激状态以及骨重塑;雌激素缺乏还能通过调控 T 细胞和 B 细胞的激活诱发免疫反应,调控骨重塑。以上雌激素缺乏引起的多重机制联合作用在骨重塑中发挥重要的调控作用。通过对绝经后骨质疏松症多种发病机制的研究,可进一步加深临床医生对 PMO 的认知,并为寻找新的治疗方法提供思路。

关键词 绝经后骨质疏松症;雌激素受体;氧化应激;免疫反应

中图分类号 R363

文献标志码 A

近年来,骨质疏松症已成为危害老年人健康的重大公共卫生问题。我国 50 岁以上女性人群骨质疏松症患病率为 20.7%,60 岁以上女性人群骨质疏松症患病率明显增加^[1]。中年女性骨质流失的主要危险因素是绝经期的到来,特别是在绝经期后的最初 5 年骨量丢失极快,是骨质疏松的高发期。绝经后骨质疏松症(PMO)是由于女性雌激素缺乏介导的骨质疏松症。雌激素缺乏通过多重机制调控骨重塑,包括通过雌激素受体(ER)调控成骨细胞、破骨细胞的增殖及活性;通过激活氧化应激,在骨微环境中调控细胞内信号的传递,调节许多基本的细胞过程^[2],如增殖、分化、凋亡;通过调节 T 细胞和 B 细胞的激活和调节骨转换的细胞因子的产生,诱发免疫反应,调控骨重塑^[3]。因此,本综述旨在概述雌激素缺乏对骨重塑的直接调控机制以及雌激素缺乏诱发氧化应激和免疫反应调控骨重塑的机制。

1 雌激素对骨重塑的直接调控作用

骨骼是一个动态的结构,是由不断重复并相互耦联的骨吸收和骨形成过程维持,即“骨重塑”^[4]。雌激素是骨稳态的重要调节因子。其通过两种受体发挥作用,即 ER α 和 ER β 。ER α 在骨代谢调节中更为重要。雌激素通过与 ER α 结合,诱导成骨细胞中 Fas 配体(FasL)的转录,激活破骨细胞 Fas/ FasL 通路,同时,雌激素增加了基质金属蛋白酶 3(MMP3)的转录,FasL 被 MMP3 从细胞表面分裂,形成可溶性 FasL,从而诱导破骨细胞凋亡^[4]。雌激素通过与 ER α 结合,促进间充质干细胞(MSCs)向成骨细胞前体细

胞的方向增殖和分化,同时增加成骨细胞的活性。

在生理条件下,骨重塑特别是骨吸收到核因子 κ B 受体活化因子-核因子 κ B 受体活化因子配体-骨保护素(RANK-RANKL-OPG)信号通路的严格调控。据报道,雌激素可同时增加 OPG 和 RANKL 的表达,但与 RANKL 相比,OPG 表达持续的时间更长,从而导致更大的 OPG/RANKL 比值^[5]。雌激素缺乏将降低 OPG/RANKL 比值,导致破骨细胞活性增加,破骨增多。

骨重塑开始于破骨细胞对骨的重吸收。长期以来骨内衬细胞一直被认为是雌激素调控骨吸收的“守门人”,可直接控制破骨细胞的骨吸收^[6]。OVX 大鼠及小鼠实验研究显示,雌激素主要通过靶向骨内衬细胞中 RANKL 的表达来调节骨代谢,在雌激素缺乏状态下观察到的骨吸收增加主要是由于 ER α 介导的对骨内膜细胞中 RANKL 表达的抑制作用减弱所致。实验表明,雌激素主要通过以 ER α 依赖的方式,调节骨内衬细胞中 RANKL 的表达,从而调节骨转换^[6]。

2 雌激素缺乏与氧化应激

2.1 骨重塑中的氧化应激 氧化应激是指由于活性氧簇(ROS)的产生和抗氧化反应之间的不平衡,过量的自由基压倒了机体的正常抗氧化能力,造成脂质氧化、细胞膜结构改变、蛋白质和核酸氧化,导致细胞的损伤,最终影响细胞功能^[7-8]。ROS 的积累已被确定为雌激素缺乏诱导的骨丢失的重要通路。有研究报道,绝经后妇女血清丙二醛(MDA)、4-羟基烯醛和氧化脂蛋白水平高于育龄妇女,提示绝经后妇女体内氧化应激水平升高^[9]。ROS 是一种高活性分子,由多种化学物质组成,包括自由基氧和非自由基氧,如超氧化物、过氧化氢和羟基自由基。在

