

降钙素对卵巢切除大鼠骨转换的影响

谢 晶 杜靖远 沈 霖 杨艳萍 周丕祺

摘要 尽管降钙素已在临床用于防治骨质疏松症,但其对骨转换的影响并未阐明,为此本实验以骨组织形态计量学为手段,观察了降钙素对卵巢切除大鼠小梁骨体积和骨转换的影响。实验分三组:卵巢切除后用降钙素组、卵巢切除后用生理盐水组和假手术组。取胫骨干骺端作不脱钙骨切片,行骨组织形态学测定。结果表明,与假手术组相比,卵巢切除后用生理盐水组其小梁骨体积明显下降,破骨细胞表面积、成骨细胞表面积、类骨质表面积、矿化表面积、矿化沉积率和骨形成率均明显升高。相反,卵巢切除后用降钙素组其小梁骨体积恢复正常,骨转换指标也接近假手术组。说明降钙素不仅抑制卵巢切除大鼠骨吸收,而且抑制其骨形成,使骨转换降低,从而预防卵巢切除大鼠骨丢失。

关键词 降钙素 卵巢切除术 大鼠 骨组织形态计量学 骨转换

Effect of calcitonin on bone turnover in ovariectomized Rats

Xie Jing, Du Jinyuan, Shen Lin, Yang Yanping and Zhou Piqi

(Union Hospital, Tongji Medical University, Wuban 430022, China)

Abstract Objective: Although calcitonin has been used to treat osteoporosis clinically, its effect on bone turnover is still unclear. Therefore, the present study involves use of bone histomorphometry as a method to observe the effect of calcitonin on cancellous bone volume and bone turnover in ovariectomized (OVX) rats. Methods: 24 female Wistar rats, 7-8 months old, were subjected to 3 groups: OVX and treated with salmon calcitonin (OVX-sCT), OVX and treated with a vehicle (OVX-Veh) and sham operated and treated with a vehicle (control-Veh). 5 μ m and 20- μ m cross-sections of tibial diaphyses were made for bone histomorphometry measurements. Results: In comparison with control-Veh rats, the proximal tibia of OVX-Veh rats were characterized by decrease in cancellous bone volume and significant increase in osteoclast surface area, osteoblast surface area, osteoid surface area, mineralizing surface area, mineral apposition rate and bone formation rate. In contrast, OVX rats treated with sCT made recovery to normal cancellous bone volume and showed a significant decrease in all the indices of bone turnover to near control-Veh levels. Conclusion: Calcitonin depresses bone turnover and prevents the development of osteopenia in OVX rats.

Key words: Calcitonin Ovariectomy Rats Histomorphometry Bone turnover^[1]

降钙素是除雌激素外又一用于临床治疗骨质疏松症的药物,但降钙素对骨转换的作用并未用阐明。以往研究一致认为降钙素维持甚至增加骨量是因为它能抑制骨吸收,但其对骨形成的影响却有争议。本研究的目的在于以骨组织形态计量学为手段观察降钙素对卵巢切除(去势)大鼠骨体积和骨转换的影响。

1 材料和方法

实验选用雌性 Wistar 大鼠 24 只,体重

300g 左右,鼠龄 7~8 个月。随机分为 3 组,每组 8 只。正常对照组(control-veh);卵巢切除后用生理盐水组(OVX-veh)和卵巢切除后用鲑鱼降钙素组(OVX-sCT)。

所有大鼠均在 2%戊巴比妥钠腹腔麻醉下行手术。正常对照组行假手术(开腹后关腹);另两组从背侧进入行双侧卵巢切除术。术后第二天起,OVX-sCT 组肌注鲑鱼降钙素(sandoz)隔日一次,剂量为 15 IU/kg 体重,共 10 周。OVX-veh 组和 Control-veh 组隔日肌注等量生

理盐水,共10周。

大鼠喂以标准大鼠饲料(本校实验动物中心提供),自由饮水。处死前14天和7天,每只大鼠肌注盐酸四环素10mg/kg,以作荧光标记。术后10周处死所有大鼠,到右侧胫骨近侧干骨后端为标本。

