·论著·

$rhPTH_{(1-34)}$治疗糖皮质激素诱发大鼠骨质疏松症的实验研究

金慰芳 王洪复 顾淑珠 周轶 高建军 徐培康 徐爱红 王漪 周永春

【摘要】 **目的** 观察重组人甲状旁腺激素$_{(1-34)}$[recombinant human parathyroid hormone$_{(1-34)}$, rhPTH$_{(1-34)}$]对糖皮质激素引起的大鼠继发性骨质疏松症(OP)的治疗作用。**方法** 应用肌肉注射地塞米松(dexamethasone. DEX)方法,建立模拟糖皮质激素引起的继发性OP大鼠模型。给予皮下注射5、10、20和40 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ rhPTH$_{(1-34)}$治疗8周。观察骨量、骨生物力学、骨形态计量及骨代谢相关血尿生化指标,综合评价PTH对糖皮质激素诱发OP的治疗效果。**结果** 显示肌注地塞米松大鼠的骨量、骨生物力学较对照组显著性下降,表明诱导大鼠骨质疏松模型成立。不同剂量PTH治疗均能显著增加模型大鼠的腰椎与股骨骨密度、股骨干重与灰重,提高股骨三点弯曲最大载荷、提高腰椎骨小梁面积百分比及矿化沉积率($P<0.05\sim0.001$),并呈一定剂量效应关系。血钙、磷无明显变化。**结论** 外源性PTH对糖皮质激素诱发的大鼠OP具有显著治疗作用。

【关键词】 人甲状旁腺状素; 糖皮质激素; 骨质疏松

Therapeutic effect of rhPTH$_{(1-34)}$ on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats

JIN Weifang, WANG Hongfu, GU Shuzhu, et al. Department of Bone Metabolism, Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032, China

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the therapeutic effect of recombinant human parathyroid hormone$_{(1-34)}$[rhPTH$_{(1-34)}$] on osteoporosis induced by glucocorticoid in rats. **Methods** The osteoporosis rat model was developed by intramusculr dexamethasone, and then rhPTH$_{(1-34)}$ 5, 10, 20, and 40 $\mu g/kg$ was subcutaneously injected once daily for 8 weeks. The dry weight and ash weight of bone, bone mineral density, bone biomechanical property, trabecular area, bone mineral deposition and the biochemistry of serum and urine related bone metabolites were measured after the termination of therapy. **Results** In rhPTH$_{(1-34)}$-treated rats, bone mass, bone biomechanical property, trabecular area, and bone depositon increased significantly, compared with the control group ($P<0.05\sim0.001$), but serum Ca and P had no marked change. **Conclusions** rhPTH$_{(1-34)}$ possesses remarkable therapeutic effect on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats.

【**Key words**】 Human parathyriod hormone; Glucocorticoid; Osteoporosis

长期糖皮质激素应用会诱发骨质疏松(Osteoporosis, OP)及骨折已为大家所认识,尽管停药后可有一定恢复,但对一些慢性疾病而须长期应用皮质激素的患者仍十分棘手。PTH作为一个新的抗骨质疏松药物,其骨形成促进作用已为广大研究者关注,并于近日获美国FDA批准上市。本研究应用肌肉注射地塞米松(DX)方法建立模拟继发性骨质疏松症模型,给予由上海复星生物医药研究院有限公司研制的重组人甲状旁腺激素$_{(1-34)}$[rhPTH$_{(1-34)}$]治疗8周后观察骨量、骨生物力学、骨形态计量和骨代谢相关血、尿生化指标,综合评价其治疗效果,为其对糖皮质激素诱发的继发性骨质疏松症的治疗作用提供实验室依据。

作者单位:200032 上海,复旦大学放射医学研究所骨代谢研究室(金慰芳、王洪复、顾淑珠、周轶、高建军、徐培康、徐爱红);上海复星生物医药研究院有限公司(王漪、周永春)