基金项目 国家自然科学基金(81702110);天津市科技计划项目(19KJXMR00020)

作者简介 李立军(1977-),男,副主任医师,硕士,研究方向:骨质疏松,骨质疏松脆性骨折,关节、脊柱疾病;E-mail: lilijun6208@qq.com。

这些物质中,过氧化氢的氧化活性和稳定性最高,可能在细胞内信号的传递中发挥重要作用,如增殖、分化、凋亡、修复过程和炎症^[2]。

氧化应激及其诱导的分子和细胞机制被认为是骨质疏松的重要发病机制,在骨丢失中发挥关键作用。氧化应激可改变骨重塑过程,导致破骨细胞和成骨细胞活性的不平衡,这可能导致骨质疏松和代谢性骨疾病。骨稳态依赖于不同骨骼细胞功能之间的平衡,氧化应激被认为是影响骨稳态和骨密度的一个重要因素。氧化还原状态的变化也与骨重塑过程有关,骨重塑过程通过骨细胞、成骨细胞、破骨细胞的协同作用实现骨再生。ROS诱导成骨细胞和骨细胞凋亡,有利于破骨的发生,抑制矿化和骨的形成。过度的骨细胞凋亡与氧化应激相关,导致破骨细胞生成的失衡,从而导致骨重塑和骨丢失的周转率增加^[2]。

2.2 雌激素缺乏增加ROS的产生 雌激素具有抗氧化作用,可阻止过多ROS的产生。绝经后女性雌激素水平下降,可能导致细胞内还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶的增加。NADPH氧化酶是一种完整的膜蛋白,可使电子从膜一侧的NADPH传递到另一侧,传递到氧气上,产生过氧化氢。NADPH氧化酶家族包含7种亚型,其中NOX4是体内ROS的重要来源^[9]。现已证实转化生长因子 β (TGF β)是一种NOX4表达的强诱导剂。

另一项研究显示,雌激素通过对p66shc的影响,调控ROS的产生。p66shc是shcA适配器蛋白家族的一种亚型,在线粒体ROS(mtROS)的生成中发挥关键作用,p66shc能够放大线粒体产生ROS的作用^[10]。P66shc通过蛋白激酶C(PKC) β 的磷酸化而被激活。研究发现,雌激素可以阻断PKC β 磷酸化p66shc的能力,从而限制ROS的产生。雌激素缺乏状态下,p66shc的活性增强,从而使线粒体ROS的产生增多。因此,在雌激素缺乏的情况下,由于线粒体和(或)过氧化物酶体产生更多的ROS,或抗氧化系统的有效性降低,或两者兼有,最终造成细胞的氧化状态^[11]。

2.3 ROS在破骨细胞增殖中发挥重要作用 ROS可作为第二信使参与核因子- κ B、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和 Ca^{2+} 介导的信号通路^[12]。有证据表明,ROS通过介导了核因子 κ B抑制因子(I κ B α)的磷酸化和降解,激活核因子- κ B,而不是通过过氧化氢直接激活核因子- κ B的表达,促进破骨细胞增殖。在破骨细胞中,主要是由过氧化氢介导MAPK的激活,促进破骨细胞增殖。ROS通过几种不同的

方式影响细胞内腔室中 Ca^{2+} 存储的动员。ROS介导的信号通路诱导活化T-细胞核因子1(NFATc1)的初始激活,在低水平转录破骨细胞特异性基因,产生早期的破骨细胞分化。破骨细胞分化后期,在早期分化中最初被激活的通路仍然存在,ROS的产生在此时达到峰值,于此同时细胞 Ca^{2+} 水平达到高值。ROS的增加最终导致NFATc1的自动扩增以及大量基因和破骨细胞特异性基因的转录增加,促进破骨细胞的持续增殖^[13]。

