

维生素 K₂ 及其与性激素联合应用对去卵巢大鼠骨的影响

刘春梅 徐苓

中图分类号: R96 R336 文献标识码: B 文章编号: 1006-7108(2008)08-0537-06

摘要:目的 观察维生素 K₂ (vitamin K₂, VK₂) 及其与性激素 (sex hormone, SH) 联合应用对去卵巢大鼠骨质疏松模型预防的效果。方法 30 只 SPF 级 10 月龄雌性 SD 大鼠按体重随机分为 4 组, 行卵巢切除 (OVX, $n = 22$) 或假手术 (Sham, $n = 8$), 术后 2 周给以不同的药物干预: VK₂ 组 (OVX + VK₂, $n = 7$)、VK₂ + SH 组 (OVX + VK₂ + SH, $n = 7$)、OVX 组 ($n = 8$) 和假手术组不做药物干预。14 周后检测血骨特异性碱性磷酸酶 (BALP) 和尿脱氧吡啶啉 (uDPYD), 测定骨密度 (BMD)。牺牲后进行股骨三点弯曲实验和股骨远端骨组织形态计量学测定。结果 ①骨转换指标: OVX 组较 Sham 组 BALP 和 uDPYD 显著升高, 骨转换加快。与 OVX 组相比, VK₂ 组 uDPYD 明显增加, 而 BALP 没有统计学差异; VK₂ + SH 组 BALP 和 uDPYD 均下降。②BMD 标化体重, OVX 组腰椎和股骨 BMD 明显低于 Sham 组, VK₂ 组腰椎 BMD 显著高于 OVX 组, VK₂ + SH 组 BMD 没有变化。③股骨远端形态计量学: OVX 组与 Sham 组相比, 骨小梁厚度变薄, 分离度增加, 数量减少, 但无统计学意义, 骨形成和骨吸收参数均升高, 其中骨形成率 (BFR/Bs)、类骨质周长百分数 (%O.Pm) 与 Sham 组有统计学差异。与 OVX 组相比, 用药组对骨量和骨小梁结构无改善, 均有降低骨形成参数的趋势, 从数值上看, VK₂ + SH 组降低的程度 > VK₂ 组。VK₂ + SH 组骨矿化延迟时间 (MLT)、BFR/Bs 下降最为显著。④股骨三点弯曲实验结果: VK₂ + SH 组最大载荷较其他各组显著降低, 最大应变和弹性模量各组之间无统计学差异。结论 单用 VK₂ 可以增加去卵巢大鼠腰椎 BMD, 但作用机制尚不清楚。VK₂ 与 SH 合用未发现对骨健康有利。

关键词: 维生素 K₂; 大鼠; 激素替代治疗; 雌激素; 骨质疏松; 骨组织形态计量学; 骨生物力学; 骨密度

Vitamin K₂ monotherapy and cotherapy with sex hormone on bone loss in ovariectomized rats LIU Chunmei, XU Ling. Dept. of Obstetrics and Gynecology, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of vitamin K₂ (VK₂) and cotherapy with sex hormone (SH) on ovariectomized rats concerning prevention of osteoporosis. **Methods** 30 SD and SPF female rats of 10 months old were randomized into 4 groups by weight, and performed ovariectomy ($n = 22$) or Sham ovariectomy ($n = 8$). Gastric infusion of corresponding drugs was performed on VK₂ group (OVX + VK₂, $n = 7$) and VK₂ + SH group (OVX + VK₂ + SH, $n = 7$), 2 weeks after operation. Sham group and OVX group ($n = 8$) didn't take any drugs. 14 weeks later, serum and urinary biochemical parameters were measured including bone specific alkaline phosphatase (BALP) and deoxypyridinoline (uDPYD). Meanwhile bone density was also evaluated before they were sacrificed. Bone histomorphometry, bone biomechanics in femur were determined. **Results** ① turnover parameters: BALP and uDPYD in OVX group increased much than those in Sham group, indicating an increased bone turnover rate. VK₂ group presents a higher uDPYD compared with OVX group, but the BALP are not statistically different in the two groups. In the VK₂ + SH group, both BALP and uDPYD decreased. ②BMD: After having been adjusted by the body weight, lumbar or femurs BMD of OVX group is lower than Sham group, and