材料和方法

1. 药品和仪器

rhPTH$_{(1-34)}$由上海复星生物医药研究院有限公司研制;密盖息为Novartis制药有限公司产品;福善美购自默沙东制药有限公司;地塞米松磷酸钠注射液为信谊金朱药业有限公司生产;Pyd酶免试剂盒购

自QUIDE公司(USA);固体物理密度仪为Mettler Toledo公司产品(AG204 Swiss);双能X线骨密度仪为LUNAR公司产品(DXP-L USA);万能材料测试仪购自Instron公司(5543 USA);硬组织切片机为Leitz公司产品(1600 German);荧光显微镜购自Nikon公司(E600 Japan);形态计量软件为Mediaplayer产品(Image-Pro Plus IPP.USA);酶标仪购自Bio-Tek公司(ELX800,USA);自动生化测试仪为日立产品(7170 Japan)。

2. 地塞米松诱发OP模型建立

取6月龄SD雌性大鼠100只,体重230~270 g。20只大鼠肌肉注射生理盐水(对照组),每周3次,每次0.1 ml/只;其余大鼠给予地塞米松(DEX),每次剂量1 mg/kg体重,肌肉注射。每周3次,共8周。取NS组与DEX组各10只大鼠颈动脉放血,取股骨、腰椎标本作骨量和骨生物力学性能测定,确认DEX诱发大鼠骨质疏松模型建立后进行实验分组。模型大鼠持续递减给予DEX为每次剂量1 mg/kg体重,每周1次至实验结束。

3. 分组和给药方法

共8组,每组10只大鼠。正常对照组:每天ip酸蒸水0.1 ml/只;OP模型对照组:每天ip酸蒸水0.1 ml/只;rhPTH$_{(1-34)}$治疗组:分4个剂量组:ip rhPTH$_{(1-34)}$ 5 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$、10 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$、20 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$和40 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$;二个阳性药物对照组:密盖息组(CT);每次ip密盖息15 $IU \cdot kg^{-1}$,隔日1次;福善美组(BP):10 $nm \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$福善美蒸馏水溶解,1 ml/只灌胃。除密盖息组,其他各组均为每周治疗6次,共8周。

4. 观察指标

治疗结束前14 d和4 d腹腔注射四环素(30 mg/kg体重)制作骨组织形态计量标本,分析矿化沉积率。治疗结束后(末次PTH注射后1~2 d内)实验大鼠置代谢笼收集尿液(避光,收集2 ml尿),然后颈动脉采血取血标本,放血处死后取骨和其他标本作股骨干重与灰重、股骨与腰椎骨密度、股骨三点弯曲试验与腰椎压缩试验、椎体骨小梁与股骨矿化沉积形态计量、血清ALP、钙、磷及尿吡啶酚(Pyd)测试。

5. 统计分析

SPSS10.0统计分析软件,结果以$\bar{x} \pm s$表示,与模型组的均数比较采用两组独立样本t检验。

结 果

1、DEX诱发大鼠骨质疏松模型判断

以骨干重、灰重和骨密度等骨量指标与股骨三点弯曲载荷和腰椎压缩载荷的骨生物力学性能指标为骨质疏松的主要判断指标,本实验结果显示DEX给予8周后的上述指标除腰椎压缩载荷外均较NS对照组呈明显下降(表1,$P<0.05\sim0.01$),表明大鼠肌注DEX 8周诱发骨质疏松模型成立。

表1 大鼠DEX给予8周后各项指标测定结果($\bar{x} \pm s$)

观察指标	对照组	DEX
干重(g/cm^3)	1.391±0.050	1.334±0.025**
灰重(g/cm^3)	0.901±0.037	0.869±0.022*
股骨BMD(g/cm^3)	1.408±0.050	1.368±0.022
腰椎BMD(g/cm^3)	1.346±0.044	1.282±0.055*
股骨三点弯曲(N)	164.6±14.2	141.4±12.7**
腰椎压缩载荷(N)	509.6±89.7	427.1±93.3