3 雌激素缺乏与免疫反应

3.1 雌激素缺乏的促炎作用机制 大量证据表明,雌激素缺乏引起机体免疫功能改变,体内多种细胞因子介导的免疫反应加剧^[6]。绝经后妇女通常经历的潮热及体重增加均与低级别全身炎症相关,表现为较高水平的循环白细胞介素(IL)-8和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[14]。没有其他促炎疾病的绝经后妇女的IL-1、IL-6和TNF- α 水平高于绝经前妇女^[15]。

在T淋巴细胞中,CD4⁺T细胞表达的ER α 水平高于ER β ,而B淋巴细胞表达的ER β 水平高于ER α 。雌激素调控T细胞和B细胞中的作用主要是由ER α 介导的,尽管B细胞中ER β 的表达较高^[16]。

在炎症过程中,免疫系统的细胞,如T细胞、B细胞、巨噬细胞或树突状细胞,被激活并产生炎症细胞因子,这是骨免疫学中最重要介质之一。部分细胞因子刺激破骨细胞,也有些细胞因子具有抗破骨细胞作用^[17]。活化的T细胞产生骨吸收细胞因子,如TNF- α 和RANKL是破骨细胞发生的主要刺激因子。活化的T细胞在骨质疏松症的发生中起重要作用^[17-18]。

有证据表明,B细胞直接参与了骨吸收的调节,是RANK/RANKL/OPG系统的活跃调节因子^[19]。B细胞系,而不是成骨细胞系,可能是骨微环境中OPG的主要来源,另一方面,最近已经证明B细胞被激活后能够过表达RANKL^[3]。T细胞通过共刺激分子CD40L和CD40向B细胞发出信号,调控破骨细胞形成,调节骨稳态^[3]。

3.2 免疫反应对破骨细胞的影响 雌激素缺乏通过下调基质细胞产生的TGF- β ,间接调节T细胞中TNF- α 和 γ -干扰素(INF- γ)的产生^[16]。此外,雌激素缺乏通过增加IL-7的产生,上调T细胞INF- γ 和TNF- α 的分泌^[16,20]。对于T细胞亚群,雌激素可减弱IL-17和RANKL分泌辅助性T细胞(Th17),同时诱导调节性T淋巴细胞(Treg细胞)中FOXP3的表达,刺激TGF- β 、IL-4和IL-10的活性和分泌^[16]。雌激素缺乏上调TNF- α 产生的另一种解释是通过

刺激编码Ⅱ类反激活因子(CⅡTA)的基因,增加巨噬细胞中MHCⅡ的呈递,从而激活T细胞分泌TNF- α ^[16]。

TNF- α 间接诱导破骨细胞形成,刺激骨髓基质细胞产生RANKL和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF),间接增加破骨细胞的生成^[21]。TNF- α 还与RANKL协同作用,通过增加破骨细胞前体的RANK表达,从而改善破骨细胞的发生^[22]。TNF- α 还能减少成骨细胞OPG的释放,从而间接刺激破骨细胞的发育和功能^[17]。

IFN- γ 对破骨细胞分化的作用有争议,因为它可以抑制或刺激破骨细胞的形成。IFN- γ 可以通过诱导TNF受体相关因子6(TRAF6)等蛋白的降解,或通过避免细胞分化,来阻断RANK介导的破骨细胞激活^[16,23]。然而,IFN- γ 也可以通过诱导T细胞产生RANKL和TNF- α 来间接刺激破骨细胞的发生^[24]。

IL-7是骨髓和胸腺基质细胞产生的细胞因子,通过直接和间接的作用刺激破骨细胞形成。IL-7通过与破骨细胞前体中的IL-7R结合,并通过信号转导与转录激活因子(STAT)5促进破骨细胞的形成^[25]。IL-17是主要由人类Th17产生的细胞因子,是T细胞亚群(Th17细胞、CD4⁺T细胞)的标志性细胞因子,它通过上调RANKL来诱导的OCs形成,促进骨吸收^[3,17]。

