综　　述

骨质疏松症合并慢性阻塞性肺疾病动物模型建立及致病易感因素的研究进展

陈文祥，王雍立综述，范顺武，蒋雪生审校

【摘要】 骨质疏松症合并慢性阻塞性肺疾病(COPD)是临床常见的老年性疾病，发病率与病死率较高。随着患者年龄增加，病情的严重程度逐渐加重。该疾病发生的风险因素较多。近年来，一些新的、非常见的易感因素被发现并报道。骨质疏松症合并COPD动物模型对该疾病的基础机制研究相当重要，但目前国内外尚未见相关综述对其报道。文章主要就骨质疏松症合并COPD的动物模型构建及致病易感因素进行综述。

【关键词】 骨质疏松症；慢性阻塞性肺疾病；动物模型；易感因素

【中图分类号】 R68　　【文献标志码】 A　　【文章编号】 1672-271X(2019)05-0507-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2019.05.013

Research advances in the establishment of animal models and the risk factors of osteoporosis combined with chronic obstructive pulmonary disease

CHEN Wen-xiang[1], WANG Yong-li[1] *reviewing*, FAN Shun-wu[2], JIANG Xue-sheng[1] *checking*

(1. *Department of Orthopedics*, *Zhejiang University Huzhou Hospital*, *Huzhou* 313003, *Zhejiang*, *China*; 2. *Department of Orthopaedics*, *Sir Run Run Shaw Hospital*, *School of Medicine*, *Zhejiang University*, *Hangzhou* 310020, *Zhejiang*, *China*)

【Abstract】 Osteoporosis combined with chronic obstructive pulmonary disease is a common age-related disease with a high incidence and mortality. The severity of the disease gradually increases as the patients get older. There are many risk factors for this disease. In recent years, some new and uncommon susceptibility factors have been discovered and reported. Animal models of osteoporosis combined with chronic obstructive pulmonary disease are important for the study of the underlying mechanism of the disease. his review will focus on the establishment of animal models and the susceptibility factors.

【Key words】 osteoporosis; chronic obstructive pulmonary disease; animal models; risk factors

0 引　　言

骨质疏松症是由多种原因引起的慢性退行性疾病。目前全球超2亿人患有骨质疏松症，未来25年内骨质疏松患者数量预计增加3倍[1]。骨质疏松症一般表现为骨量降低，骨组织微观结构破坏，并出现骨的脆性增加，最终增加骨折的发生风险[2-3]。2000年，全球发生脆性髋部骨折病例约150万，预计到2050年将增加至626万[4-5]。骨质疏松性骨折明显增加患者其他器官的并发症以及死亡率[6]。慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease，COPD)是以气流逐渐受限为主要特征慢性呼吸系统疾病[7-9]。在美国，COPD每年新发病例约1200万，并成为全美主要死亡原因之一[10-11]。相关报道显示该病的治疗费用从1993年到2013年以平均每年3.7%的增长率增加，仅2013年支出费用

基金项目：浙江省科技厅公益技术应用研究项目(2017C37119)

作者单位：313003 湖州，浙江大学湖州医院骨科(陈文祥、王雍立、蒋雪生)；310020 杭州，浙江大学医学院附属邵逸夫医院骨科(范顺武)

通信作者：蒋雪生，E-mail: jiangxuesheng2000@163.com

高达1320亿美元[12]。在我国，数据显示在城市和农村人口 10 大死亡病因中，COPD 分别居第4位与第3位，每年约超过 100 万患者死于 COPD，且致残率每年超过 500 万[13]。骨质疏松症已成为COPD主要的伴随疾病，但目前对骨质疏松症合并COPD诊疗不足，以至患者健康状况较差以及预后不良。有关研究检测COPD患者骨密度，结果显示COPD患者骨质疏松症的患病率为23% ~50%，调查发现骨质疏松症已严重影响COPD患者的生存质量[14]。骨质疏松与COPD均为慢性病，随着患者年龄增加，病情的严重程度逐渐加重[15]。以往对于骨质疏松症合并慢性阻塞性肺疾病风险因素的研究，仅局限于激素、体重指数（body mass index, BMI）、全身炎症反应等较少内容。而近年来国内外众多学者针对骨质疏松症合并COPD致病易感因素做了较多研究，包括高敏C反应蛋白（C-reactive protein, CRP）、FEV1、镉、基因多态性及循环骨保护素等，以期将这些研究发现应用于临床实践，做到及时预防、早诊断、早治疗，从而降低患者该病的发生风险。