注:与对照组比较* $P<0.05$, ** $P<0.01$

2. rhPTH$_{(1-34)}$对DEX诱发骨质疏松大鼠的治疗效果

(1)对DEX诱发骨质疏松大鼠股骨干重和灰重的影响:DEX持续诱发骨质疏松对照大鼠(不治疗)8周后,股骨(右)骨干重与灰重显著低于正常对照组($P<0.001$, $P<0.01$)。由表2可见,rhPTH$_{(1-34)}$治疗低剂量(5 $\mu g/kg$)的骨干重和灰重已较DEX诱发骨质疏松对照组显著性增高($P<0.001$, $P<0.01$),并随注射剂量增加而增加,与rhPTH$_{(1-34)}$的剂量呈明显正相关。密盖息治疗组股骨干重与灰重较DEX诱发骨质疏松对照组有增加趋势而无显著统计学意义($P>0.05$),福善美治疗组股骨干重和灰重较DEX诱发骨质疏松对照组明显增加($P<0.01$、$P<0.001$)。

表2 DEX骨质疏松大鼠治疗8周后股骨(右)干重、灰重测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	干重(g/cm^3)	灰重(g/cm^3)
对照组	1.355±0.066***	0.943±0.048**
DEX	1.255±0.031	0.868±0.023
PTH 40μg	1.451±0.036***	1.008±0.029***
PTH 20μg	1.410±0.056***	0.975±0.050***
PTH 10μg	1.379±0.036***	0.951±0.025**
PTH 5μg	1.368±0.053***	0.940±0.038**
CT	1.291±0.032	0.897±0.020
BP	1.333±0.052***	0.956±0.117***

注:与DEX对照组比较* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

(2)对DEX诱发骨质疏松大鼠股骨与腰椎BMD的影响:DEX持续诱发骨质疏松对照大鼠(不治疗)8周后,股骨(左)与腰椎BMD均较NS对照组显著降低($P<0.01$, $P<0.05$,表3)。由表3可见,rh-

$PTH_{(1-34)}$治疗的低剂量(5 μg/kg)组的股骨和腰椎BMD即较DEX骨质疏松对照组明显增加($P<0.001$, $P<0.01$),前者增加7.9%,后者增加10.1%,股骨BMD随$rhPTH_{(1-34)}$注射剂量呈相关增加($P<0.001$)。密盖息治疗使股骨BMD较DEX骨质疏松对照增加1.7%,腰椎BMD增加2.5%($P>0.05$)。福善美治疗使股骨的BMD较DEX对照组增加3.9%($P<0.05$),腰椎无明显变化。

表3 DEX骨质疏松大鼠治疗8周BMD测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	股骨(左) (g/cm³)	±%	腰椎(L_{1-5}) (g/cm²)	±%
NS	1.408±0.061**		0.297±0.019*	
DEX	1.326±0.033	-5.8(与NS比较)	0.276±0.017	-7.0(与NS比较)
PTH 40μg	1.508±0.037***	+13.7	0.311±0.025***	+12.7
PTH 20μg	1.466±0.061***	+10.6	0.311±0.016***	+12.7
PTH 10μg	1.444±0.044***	+8.9	0.303±0.020**	+9.8
PTH 5μg	1.431±0.047***	+7.9	0.304±0.022**	+10.1
CT	1.349±0.036	+1.7	0.283±0.016	+2.5
BP	1.391±0.054**	+3.9	0.276±0.025	+0

