

## 脂联素影响骨代谢致骨质疏松症的研究进展

王 磊, 李 兴

山西医科大学第二医院 内分泌科, 山西 太原 030001

**摘 要:** 使骨吸收增加或骨形成减少的因素都会诱导骨质疏松症的发生。脂联素作为近年来发现的一种内源性的生物活性多肽类物质, 除观察到对糖脂代谢、血管内皮及平滑肌功能、肿瘤坏死因子等方面有作用外, 在骨代谢中亦发挥重要作用, 可直接或间接地影响骨吸收和骨形成这两大骨代谢方面。脂联素在骨组织中的生理作用的实质是对成骨和破骨两方面综合影响的结果。

**关键词:** 脂联素; 骨质疏松; 骨形成; 骨吸收

中图分类号: R977.6 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)06-0426-04

## Advances in studies on adiponectin affecting bone metabolism induced osteoporosis

WANG Lei, LI Xing

Department of Endocrinology, The Second Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**Abstract:** At present, the factors which could increase bone absorption or inhibit osteogenesis may induce the occurrence of osteoporosis disease. As an endogenous bioactive peptides discovered in recent years, adiponectin has the effect on glycolipid metabolism, function of vascular endothelial and smooth muscle, and tumor necrosis factor. Beyond these, adiponectin also plays an important role in bone metabolism that could affect the bone absorption and osteogenesis directly or indirectly. As a matter of fact, the action of adiponectin in physiological effect of bone tissue is a comprehensive influence on osteogenesis and broken bone essentially.

**Key words:** adiponectin; osteoporosis; osteogenesis; bone absorption

WHO 对骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 的定义为骨量减少、骨骼微细结构发生破坏, 导致骨骼脆弱而易发生骨折的骨骼系统疾病。据调查, OP 已经由 20 世纪的第 13 大疾病跃居为现阶段世界第 5 大疾病, 全世界 OP 患者已多达 2 亿, 造成骨折者为 130 万~160 万, 而在中国, 据不同地区调查结果显示 OP 患者在 6 000 万~8 000 万<sup>[1-3]</sup>, 因此防治骨质疏松刻不容缓。脂肪组织是一个巨大且活跃的内分泌组织, 脂联素是脂肪组织基因表达最丰富的蛋白质产物之一, 目前发现脂联素具有改善胰岛素抵抗和内皮功能、抗动脉粥样硬化、调节血脂等作用。近期有实验证实, 脂联素与骨代谢之间有一定的联系, 但大多是从脂联素受体或信号转导途径切入作具体阐述, 而本文分别就脂联素对骨代谢中成骨和破骨两大方面的影响作一综述。

### 1 骨组织的生理代谢

正常成熟骨的代谢主要以骨重建方式进行, 在骨代谢调节激素和局部细胞因子的协调作用下, 骨组织不断吸收旧骨, 生成新骨, 如此周而复始地循环进行, 维持着体内骨转换水平的相对稳定。骨密度 (bone mineral density, BMD) 随着成年后年龄的增长和雌激素水平的降低而逐年下降, 但如果 BMD 的降低超过一定程度即视为低骨量或骨质疏松。一般来说, BMD 下降同时伴有骨微结构的紊乱和破坏, 当骨丢失到一定程度时, 骨质量显著下降, 骨小梁变窄、变细、弯曲、错位甚至断裂 (微损害, 微骨折)。原发性 OP 的病因和发病机制尚未明确, 目前认为凡可使骨吸收增加或骨形成下降的因素都会促进 OP 的发生。

### 2 脂联素概述

脂联素是脂肪组织基因表达的一种多肽或蛋白质。人脂联素基因位于 3q27, 长约 17 kb, 包含 3 个

收稿日期: 2011-08-11

作者简介: 王 磊 (1986—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事糖尿病与血管并发症方面的研究。Tel: 13643665164 E-mail: premier-wang@163.com