骨质疏松症与COPD是临床两种独立的常见疾病，而骨质疏松症合并COPD的发病率与病死率较高。然而，目前国内外鲜有研究者针对动物模型研究这两种疾病间的对话以及这两种疾病的并存状态所带来的其他并发症。另外，尚未见国内外关于骨质疏松症合并COPD动物模型的综述报道。因此，本文对近年来骨质疏松症合并COPD的模型构建及其应用作一综述。

1 骨质疏松症合并COPD动物模型的建立

1.1 小鼠骨质疏松症合并COPD模型的构建及应用 Sasaki 等[16]采用吸烟结合卵巢摘除术构建小鼠骨质疏松症合并COPD模型。小鼠暴露于商业购买的过滤嘴香烟所产生的烟气中，并通过鼻腔吸入。该研究所使用的装置，简单来说，包括产生烟气的发生装置和烟气吸入装置。所有实验用香烟使用时间不超过1个月。烟气发生装置每次产生 15 mL 气体，10 次/min，经压缩空气稀释后，悬浮颗粒的质量浓度为（1202±196）mg/m^3。小鼠暴露于烟气中每次 60 min，5 次/周，分别持续 20 周与 40 周。C57BL/6J（B6）小鼠用于骨质疏松症造模，9 到 10 周龄小鼠采用卵巢摘除术的造模方式。4 周后称量小鼠子宫与体重，子宫与体重的比值较非手术组明显下降验证造模成功。应用该模型探究COPD对骨的影响，研究发现COPD促进骨吸收，增加破骨细胞数量，长期作用会出现抑制成骨。该模型构建的意义在于为骨质疏松的治疗方法提供新思路，即通过治疗COPD来减弱或消除这一危险因素。Cielen 等[17]利用吸烟结合运动量降低成功建立骨质疏松症合并COPD小鼠模型。该研究通过减少小鼠活动量，方法为限制小鼠活动空间和限制后肢活动，同时对小鼠实施烟气吸入，从而诱发小鼠出现骨质疏松症伴COPD。应用该模型发现小鼠体重、脂肪重量和肌肉重量均明显下降，并诱发出伴有比目鱼肌功能障碍的肌纤维萎缩症。该模型的意义在于可模拟临床特定疾病的发生发展，即长期卧床并伴有COPD。如中老年患者外伤所致长期卧床，既往有COPD病史，可通过构建如上疾病模型深入了解疾病的病理生理学过程，在疾病发生的全程予以必要且合适的护理与临床干预，从而达到减缓或阻遏病情的进展。

与以上造模方式不同，Tsukamoto 等[18]首次应用弹性蛋白酶诱发COPD，从而影响骨代谢，最后成功构建骨质疏松症合并COPD模型。首先制备猪弹性蛋白酶溶液，将 0.025 U、0.1 U、0.25 U 的猪弹性蛋白酶溶解于 50 mL 等渗盐水，不同组小鼠给予不同浓度。将制备好的猪弹性蛋白酶溶液注入 12 周龄小鼠的气管中，再使用 micro CT 扫描确认到达肺部。结果显示猪弹性蛋白酶对肺泡的作用呈剂量效应关系。第 12 周腰椎、股骨和胫骨的骨小梁丢失，以及成骨活性降低。另外，小鼠出现Ⅰ型肌纤维萎缩，而Ⅱ型肌纤维无明显变化。