注:与DEX对照组比较* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;±%为与OVX对照组比较

(3)对DEX诱发骨质疏松大鼠股骨与腰椎骨生物力学性能的影响:DEX持续诱发骨质疏松对照大鼠(不治疗)8周后股骨三点弯曲载荷和腰椎压缩载荷与NS对照组比较分别下降17.3%与21.7%,具有明显差异(表4, $P<0.01$, $P<0.05$)。由表4可见,$rhPTH_{(1-34)}$治疗对DEX诱发骨质疏松大鼠股骨三点弯曲载荷较不治疗对照组增加6.6%~9.4%,20 μg/kg剂量组增加有显著意义($P<0.01$);PTH治疗对腰椎压缩载荷的影响较显著,低剂量(5 μg/kg)治疗即可使DEX诱发骨质疏松较不治疗对照组增加23.2%($P<0.05$),并随治疗剂量增加而增加($P<0.05\sim0.001$)。密盖息治疗组对股骨三点弯曲载荷呈显著抑制作用($P<0.05$),而对腰椎压缩载荷的作用不明显;福善美组则显著增加股骨三点弯曲载荷($P<0.01$),对腰椎压缩载荷的增加无统计学意义(+20.1%, $P>0.05$)。

(4)对DEX诱发骨质疏松大鼠腰椎骨小梁面积和股骨矿化沉积率的影响:对L_3脱钙HE染色标本和股骨近端1/3不脱钙四环素双标记标本应用图像分析仪IPP形态计量软件作椎体骨小梁面积计量结果表明:DEX诱发骨质疏松对照(不治疗)大鼠腰椎骨小梁与正常对照组比较减少9.2%,矿化沉积率减少18.7%(表5, $P>0.05$)。由表5可见,$rhPTH_{(1-34)}$治疗各剂量组对DEX诱发骨质疏松大鼠的腰椎骨小梁面积较不治疗对照组明显增加($P<0.001$,图1-3),高剂量组的治疗作用大于低剂量组;PTH各治疗组的股骨矿化沉积率较DEX诱发骨质疏松对照组增加,但无统计学意义。密盖息治疗组的腰椎骨小梁面积与不治疗对照组比较呈抑制效应($P<0.05$),对矿化沉积率无明显影响。福善美治疗组对骨小梁面积与矿化沉积率与不治疗对照组比较呈增加效应(+10.8%, +21.2%),但无统计学意义。

表4 DEX骨质疏松大鼠治疗8周后骨生物力学性能测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	股骨三点弯曲载荷(N)	±%	腰椎压缩载荷(N)	±%
NS	176.7±10.0***		505.0±36.8*	
DEX	146.1±10.0	-17.3(与NS比较)	395.4±57.8	-21.7(与NS比较)
PTH 40μg	155.2±11.4	+6.2	556.0±153.7***	+40.6
PTH 20μg	159.9±6.4**	+9.4	528.6±85.2**	+33.7
PTH 10μg	153.2±9.0	+4.9	496.3±118.2*	+25.5
PTH 5μg	155.7±8.1	+6.6	487.2±94.2*	+23.2
CT	133.4±15.2*	-8.7	403.2±71.0	+2.0
BP	162.7±16.8**	+11.4	474.7±69.8	+20.1