标本用甲基丙烯酸甲酯包埋,用Jung-k3型切片机切成5 μ m和20 μ m不脱钙骨切片。5 μ m切片经甲苯胺蓝或Von-Rossa染色,在普通显微镜下用方格镜测算骨组织计量学静态参数;20 μ m切片在荧光显微镜下测量四环素单标、双标等动态参数。所选用骨组织形态计量学指标包括:小梁骨体积(CBV,%)、破骨细胞表面积(OCs,%),成骨细胞表面积(OBS,%),类骨质表面积(OS,%),矿化表面积(MS,%),矿化沉积率(MAR, μ m/day)和骨形成率(BFR, $\times 10^{-2}\mu$ m³/ μ m²/d)。

各组数据采用SAS软件包进行单因素方差分析和组间比较,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果和讨论

实验结束时,所有大鼠体重均增加。卵巢切除后用降钙素组与卵巢切除后生理盐水组体重明显高于正常对照组($P < 0.01$)。前二组体重分别为 421.25 ± 32.85 g和 414.88 ± 19.48 g,而正常对照组体重为 360.00 ± 17.43 g。

三组大鼠胫骨近侧干骺端骨组织形态计量学结果见表1。与正常对照组相比,卵巢切除后用盐水相组小梁骨体积明显减少,而骨转换指标如破骨细胞表面积、成骨细胞表面积、类骨质表面积、矿化表面积、矿化沉积率和骨形成率则明显增加。相反,卵巢切除后用降钙素组其小梁骨体积恢复至正常对照水平($P > 0.01$);其破骨细胞表面积、成骨细胞表面积、类骨质表面积、矿化沉积率和骨形成率明显下降;矿化面积较卵巢切除后用盐水组虽明显下降,但仍高于正常对照组水平,见表1。

表1 胫骨近侧干骺端骨组织形态计量学结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

指 标	Control-Veh	OVX-Veh	OVX-CT
CBV (%)	$31.97 \pm 3.50^*$	$17.47 \pm 3.49^{\Delta}$	$27.99 \pm 2.04^*$
OCs (%)	$2.77 \pm 0.06^*$	$7.25 \pm 1.22^{\Delta}$	$2.51 \pm 0.14^*$
OBS (%)	$1.97 \pm 0.55^*$	$5.13 \pm 1.16^{\Delta}$	$1.96 \pm 0.16^*$
OS (%)	$11.31 \pm 1.98^*$	$21.54 \pm 4.61^{\Delta}$	$9.96 \pm 1.59^*$
MS (%)	$8.41 \pm 1.31^*$	$18.33 \pm 0.75^{\Delta}$	$11.25 \pm 2.74^{\Delta}$
MAR (μ m/day)	$1.21 \pm 0.046^*$	$1.53 \pm 0.098^{\Delta}$	$1.16 \pm 0.058^*$
BFR $\times 10^{-2}\mu$ m ³ / μ m ² /day	$7.97 \pm 1.46^*$	$26.68 \pm 1.22^{\Delta}$	$7.3 \pm 1.38^*$

* VS OVX-Veh, $P < 0.01$; Δ VS Control-Veh, $P < 0.01$

降钙素用于治疗骨质疏松病人,其对骨形成的影响以往一般是生化指标如碱性磷酸酶、骨钙素等反映的,但不同的学者有不同的报道:如降低^[1]、无影响^[2]或增加^[3]。以骨组织形态计量学为手段来研究降钙素对骨形成的影响则鲜有报道。骨转换过程由骨吸收和骨形成两种活动正常耦连协同作用进行的,正常情况下骨组织激活后先行吸收,而后在吸收面上形成新骨以填补吸收面,完成一个骨再建循环过程。当骨