还有其他的细胞因子,如IL-6、IL-11、IL-15和IL-17参与雌激素缺乏介导的骨丢失,单独或相互协同作用,参与甚至独立于RANKL/RANK发挥作用。

3.3 免疫反应对成骨细胞的影响 免疫系统对成骨的调控作用还没有完全明确。细胞因子IL-1、IL-17、TNF- α 和IFN- γ 对成骨细胞分化的作用存在着相互矛盾的结果^[26]。有研究发现,细胞因子IL-6也可以通过抑癌素M(OSM)-STAT3信号通路诱导成骨,提示一定水平的炎症可以启动成骨细胞分化^[26]。此外,在体外细胞实验发现,激活IFN- γ 和TNF- α 后,MSCs的旁分泌作用显著改变,IL-6、肝细胞生长因子、血管内皮生长因子和TGF- β 的分泌水平显著升高,促进成骨细胞的增殖和迁移,并刺激成骨细胞的成熟和矿化^[27]。

MSCs和巨噬细胞之间的细胞间接触导致前列腺素E₂(PGE₂)的产生,并通过巨噬细胞上的EP2/4受体诱导OSM的产生。OSM通过MSC上的OSM和白血病抑制因子(LIF)受体激活STAT3磷酸化,并启动成骨细胞分化基因程序。STAT3信号通路也会导致OSM受体的上调,以放大其作用^[28]。PGE₂已被证明可直接促进成骨细胞分化。随着巨噬细胞从

M1到M2的极化,从M1介导的炎症微环境到M2介导的再生微环境的转化,这种转化是骨形成的必需部分^[29]。

M2巨噬细胞来源的因子,如BMP2和TGF- β ,可促进成骨细胞分化并增加骨矿化^[26]。细胞因子IL-23、IL-17、TNF和TGF- β ,这些因子与基质和造血前体细胞接触,通过骨细胞的转录激活来促进骨形成^[30]。一些促炎细胞因子包括TNF和IL-23调控NFATc1的激活。虽然破骨细胞中的NFATc1会诱导成骨细胞的骨丢失,当小鼠表达NFATc1变异体(NFATc1nuc)时,发展为诱导骨形成^[30]。

3 结语

更年期导致的雌激素减少给女性带来了生理上的挑战,因为雌激素的快速减少,雌激素对骨骼保护作用显著减弱。骨质疏松带来了脆性骨折的风险,导致绝经后女性椎体、髋关节和其他部位受到轻微损伤而发生脆性骨折的风险明显增高。雌激素缺乏通过诱发多重机制联合作用引起骨重塑的失衡。相应的骨重塑的不利变化偏向于骨吸收的增加,是引起绝经后骨质疏松症的主要因素。这些机制是进行干预的潜在途径。例如,抑制破骨细胞的药物、促进成骨活性的药物、激素替代疗法以及具有抗氧化剂和抗炎活性的植物雌激素,都是预防绝经后骨质疏松症的有效方法。随着科学研究的持续深入,未来会逐步揭示绝经后骨质疏松症发生、发展更深层次的分子生物学机制,为新的药物研发及骨质疏松治疗提供精准治疗靶点。

参考文献:

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(3): 281-309.
- [2] DOMAZETOVIC V, MARCUCCI G, IANTOMASI T, et al. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants[J]. Clin Cases Miner Bone Metab, 2017, 14(2): 209-216.
- [3] D'AMELIO P. The immune system and postmenopausal osteoporosis[J]. Immunol Invest, 2013, 42(7): 544-554.
- [4] KHALID A B, KRUM S A. Estrogen receptors alpha and beta in bone[J]. Bone, 2016, 87: 130-135.
- [5] MOHAMAD N V, IMA-NIRWANA S, CHIN K Y. Are oxidative stress and inflammation mediators of bone loss due to estrogen deficiency? A review of current evidence[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(9): 1478-1487.
- [6] STREICHER C, HEYNY A, ANDRUKHOVA O, et al. Estrogen regulates bone turnover by targeting rankl expression in bone lining cells[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6460.
- [7] GUTTERIDGE J M C, HALLIWELL B. Mini-review: oxidative stress, redox stress or redox success?[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 502(2): 183-186.

(下转第576页)

acid cycle intermediates in exercised very long-chain acyl-CoA dehydrogenase-deficient mice fed triheptanoin or medium-chain triglyceride[J]. *J Inher Metab Dis*, 2020, 43(6): 1232–1242.

- [30] SHIRAISHI H, YAMADA K, EGAWA K, et al. Efficacy of bezafibrate for preventing myopathic attacks in patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *Brain Dev*, 2021, 43(2): 214–219.
- [31] SEMINOTTI B, LEIPNITZ G, KARUNANIDHI A, et al. Mitochondrial

energetics is impaired in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and can be rescued by treatment with mitochondrial-targeted electron scavengers[J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(6): 928–941.