注:与DEX对照组比较* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;±%为与OVX对照组比较

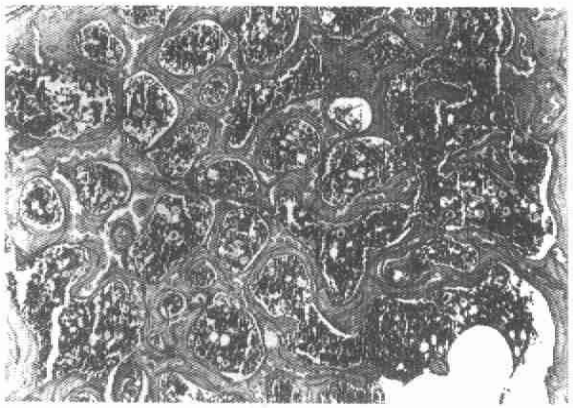

图1 NS对照组大鼠腰椎,HE染色,光镜,40×

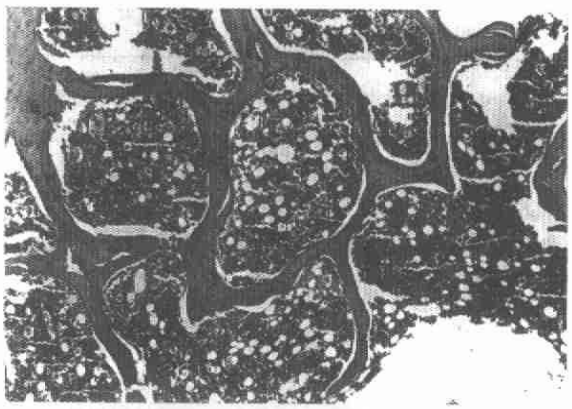

图2 DEX-OP模型组大鼠腰椎,HE染色,光镜,40×

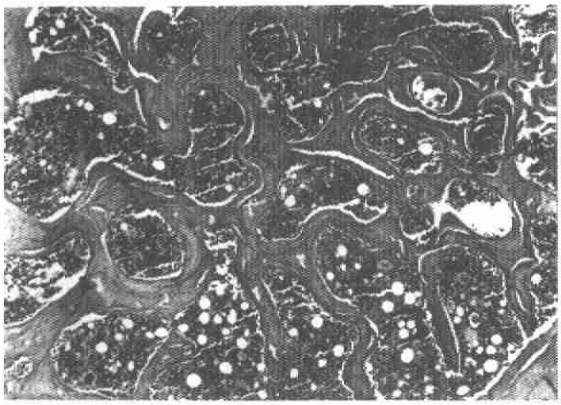

图3 DEX-OP模型+PTH(5 μg)治疗组大鼠腰椎,HE染色,光镜,40×

表5 DEX骨质疏松大鼠治疗8周腰椎骨小梁(L_3)百分面积与股骨矿化沉积率的形态剂理结果($\bar{x} \pm s$)

组别	骨小梁百分面积(%)($n=10$)	±%	股骨矿化沉积率(μm/d)($n=5$)	±%
NS	31.736±3.444		2.229±0.448	
DEX	28.809±4.513	-9.2 (NS比较)	1.810±0.253	-18.7 (NS比较)
PTH 40μg	49.473±10.369	+71.7	2.583±0.412	+42.7
PTH 20μg	47.005±7.912	+63.2	2.491±0.356	+37.6
PTH 10μg	40.610±11.346	+41.0	2.281±0.307	+26.0
PTH 5μg	35.698±7.939	+23.9	2.134±0.264	+17.9
CT	21.294±4.322	-26.1	1.823±0.205	+0.7
BP	31.908±10.353	+10.8	2.193±0.288	+21.2

注:与DEX对照组比较** $P<0.01$, *** $P<0.001$; ±%为与OVX对照组比较

(5)对DEX诱发骨质疏松大鼠血ALP与尿Pyd的影响:DEX诱发骨质疏松不治疗对照大鼠继续观察8周后血ALP水平和尿Pyd/Cr的比值较正常组无明显改变,(表6, $P>0.05$)。由表6可见,rhPTH$_{(1-34)}$各治疗组血ALP和尿Pyd/Cr的比值较不治疗对照组也无明显改变。密盖息对治疗组血ALP水平和尿Pyd/Cr的比值无明显影响,而福善美治疗对DEX诱发骨质疏松大鼠血ALP水平和尿Pyd/Cr的比值较不治疗对照组呈 $P<0.05$)。

表6 DEX骨质疏松大鼠治疗8周后血ALP与尿Pyd指标测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	血ALP(U/L)	Pyd/Cr(nmol/mmol)
对照组	165.7±45.2	45.083±16.2
DEX	156.0±50.8	56.673±7.6
PTH 40μg	169.3±45.6	62.743±17.9
PTH 20μg	173.4±73.7	48.061±20.8
PTH 10μg	179.7±54.6	50.955±12.5
PTH 5μg	136.2±37.2	49.149±11.7
CT	179.0±50.3	63.181±16.2
BP	144.8±63.1	28.758±6.7

注:与DEX对照组比较* $P<0.05$; ±%为与OVX对照组比较

(6)对DEX诱发骨质疏松大鼠血钙、磷的影响

于rhPTH$_{(1-34)}$治疗(8周)结束后1 d对DEX诱发骨质疏松治疗大鼠和正常对照组大鼠作血钙、磷测定的结果表明,rhPTH$_{(1-34)}$治疗组的血钙、磷值较正常组无明显改变(表7, $P>0.05$)。

