

基础研究

青少年特发性脊柱侧凸患者成骨细胞中核因子 κ B 受体活化子配体和骨保护蛋白的表达

殷 刚, 邱 勇, 黄爱兵, 刘 臻, 李海波, 孙光权, 曹兴兵

(南京医科大学鼓楼临床医学院脊柱外科 210008 江苏省南京市)

【摘要】目的:从成骨细胞(osteoblast, OB)水平探讨核因子 κ B 受体活化子配体(receptor activator of NF κ B ligand, RANKL)、骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG)与青少年特发性脊柱侧凸(adolescent idiopathic scoliosis, AIS)患者骨量降低的关系。**方法:**AIS 患者(AIS 组)20 例,男 5 例,女 15 例,年龄 11~19 岁,平均 14.75 岁, Cobb 角 40°~96°,平均 59.65°;同年龄非脊柱畸形患者(对照组)8 例,男 6 例,女 2 例,年龄 10~19 岁,平均 15.25 岁。两组均采用双能 X 线吸收测量仪(dual-energy X-ray absorptiometry, DEXA)测量骨密度(bone mineral density, BMD),测量部位包括非优势侧股骨近端及腰椎。所有受试者术中取适量髂前上嵴的松质骨,运用植块法培养成骨细胞。培养过程中观察细胞形态学变化,并用碱性磷酸酶染色法、钙结节染色法和 RT-PCR 检测骨钙素表达,并进行表型鉴定。取 P2 代细胞应用 RT-PCR 和 Western blotting 检测 RANKL 和 OPG 的 mRNA 及蛋白表达情况。**结果:**植块法培养可以获得较多的原代细胞。碱性磷酸酶染色、钙结节染色及 RT-PCR 检测骨钙素表达证实所培养的细胞表现成骨细胞特性。AIS 组腰椎(L2~L4)及股骨近端的 BMD 值明显低于对照组; RANKL 的核酸及蛋白水平的表达量均较对照组高($P<0.01$);OPG 的核酸及蛋白水平的表达量与对照组比较无统计学差异($P>0.05$);RANKL/OPG 比值明显高于对照组($P<0.01$)。**结论:**成骨细胞中 RANKL 及 OPG 在核酸及蛋白水平的表达异常可能与 AIS 患者骨量降低的分子机制相关。

【关键词】青少年;特发性脊柱侧凸;成骨细胞;核因子 κ B 受体活化子配体;骨保护蛋白

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2009.03.10

中图分类号:R682.3, Q735 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2009)-03-0216-06

Expression of soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin of the osteoblast in adolescent idiopathic scoliosis patients/YIN Gang, QIU Yong, HUANG Aibing, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(3): 216~221

【Abstract】 Objective: To investigate the relationship between receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL) or osteoprotegerin (OPG) and the decreased bone mass of the patients with adolescent idiopathic scoliosis at the osteoblast level. **Method:** This study covered 28 subjects (aged from 11 to 19 years), including patients with AIS and age-matched patients without AIS who underwent spinal surgery. AIS group was 20 patients, control group was 8 cases. The average Cobb angle of AIS group was 59.65° (range, from 40° to 96°). Bone mineral density (BMD) of the lumbar spine and proximal femur was measured by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) for both groups. The cancellous bone was harvested from the posterior superior iliac spine of each subject, which then were cultured to obtain the osteoblasts by explant culture method. The morphology of the cells and formation of calcium nodules were observed, the osteocalcin was determined by staining method of alkaline phosphatase (AKP) and calcium nodules, and RT-PCR. The cell phenotype was then confirmed. Expression of mRNA and proteins of RANKL and OPG was detected by RT-PCR and Western blotting using P2 generation osteoblasts from two groups. **Result:** More primary cells could be obtained by the explant culture. The expressed osteocalcin determined by staining of AKP and calcium nodules and RT-PCR confirmed that phenotype of the cultured cells showed osteoblastic property. BMD of the lumbar spine (L2-L4)