作者单位: 100730 北京, 中国医学科学院北京协和医科大学北京协和医院妇产科

通讯作者: 徐苓, Email: xuling@pumch.cn

VK₂ group is much higher than OVX group in lumbar BMD, and no difference is observed in the combined administrated groups. ③ bone morphometry in femur: OVX group presents a decreased trabecula thickness, a larger disparation degree and a lower trabecula count than Sham group, but the difference is not significant. All the bone formation parameters and absorption parameters in OVX group are higher than Sham group, among which bone formation rate (BFR/Bs) and percent osteoid perimeter (% O. Pm) are statistically different. Compared with the OVX group, all other administered groups present no change in parameters of bone content and structure and demonstrate a declining inclination in bone formation, mineral lag time (MLT) and BFR/Bs in VK₂ + SH group are significantly different from their counterparts in OVX group. ④ biomechanics: As for maximum load, VK₂ + SH group is significantly lower than any other group. However, for maximum strain and Young's modulus, no difference is observed in these groups. **Conclusion** Administration of VK₂ alone will increase the lumbar BMD of ovariectomized rats with unidentifying mechanism. VK₂ cotherapy with SH does not demonstrates a benefit for bone in this study.

Key words: VK₂; Rats; HRT; Estrogen; Osteoporosis; Bone histomorphometry; Bone biomechanics; Bone mineral density

维生素 K₂ (vitamin K₂, VK₂) 作为天然的营养物, 由于对骨具有双向调节作用, 逐渐成为骨质疏松药物研究的焦点之一。维生素 K₂ 与其他抗骨质疏松药物的联合应用也正引起关注, 如维生素 K₂ 与活性维生素 D₃、雷诺昔芬或双膦酸盐等的配伍使用, 对绝经后骨质疏松症的预防具有协同作用。而文献关于维生素 K₂ 与性激素联合应用的体内、体外研究报道均很少, 且结论存在争议。为此, 本研究通过建立大鼠绝经后骨质疏松模型, 观察维生素 K₂ 及与性激素合用对骨骼的效果, 以期为临床上拓展绝经后骨质疏松的防治方案提供线索。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

VK₂ (Menaquinon-4, MK-4) 为上海西生宝生物技术有限公司产品; 倍美力 (0.625 mg) (Premarin) 美国惠氏药厂生产; 钙黄绿素 (Calcein) 购自美国 Sigma 公司; 四环素盐酸 (Tetracycline HCl) 北京欣经科生物技术有限公司生产。Rat uDPYD、CTX、BKLP (ELISA 96T) 试剂盒为美国 Calabazas 公司产品。

1.2 主要仪器

日本 Olympus 自动生化分析仪 (Au400, Au2700), 骨密度仪 (Lunar DEXA, GE 公司), 德国 Leica 公司不脱钙切片机 (RM2165)、荧光/光学显微镜、数码摄像系统、多功能彩色病理图像分析软件。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物及分组 选择 30 只健康的 10 月龄雌性 SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠 (SD), 平均体重 (341 ± 42) g (由中国医学科学院实验动物研究所提供)。

于北京协和医院动物中心啮齿类屏障环境下饲养, 恒温 (22 ± 2) °C、恒湿 (55% ± 5%), 通风良好。自由摄水、摄食, 饲料为标准维持鼠料 (北京科澳协力饲料有限公司), 含有钙 1.25%、磷 0.9%、维生素 D₃ 1200 IU。