- [32] JANEIRO P, JOTTA R, RAMOS R, et al. Follow-up of fatty acid β -oxidation disorders in expanded newborn screening era[J]. *Eur J Pediatr*, 2019, 178(3): 387–394.

(2021-12-14 收稿)

(上接第 562 页)

- [8] DOMAZETOVIC V, MARCUCCI G, IANTOMASI T, et al. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants[J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2017, 14(2): 209–216.
- [9] SCHRDER K. NADPH oxidases in bone homeostasis and osteoporosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 132: 67–72.
- [10] SHIN H J, PARK H, SHIN N, et al. p66shc siRNA Nanoparticles ameliorate chondrocytic mitochondrial dysfunction in osteoarthritis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 2379–2390.
- [11] MONIQUE O, LILIAN C S, MARIA M N, et al. A long-term estrogen deficiency in ovariectomized mice is associated with disturbances in fatty acid oxidation and oxidative stress[J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2018, 40(5): 251–259.
- [12] WANG C, XIAO F, QU X, et al. Sitagliptin, an anti-diabetic drug, suppresses estrogen deficiency-induced osteoporosis in vivo and inhibits rankl-induced osteoclast formation and bone resorption in vitro[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 407.
- [13] CALLAWAY D A, JIANG J X. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases[J]. *J Bone Miner Metab*, 2015, 33(4): 359–370.
- [14] CRONIN B E, ALLSOPP P J, SLEVIN M M, et al. The effect of weight change over a 2-year period on inflammatory status in post-menopausal women[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2018, 72(3): 388–393.
- [15] ZHANG J, WANG H, YANG S, et al. Comparison of lipid profiles and inflammation in pre- and post-menopausal women with cerebral infarction and the role of atorvastatin in such populations[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 20.
- [16] UEHARA I A, SOLDI L R, SILVA M. Current perspectives of osteoclastogenesis through estrogen modulated immune cell cytokines[J]. *Life Sci*, 2020, 256: 117921.
- [17] PIETSCHMANN P, MECHTCHERIAKOVA D, MESHCHERYAKOVA A, et al. Immunology of osteoporosis: a mini-review[J]. *Gerontology*, 2016, 62(2): 128–137.
- [18] D'AMELIO P, GRIMALDI A, BELLA S D, et al. Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key

mechanism in osteoporosis[J]. *Bone*, 2008, 43(1): 92–100.

- [19] WALSH M C, CHOI Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 511.
- [20] RYAN M R, SHEPHERD R, LEAVEY J K, et al. An IL-7-dependent rebound in thymic T cell output contributes to the bone loss induced by estrogen deficiency[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(46): 16735–16740.
- [21] ZHAO B. TNF and bone remodeling[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(3): 126–134.
- [22] WEITZMANN M N. Bone and the immune system[J]. *Toxicol Pathol*, 2017, 45(7): 911–924.
- [23] TAKAYANAGI H, OGASAWARA K, HIDA S, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN- γ [J]. *Nature*, 2000, 408(6812): 600–605.
- [24] PONZETTI M, RUCCI N. Updates on osteoimmunology: what's new on the cross-talk between bone and immune system[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 236.
- [25] KIM J H, SIM J H, LEE S, et al. Interleukin-7 induces osteoclast formation via STAT5, independent of receptor activator of NF- κ B ligand[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1376.
- [26] XIAO L, XIAO Y. The autophagy in osteoimmunology: self-eating, maintenance, and beyond[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 490.
- [27] LI C, LI G, LIU M, et al. Paracrine effect of inflammatory cytokine-activated bone marrow mesenchymal stem cells and its role in osteoblast function[J]. *J Biosci Bioeng*, 2016, 121(2): 213–219.
- [28] HORWOOD N J. Macrophage polarization and bone formation: a review[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 51(1): 79–86.
- [29] SCHLUNDT C, KHASSAWNA T E, SERRA A, et al. Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification[J]. *Bone*, 2018, 106: 78–89.
- [30] ADAMOPOULOS I E. Inflammation in bone physiology and pathology[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2018, 30(1): 59–64.

(2022-03-09 收稿)