1.2 大鼠骨质疏松症合并COPD模型的构建与应用 有研究应用重复烟气吸入装置和细菌感染建立大鼠COPD模型[19-20]。第 1–2 周，大鼠暴露于由 8 支香烟产生的烟气中，2 次/d。第 3 周至第 12 周，大鼠暴露于由 15 支香烟产生的烟气中，3 次/d。大鼠置于连接产生烟气装置的密闭的箱子中，每次暴露 30 min，2~3 次/d，暴露间隔为 3 h。肺炎克雷伯氏菌稀释液缓慢注入大鼠两侧鼻腔，1 次/d，5 次/周，交替进行，持续 8 周。结合重复烟气吸入与细菌感染，首先建立大鼠COPD模型。大鼠COPD造模 20 周后，出现骨皮质变薄，骨髓腔增宽，皮质骨与松质骨骨密度均下降。经验证，大鼠骨质疏松症合并COPD模型建立。该模型使用大鼠，吸烟结合细菌感染，使得造模周期明显缩短。该研究使用多种药物治疗骨质疏松合并COPD，研究结果显示药物可增加骨密度和骨矿物质含量，缓解呼吸道气流受限和肺部炎症。该模型的意义在于为临床骨质疏松症

合并COPD寻找新的治疗方法提供较为理想的研究载体。

上述几种动物模型是近年来骨质疏松症合并慢性阻塞性疾病主要造模方式，在一定程度上有助于该疾病的基础研究，如这两种疾病之间的相互作用、两种并存疾病所带来的新的并发症。然而，现有的该疾病动物模型仍存在较多不足。以上几种动物模型在诱发COPD时大多使用到吸烟这一刺激因素，实际上，吸烟作为独立危险因素与较多疾病存在关联。在研究COPD对骨作用时，由吸烟诱发COPD模型难以准确判断是吸烟这一独立因素还是吸烟诱发的COPD病抑或是两者均参与骨质疏松症的发生发展。其次，尽管吸烟诱发COPD病理改变与临床病例吻合度高，但其造模周期较长，加之COPD并发肺部炎症，导致部分实验动物在模型构建过程中死亡，影响实验进程。所幸，最近有研究者成功构建弹性蛋白酶诱导的骨质疏松症合并COPD模型，为同类研究提供新的模型选择。现有的造模方式仍然较为单一，应开展更多的模型构建方面的研究，如内毒素诱发COPD，构建多种原因引起的骨质疏松症合并COPD模型以满足不同研究的需要。

2 骨质疏松症合并COPD易感因素的进展

近年来多篇文献报道年龄、吸烟、BMI、慢性炎症、高碳酸血症、激素及缺氧等常见因素与骨质疏松症合并COPD有关，诸多相关综述也进行总结。然而，随着这方面研究的不断拓展和深入，新发现的和非常见的易感因素却很少被广大医务工作者所知晓，以下针对这些致病易感因素作一综述。

有学者对血CRP与血肌酐与台湾地区骨质疏松症合并COPD的风险关系进行探究，该研究纳入骨质疏松症合并COPD与健康对照人群，入选常见的混杂因素如年龄、吸烟、激素使用、BMI、体重、胸围及血三酰甘油等，统计所有研究对象的高敏CRP与肌酐值[21]。应用二分类多元逻辑回归分析显示高敏CRP值>5和血肌酐值下降是骨质疏松症合并COPD的独立危险因素，且血高敏CRP与COPD的严重性有关。血肌酐值降低可间接反映肌肉减少症，肌肉减少症会导致骨质疏松的发生风险增加。