基金项目:江苏省卫生厅重点项目(项目编号:K200610)

第一作者简介:男(1980-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(025)83304616-12102 Email:yin_gang2001@sohu.com

通讯作者:邱勇

and proximal femur was obviously lower in AIS group than that in the control group. RT-PCR and Western blotting results showed that expression of RANKL of osteoblasts increased obviously in AIS group as compared with the control group ($P < 0.01$). However, expression of OPG did not have any significant difference between two groups ($P > 0.05$). The ratio of RANKL and OPG in patients with AIS was higher than that in control subjects ($P < 0.01$). **Conclusion:** The imbalance and the disturbed interaction of RANKL and OPG in osteoblasts at nucleic acid and protein level may be related to the molecular mechanism of decreased BMD in AIS.

[Key words] Adolescent; Idiopathic scoliosis; Osteoblast; Receptor activator of NF- κ B ligand; Osteoprotegerin

[Author's address] Spine Surgery, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China

青少年特发性脊柱侧凸 (adolescent idiopathic scoliosis, AIS) 作为脊柱侧凸最常见的形式, 病因及发病机理至今尚未阐明^[1]。有文献报道 AIS 患儿除在青春发育期表现为生长发育异常外, 还普遍存在骨密度 (bone mineral density, BMD) 下降、骨量减低的现象^[2-4]。研究表明核因子 κ B 受体活化子配体 (receptor activator of NF κ B ligand, RANKL) 及骨保护蛋白 (osteoprotegerin, OPG) 是调控破骨细胞 (osteoclast, OC) 分化成熟的两个关键因子^[5-7]。Suh 等^[8]、刘臻等^[9]分别就 RANKL 和 OPG 在血清及骨髓间质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 中的作用进行了研究, 结果表明 RANKL 和 OPG 的失衡可能是 AIS 患者骨量减低的重要原因之一。由于成骨细胞 (osteoblast, OB) 表达 RANKL 和 OPG, 对 OC 的分化、成熟起重要作用, 我们通过对非脊柱畸形青少年和 AIS 患者 OB 中 RANKL 及 OPG 核酸和蛋白含量的比较, 探求 AIS 患者骨量减低的可能分子机制。

1 材料和方法

1.1 一般资料

选择 2007 年 7 月~2008 年 4 月在我院行后路矫形手术的 AIS 患者 20 例, 女 15 例, 男 5 例, 年龄 11~19 岁, 平均 14.75 岁。术前 Cobb 角 $40^\circ \sim 96^\circ$, 平均 59.65° 。Lenke 分型: 1 型 4 例 (BN 2 例, CN 2 例), 3 型 12 例 (B- 7 例, CN 5 例), 5 型 4 例 (C- 1 例, CN 3 例)。根据 PUMC 分型: I c 型 4 例, II 型 16 例 (II b 1 型 4 例, II c 2 型 7 例, II c 3 型 5 例)。患者均行全脊髓 MRI 检查排除中枢神经系统病变, 术前未接受过任何形式 (如支具、手术等) 治疗。对照组 8 例, 女 2 例, 男 6 例, 年龄 10~19 岁, 平均 15.25 岁。为非脊柱畸形住院治疗的, 由同一脊柱外科医生负责体格检查,

排除脊柱侧凸、生长发育障碍及其他慢性疾病。其中椎弓峡部裂伴椎体滑脱 4 例, 脊椎骨折 1 例, 椎体骨样骨瘤 2 例, 脊膜瘤 1 例。所有研究对象均排除恶性肿瘤、血液系统疾病、器质性内分泌疾病、神经系统疾病及骨代谢疾病, 无长时间活动受限或过量运动者, 且未用过影响骨代谢的药物 (如降钙素、氟化物、活性维生素 D 制剂、皮质激素等)。征得所有受试者本人或其父母同意, 并取得医学伦理委员会同意后开始研究。两组均采用双能 X 线吸收测量仪 (Lunar 公司) 测量 BMD, 测量部位包括非优势侧股骨近端及腰椎。所有受试者均需取右侧髂松质骨行植骨融合, 在患者知情同意和不影响手术疗效的情况下取少许松质骨标本。