外显子和2个内含子。脂联素基因编码一个244个氨基酸的分泌蛋白,共为4个结构域<sup>[4]</sup>,其中133个氨基酸参与组成了羧基端的球形结构,其余的氨基酸分别组成了信号序列、非螺旋功能区以及胶原结构,而后通过二硫键连接、糖基化、羟基化等修饰发挥生物学作用。具有生物活性的是全长型的脂联素,另外还包括脂联素的水解产物-球形结构(gAcrp30),其单聚体和三聚体是其生物活性形式<sup>[5-6]</sup>,可以特异性结合骨骼肌或肝脏细胞膜上的G蛋白耦联受体,特别是近来有报道称Acrp30的球形结构域呈三聚体形式存在<sup>[7]</sup>,是脂联素生物活性的关键部位。在人体血清中,脂联素的质量浓度较为恒定,通常在5~30 μg/L波动,可占总血清蛋白的0.01%以上。其存在形式因胶原结构域而变得不尽相同,有低相对分子质量形成的三聚体,有中相对分子质量形成的六聚体,也有高相对分子质量形成的多聚体<sup>[6,8]</sup>,其中脂联素多聚体是循环中的主要存在形式,约占80%<sup>[9]</sup>。脂联素的存在形式不同其生物学活性亦不同,三聚体的作用是能激活腺苷酸活化蛋白激酶,其余两种形式的生物学活性则主要作用于核转录因子NF-κB途径。

2003年Yamauchi等<sup>[10]</sup>首次克隆出脂联素受体基因(adiponectin receptor, AdipoR)的cDNA全长,用Northern Blot测定法发现其存在两种异构体,后来称为脂联素受体1(AdipoR1)和脂联素受体2(AdipoR2),其中AdipoR1基因位于染色体1p36.13~q41和1E4,它分布广泛,在骨骼肌中含量最多;AdipoR2基因位于染色体12p13.31和6F1,主要在肝脏中分布。SWISS-PROT蛋白结构分析预测AdipoR1和AdipoR2都有7次跨膜结构域,但与G蛋白耦联受体家族不同的是两者的C端均位于细胞膜外与脂联素结合,而N端位于膜内。表达这两种基因均可分别与球形脂联素和全长脂联素结合,但Scatchard斑点分析显示对球形脂联素而言,AdipoR1的亲和力较AdipoR2高,但对全长型脂联素来说,AdipoR2的亲和力高于AdipoR1,说明两种受体对全长型脂联素和球形脂联素的亲和力是不同的<sup>[11]</sup>。

### 3 脂联素与骨代谢

有多个体外研究和动物实验均表明脂联素影响骨的代谢,可通过3个不同的途径:(1)骨骼局部产生的脂联素——自分泌或旁分泌的途径;(2)循环中的脂联素——内分泌途径;(3)脂联素通过影

响胰岛素信号通路产生作用。脂联素对骨代谢的作用既可以影响骨的形成,又可以影响骨的吸收,是上述3个途径综合作用的结果。

#### 3.1 脂联素对骨形成的影响

2003年Yamauchi等克隆出脂联素受体基因后不久,Berner等<sup>[12]</sup>就运用RT-PCR技术在人离体成骨细胞中检测到脂联素,并在人类的成骨细胞中观察到了先前发现的两种脂联素受体,后来在人的成骨细胞中又检测到有脂联素mRNA的表达,这就提示脂联素在成骨细胞中有可能表达及分泌,同时有可能通过成骨细胞上的脂联素受体影响成骨细胞的分化,但没有发现这两种脂联素受体mRNA的表达。而后Lee等<sup>[13]</sup>发现脂联素和脂联素受体AdipoR1、AdipoR2的mRNA在MG-63细胞及由人间质干细胞(hMSCs)诱导分化的成骨细胞和成骨细胞系中均有表达。

在证实成骨细胞中存在脂联素的分泌及脂联素受体的表达后,很多研究又进一步证实了脂联素可以诱导成骨细胞的增殖和分化<sup>[4]</sup>。Oshima等<sup>[14]</sup>发现脂联素能增加MC3T3-E1成骨细胞碱性磷酸酶mRNA的表达及其矿化活性,这些结果提示脂联素除了能促进成骨细胞分化外,还可能促进成骨细胞的增殖并增强其活性;在培养骨髓基质细胞时发现,重组脂联素可以抑制M-CSF/RANKL对破骨细胞分化的诱导作用,同时抑制CD14<sup>+</sup>的人外周血单核细胞分化成破骨细胞,提示脂联素可通过抑制破骨细胞的分化和表达间接促进骨的形成;另外在动物实验中,将活性脂联素注入小鼠体内,以空白载体作为对照组,通过检测各组小鼠皮质骨和松质骨的结构变化,结果发现注射脂联素后的小鼠体内松质骨体积明显高于对照组小鼠,同时实验组小鼠的骨小梁总骨矿含量增加、破骨细胞数目减少、血浆I型胶原氨基末端肽浓度下降,这些实验结果均提示注射脂联素后小鼠体内开始抑制破骨细胞的分化与活性,从而间接促进骨的形成。