熟悉环境 4 周后称重, 按体重随机分为 4 组, 每组 7 ~ 8 只。3 组行卵巢切除术 (Ovariectomy, OVX) ($n = 22$), 1 组行假手术 (Sham, $n = 8$), 术后 2 周 VK₂ 组 (OVX + VK₂, $n = 7$) 予 VK₂ 30 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 灌胃; VK₂ + 性激素组 (OVX + VK₂ + SH, $n = 7$) 予 VK₂ 30 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ + 倍美力 0.07 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ + 安宫黄体酮 0.2 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 灌胃; OVX 组 ($n = 8$) 和假手术组予 2.5 mL · kg⁻¹ · d⁻¹ 净化水灌胃。14 周后经颈动脉插管取血牺牲。

1.3.2 动物模型的建立 1% 的戊巴比妥钠 (40 mg · kg⁻¹) 腹腔注射麻醉, 下腹正中切口入腹腔, 切除双侧卵巢。术后 1 周连续阴道细胞学检查, 确认去势成功。假手术组不切除双侧卵巢, 仅切除腹腔内部分脂肪组织, 余操作同卵巢切除组。

1.3.3 骨转化指标的测定 所有大鼠牺牲前 24 h 禁食不禁水, 留取 24 h 尿液, 置 - 80 °C 冰箱保存以备测定。血标本于 4 °C 放置 4 h 后 3000 r/min 离心 15 min, 吸取血清, 置于 - 80 °C 冰箱储存, 以备检测。血清骨碱性磷酸酶 (BALP) 和尿脱氧吡啶啉 (uDPYD) 检测采用双抗夹心 ELISA 法。

1.3.4 骨密度测定 采用 GE 公司 Lunar DEXA 骨密度仪 (Prodigy 型) 小动物测量软件对大鼠活体进行骨密度测定, 变异系数为 1.8%。测量指标包括: 腰椎、双侧股骨的骨密度 (BMD, g/cm²)。

1.3.5 股骨形态计量学测定 所有大鼠于牺牲前第

14、15 天和第 4、3 天分别皮下注射盐酸四环素($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和钙黄绿素($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)各 2 天,进行骨组织的双荧光标记。14 周后牺牲,取右侧股骨,软组织剔除,放入 70% 酒精溶液中固定,置 4℃ 保存,备于骨组织形态计量测定,左侧股骨以生理盐水纱布湿敷, - 80℃ 保存,以备骨生物力学测量。

用慢速锯暴露右侧股骨远心段骨髓腔,梯度脱水后用甲基丙烯酸甲酯行不脱钙骨包埋,切 3 张 $5\text{ }\mu\text{m}$ 厚的薄切片,分别行 Von Kossa 和 Giemsa 染色,空白切片行荧光标记测量。骨片在距骺线 1 mm 处至远端 4 mm 范围内以半自动图像数字化仪进行骨组织形态参数测量,并据此得出各计算参数。所有参数采用国际通用标准骨组织计量学术语命名^[1]。静态参数包括:反映骨量的参数——骨小梁相对体积(BV/TV);反映骨结构的参数——骨小梁厚度(Tb.Th),骨小梁数量(Tb.N),骨小梁分离度(Th.Sp)。动态参数包括骨形成参数——荧光周长百分数(%L.Pm),矿化沉积率(MAR),骨形成率(BFR/

BS) 滑吸收参数——骨吸收周长百分数(%E.Pm)。
1.3.6 股骨生物力学测量^[2] 将左侧股骨移至室温下解冻,在室温 23℃ 下进行股骨的三点弯曲试验。在 WDW-10KN 微机控制电子万能试验机上加载点位于股骨干上 1/3 处,支点标距为 20 mm,匀速加载,速度为 2 mm/min,测试时受力方向与股骨横轴垂直。结果由计算机记载并作图,记录骨结构力学指标最大载荷和材料力学指标最大应变、弹性模量。
1.3.7 统计学处理:参数值用($\bar{x} \pm s$)表示,OVX-Sham 组之间的比较采用 *t* 检验,多组间的比较采用方差分析(GLM 检验),以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。统计软件为 SAS 8.0。