1.2 主要试剂

DMEM/F12 培养液 (pH 7.2, Gibco), 胎牛血清 (FBS, Gibco), 0.25% 胰蛋白酶-EDTA (Gibco), 双抗 (青霉素、链霉素) (Sigma), 鼠抗人 RANKL 一抗 (R&D, MAB6261), 鼠抗人 OPG 一抗 (R&D, MAB8051), 鼠抗人 GAPDH 一抗 (KangChen, KC-5G4)。二抗为 HRP 标志羊抗鼠抗体 (R&D, FIM06)。Trizol Reagent (Invitrogen), RT-PCR 试剂盒 (Invitrogen), 琼脂糖 (Promega), PVDF 膜 (Roche 公司), BCA 蛋白定量试剂盒 (Pierce), Western blotting 发光液 (Santa Cruz)。RT 试剂盒 (Invitrogen 公司)。

1.3 OB 的体外分离和培养

在超净台内取出松质骨标本, 剪成 $1 \times 1 \times 1$ mm 大小颗粒, 用 PBS 冲洗数次, 直至发白。放入适量 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 37°C 下消化 30 min, 期间摇动 2~3 次。将骨粒接种于含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养皿中, 在 5% CO_2 培养箱中, 饱和湿度、 37°C 条件下培养。第 1~2 周每周换液 1 次; 以后每周换液 2 次。待细胞融合至 90% 时, 用

0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化 2~3min,计数后按 1:3 或 1:4 传代。所有样本传至 P2 代用于实验检测。

1.4 OB 的表型鉴定

(1)改良钙钴法碱性磷酸酶染色:将无菌盖玻片放置于 6 孔板底部,取 1×10^5 个 P1 代 OB 接种于 6 孔板,待细胞融合接近 90%时取出盖玻片,PBS 冲洗,无水酒精固定 10min,细胞固定后入孵育液 (3% β 磷酸甘油钠、2%巴比妥钠、2%氯化钙、2%硫酸镁),于 37℃孵育 4h,2%硝酸钴作用 5min,1%硫化铵处理 1min,乙醇脱水,镜下观察并摄像。(2)钙化结节染色:取 1×10^5 个 P1 代 OB 接种于 6 孔板,培养 28d。PBS 冲洗,无水酒精固定 10min。再用 0.1%茜素红染色 5min,蒸馏水洗 3 次,乙醇脱水,镜下观察并摄像。(3)骨钙素检测:用 Trizol 法提取 OB 的 RNA,再按 Invitrogen 公司说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为 PCR 模板,加入骨钙素引物行 PCR 反应(引物序列、退火温度、循环次数和扩增产物大小见表 1)。将 PCR 扩增产物进行电泳。采用 Smart-view 2001 生物电泳图像分析系统观察电泳条带。

表 1 骨钙素、RANKL、OPG 及 β -actin 引物序列、退火温度、循环次数和扩增产物大小

	引物序列	退火温度 (°C)	循环次数	产物长度 (bp)
骨钙素	5'-CCCTCAGACTCCTCGCCCTAT-3' 5'-TCAGCCAACCTCGTCACAGTCC-3'	56	30	246
RANKL	5'-AGCGTCGCCCTGTTCTTCTA-3' 5'-ATGGGATGTCGGTGGCATT-3'	55	35	343
OPG	5'-CCCTTGGCCCTGACCACTACTA-3' 5'-GCTTGCACCACTCCAAATCC-3'	58	30	210
β -actin	5'-GGCATCCTCACCCCTGAAGTA-3' 5'-GGGGTGTGAAGGTCTCAAA-3'	58	30	200