吸收大于骨形成时,就表现为骨丢失。因此,尽管以往研究表明降钙素抑制骨质疏松症者骨吸收,但因其对骨形成影响有争议,故降钙素对骨转换的影响也难下决断。

本实验中,卵巢切除后用生理盐水组大鼠小梁骨体积明显下降,而骨形成与骨吸收指标均明显升高,显示此为绝经早期高转换率骨质疏松症动物模型。卵巢切除后用降钙素组大鼠小梁骨体积明显升高,这与临床上降钙素能保

护绝经早期妇女骨量的报道相一致^[4]。本实验中,卵巢切除后用降钙素组不仅其反映骨吸收的指标如破骨细胞表面积下降,而且其反映骨形成的指标如骨形成率、成骨细胞表面积和矿化沉积率等也下降,表明降钙素对卵巢切除大鼠不仅抑制其骨吸收,而且抑制其骨形成。因此可以认为,降钙素对绝经早期骨量的保护作用机理是抑制骨转换。当然,本实验是建立在绝经早期高转换率骨质疏松症模型基础上,降钙素对低转换率骨质疏松症的作用如何,还有待于研究。

以往研究表明,雌激素、二磷酸盐等防治骨质疏松也是通过抑制骨转换而实现的,这与本

实验中降钙素的作用机理相一致。因此可以为任何抑制骨转换的药物均可防治绝经早期骨丢失。

参考文献

- 1 Civitelli R, Gonnelli S, Zaccari F, et al. Bone turn-over in postmenopausal osteoporosis: effect of calcitonin treatment. *J Clin Invest*, 1988; 82: 1268.
- 2 Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res*, 1993; 8 (Suppl 2): S549-S554.
- 3 Mazzuoli GF, Fasser M, Gennari C, et al. Effects of salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis: a controlled double blind clinical study. *Calcif Tissue Int*, 1986; 38: 3.
- 4 Macintyre I, Whitehead MI, Banks LM, et al. Calcitonin for prevention of postmenopausal bone loss. *Lancet*, 1988; 2: 900.

(上接 69 页)

作用,如长期存在最终导致骨矿物降低,茶也含有较多的咖啡因。本文长期饮茶组的 BMD 明显低于对照组,因此长期饮茶也是 OP 危险因素之一。

文献报道,钠的摄入在维持骨量方面也具有重要作用,钠摄入增加,尿钙丢失增加^[5]。本文高钠组的 BMD 低于低钠组,证实长期摄入钠增加,可使失骨增加引起 OP。

另外,本文运动组中老年人的骨矿物含量明显高于非运动组,与文献报道一致,日本 Igarashi 的对照研究发现,3 年左右经常运动的妇女的腰椎骨矿物比对照组显著增高^[6]。说明长期运动是预防骨质疏松的有效方法。

蒙古族大部分有长期饮酒、饮茶、吸烟、饮用高钠饮食的习惯。因此,饮酒、吸烟、饮茶、摄入高钠饮食也是蒙古族中老年人 OP 高于汉族

中老年人的原因之一。

我们认为:吸烟、饮酒、饮茶、摄入高钠饮食、少运动、雌激素水平下降等可导致骨质丢失,加重骨质疏松,是蒙古族中老年人骨折的危险因素,应采取相应措施,减轻骨质疏松,避免蒙古族中、老年人发生骨折。

参考文献

- 1 Melton L J. Hip fracture: a world-wide problem today and tomorrow. *Bone*, 1993; 14: 51.
- 2 刘忠厚主编. 骨质疏松症, 第一版. 北京: 化学工业出版社, 1992: 171.
- 3 Gyepes M. The low incidence of fracture of the negro. *JAMA*, 1962; 181: 1073.
- 4 朱建民. 老年人退化性骨质疏松及其防治. *中华内科杂志*, 1994; 33(10): 654.
- 5 Chan E L. *J Bone Mineral Res*, 1993; 8(10): 1185.
- 6 沈其昀, 张韬玉. 国际骨质疏松症研讨会纪要. *中华老年医学杂志*, 1992; 11(3): 188.