Luo等<sup>[15]</sup>的研究证实了Oshima的观点,发现脂联素促进成骨细胞增殖与分化的作用呈剂量与时间相关。实验中脂联素通过诱导p38丝裂原活化蛋白激酶和c-Jun氨基末端激酶的激活,增强碱性磷酸酶的活性,增加骨钙素和I型胶原的产量,从而增加骨髓基质的矿化。进一步的研究发现,两条途径的诱导效应也有区别,在分别使用这两种途径的阻断剂进行预处理后,结果显示脂联素通过

AdipoR1/JNK 信号通路促进成骨细胞的增殖效应, 而通过 AdipoR1/P38 通路促进其分化效应。实验中用小 RNA 干扰技术 (siRNA) 沉默 AdipoR1 基因的表达, 分别作用两条途径后, 成骨细胞 AdipoR1/JNK 细胞信号途径的促增殖效应和 AdipoR1/P38 转导的促分化效应消失, 提示成骨细胞是脂联素的直接靶细胞。此外, Yamaguchi 等<sup>[16]</sup>通过荧光分析表明牙周病患者脂多糖/RANKL 介导破骨细胞的形成, 脂联素通过阻断 RAW264 细胞的 Toll 样受体 (TLR4) 介导的 NF- $\kappa$ B 活化, 从而抑制破骨细胞形成。

### 3.2 脂联素对骨吸收的影响

在人们都认为脂联素可以促进成骨细胞的分化和增殖, 是促进骨形成的因素之一时, Shinoda 等<sup>[17]</sup>却得到了不同的答案, 在破骨细胞中同样发现了脂联素及其受体的表达。若在培养基中加入重组脂联素, 那么骨祖细胞的成骨作用就会减弱, 提示脂联素对骨形成有抑制作用; 但如果接着向培养基中加入胰岛素, 脂联素对成骨的这种抑制作用就会减弱, 因此, 认为脂联素对骨代谢的影响可能是多方面综合作用的结果。

近年来骨生物学界的重要发现为 OPG/RANKL/RANK 系统, 脂联素可通过该系统对骨代谢产生影响。在体内 NF- $\kappa$ B 受体活化素 (receptor activator of NF- $\kappa$ B, RANK) 可与 NF- $\kappa$ B 受体活化素配体 (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RANKL) 以及其他 TNF 配体家族成员等结合, 促进破骨细胞前体细胞的存活和融合, 同时刺激其分化为成熟的破骨细胞, 从而可以使骨吸收增强<sup>[18-19]</sup>。护骨素 (OPG) 是一种由 401 个氨基酸残基组成的肝素结合分泌型糖蛋白, 它竞争性地与这些 RANK 的配体结合, 能阻断破骨细胞的分化和活化, 减少成熟破骨细胞数量, 抑制骨的吸收。动物实验中小鼠经过 OPG 转基因后表现为骨质硬化, 骨髓腔缩小, 破骨细胞数量显著减少, 镜下活检呈现明显的大理石样骨病表现<sup>[20]</sup>。在 OPG/RANKL/RANK 系统中, RANKL 和 OPG 的比值是控制骨重建的关键因素<sup>[21-23]</sup>, 比值大则骨吸收大于骨形成, 比值小则骨形成大于骨吸收, 系统中的三者处于相互影响制约的关系。Luo 等<sup>[24]</sup>在动物实验的基础上, 测定人成骨细胞中脂联素对 OPG/RANKL/RANK 系统的作用, 观察各 mRNA 及蛋白产物的表达情况, 结果发现脂联素可诱导表达 RANKL, 阻断 OPG 的表达, 从而间接促进破骨细胞形成。

刘幼硕等<sup>[25]</sup>用不同浓度的脂联素干预, 然后分时间段用 RT-PCR 和 ELISA 法检测 OPG、RANKL 的 mRNA 和蛋白表达, 结果表明脂联素呈剂量和时间相关性地抑制人成骨细胞 OPG 的 mRNA 及蛋白表达; 并呈剂量和时间相关性地促进人成骨细胞 RANKL 的 mRNA 及蛋白表达。接下来他们又用 AdipoR1-siRNA 沉默 AdipoR1 的表达; 用 MAPK 阻断剂 SB203580 阻断 p38 后, 用相同方法观察脂联素对成骨细胞 RANKL 和 OPG 的作用, 结果均被阻断, 这些实验结果表明在成骨细胞中, 脂联素通过 AdipoR1/p38 途径促进 RANKL 的分泌, 并抑制 OPG 的表达。

