

· 综述 ·

老年男性骨质疏松及雄激素受体的研究进展

王凯夫¹ 贾继峰¹ 刘明辉¹

骨质疏松症是一种全身代谢性骨病,其特点是骨量减少和骨组织的微细结构受损,骨的脆性增加,易于发生骨折。男性骨质疏松同样是一个非常重要的公共卫生问题。随着老龄化社会的到来,人均寿命的不断增加,老年男性骨质疏松有逐年上升趋势,老年男性原发性骨质疏松症亦严重威胁老年男性的生存质量。而男性原发性骨质疏松的研究起步较晚,其发病机制还不十分清楚,因此如何有效地防治男性骨质疏松症在国内外缺乏公认有效的方法。随着分子生物学技术的应用,对雄激素受体的研究日益深入,国内外正研究雄性激素在基因水平上在骨质疏松发病中的作用,试图探索雄性激素的替代疗法。本文就有关文献做一简要综述,以期能进一步展开对老年男性骨质疏松发病机制的研究。

1 老年男性骨质疏松症发病的相关因素

原发性骨质疏松症的发生、发展与内分泌紊乱、全身营养状态、免疫功能、遗传基因密切相关,其中雄激素、雌激素、降钙素、维生素 D 等发挥着重要作用,他们的受体则起着枢纽作用^[1-2]。实验证明:骨量的丢失与性激素的变化密切相关^[3-5],其中雄激素的缺乏是导致骨质疏松的主要因素^[4-8]。而且雄激素对骨代谢的作用点在成骨细胞(osteoblast)核受体上^[9-10]。因此,相关性激素受体的表达,成为原发性骨质疏松症发生、发展的关键因素。

2 雄激素的作用途径

雄激素在体内维持骨稳态的作用途径有两种^[11-12]:①直接与成骨细胞的雄激素受体结合或在 5 α 还原酶的作用下变成双氢睾酮(dihydrosterone, DHT)后与雄激素受体结合来调控成骨细胞的一系列功能。②雄激素经 P450 芳香化酶作用,芳香化酶为雌激素,然后与雌激素受体结合,调节骨代谢^[13]。

3 雄激素及相应受体对骨代谢的作用机制

睾酮对正常骨生长、代谢、骨量维持起重要调节作用,这种作用是通过自身受体介导的。在成骨细胞表面发现有雄激素受体(androgen receptor, AR)并证明雄激素参与成骨细胞的一系列功能,如骨细胞增生、生长因子以及骨基质蛋白(如骨胶原、骨钙素、骨桥蛋白)的形成^[14-15]。骨细胞中有 AR 转录的 mRNA,并且能表达 AR 蛋白质,证明雄激素对骨细胞的作用是直接的。骨细胞中有 5 α 还原酶,可将睾酮转化为对 AR 更具结合力的 DHT。雄激素对骨代谢直接作用的机制尚不清楚,可能是雄激素增加了成骨细胞对甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH) 的敏感性,或与前列腺素(prostaglandins E₂, PGE₂)竞争成骨细胞的 PGE₂ 受体,从而加速骨的形成,减少骨的吸收。又有研究证实,成年雄性大鼠使用芳香化酶抑制剂后,可以建立与去势大鼠相同的骨质疏松模型,表明雄

激素对骨代谢的影响是在芳香化酶的作用下,转化成雌激素后与雌激素受体而结合发挥其功效的。睾酮具有增加骨质生成的作用。雄激素能增加培养中骨细胞的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)强度,更主要的是增加 ALP 阳性细胞的数量,提示雄激素能促进骨细胞的分化。同时,雄激素能增强成骨细胞分泌碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和胰岛素样生长因子 II (IGF-II)的能力,使其通过自身分泌或旁分泌的方式促进骨细胞的有丝分裂,即通过生长因子介导,进而刺激骨细胞的有丝分裂。