1.5 OB 中 OPG 及 RANKL 的 mRNA 表达检测

取 $(3 \sim 4) \times 10^6$ 个 P2 代 OB,加入 1ml Trizol,静置 5min,加 0.2ml 氯仿,混匀后孵育 2~3min,4℃下 12000r/min 离心 15min,取上层液相,加 0.5ml 异丙醇,孵育 10min,摇匀。4℃下 12000r/min 离心 10min,弃上清液,取乳白色沉淀。加 75%酒精 1ml 震荡混匀,4℃下 7500r/min 离心 5min。风干酒精后加入 20 μ l 焦碳酸二乙酯(DEPC)水,充分溶解,比色法测定样本 OD260/OD280 值,比值

在 1.8~2.0 范围内,证明抽提效果良好,计算总 RNA 浓度,并使其均一化。按照 Invitrogen 公司的两步法进行 RT-PCR 反应,RANKL、OPG 及 β -actin 引物序列、退火温度、循环次数和扩增产物大小见表 1。将 PCR 扩增产物进行电泳,采用 Smart-View 2001 生物电泳图像分析系统对电泳条带灰度值进行半定量分析。

1.6 OB 中 OPG 及 RANKL 的蛋白表达检测

收集 P2 代 OB,PBS 洗 3 次,加 300 μ l 蛋白裂解液,置于冰上 30min,细胞充分裂解后,12000r/min 离心 5min,取上清液,BCA 法测量总蛋白浓度并使其均一化。加入 5 $\times$ 上样缓冲液,沸水浴 5min。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,浓缩胶层电压 80V,30min;分离胶层电压 120V,2h,电泳完毕后,湿转法,恒流 200mA,2h 转膜。转印后,5%脱脂奶粉 4℃封闭过夜,分别加入 RANKL、OPG 及 GADPH 一抗孵育 4h,洗膜,加 RANKL、OPG 及 GADPH 二抗孵育 2h,洗膜,增强化学发光测定系统(ECL)化学发光法检测。

1.7 统计学处理

各组电泳条带灰度值以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用两两比较 t 检验,所有资料采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BMD 检测结果

两组各部位 BMD 值见表 2。AIS 组患者腰椎(L2~L4)及股骨近端的 BMD 值明显低于对照组。

2.2 细胞形态观察

AIS 组及对照组 OB 分离培养、传代均成功。植块培养至第 2~3 天见其周围游离出大量小圆形血液细胞,第 5~6 天可见少量贴壁细胞,表现为不规则形、锥形或梭形,高倍镜下见胞浆丰富,单个核,核内有 1~2 个核仁,细胞表面有多个短突起,细胞周围有较多黑色颗粒,呈较典型的 OB

表 2 AIS 组与对照组腰椎及股骨近端 BMD ($\bar{x} \pm s$, g/cm²)

	n	腰椎	股骨颈	大转子	Ward's 三角
AIS 组	20	0.85 $\pm$ 0.09	0.80 $\pm$ 0.10	0.62 $\pm$ 0.10	0.69 $\pm$ 0.15
对照组	8	0.99 $\pm$ 0.10	0.97 $\pm$ 0.20	0.84 $\pm$ 0.25	0.88 $\pm$ 0.20
t 值		-3.530	-2.961	-3.305	-2.668
P 值		0.02	0.07	0.03	0.013

形态。第 7 天换液后小圆形细胞大部分消失,培养第 7~10 天植块周围游离出的细胞数逐渐增多,并可见核分裂(图 1,后插页 I)。培养第 3 周植块周围细胞明显增多,以骨块为中心呈放射状分布,植块间有较多 OB 生长。培养第 4 周植块周围细胞密集,已呈重叠生长,植块间细胞接近融合,细胞形态趋向较均匀的短梭形(图 2,后插页 I)。