骨质疏松症合并COPD与维生素D受体基因多态性的关系尚未明确。因此，Kim等[22]通过病例对照研究探讨维生素D受体基因多态性rs1544410（A/G-BsmI）、rs7975232（A/C-ApaI）、rs731236（C/T-TaqI）和rs10735810（C/T-FokI）与COPD伴骨质疏松症的关系，该研究共纳入200例COPD患者。研究结果显示，与骨量正常的COPD患者相比，携带rs7975232 C等位基因的COPD患者更易发生骨质疏松症。与显性单倍型模型相比，不携带GAT单倍型的COPD患者股骨颈T值更低，从而增加骨质疏松症的发病风险。而其他基因位点未见与COPD伴骨质疏松症的易感性有关。已有研究表明低密度脂蛋白受体相关蛋白5（lipoprotein receptor-related protein 5，LRP5）A1330V与一般人群的骨质疏松症的发生具有相关性。Chubachi等[23]进一步研究该基因多态性是否与COPD患者骨质疏松症易感性有关。研究结果显示，与LRP5 CC/CT基因型相比，携带TT基因型的COPD患者T值明显降低。多元逻辑回归分析表明，女性、严重肺气肿及LRP5 TT基因型均独立增加COPD患者发生骨质疏松症的风险。

Singhania等[24]报道1例严重骨质疏松症合并COPD与镉暴露存在强相关性，该例患者排除肺气肿或骨质疏松症的其他风险因素。该患者既往在珠宝车间工作长达20余年，生产车间产生的气体中含有大量的镉，从业者无任何保护措施，车间无排气设备。患者血镉、尿镉及尿β2微球蛋白含量远高于正常值，血磷、血维生素D含量低于正常值。双能X光骨密度检测显示其骨密度较同龄同性别的人群显著降低（前后位脊柱Z值：-4.1，股骨颈Z值：-2.8）。尿β2微球蛋白明显异常提示肾小管功能损害，导致尿钙磷丧失增加。另外，可能存在其他机制，如镉抑制胃肠道钙的吸收和增加前列腺E2的分泌，从而增加骨吸收及抑制肾脏维生素D代谢。因此，提出在众多可能的危险因素中，镉暴露是骨质疏松症合并COPD独立的危险因素。

COPD的类型和低FEV1与骨质疏松症的风险关系较少报道。Fouda等[25]收集52例COPD患者，评估COPD的类型和低FEV1与骨质疏松发病风险的关系。多元逻辑回归模型纳入年龄、BMI、FEV1%预测值、PaO_2、肺气肿评分、CRP和呼吸困难评分，结果显示低FEV1是骨质疏松发病的风险因素，而COPD的类型与骨质疏松的发病无相关性。类似研究使用指标FEV1来反映COPD严重程度，并发现FEV1% < 50%与骨质疏松症合并COPD明显相关[26]。

骨保护素（osteoprotegerin，OPG）是来源于成骨细胞的抗炎蛋白，可与核因子-κB受体激活剂（receptor activator of nuclear factor-κB，RANK）竞争结合

核因子-κB 配体受体激活剂(receptor activator of nuclear factor-κB ligand, RANKL),从而阻断 RANK 与 RANKL 的结合,导致破骨细胞分化成熟障碍。然而,Pobeha 等[27]研究共纳入 56 例 COPD 患者,检测血清骨保护素,双能 X 光骨密度仪检测全股骨骨密度。研究结果显示,从骨密度正常到骨量减少再到骨质疏松症,COPD 患者血清骨保护素含量逐渐增加(6.6 ± 1.8 、7.2 ± 2.9 及 8.6 ± 1.5 pmol/L, $P<0.036$),髋部 T 值与 FEV1 直接相关。多元分析显示,在校正患者年龄、性别及 FEV1 后,骨保护素独立预测 T 值。研究认为 COPD 患者髋部骨质疏松症与循环骨保护素表达水平有关,循环骨保护素可作为该疾病的生物标记物。Zhang 等[28]研究伴与不伴骨质疏松症的 COPD 男性患者基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、MMP-9 同源抑制剂 TIMP-1、炎症因子 TNF-α 以及 OPG/RANK/RANKL 系统之间相互关系。研究显示 COPD 伴骨质疏松症患者血清 MMP-9、MMP-9/TIMP-1、TNF-α、RANKL、OPG 及 RANKL/OPG 表达水平较不伴骨质疏松症或骨量减少患者明显增高。FEV1% 和腰椎及股骨颈骨密度与血清 MMP-9、RANKL 及 RANKL/OPG 表达水平呈负相关。血清 MMP-9 与 TNF-α 及 RANKL/OPG 表达水平呈正相关,而与 RANKL 表达水平无关。这些研究表明 MMP-9、RANKL 及 RANKL/OPG 之间紧密联系,对骨质疏松症合并 COPD 的发生发展发挥协同作用。