睾酮及双氢睾酮同时具有抑制骨吸收的作用,可抑制对骨吸收作用很强的骨质吸收刺激因子,如 PTH、白细胞介素 I (IL-I)的作用。在人的骨肉瘤细胞,雄激素通过 G 蛋白和环磷酸腺苷(cAMP)积累的机制,减少细胞内 PTH;而在人的颅骨细胞培养中,可减少 PGE₂ 和 IL-I 的产生。此外,雄激素还能抑制 I 型前胶原肽的分泌,刺激骨钙素的合成,增加骨细胞内 β 型转化生长因子信使核糖核酸(TGF- β mRNA)的稳定性,促进转化生长因子 β (TGF- β)向培养基中分泌,从而阻止 TGF- β 抑制骨细胞增殖的作用。

4 雄激素受体对骨细胞的调节

在人与鼠的成骨细胞上有雄激素受体。在鼠成骨细胞上,雄激素受体主要位于核内及核周围^[16]。雄激素受体 mRNA 受雄激素自身降调节和 cAMP 介导的升调节。雄激素可直接刺激成骨细胞增生、分化。骨细胞中含有 5 α 还原酶,从而可将睾酮转化为 DHT,DHT 对雄激素受体具有更强的结合亲和力。体外实验证明,DHT 是人类骨细胞中最强的雄激素受体结合配基。在体内、体外,雄激素均能产生合成代谢作用,此类具有合成代谢作用的激素称之为合成类固醇,或称同化类固醇。从化学观点讲,合成类固醇物质是一组与雄激素相关的物质。它们与雄激素的区别在于产生雄激素效应和促进蛋白质合成的血浆浓度和靶器官。但要截然区分这两种物质的作用是很困难的。骨髓中的脂肪细胞、成骨细胞以及肝脏、肌肉中均可使雄激素芳香化,衍生成雌激素。去势后骨形成率下降,骨吸收显著增加,其机制可能是由于雄激素缺乏使成骨细胞对 PTH 作用的敏感性增高,接受睾酮治疗可阻止骨丢失^[17-18]。芳香化阻滞剂用于老年雄鼠后,骨吸收增加,骨丢失加速,提示雄激素对骨的作用可能依赖于其芳香化作用。雄激素可能通过以下途径影响骨代谢:睾酮可与 PGE₂ 竞争成骨细胞的 E₂ 受体,揭示睾酮可通过受体作用于成骨细胞,加速骨形成。睾酮可促进降钙素(calcitonin)的分泌,临床发现降钙素可用于治疗绝经后

1 哈尔滨医科大学附属第一医院创伤外科,哈尔滨市,150080

作者简介:王凯夫,男,硕士,主治医师

收稿日期:2006-05-12

骨质疏松,若辅以睾酮可增加疗效,说明睾酮可通过降钙素影响骨代谢。

Mizuno 等^[19]发现破骨细胞存在雄激素受体,说明雄激素对破骨细胞也有直接作用。对于雄激素受体与骨代谢的关系的研究远没有雌激素受体与骨代谢关系的研究深入,特别是破骨细胞上雄激素受体的作用机制还有待于进一步研究。

5 雄激素受体的结构与功能^[20]

AR 是一种配体依赖性的反式转录调节蛋白,属于核受体超家族成员。主要存在于靶细胞的核内。未与配体结合的 AR 与热休克蛋白(heat shock protein, HSP)结合,而 AR 与配体结合后,则发生构象变化,与 HSP 解离,使 AR 与 DNA 亲和力增高(受体的活化),活化的 AR 以二聚体形式与靶细胞核中特定的 DNA 序列—雄激素反应元件 (androgen response element, ARE)结合,并与其他转录因子相互作用,从而调节靶基因的表达,产生生物效应。

