

- and aging:risk of vascular dementia [J].Stroke,1997,28(3):526—530.
- [15] 周农.多发性梗死性痴呆发病的相关因素分析[J].临床神经病学杂志,1999,12(4):227—278.
- [16] Katzman R,Aronson M,Fuld P,et al. Development of dementing illnesses in an 80-year-old volunteer cohort [J].Ann Neurol,1989,25(4):317—324.
- [17] Karlstrom H,Beatus P,Dannaeus K,et al.A CADASIL-mutated Notch 3 receptor exhibits impaired intracellular traffickig and maturation but normal signaling [J].Pro Natl Acad Sci USA,2002,99(26):17119—17124.
- [18] Philpol M,Lewis K,Pereria ML et al.Arylsuphatase a pseudxi-efficiency in vascular dementia and Alzheimer's disease[J].Neuroreport,1997,8(11):2613—2616.
- [19] Molero AE,Pino-Ramirez G,Mastre GE. Modulation by age and gender of risk for Alzheimer's disease and vascular dementia associated with the apolipoprotein E-epsilon4 allele in Latin Americans: findings from the Maracaibo Aging Study [J].Neurosci Lett,2001,307(1):5—8.
- [20] 李宏建.血管性痴呆的神经保护.国际脑血管病[J].2006,14(9):672.
- [21] 尹昱,吕佩源,杨天祝,等.双氢麦角碱对血管性痴呆小鼠海马及脑皮质 NOS 阳性神经元的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2008,23(3):208—210.
- [22] Halama D.What does the special extract do treatment with Ginkgo biloba in patients with cerebrovascular insufficiency depressive symptoms [J].Therapiewoche,1992,40(1):3760—3765.
- [23] Dietrich MO,Mantese CE,Porciunla LO,et al. Exercise affects glutamate receptors in postsynaptic densities from cortical mice brain[J].Brain Res,2005,1065(1-2):20—25.
- [24] Scully D, Kremer J, Meade MM, et al. Physical exercise and psychological well being: a critical review[J]. Br J Sports Med, 1998, 32(2):111—120.
- [25] Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, et al. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(8):13427—13431.
- [26] 张辉,张朝东.康复训练对血管性痴呆大鼠认知功能障碍的影响及其分子机制[J].中国现代神经疾病杂志,2006,12(6):471—475.
- [27] 王晓琴,刘素美.老年血管性痴呆的康复训练[J].齐鲁护理杂志,2005,9(9):1217.
- [28] 王爱华.老年痴呆症患者营养不良饮食干预的效果探讨[J].齐鲁护理杂志,2004,10(2):86.
- [29] 罗叶荣,黄金菊.关于开展老年痴呆患者训练活动的探讨[J].当代护士,2003,7(7):66.
- [30] 何清,吕荣.老年痴呆早期康复护理训练 [J]. 泸州医学学报,2004,27(6):558.
- [31] 王芎斌,王梅平,陈晓春,等.血管性痴呆认知障碍特征与中医证型的相关性研究 [J]. 中国康复医学杂志,2007,22(6):495—499.
- [32] 包烨华,冯伟民,朱国祥,等.头穴久留针治疗血管性痴呆的随机对照研究[J].中国针灸,2004,24(2):81—84.
- [33] 刘翼程,张红星,万文俊,等.针刺治疗血管性痴呆的临床研究进展[J].中国康复医学杂志,2007,22(3):274—275.
- [34] 刘喆,赖新生.电针对局灶性脑缺血成年大鼠内源性神经干细胞增殖的影响[J].中国康复医学杂志,2007,22(3):218—224.
- [35] Song H, Kempermann G, Wadiche LO, et al. New neurons in the adult mammalian brain: synaptogenesis and functional integration[J].Neurosci, 2005,25(45):10366.
- [36] Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system [J]. Annu Rev Neurosci,2005,28:223—250.
- [37] Abrous DN, Koehl M,Le Moal M. Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology[J]. Physiol Rev,2005,85(2):523—569.
- [38] Linchtanwalner RJ, Parent JM. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain [J].Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2006,26(2):1—20.
- [39] Benedetta Leuner,Elizabeth Gould,Tracey J.Shors.Is there a link between adult neurogenesis and learning?[J].Hippocampus, 2006,16(3):216—224.
- [40] Jin KL, Mao XO,Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia[J].Proc. Natl. Acad. Sci. USA,2000,97(18):10242—10247.
- [41] Castillo DV,figneroa-Guzman DV,figneroa-Guzman,et al. Brain-derived neurotrophic factor enhances conditioned taste aversion retention[J].Brain Res,2006,1607(1):250—255.
- [42] Gartner A,Staiger V. Neurotrophin secretion from hippocampal neurons evoked by long-term- potentiation-inducing electrical stimulation patterns [J].Proc Natl Acad Sci USA,2002,99(9):6386—6391.