3 结　语

当前,虽然单纯的 COPD 与骨质疏松症的动物造模方式较多,但骨质疏松症合并 COPD 的动物模型仍然非常少,这无疑限制该类疾病的基础研究,进而阻碍该疾病的预防、诊断和治疗新方法探索的进程。因而,亟需多种经济有效周期短的动物模型为广大科研工作者带来研究便利。通过对动物模型的深入研究,将会发现 COPD 引起骨质疏松症的新的分子作用靶点,后期针对该靶点研发更加有效的药物,从而实现早期防治 COPD 合并骨质疏松症。另外,骨质疏松症可能加重 COPD 病程的进展,寻找骨质疏松症加重 COPD 的作用靶点并研究对抗目标靶点的药物,同样有助于减缓 COPD 合并骨质疏松症的病情发展。以往,骨质疏松症合并 COPD 的主要风险因素,包括吸烟、炎症、激素等,已广泛被临床医师所认知。新的风险因素不断被发现和报道,由于骨质疏松症合并 COPD 的病因和发病机制极其复杂,仅了解常见的风险因素远远不够,应及时关注新的风险因素研究发现。意识到这些因素的存在,早期及时采取必要的干预措施可降低该疾病的发生率。今后还需要开展更多的前瞻性队列研究以明确 COPD 患者骨质疏松症的发病风险。

[参考文献]

[1] Li T, Jiang S, Lu C, *et al*. Melatonin: Another avenue for treating osteoporosis?[J]J Pineal Res, 2018:e12548.

[2] 芮敏劼, 郑苏阳, 郭　杨, 等. 内质网应激通路与骨质疏松相关性的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(8): 877-882.

[3] 田发明, 李舒扬, 骆　阳, 等. 辛伐他汀对去势大鼠椎体骨量及椎间盘退变的作用[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(2): 127-131.

[4] Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures[J]. Osteoporos Int, 2006, 17(12): 1726-1733.

[5] Cooper C, Cole ZA, Holroyd CR, *et al*. Secular trends in the incidence of hip and other osteoporotic fractures[J]. Osteoporos Int, 2011, 22(5): 1277-1288.

[6] Wang T, Yang L, Jiang J, *et al*. Pulsed electromagnetic fields: promising treatment for osteoporosis[J]. Osteoporos Int, 2019, 30(12): 267-276.

[7] 薛迎春, 顾晓燕, 樊　有, 等. 银杏叶胶囊联合认知训练治疗稳定期慢性阻塞性肺病患者认知功能障碍临床观察[J]. 东南国防医药, 2016, 18(3): 244-246.

[8] 余霓雯, 王玉婷. 噻托溴铵联合布地奈德福莫特罗对慢性阻塞性肺疾病的疗效及血清 TGF-β、MMP-9、TIMP-1 水平的影响[J]. 东南国防医药, 2017, 19(2): 183-186.

[9] 方庭正, 段蕴铀, 欧　敏. 慢性阻塞性肺病易感基因相关研究进展[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(7): 764-769.

[10] Aboumatar H, Naqibuddin M, Chung S, *et al*. Effect of a Program Combining Transitional Care and Long-term Self-management Support on Outcomes of Hospitalized Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Randomized Clinical Trial[J]. JAMA, 2018, 320(22): 2335-2343.

[11] Bon J. Acute Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations and Cardiovascular Risk: A Time for Lung Disease-Specific Screening Strategies[J]. Ann Am Thorac Soc, 2018, 15(8): 913-915.