人 AR 基因定位于 X 染色体长臂(Xq11—12),含有 8 个外显子和 7 个内含子,其启动子区域至少有 1400 bp,该区域缺少 TATA 和 CAAT 顺序。已发现两种类型的 AR,其中 AR-A 型是全长 AR-B 型的截短型,前者在许多组织中有低水平表达,其功能也与 AR-B 型相似。人 AR 由 919 个氨基酸组成,分为 3 个功能区各区的结构和功能见图 1。

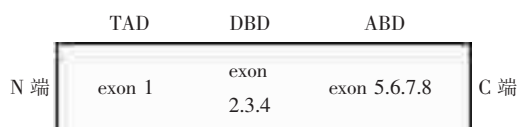


图 1 AR cDNA 结构示意图

5.1 N—端区的转录调节区 (TAD, 1—538 位氨基酸)

该区可变性大,是受体的转录调节区,由基因的第一个大外显子编码,其显著特点是具有编码不同的寡聚或多聚氨基酸的三核苷酸重复序列,即卫星 DNA,如重复的 CAG/CAA 编码多聚谷氨酸(Glu)_n,重复的 GGC/GGT 编码多聚甘氨酸(Gly)_n。这些氨基酸重复的功能尚不清楚。已发现大多数调节发育和调控基因表达的蛋白质,也含有类似重复氨基酸序列。

5.2 DNA 结合区(DBD, 539—627 位氨基酸)

该区富含半胱氨酸,与其他甾体激素受体有很高同源性,其核心的 68 个氨基酸构成二个锌指结构。每个锌指的结构和功能不同,并且分别是由二个不同的外显子编码(外显子 B 和 C)。

5.3 雄激素结合区(ABD, 628—919 位氨基酸)

位于 AR 的 C 端,是配体结合区,该区还有一个核定位信号,一个二聚体化区域,与 HSP 相互作用区域和转录激活区域,此区由 AR 基因的外显子 4—8 编码。在动物中,亦发现了 AR 的两种受体:AR1 和 AR2,AR1 主要在脑组织中表达,与睾酮有高亲和性,AR2 主要在卵巢组织中表达,与二氢睾酮有高亲和性。

6 雄激素受体的作用机制^[21]

6.1 雄激素受体的活化与进核

AR 在胞浆中能与 HSP 结合,当雄激素与 AR 结合后,AR

被激活,热休克蛋白解离,AR 进入核中与 DNA 作用。在过去 10 年中,发现了许多核定位信号(NLS)与蛋白质的核定位有关。该信号的一个共同特征是富含赖氨酸和精氨酸。通过转染实验研究一系列 AR 缺失突变体的亚细胞定位,发现位于 AR 铰链区的 NLS 对 AR 进核起关键作用。

6.2 雄激素受体与特异的 DNA 序列结合

AR 在核内与特异的 DNA 结合是调控基因表达的关键一步。通过转染实验,将含有报告基因的嵌合质粒转入宿主细胞后,鉴定到较短的 DNA 元件,其对于报告基因在激素诱导下的表达是不可缺少的。此类 DNA 调控序列被称为激素应答元件(HRE)。雄激素应答元件(ARE)是 HRE 中的一员。现在已在许多雄激素应答的基因上找到了 ARE。但这些 ARE 事实上与糖皮质激素受体(GR)识别的应答元件(GRE)几乎完全相同,其序列为 GGA/TACAnnnTGTCT,是一个不完全的回文结构。AR 能以二聚体的方式与之结合。AR 特异应答元件的搜寻研究尚在进行之中。在许多基因中激素应答元件常成簇出现,形成激素应答单元(HRU),行使增强子功能。当这些应答元件单独存在时活性极低,而聚集在一起时活性明显提高。这表明在一个基因中几个 ARE 可能以协同方式对转录激活起作用。