2.3 OB 表型鉴定结果

爬片用改良钙钴法碱性磷酸酶染色显示细胞内充满棕黑色颗粒,阳性率约 85%(图 3,后插页 I)。培养 4 周时可见钙结节形成,茜素红染色阳性,钙结节呈红色(图 4,后插页 I)。RT-PCR 检测培养所获得细胞中骨钙素 mRNA 均呈高水平表达(图 5)。



图 5 PCR 扩增后见 246bp 的骨钙素扩增产物

2.4 RT-PCR 反应及电泳检测结果

见表 3 和图 6。AIS 组 OB 中 RANKL 的 mRNA 表达强于对照组 ($P<0.01$); OPG 的 mRNA 表达强度与对照组无显著性差异 ($P>0.05$); RANKL/OPG 比值显著大于对照组 ($P<0.01$)。

2.5 Western blotting 检测结果

见表 4 和图 7。RANKL 的分子量为 40~45kDa, AIS 组 RANKL 蛋白表达强度显著高于对照组 ($P<0.05$); OPG 的分子量为 55kDa, AIS 组 OPG 蛋白表达强度与对照组无统计学差异 ($P>0.05$); AIS 组 RANKL/OPG 比值显著大于对照组 ($P<0.05$)。

表 3 AIS 组与对照组成骨细胞中 OPG 及 RANKL 的 mRNA 表达强度 ($\bar{x}\pm s$)

	<i>n</i>	OPG	RANKL	RANKL/OPG
AIS 组	20	0.85±0.21	0.40±6.19 ^①	0.48±0.22 ^①
对照组	8	0.81±0.25	0.15±0.04	0.20±0.09

注:①与对照组比较 $P<0.05$

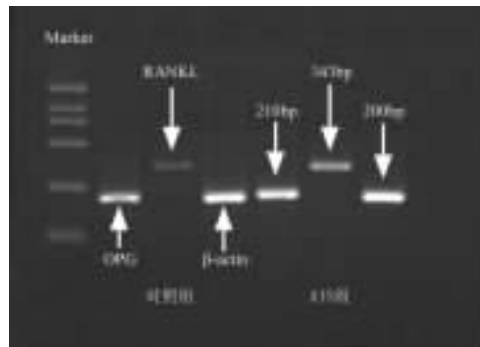


图 6 RT-PCR 电泳结果显示两组 OB 中 OPG 的 PCR 产物没有明显差异, AIS 组 RANKL 的 PCR 产物显著高于对照组

表 4 AIS 组与对照组成骨细胞中 OPG 及 RANKL 的蛋白表达强度 ($\bar{x}\pm s$)

	<i>n</i>	OPG	RANKL	RANKL/OPG
AIS 组	20	0.068±0.039	0.142±0.084 ^①	2.220±0.086 ^①
对照组	8	0.099±0.057	0.051±0.039	0.522±0.243