表7 DEX大鼠rhPTH$_{(1-34)}$治疗结束时血钙、磷变化($\bar{x} \pm s$))

组别	大鼠数(n)	Ca(mol/L)	P(mmol/L)
NS	10	2.311±0.09	1.423±0.14
PTH 40μg	10	2.330±0.07*	1.390±0.11*
PTH 20μg	10	2.336±0.11*	1.446±0.20*
PTH 10μg	10	2.320±0.08*	1.549±0.20*
PTH 5μg	10	2.271±0.10*	1.364±0.18*

注:与NS组比较* $P>0.05$

讨 论

随着骨质疏松防治药物研究的深入,甲状旁腺激素(PTH)作为新型抗骨质疏松药物而成为关注的热点。PTH是甲状旁腺分泌的含有84个氨基酸的单链多肽激素,其N端1-34肽已具有完整PTH的活性。其生理作用为与1,25$(OH)_2D_3$及CT共同调节血钙浓度。对骨的作用为促进骨重建,并随给药方式及剂量不同而发生不同的效应。大剂量持续给予PTH引起骨量丢失,而小剂量间隙给予PTH以促进骨形成,增加骨量为主。PTH小剂量间隙应用明显增加骨形成率、增加松质骨与皮质骨骨量、提高骨生物力学强度及降低骨折危险性等已为许多文献报道所证实[1-11]。本研究以骨量(干重、灰重与骨密度)和抗骨折力(股骨三点弯曲载荷与腰椎压缩载荷)为主要指标,结合骨组织形态计量和骨转换生化指标评价rhPTH$_{(1-34)}$治疗由糖皮质激素引起的继发性骨质疏松模型大鼠的药效。给予地塞米松8周后大鼠骨干重、灰重和股骨与腰椎骨密度等骨量指标明显低于对照组,股骨三点弯曲载荷和腰椎压缩载荷明显下降,表明模型大鼠存在明显的骨量丢失和生物力学性能下降,由糖皮质激素引起继发性骨质疏松症模型成立。模型建立后开始应用rhPTH$_{(1-34)}$治疗,经8周治疗已可见rhPTH$_{(1-34)}$对地塞米松诱发大鼠的骨质疏松均有明显治疗效果。表现为:①骨量明显增加,骨干重、灰重和骨密度等指标在低剂量组(5 μg/kg)即见明显高于模型对照组,并呈一定剂量效应关系。②骨生物力学性能改善,低剂量组(5 μg/kg)腰椎压缩载荷即高于不治疗对照组23.2%($P<0.05$),高剂量组(40 μg/kg)可提高40.6%($P<$

0.001),对股骨三点弯曲载荷的影响在20 μg/kg组增加有显著意义(+9.4%, $P<0.01$),其他治疗剂量组增加不明显。有文献报道PTH治疗可致骨皮质内的孔隙增多,或许是影响皮质骨生物学性能提高的因素,尚需进一步研究阐明。③骨组织形态表现腰椎骨小梁分布明显好于模型对照,形态计量的腰椎骨小梁面积显著增加,并随剂量增加而增加;股骨矿化沉积率呈增加趋势。④10 μg/kg以上剂量rhPTH$_{(1-34)}$组血ALP较模型对照组增加趋势,结合股骨矿化沉积率的一定提高,表明rhPTH$_{(1-34)}$治疗可促进模型大鼠成骨细胞骨形成;大剂量治疗组的尿Pyd/Cr比值呈增高趋势,可能与其同时促进骨吸收,Ⅰ型胶原崩解稍有增加有关。上述结果与文献报道PTH对骨形成的促进作用大于对骨吸收的促进作用一致。此外,本研究中血钙、磷值的检测结果显示rhPTH$_{(1-34)}$治疗对模型大鼠的血钙无明显影响,表明其不会引起持续性高钙血症。