6.3 雄激素受体的激活功能

AR 与 ARE 结合后,诱发或抑制基本转录机器的装配,进而调控 RNA 的合成。关于 AR 如何与基本转录机器相互作用现在还知之甚少,但最近有报道 AR 的 AF—1 结构域能与基本转录机器中的转录因子 TF II F 相互作用,促进转录。其他核受体(例如维生素 D 受体)与应答元件结合后,则能与转录因子 TF II B 相互作用。此外 TF II D 的亚基也是核受体的接触位点。例如雌激素受体(ER)的 AF—2 区域能与 TAF II 30 相互作用。目前已经提出的反式因子与基本转录机器相互作用的模型有以下几种:①通过桥蛋白起作用;②相互直接作用;③通过影响染色体结构起作用。

7 小结

①雄激素通过与雄激素受体结合调节体内骨代谢,可能是雄激素在体内维持骨稳态的主要作用途径。②雄激素受体在成骨细胞内也有一定的表达规律。因此,进一步探讨雄激素在上述两种作用途径中的作用机制,确定雄激素维持骨稳态作用的主要途径,对探索某些骨代谢性疾病的发病机制和治疗方案的确定,科学预防骨质疏松的发生,有着重要的学术价值。

参考文献

- [1] 刘忠厚. 骨质疏松学[M]. 北京:科学出版社,1998.142.
- [2] Benten WP, Becker A, Schmitt-Wrede HP, et al. Developmental regulation of intracellular and surface androgen receptors in T cells[J]. Steroids, 2002, 67(11): 925—931.
- [3] Liegibel UM, Sommer U, Boerssoek L, et al. Androgen receptor isoforms AR-A and AR-B display functional differences in cultured human bone cells and genital skin fibroblasts [J]. Steroids, 2003, 68(14):1179—1187.
- [4] Vandenput L, Ederveen AG, Erben RG, et al. Testosterone prevents orchidectomy induced bone loss in estrogen receptor alpha knockout mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 285:70—76.
- [5] Kawano H, Sato T, Yamada T, et al. Suppressive function of

- androgen receptor in bone resorption [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2003, 100(16):9416—9421.
- [6] Marcus R, Leary D, Schneider DL, et al. The contribution of testosterone to skeletal development and maintenance: lessons from the androgen insensitivity syndrome [J]. J Clin Endocrinol Metab,2000, 85(3):1032—1037.
- [7] Notelovitz M. Androgen effects on bone and muscle [J]. Fertil Steril, 2002,77(Suppl4):S34—S41.
- [8] Castelo-Branco C, Vicente JJ, Figueras F, et al. Comparative effects of estrogens plus androgens and tibolone on bone, lipid pattern and sexuality in postmenopausal women [J]. Maturitas, 2000, 34(2):161—168.
- [9] Huber DM, Bendixen AC, Pathrose P, et al. Androgens suppress osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor [J]. Endocrinology, 2001,142(9):3800—3808.
- [10] KungAW. Androgen and bone mass in men[J]. Asian JAndrol, 2003, 5(2):148—154.
- [11] Liegibel UM, Sommer U, Boercoek I, et al.Androgen receptor isoforms AR- A and AR-B display functional differences in cultured human bone cells and genital skin fibroblasts [J]. Steroids,2003,68(14):1179—1187.
- [12] Velazquez E, Bellabarba AG. Testosterone replacement therap [J]. Arch Androl, 1998,412:79—90.
- [13] Wolf OT, Preut R, Hellhammer DH, et al. Testosteroneand cognition elderly men: a single testosterone-injection blocks the practice effect in verbal fluence, but has no effect on spatial or verbal memory[J]. Biol Psychiatry,2000,47(7):650—654.
- [14] Uanderschueren D,van Herck E,De Coster R,et al. Axomatization of androgens is important for skeletal maintenance of aged male rats[J].Calcif Tissue Int, 1996,59:179—183.
- [15] Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, et al. Nongenotropic, sexnonspecific signaling through the estrogen ox androgen receptors: dissociation from transcriptional activity [J].Cell, 2001,104(5):719—730.
- [16] Uanderse HD,van Herck E,Suiker AM,et al. Bone and mineral metabolism in the androgen resistant(testicular feminized) male rat[J]. J Bone Mner Res,1993,8:801—809.
- [17] Higano CS. Side effects of and rogen deprivation therapy: monitoring and minimizing toxicity [J]. Urology, 2003, 61(2 Suppl 1):32—38.
- [18] Bermti A, Dogliotti L, Terrone C, et al. Changes in bone mineral density, lean body mass and fat content as measured by dual energy x-ray absoiptometry in patients with prostate cancer without apparent bone metastases given androgen deprivation therapy [J]. J Urol, 2002, 167(6):2361—2367.
- [19] Mizuno Y, Hosoi T, Inoue S, et al .Immunocytochemical identification of androgen receptor in mouse osteoclast like multinucleated cells[J]. Calcif Tissue Int,1994,54:325—326.
- [20] Chang C, Kokontis J, Liao S. Molecular cloning of human and rat comlementary DVA encoding androgen receptor[J]. Science, 1988, 240(4850): 324—326.
- [21] Vanderschueren D,Van Herk E, De Coster R,et al. Aromatization of androgen is important for skeletal maintenance of aged male rats[J]. Calcif Tissue Int,1996,59:179—183.