注:①与对照组比较 $P<0.05$

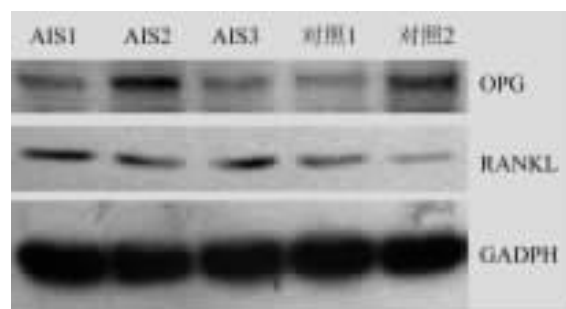


图 7 Western blotting 检测结果显示 AIS 组和对照组 OB 中 OPG 没有显著性差异, AIS 组 RANKL 显著高于对照组

3 讨论

3.1 AIS 患者骨量减低的原因

1982 年 Burner 等^[2]最早发现 AIS 患者存在骨量减低的现象。随后的研究^[3,4]表明, AIS 患者中轴骨和外周骨均存在骨量减低。Cheng 等^[10]对 AIS 患者骨组织活检的组织形态观察结果显示骨细胞的活性存在异常。吴洁等^[11]对不同年龄段的 AIS 患者和正常青少年的研究表明, 所有年龄段 AIS 患者的 BMD 均低于对照组。Sadat-Ali 等^[12]比较了 AIS 患者的同胞兄弟姐妹的 BMD, 发现 AIS 患者的 BMD 明显低于其同胞。但 AIS 患者发生骨量减低的原因还存在争议。研究表明^[13], 儿童的 BMD 受体重、身高、体育锻炼及营养状态等多因素影响。但是 Cheng 等^[14]发现 AIS 患者和正常人

的体育活动强度没有明显差别。Lee 等^[14]认为 AIS 患者 Ca^{2+} 摄入量低可能导致 BMD 减低。Cheung 等^[15]发现, AIS 患者 BMD 减低可能和其青春期的快速生长和 Ca^{2+} 摄入量低有关, 骨骼的快速生长和 Ca^{2+} 的低摄入会导致骨骼矿化异常, 使 BMD 减低。另外有研究表明^[16,17], 体重指数(body mass index, BMI) 与 BMD 呈正相关。临床上常常发现 AIS 患儿身材瘦高、四肢纤细修长的现象, 即 BMI 较正常低。Szalay 等^[18]甚至认为 AIS 患者 BMI 低从而导致了 BMD 减低的现象。Guo 等^[19]通过 MRI 测量发现 AIS 患者的脊柱前柱生长过快而后柱生长缓慢, 导致脊柱生长过快与脊髓生长比例失衡, 而这种比例失衡可导致脊柱侧凸; 与此同时, 由于骨质的沉积赶不上软骨内成骨的速度, 从而导致 AIS 患者出现全身性的 BMD 降低。尽管 AIS 患者 BMD 减低的原因不明, 但 AIS 患者存在骨量减低确是不争的事实。本研究中 AIS 组患儿腰椎、股骨大转子及 Ward's 三角的 BMD 明显低于对照组 ($P < 0.05$), 且 AIS 组与对照组平均 BMD 差值均低于 1.0s, 换言之 AIS 组中普遍存在骨量减低的现象, 与文献结果类似。

3.2 AIS 患者 OB 中 RANKL、OPG 的表达和骨量减低的关系

正常的骨吸收和骨重建处于动态平衡之中, 而这一平衡又分别与 OC 和 OB 的功能密切相关。OPG/RANKL/RANK 系统是近年来发现的在 OC 分化过程中的一个重要信号传导通路。OB 和 MSCs 表达 RANKL, 与 OC 前体细胞或 OC 表面的 RANK 结合后, 促进 OC 的分化和激活, 并抑制 OC 的凋亡。OB 和 MSCs 还分泌表达 OPG, 与 RANKL 竞争性结合, 阻止 RANKL 与 RANK 之间的结合^[9]。OPG/RANKL/RANK 系统已经成为调控骨代谢的核心环节。Suh 等^[8]、刘臻等^[9]分别就 RANKL 和 OPG 在血清水平和 MSCs 转录水平的研究表明, RANKL 和 OPG 的失衡可能是 AIS 患者骨量减低的重要原因。血清中 RANKL 和 OPG 含量可能与炎症等某些疾病状态有关, 因此笔者认为 Suh 等直接测定血清中 RANKL 和 OPG 含量的方法可能有一定缺陷。MSCs 具有向多种骨细胞分化的能力, 其在向 OB 分化的过程中, RANKL/OPG 的值是不断变化的, 随着 OB 的分化成熟, 比值逐渐减小, 最后失去对 OC 的促分化和激活作用^[20]。但体外培养的 MSCs 中 OPG、RANKL