·综述·

瘦素与骨代谢、骨质疏松关系的研究进展

韩国胜¹ 陈亮¹

随着人类寿命的延长,许多疾病已严重影响着老年人的生存质量,特别是骨质疏松症,是近年来备受关注的热点。1994年世界卫生组织将骨质疏松症(osteoporosis,OP)定义为以骨量减少、骨的微观结构退化为特征,导致骨强度损害、骨折危险性增加的一种全身性的代谢性骨病^[1]。世界各国关于骨质疏松症的研究正不断地深入开展,以期OP的防治提供新的理论依据,其中瘦素(leptin,LP)与OP的关系已成为新的研究热点,LP有望为OP症的防治提供一个新的靶点。现将LP与骨代谢的相关性研究进展综述如下。

1 瘦素与瘦素受体的分子生物学特性

1994年,美国学者Zhang等^[2]利用定位克隆技术首次成

功地克隆了小鼠的肥胖基因(ob)及其编码的肽类激素——瘦素。瘦素是ob基因的编码产物,是一种具有内分泌作用的蛋白,具有高度的保守性,主要由外周白色脂肪组织产生,骨髓中的脂肪组织也可产生。

瘦素受体(leptin receptor, Lep-R)属I型细胞因子受体家族,JAK-STAT(just another kinase or Janus kinase-signal transducers and activators of transcription)为其主要的信号转

1 苏州大学附属第一医院骨科,江苏省苏州市十梓街96号,215006

作者简介:韩国胜,男,硕士,住院医师

收稿日期:2008-03-05

导途径。JAK 是一类酪氨酸激酶,调控瘦素的基因转录,目前已发现至少有 5 种亚型,即 Ob-Ra、Ob-Rb、Ob-Rc、Ob-Rd 和 Ob-Re,它们不仅表达于中枢神经系统,也表达于多种外周组织。

LP 的分泌有明显的昼夜节律性,呈脉冲式分泌;Ostlund^[9]发现血清 LP 浓度,肥胖者明显高于正常体重者,且 LP 浓度与年龄呈负相关;性别对瘦素水平有明显的影响,女性是男性的 2—3 倍,睡眠和体温也是瘦素节律性变化的重要影响因素。LP 以游离和结合两种形式存在于血液循环中,其中游离状态可能是其生物活性状态。肾脏是清除 LP 的主要场所。

2 瘦素对骨代谢的影响

近年来人们开展了大量有关骨代谢机制的研究,其中 LP 的发现并克隆使骨代谢的研究取得了以下突破性的进展。

2.1 直接途径

2.1.1 瘦素对骨髓基质细胞分化的影响:人骨髓基质细胞(human bone marrow stromal cells,hBMSC)2—12 具有向骨化细胞或脂肪细胞分化的潜能,在 OP 患者中不仅骨祖细胞减少,骨髓基质细胞本身的骨化能力也降低。Thomas 等^[10]研究表明 hBMSC 2—12 可能是瘦素作用的靶细胞。此研究还发现,瘦素不影响核心结合因子 $\alpha 1$ (core-binding factor $\alpha 1$,cbf $\alpha 1$)及过氧化物酶体增殖活化受体 $\gamma 2$ (peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma 2$,PPAR $\gamma 2$)的表达,也不影响 hBMSC 2—12 的增殖,但却呈剂量、时间依赖性地提高了碱性磷酸酶(ALP)、I 型胶原及骨钙素(OC)的 mRNA 与蛋白质水平,并使长期培养的 hBMSC 2—12 的矿化基质增加了 59%。同时,瘦素可使脂肪细胞成熟水平下降,因而认为瘦素可直接作用于人的骨髓基质细胞,促使其向骨化细胞分化,抑制其向脂肪细胞分化,且主要作用于骨化细胞和脂肪细胞分化成熟的晚期阶段。但另一方面,Kim 等^[11]研究发现:LP 降低体外培养的 hBMSC 生存能力,降低其 ALP 活性,也减少 OC 的分泌,诱导其凋亡,上述影响呈时间、剂量依赖性。此外,JAK/STAT1 信号传导途径也可能在 LP 诱导 hBMSC 凋亡的过程中起着重要作用。