· 综述 ·

强迫运动疗法的研究进展

刘楠¹ 刘世文¹

脑卒中偏瘫经康复训练后,大多数患者的肢体功能可在不同程度上得到恢复。目前我们对恢复的机制尚未完全明了,但是对中枢神经系统功能重组的作用愈加关注。功能核磁(fMRI)、经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)和正电子发射扫描(positron emission tomography, PET)使得对工作中的大脑进行无创性研究成为可能,对人脑的研究表明脑卒中后的大脑网络中发生了功能相关性的变化。正确认识这些脑功能的变化能为康复训练的恢复机制提供依据,并可使根据神经生理学原理,创立新的、有效的康复疗法成为可能。

据报道脑卒中后约有2/3的患者留有一侧上肢的功能障碍^[1],训练患侧上肢可大大改善患者的生存质量。以往的康复训练强调的是反复训练^[2-5]和双侧训练^[6-7]。而本文所介绍的强迫运动疗法(constraint-induced movement therapy, CIMT),是近年来国外提出的有别于以往的一种新疗法,主要着重于限制健肢同时对患侧上肢进行重塑训练。尽管该疗法已引入我国,但国外研究发展迅速,值得我们重视。

1 CIMT的起源

在19世纪70年代末和80年代初,Edward Taub等^[8]进行了动物实验研究,他们通过选择性锥体束离断术破坏了猴

子前肢的躯体感觉。此步骤后,该动物立即停止使用瘫痪的肢体。然后通过固定健侧前肢3天以上,同时对患肢进行重塑训练可诱导出患肢的再利用。这项研究促成了人类CIMT康复疗法的研究应用。

2 CIMT的机制

研究认为,单侧瘫痪肢体的废用是一种习得性废用(learned-nonuse)现象^[9]。习得性废用是由于脑卒中后早期阶段患者试图通过增加对健侧上肢的依赖,以代偿患肢使用困难而产生的。通过固定健肢并对患肢进行大量重塑训练,就可有效克服这种习得性废用现象。

用影像学对猴子的实验研究表明手运动皮质区的局部损伤后的运动恢复是建立在附近运动区功能重组的基础上的。本世纪初Jaillard A等^[9]第一次用fMRI对人类单纯初级运动皮质区(M1)脑卒中进行研究,以检测单纯初级运动区卒中后的恢复是否与临近运动皮质相关,即该运动皮质是否具有代偿能力。因为运动恢复是有时间性的,并可通过评定反

1 吉林大学第一临床医院康复科,长春市新民大街1号,130023

作者简介:刘楠,硕士研究生,医师

收稿日期:2006-05-17