长期超生理剂量的糖皮质激素应用引起骨量丢失,血甲状旁腺激素也呈现高水平。本研究给予PTH治疗由糖皮质激素引起的骨质疏松症,取得显著效果,是否为外源性小剂量PTH的进入抑制体内持续分泌的PTH因而引起骨形成增加,其机理尚待进一步研究。

参 考 文 献

1 Shen V, Dempster DW, Mellish RW, et al. Effects of combined and separate intermitten administration of low-dose human parathyroid hormone fragment$_{(1-34)}$ and 17 β-estradiol on bone histomrphometry inovari-ectomied rats with established osteopenia. Calcif Tissue Int, 1992, 50:214-220.

2 Baumann BD, Wronski TJ. Response of cortical bone to antiresorptive agents and parathyroid hormone in aged ovariectomized rats. Bone, 1995, 16:247-253.

3 Ejersted C, Andreassen TT, hauge EM. Parathyoid hormone$_{(1-34)}$ increasesvertebral bone mass, compressive strength, and quality in old rats. Bone, 1995, 17:507-551.

4 Dempaser DW, Cosman F, Parisien M, et al. Anabolic actins of parathyroid hormone on bone. Endocrine Rev, 1993, 14:690-709.

5 Miller SC, Hunziker J, Mecham M, et al. Intermittent parathyroid hormone administration stimulates bone formation in the mandibles of aged overiectomiged rats. J Dent Res, 1997, 76:1471-1476.

6 Ejersted C, Andeassen TT, Hauge EM, et al. Parathyroid hormone$_{(1-34)}$ in creases vertebral bone mass, compressive strength, and quality in old rats. Bone, 1995, 17:507-511.

7 Hunziker J, Wronski TJ, Miller SC. Mandibular bone formation rates in aged ovariectomized rats treated with anti-resorptive agents alone and in combination with intermittent parathyriod hormone. J Dent Res, 2000, 79:1431-1438.

8 Brommage R, Hotchkiss CE, Less CJ, et al. Daily treatment with human recombinant parathyoid hormone$_{(1-34)}$, LY333334, for 1 year increases bone mass inovariectomiged monkeys. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84:3757-3763.

9 Robert L, Carmelo F. Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal woman on osetrogen with osteoporosis. LANCET, 1997, 350:550-555.

10 Finkelstein JS, Klibanski A, Arnold AL, et al. Prevention of estrogen deficiency-related bone loss with huamn parathyroid hormone$_{(1-34)}$. JAMA, 1998, 280:1067-1073.

11 Neer RM, Amaud CD, Zanchette JR, et al. Effect of parathyroid hormone$_{(1-34)}$ on fracture and bone mineral demsity in postmeno-pausal woman with osteoporosis. N Engl J Med, 2001, 344:1434-1441.

(收稿日期:2004-03-08)

(上接第503页)

factor kapper B ligand and OPG in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases. Clin Endocr Metab, 2000, 85:2355-2363.

12 Bord S, Ireland DC, Beavan SR, et al. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. Bone, 2003, 32:136-141.

13 苏欣,廖二元,罗湘杭. 人成骨细胞体外培养、鉴定及护骨素表达的研究. 中国骨质疏松杂志, 2002, 8:283-286.

14 Yano K, Tsuda E, Washida N, et al. Immunological characterization of circulating Osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. J Bone Miner Res, 1999, 14:518-527.

15 Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Piswanger-Soelkner C, et al. Osteoprotegerin serum levels in women: correlation with age, bone mass, bone turnover and fracture status. Wien Klin Wochenschr, 2003, 115:291-297.

16 Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. J Bone Miner Res, 2001, 16:348-360.

17 Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. Sequence variations in the osteoprptegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87:4080-4084.

18 Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. J Bone Miner Res, 2002, 17: 1245-1255.

19 Yamada Y, Ando F, Niino N, et al. Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men. Mol Genet Metab, 2003, 80:344-349.

(收稿日期:2004-06-18)