### 4 结语

脂联素在骨组织中的生理作用, 其实是对成骨和破骨两方面综合作用的结果, 它可以在很多环节作用于 OPG/RANKL/RANK 系统, 但具体的作用机制有待进一步研究。有效地干预和调节脂联素的表达模式及其信号通路, 可能对骨代谢产生积极的影响。有关脂联素的临床研究现阶段并无一致结论, 需要在更多的临床研究中确定脂联素和骨密度的相关性。脂联素作为近年来新发现的一种内源性多肽, 其基因结构已逐渐阐明, 生物学作用的多样性决定其具有改善胰岛素抵抗、抗动脉粥样硬化、降血糖、调血脂等多重作用。因此需要一直关注着它的进展, 搜集更多的临床试验证据, 为骨质疏松的临床治疗提供新的思路。

### 参考文献

- [1] 胡军, 张华, 牟青. 骨质疏松症的流行病学趋势与防治进展 [J]. 临床荟萃, 2011, 26(8): 729-730.
- [2] 曾婧娉, 阎卉, 王成港, 等. 骨质疏松症治疗药物—艾尔骨化醇 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 224-229.
- [3] 马亚兵, 高海青, 刘新春, 等. 骨质疏松症预防与治疗的循证医学研究 [J]. 药物评价研究, 2009, 32(2): 135-139.
- [4] Mendez-Sanchez N, Chavez-Tapia N C, Zamora-Valdes D, et al. Adiponectin, structure, function and pathophysiological implications in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2006, 6(6): 651-656.
- [5] Yamauchi T, Kamon T, Waki H, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase [J]. *Nat Med*, 2002, 8(11): 1288-1295.
- [6] Pajvani U B, Du X, Combs T P, et al. Structure function

- studies of the adiponectin-secreted hormone Acrp30/adiponectin [J]. *Biol Chem*, 2003, 278(11): 9073-9085.
- [7] Shapiro L, Scherer P E. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor [J]. *Curr Biol*, 1998, 8(3): 335-338.
- [8] Pajvani U B, Hankins M, Combs T P, et al. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity [J]. *Biol Chem*, 2004, 279(13): 12152-12162.
- [9] Tsao T S, Murrey H E, Hug C, et al. Oligomerization state-dependent activation of NF-kappa B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30) [J]. *Biol Chem*, 2002, 277(33): 29359-29362.
- [10] Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects [J]. *Nature*, 2003, 423(6941): 762-769.
- [11] Vasseur F. Adiponectin and its receptors: partners contributing to the "vicious circle" leading to the metabolic syndrome? [J]. *Pharmacol Res*, 2006, 53(6): 478-481.
- [12] Berner H S, Lyngstadaas S P, Spahr A, et al. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells [J]. *Bone*, 2004, 35(4): 842-849.
- [13] Lee W Y, Rhee E J, Oh K W, et al. Identification of adiponectin and its receptors in human osteoblast-like cells and association of T45G polymorphism in exon 2 of adiponectin gene with lumbar spine bone mineral density in Korean women [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006, 65(5): 631-637.
- [14] Oshima K, Nampei A, Matsuda M, et al. Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331(2): 520-526.
- [15] Luo X H, Guo L J, Yuan L Q, et al. Adiponectin stimulates human osteoblasts proliferation and differentiation via the MAPK signaling pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 309(1): 99-109.
- [16] Yamaguchi N, Kukita T, Li Y J, et al. Adiponectin inhibits osteoclast formation stimulated by lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2007, 49(1): 28-34.
- [17] Shinoda Y, Yamaguchi M, Ogata N, et al. Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways [J]. *Cell Biochem*, 2006, 99(1): 196-208.
- [18] Lewiecki E M. RANK ligand inhibition with denosumab for the management of osteoporosis [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2006, 6(10): 1041-1050.
- [19] Schett G, Hayer S, Zmerina J, et al. Mechanisms of Disease: the link between RANKL and arthritic bone disease [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2005, 1(1): 47-54.
- [20] Simonet W S, Lacey D L, Dunstan C R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. *Cell*, 1997, 89(2): 309-319.
- [21] 伍贤平, 廖二元. 破骨细胞及其调节机制的某些进展 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2002, 18(2): 157-160.
- [22] Kiechl S, Werner P, Knoflach M, et al. The osteoprotegerin/RANK/RANK-L system: a bone key to vascular disease [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2006, 4(6): 801-811.
- [23] Kostenuik P J. Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2005, 5(6): 618-625.
- [24] Luo X H, Guo L J, Xie H, et al. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway [J]. *Bone Miner Res*, 2006, 21(10): 1648-1656.
- [25] 刘幼硕. 脂联素调节成骨细胞 OPG/RANKL 的表达和 TIMP-3 诱导成骨细胞凋亡 [D]. 长沙: 中南大学, 2007.