Thomas 等和 Kim 等所得的结论不同,可能与两者所用的细胞系不同有关:Kim 等所用的是原代 hBMSC,而 Thomas 等所用的 hBMSC 带有温度敏感突变型的猿病毒 40 大 T 抗原(simian virus 40 large T antigen, SV40LTA),这种抗原的存在可能通过改变细胞性能、拮抗 LP 诱导细胞凋亡的效应,从而使 hBMSC 在 34℃具有相对永生性^[10]。

2.1.2 瘦素对成骨细胞的影响:Reseland 等^[12]首次证实了瘦素及受体在原代培养的正常人类成骨细胞(hOBs)的表达,另外还发现瘦素仅仅在 hOBs 的矿化和(或)骨细胞转换期检测到。Steppan 等^[13]对缺乏瘦素的、肥胖的 LP 基因缺陷小鼠(ob/ob 小鼠)研究表明,瘦素能显著增加小鼠的股骨长度、总骨面积、骨矿含量(bone mineral content, BMC)和骨密度(bone mineral density,BMD)。Gordeladze 等^[14]直接在体外培养的人髂嵴骨化细胞加入瘦素(100ng/ml),结果发现瘦素 LP 能促进胶原合成,可刺激骨化细胞的增殖、分化与矿化,保护分化成熟的骨化细胞,使之凋亡减少,并促使骨化细胞转化为骨细胞并发现内

源性瘦素主要表达于基质细胞和骨化细胞成熟晚期,提示瘦素作用存在时序性。最近,Lee 等^[10]证实骨化细胞可表达功能性 OB-R,通过 JAK-S TAT 途径激活信号转导通路。

2.1.3 瘦素对破骨细胞的影响:hBMSC 细胞不仅能表达功能性 LP 受体,还能表达两种重要的破骨细胞因子,即细胞核因子 κB 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor κB ligand, RANKL)和护骨素(osteoprotegerin, OPG)。RANKL 在破骨细胞分化、融合及活化过程中起着关键作用,在骨髓微环境中其作用可被诱导受体 OPG 所中和。

Burguera 等^[15]建立了去卵巢大鼠骨丢失的模型,发现 LP 可减少大鼠小梁骨丢失率,防止其小梁骨结构改变及骨膜骨形成。Holloway 等^[12]研究发现:在人巨噬细胞集落刺激因子(human macrophage colony-stimulating factor, hM-CSF)及 sRANKL 存在的条件下,LP 能抑制破骨细胞,且该抑制作用是间接的或是通过 CD14⁺-PBMC 介导的;同时,LP 能增加 CD14⁺-PBMC 上 OPG 的 mRNA 及其蛋白质的水平,而不增加 CD14⁺上的 OPG 的表达,由此进一步支持了 LP 通过 RANKL/RANK/OPG 系统抑制破骨细胞功能,局部调控骨量的假说。Cornish 等^[13]研究表明瘦素可减少破骨细胞形成,并且瘦素不作用于成熟的破骨细胞。

2.2 间接途径

2.2.1 瘦素对骨代谢的中枢调节作用:瘦素在外周主要通过影响骨祖细胞调节骨化细胞与破骨细胞而发挥骨骼保护效应,但瘦素在中枢下丘脑对骨代谢的影响却完全不同,实验显示瘦素可以通过下丘脑途径抑制骨化细胞的骨形成过程,缺乏瘦素的性腺功能低下动物模型骨量保持在较高的水平,LP 是一种很强的中枢性骨形成抑制剂。LP 的中枢作用通过其对下丘脑神经肽通路的影响而实现,在下丘脑 LP 与受体结合,可直接抑制神经肽 Y(NPY)mRNA 的表达,使 NPY 的产生减少。