的表达情况与体内的实际情况可能有所不同。OB 是骨组织的主要细胞之一, 能合成骨基质中几乎所有的成分, 并且 OB 可以同时表达 OPG 和 RANKL 这两个影响骨代谢的关键因子, 从而直接影响骨的矿化。通过生物膜将 OB 和 OC 前体细胞分开培养的方法, Hsu 等^[21]证明 OC 与 OB 相互接触是 OC 生成、活化的必要条件。综合上述理由, 笔者认为, 在 OB 水平上研究 RANKL 和 OPG 的 mRNA 和蛋白表达, 对从分子角度上探讨 AIS 骨量减低的机制具有重要意义。

RANKL 是目前发现的惟一具有诱导 OC 分化、发育、发挥功能的因子。RANKL 基因敲除 (RANKL^{-/-}) 小鼠体内出现广泛的骨硬化, 缺乏成熟的 OC, 给予 RANK 后症状改善; 应用重组 RANKL 则使动物出现严重的骨质疏松^[6]。RANKL 不仅促进 OC 的分化, 而且呈剂量依赖性地激活成熟的 OC、延长其存活时间、提高运动和形成骨吸收陷窝的能力。本研究显示, AIS 患者 RANKL 的转录和表达均高于正常对照组 ($P < 0.01$)。我们推测 AIS 患者的 OB 可以表达较正常人更多的 RANKL, 其与 OC 前体细胞或 OC 表面的 RANK 结合后, 促进 OC 的分化和激活, 并抑制 OC 的凋亡。此外, RANKL 与 RANK 结合促使 OC 中许多基因表达, 如血小板衍生生长因子- α 、胰岛素样生长因子-1 等, 这些因子都有促进 OB 增殖分化的作用^[22], 而增殖的 OB 又可通过分泌 RANKL 发挥其正反馈作用。

OPG 通过与 RANKL 竞争性结合, 阻止 RANKL 与 RANK 之间的结合, 从而抑制骨吸收。Hofbauer 等^[7]研究发现, 过度表达 OPG 的转基因小鼠表现为早期、进行性大理石样骨病, 病变累及长骨、脊椎骨和骨盆等多个部位; 相反, 敲除 OPG 基因的小鼠会发生严重的骨质疏松。据此他认为体内 OPG 含量的多少与骨量变化密切相关。也有研究表明, 采用 OPG 抑制 RANKL 活性可以阻断其对于 OC 的激活作用^[23]。但是在本研究中 AIS 患者和对照组 OPG 的转录和表达没有明显统计学的差异 ($P > 0.05$), 提示 OPG 可能在 AIS 骨量减低中不起主要作用。

Hofbauer 等^[7]认为 OC 的发育主要取决于骨髓微环境中的 RANKL 和 OPG 的比例。骨质疏松的患者 RANKL/OPG 比率显著增加。Cheng 等^[10]在对 AIS 骨组织形态学研究也证实, AIS 患者骨小

梁连续细长,骨小梁厚度降低,骨细胞数量减少,骨形成不活跃,少见 OB。尽管在本研究中 AIS 患者和对照组 OPG 的转录和表达没有明显统计学的差异,但是 AIS 患者 OB 中 RANKL 的转录和表达均显著高于对照组,RANKL/OPG 也明显高于对照组($P<0.01$)。AIS 患者 OB 中表达的 OPG 与对照组相似,而表达的 RANKL 较多,使得骨髓微环境中 RANKL/OPG 比率增加,促进 OC 的分化和激活,并抑制 OC 的凋亡,最终导致 AIS 患者骨量减低。提示 AIS 患者 OB 中 RANKL/OPG 比例失衡可能是导致 AIS 患者骨量减低的分子机制。