[12] Dwyer-Lindgren L, Bertozzi-Villa A, Stubbs RW, *et al*. Trends and Patterns of Differences in Chronic Respiratory Disease Mortality Among US Counties, 1980-2014[J]. JAMA, 2017, 318(12): 1136-1149.

[13] 易方莲, 易松涛. 慢性阻塞性肺疾病流行病学调查和防控措施研究[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(2): 171-173.

[14] Vrieze A, de Greef MH, Wijkstra PJ, *et al*. Low bone mineral density in COPD patients related to worse lung function, low

weight and decreased fat-free mass[J]. Osteoporos Int, 2007, 18(9): 1197-1202.

[15] Abbasi M, Zohal M, Atapour B, *et al*. Prevalence of Osteoporosis and Its Risk Factors in Men with COPD in Qazvin[J]. Int J Chronic Dis, 2016, 2016: 4038530.

[16] Sasaki M, Chubachi S, Kameyama N, *et al*. Effects of long-term cigarette smoke exposure on bone metabolism, structure, and quality in a mouse model of emphysema[J]. PLoS One, 2018, 13(1): e0191611.

[17] Cielen N, Maes K, Heulens N, *et al*. Interaction between Physical Activity and Smoking on Lung, Muscle, and Bone in Mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 54(5): 674-682.

[18] Tsukamoto M, Mori T, Wang KY, *et al*. Systemic bone loss, impaired osteogenic activity and type I muscle fiber atrophy in mice with elastase-induced pulmonary emphysema: Establishment of a COPD-related osteoporosis mouse model[J]. Bone, 2018, 120: 114-124.

[19] Li Y, Li SY, Li JS, *et al*. A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(10): 1752-1760.

[20] Yange T, Ya L, Jiansheng L, *et al*. Effects of therapies for regulating and reinforcing lung and kidney on osteoporosis in rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Tradit Chin Med, 2015, 35(2): 175-183.

[21] Lin CH, Chen KH, Chen CM, *et al*. Risk factors for osteoporosis in male patients with chronic obstructive pulmonary disease in Taiwan[J]. PeerJ, 2018, 6: e4232.

[22] Kim SW, Lee JM, Ha JH, *et al*. Association between vitamin D receptor polymorphisms and osteoporosis in patients with COPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2015, 10: 1809-1817.

[23] Chubachi S, Nakamura H, Sasaki M, *et al*. Polymorphism of LRP5 gene and emphysema severity are associated with osteoporosis in Japanese patients with or at risk for COPD[J]. Respirology, 2015, 20(2): 286-295.

[24] Singhania S, Singh S, Parikh P. Cadmium as a risk factor for osteoporosis in COPD [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2017, 21(2): 244.

[25] Fouda MA, Alhamad EH, Al-Hajjaj MS, *et al*. A study of chronic obstructive pulmonary disease-specific causes of osteoporosis with emphasis on the emphysema phenotype [J]. Ann Thorac Med, 2017, 12(2): 101-106.

[26] Graumam RQ, Pinheiro MM, Nery LE, *et al*. Increased rate of osteoporosis, low lean mass, and fragility fractures in COPD patients: association with disease severity [J]. Osteoporos Int, 2018, 29(6): 1457-1468.

[27] Pobeha P, Petrasova D, Tkacova R, *et al*. Circulatory osteoprotegerin is related to osteoporosis of the hip in patients with COPD [J]. Respir Med, 2014, 108(4): 621-627.

[28] Zhang PF, Pan L, Luo ZY, *et al*. Interrelationship of circulating matrix metalloproteinase-9, TNF-α, and OPG/RANK/RANKL systems in COPD patients with osteoporosis[J].COPD, 2013, 10(6): 650-656.

（收稿日期：2019-04-01； 修回日期：2019-04-22）

（责任编辑：刘玉巧； 英文编辑：吕镗烽）