Ducy 等^[16]发现 LP 基因缺陷小鼠(ob/ob)和 LP 受体基因缺陷小鼠(db/db)均有野生鼠两倍的总骨量,并阐明了 ob/ob 鼠的骨密度升高是继发于 LP 通路异常。给 ob/ob 小鼠脑室内(intracerebroventricular, ICV)注射瘦素时,其骨密度下降,而此时血循环中并未检测到瘦素,且外周输注瘦素时不出现以上改变,这表明瘦素具有强烈的抑制骨形成的作用,并且这种作用是通过中枢神经系统介导的。

在卵巢切除导致骨质丢失小鼠中,LP 治疗较雌激素治疗可更为有效减少骨小梁的丢失、小梁结构改变和骨膜骨的形成,这表明 LP 可参与骨的重建^[15]。

Farooqi 等^[16]发现:黑色素皮质激素 4 受体(melanocortin 4 receptor, MC4R)失活突变的患者有肥胖及 HBM 的表型,MC4R 是 α -促黑激素(α -melanocyte stimulating hormone, α -MSH)在下丘脑的受体,而 α -MSH 的产生是由 LP 调节的,由此进一步支持“骨重建受 LP 中枢机制调节”的假说。

2.2.2 瘦素通过交感神经系统对骨代谢的调节:研究发现:LP 还可通过交感神经系统(sympathetic nervous system, SNS)调节骨代谢。Takeda 等^[17]对多巴胺 β -羟化酶(dopamine- β -hydroxylase, DBH)缺陷的突变型小鼠的研究显示,这种小鼠具有 HBM 的表型,且在切除其肾上腺髓质后这种情况依然存

在,提示骨代谢存在一种神经调节机制。瘦素缺乏导致交感神经张力降低,而去除肾上腺能信号传导途径可导致瘦素抵抗性高骨量。

瘦素对骨化细胞增殖的调节作用是由骨化细胞上的 $\beta 2$ 肾上腺素能受体所介导, β 受体拮抗剂单用或与噻嗪类利尿药合用均可降低人群中的骨折危险度。最近 Eleftheriou^[18]的研究表明, β 受体拮抗剂可使骨形成和骨量增加并且能阻止卵巢切除术导致的骨量丢失。另外, Eleftheriou F 等^[19]研究确立了瘦素调节的神经通路是通过骨重塑的两个方面进行的,并且表明交感神经信号的完整性对由于性腺功能的衰退导致的骨吸收的增加是必要的。

3 瘦素和骨质疏松的关系

尽管瘦素的作用在小鼠的研究中简单明了,但在人类骨重建中的作用尚未完全明确。有研究证实^[20],由于肥胖的进展,血浆瘦素水平升高,而中枢神经系统的瘦素水平因为血脑屏障通透率的减少而下降。这似乎与 Takeda 等^[21]的研究结果相矛盾,因为瘦素的分泌与脂肪量是成比例的,然而,肥胖与瘦素抵抗的发生相关,这就可以解释以上的结果。肥胖、血瘦素浓度及骨量在有些方面是相互调和的。肥胖者血瘦素浓度及骨矿物增加,发生骨质疏松的危险性降低,而营养不良可使青年人和成年人的血瘦素浓度及骨矿含量降低。

Blain 等^[22]研究表明,瘦素可限制骨的高转换(骨吸收大于骨形成)导致的骨丢失,从而对绝经后妇女发挥骨保护作用。Blum 等^[23]也发现绝经前妇女在体重恒定时总骨密度与体脂及瘦素也呈负相关,在体脂恒定时瘦素仍与骨密度呈负相关。同样,对美国 5815 名成年人的研究显示:男性、绝经前妇女及绝经后妇女的空腹血清 LP 水平均与股骨近端、髌骨的 BMD 呈正相关,但在校正体重指数和其他骨密度相关因素后,男性血清 LP 水平与 BMD 的正相关关系转变为负相关,绝经前及绝经后妇女的这种相关性则消失^[24]。国内也曾有报道,骨质疏松症患者的血清瘦素浓度低于非骨质疏松者^[25]。造成上述研究结论不一致的原因可能与选择的研究方法、研究对象的性别、年龄及种族差异有关,也可能与开展研究的时间有关,因而需要更多的临床研究,进一步阐明瘦素在体内通过外周及中枢途径对人类骨转换全方位的作用。