4 参考文献

- 邱勇,朱丽华,宋知非,等.脊柱侧凸的临床病因学分类研究[J].中华骨科杂志,2000,20(5):265-268.
- Burner WL 3rd, Badger VM, Sherman FC. Osteoporosis and acquired back deformities[J]. J Pediatr Orthop, 1982, 2(4):383-385.
- Cheng JC, Guo X. Osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis: a primary problem or secondary to the spinal deformity[J]. Spine, 1997, 22(15):1716-1721.
- Cheng JC, Qin L, Cheung CS, et al. Generalized low areal and volumetric bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(8):1587-1595.
- Takahashi N, Udagawa N, Suda T. A new member of tumor necrosis factor ligand family, ODF/OPGL/TRANSE/RANKL, regulates osteoclast differentiation and function [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 256(3):449-455.
- Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis[J]. Nature, 1999, 397(6717):315-323.
- Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(1):2-12.
- Suh KT, Lee SS, Hwang SH, et al. Elevated soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and reduced bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis [J]. Eur Spine J, 2007, 16(10):1563-1569.
- 刘臻,邱勇,孙强,等.RANKL/OPG 在青少年特发性脊柱侧凸患者低骨量发生机制中的作用[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(7):474-479.
- Cheng JC, Tang SP, Guo X, et al. Osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis: a histomorphometric study[J]. Spine, 2001, 26(3):E19-E23.
- 吴洁,邱勇,孙燕芳,等.青少年特发性脊柱侧凸患者骨密度变化的分析[J].中国脊柱脊髓杂志,2004,14(10):598-600.
- Sadat-Ali M, Al-Othman A, Bubshait D, et al. Does scoliosis causes low bone mass? a comparative study between siblings [J]. Eur Spine J, 2008, 17(7):944-947.
- Slemenda CW, Peacock M, Hui S, et al. Reduced rates of skeletal remodeling are associated with increased bone mineral density the development of peak skeletal mass[J]. J Bone Miner Res, 1997, 12(4):676-682.
- Lee WT, Cheung CS, Tse YK, et al. Generalized low bone mass of girls with adolescent idiopathic scoliosis is related to inadequate calcium intake and weight bearing physical activity in peripubertal period[J]. Osteoporos Int, 2005, 16(9):1024-1035.
- Cheung CS, Lee WT, Tse YK, et al. Generalized osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis: association with abnormal pubertal growth, bone turnover, and calcium intake [J]. Spine, 2006, 31(3):330-338.
- Laitinen J, Kiukaanniemi K, Heikkinen J, et al. Body size from birth to adulthood and bone mineral content and density at 31 years of age: results from the northern Finland 1966 birth cohort study[J]. Osteoporos Int, 2005, 16(11):1417-1424.
- Rubin LA, Hawker GA, Peltekova VD, et al. Determinants of peak bone mass: clinical and genetic analyses in a young female Canadian cohort[J]. J Bone Min Res, 1999, 14(4):633-643.
- Szalay EA, Bosch P, Schwend RM, et al. Adolescents with idiopathic scoliosis are not osteoporotic [J]. Spine, 2008, 33(7):802-806.
- Guo X, Chau WW, Chan YL, et al. Relative anterior spinal overgrowth in adolescent idiopathic scoliosis: results of disproportionate endochondral-membranous bone growth [J]. J Bone Joint Surg Br, 2003, 85(7):1026-1031.
- Gori F, Hofbauer LC, Dunstan CR, et al. The expression of osteoprotegerin and RANK ligand and the support of osteoclast formation by stromal-osteoblast lineage cells is developmentally regulated[J]. Endocrinology, 2000, 141(12):4768-4776.
- Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(7):3540-3545.
- Cappellen D, Luong-Nguyen NH, Bongiovanni S, et al. Transcriptional program of mouse osteoclast differentiation governed by the macrophage colony-stimulating factor and the ligand for the receptor activator of NF κ B [J]. J Biol Chem, 2002, 277(24):21971-21982.
- Otte A, Mueller-Brand J, Dellas S, et al. Yttrium-90-labelled somatostatin-analogue for cancer treatment [J]. Lancet, 1998, 351(9100):417-418.

(收稿日期:2008-10-06 修回日期:2008-12-01)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)