2 结果

2.1 干预前后体重变化

各组大鼠干预前的体重比较无统计学差异;干预后 OVX 组和 $\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组体重增加明显高于 Sham 组,以 OVX 组更显著(表 1)。

表 1 干预前后的体重变化(单位: g)

项目	Sham 组($n = 8$)	OVX 组($n = 8$)	VK_2 组($n = 6$)	$\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组($n = 7$)
干预前	366.00 ± 38.12	363.25 ± 47.19	394.20 ± 40.31	351.29 ± 28.43
干预后	370.71 ± 54.00	411.13 ± 28.02 *	415.00 ± 34.61	389.71 ± 34.73
增重	4.71 ± 21.48	47.88 ± 35.13**	20.80 ± 12.11	38.43 ± 31.49 *

注:与 Sham 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 骨转换指标

骨转换指标各组差异显著。OVX 组较 Sham 组 BALP 和 uDPYD 显著升高,提示 OVX 组骨转换加

快。 VK_2 组 uDPYD 明显增加,而 BALP 没有统计学差异; $\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组 BALP 和 uDPYD 均下降显著(表 2)。

表 2 骨转换指标的比较

项目	Sham 组($n = 8$)	OVX 组($n = 8$)	VK_2 组($n = 6$)	$\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组($n = 7$)
BALP($\mu\text{g/L}$)	785.84 ± 520.32	1460.57 ± 154.42 *	1145.60 ± 335.58	883.48 ± 246.29▲▲
uDPYD(nmol/L)	0.36 ± 0.09	0.83 ± 0.50**	8.11 ± 4.57**▲▲	0.28 ± 0.05▲▲

注:与 Sham 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 与 OVX 组比较▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.001$

2.3 骨密度和股骨生物力学

因为各组大鼠干预前后体重的增加差异有显著性,故将干预后体重进行标化分析各组 BMD,发现 OVX 组腰椎和股骨 BMD 显著低于 Sham 组。与 OVX 组相比, VK_2 组腰椎 BMD 明显增加,股骨 BMD 有增加趋势,但无统计学意义; $\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组腰椎和股骨

BMD 均为最低值。各组最大应变和弹性模量无统计学差异,但 $\text{VK}_2 + \text{SH}$ 组最大载荷较其他各组明显减低(表 3)。

2.4 股骨形态计量学

OVX 组与 Sham 组相比,骨小梁厚度变薄,分离度增加,数量减少,但无统计学意义,骨形成和骨吸

收参数均升高,其中骨形成率(BFR/Bs)、类骨质周长百分数(%O.Pm)与 Sham 组有统计学差异。与 OVX 组相比,各干预组对骨量和骨小梁结构无改善,均有

降低骨形成参数的趋势,从数值上看,VK₂ + SH 组降低的程度 > VK₂ 组,其骨矿化延迟时间(MLT)最长,BFR/Bs 最低(表 4)。

表 3 干预后各组的骨密度和股骨三点弯曲实验结果(BMD 单位: g/cm²)

项目	Sham 组 (n = 8)	OVX 组 (n = 8)	VK ₂ 组 (n = 7)	VK ₂ + SH 组 (n = 7)
腰椎 BMD	0.191 ± 0.009	0.175 ± 0.002**	0.190 ± 0.018▲	0.173 ± 0.004**
右股 BMD	0.191 ± 0.012	0.180 ± 0.009**	0.181 ± 0.016 *	0.175 ± 0.011**
左股 BMD	0.191 ± 0.012	0.180 ± 0.008**	0.187 ± 0.017 *	0.173 ± 0.004**
最大载荷(N)	230.50 ± 75.26	267.44 ± 42.57	222.17 ± 29.50	173.57 ± 41.54*
最大应变(%)	4.61 ± 0.38	4.54 ± 1.03	4.55 ± 0.19	4.25 ± 0.91
弹性模量(MPa)	5622.04 ± 788.03	6311.83 ± 1554.03	4957.73 ± 1319.96	5263.90 ± 1931.89