4 小结

综上所述,LP 可能通过以上两种途径调节骨代谢,但目前研究均未证实瘦素可作为骨吸收和骨形成的标志物。LP 对骨代谢的整体作用可能是其中枢负性作用及外周正性作用两方面综合调节的结果,其效应可能取决于血浆 LP 的水平及血脑屏障的通透性。随着瘦素对骨代谢作用机制的阐明,将有望为骨质疏松等代谢性骨病的预防和(或)治疗提供新的理论依据和方法。

参考文献

- [1] 刘忠厚主编.骨矿与临床[M].北京:中国科学技术出版社,2006.
- [2] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue [J]. Nature,1994, 372:425.

- [3] Ostlund RE. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender age and metabolic covanates [J].J Clin Endocrinol Metab, 1996,97:3909.
- [4] Thomas T, Gori F, Khosla S, et al. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes [J].Endocrinology, 1999,140:1630—1638.
- [5] Kim GS, Hong JS, Kim SW, et al.Leptin induces apoptosis via ERK/c PLA2/cy to chrome c pathway in human bone marrow stromal cells[J]. J Biol Chem, 2003,278(24):21920—21929.
- [6] 彭 绵,马艳芬.瘦素对骨量影响的研究进展[J].国外医学·内科学分册,2004,31(6):267—270.
- [7] Reseland JE, Syversen U, Bakke I, et al. Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization[J].Bone Miner Res,2001,16:1426—1433.
- [8] Steppan CM, Crawford DT, Chidsey—Frink KL, et al. Leptin is a potent stimulator of bone growth in ob/ob mice[J].Regul Pept, 2000,92(1—3):73—78.
- [9] Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, et al.Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis, and mineralization: Impact on differentiation markers, apoptosis, and osteoclastic signaling [J]. J Cell Biochem, 2002, 85 (4): 825—836.
- [10] Lee YJ, Park JH, Ju SK, et al. Leptin receptor isoform expression in rat osteoblasts and their functional analysis[J]. FEBS Lett,2002,528:43—47.
- [11] Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, et al. Leptin reduces ovariectomy—induced bone loss in rats [J]. Endocrinology, 2001,142(8):3546—3553.
- [12] Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, et al.Leptin inhibits oseeoclast generation[J].J Bone Miner Res, 2002,17(2):200—209.
- [13] Cornish J, Callon KE, Bava U, et al. Leptin directly regulates bone cell function in vitro and reduces bone fragility in vivo [J]. J Endocrinol,2002,175:405—415.
- [14] Ducy P, Ambling M, Takeda S, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass[J]. Cell,2000,100(2):197—207.
- [15] Burguera B, Hofbauer LC, Thomas J, et al. Leptin reduces ovariectomy—induced bone loss in rats [J]. Endocrinology, 2001,142(8):3546—3553.
- [16] Farooqi IS, Yeo GSH, Keogh JM, et al.Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency[J].J Clin Invest, 2000,106(2):271—279.
- [17] Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system [J].Cell, 2002,111:305—317.
- [18] Eleftheriou F, Karsenty G. Bone mass regulation by leptin: a hypothalamic control of bone formation[J]. Pathol Biol (Paris), 2004, 52(3):148—153.
- [19] Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART [J]. Nature,2005,434(7032):514—20.
- [20] Thomas T. Leptin:a potential mediator for protective effects of fat mass on bone tissue[J]. Joint Bone Spine,2003,70:18—21.
- [21] Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system [J].Cell, 2002,111:305—317.
- [22] Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, et al. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women[J]. J Clin Endocrinol Metab,2002, 87:1030—1035.
- [23] Blum M, Harris SS, Must A, et al. Leptin,Body composition and bone mineral density in premenopausal womem[J].Calcif Tissue Int,2003,73:27—32.
- [24] Ruhl CE, Everhart JE.Relationship of serum leptin concentration with bone mineral density in the united states population [J].J Bone Miner Res, 2002,17(10):1896—1903.
- [25] 蔡金梅,丁国宪,程蕴琳,等.原发性骨质疏松症患者血清瘦素水平的临床研究[J].中国骨质疏松杂志,2003,9:340—341.