注 与 Sham 组比较 * P < 0.05, ** P < 0.01 与 OVX 组比较▲ P < 0.05 ;※与其他各组比较有统计学意义

表 4 股骨参数测定结果

项目	Sham 组 (n = 8)	OVX 组 (n = 7)	VK ₂ 组 (n = 7)	VK ₂ + SH 组 (n = 7)
骨小梁相对体积 BV/TV (%)	29.08 ± 6.69	26.58 ± 8.84	20.82 ± 5.06**	20.36 ± 2.35**
骨小梁数量 Tb.N(个/mm)	2.56 ± 0.28	2.49 ± 0.63	2.06 ± 0.30**	2.02 ± 0.29**
骨小梁分离度 Tb.Sp(μm)	281.00 ± 49.69	316.68 ± 101.94	393.21 ± 69.36**	402.14 ± 62.96**
骨小梁厚度 Tb.Th(μm)	113.45 ± 21.86	105.33 ± 11.93	101.50 ± 21.89	101.51 ± 8.6
荧光周长百分率 %L.Pm(%)	2.08 ± 0.61	4.34 ± 2.74	3.71 ± 1.03	2.88 ± 1.98
骨矿化沉积率 MAR(μm/d)	0.17 ± 0.10	0.21 ± 0.04	0.16 ± 0.04▲	0.14 ± 0.02▲★
骨形成率 BFR/Bs(%/年)	0.33 ± 0.20	0.96 ± 0.66 *	0.62 ± 0.29	0.31 ± 0.15▲
类骨质周长百分数 %O.Pm(%)	0.22 ± 0.19	0.74 ± 0.49 *	0.77 ± 0.31 *	0.67 ± 0.38 *
骨矿化延迟时间 MLT(d)	1.53 ± 1.40	1.44 ± 0.37	1.51 ± 0.41	1.74 ± 1.03
骨吸收周长百分数 %E.Pm(%)	5.00 ± 3.72	5.13 ± 3.29	6.75 ± 3.41	7.43 ± 8.23

注 与 Sham 组比较 * P < 0.05, ** P < 0.01 与 OVX 组比较 ▲ P < 0.05 与 SH 组比较 ★ P < 0.05

3 讨论

3.1 VK₂ 对骨的影响

研究认为,VK₂ 作为谷氨酸 r-羧化酶的辅酶,能促进骨形成,抑制骨吸收。其作用机制主要通过 3 个方面:①经典的谷氨酸 r-羧化作用^[3]:骨钙蛋白(osteocalcin,OC)是骨组织含量最多的特异蛋白,在成骨细胞内合成并经 VK 谷氨酸 r-羧化后分泌到骨基质中,与基质中的 I 型胶原结合形成网格支架,为钙盐沉积提供结构场所,其与羟磷灰石有特殊亲和性,促进钙盐沉积。VK₂ 通过对 OC 的羧化促进骨的矿化成熟。另外,同样对肾脏中的肾钙素进行 r-谷氨酸羧化而降低尿钙的排泄。②调控基因的表达和转录:VK₂ 通过激活 SXR 受体,调节成骨细胞的骨标记物基因的表达来促进骨形成^[4]。VK₂ 也能通

过 SXR 改变 TSK 基因的表达,促使细胞外基质胶原的聚集^[5]。Urayama 等^[6] 研究发现 VK₂ 能剂量依赖性地抑制成骨细胞表面功能性 Fas 的表达,并显著降低 Fas 配体(Fasl) cDNA 转化体的细胞毒性,维持成骨细胞的数量。③抑制细胞因子^[7]:VK₂ 通过抑制 IL-1、IL-6 及前列腺素的合成,抑制破骨细胞中组织蛋白酶 K 表达,抑制破骨细胞的骨吸收活性。目前,VK₂ 对骨的非依赖性 r-谷氨酸羧化作用机制尚不十分清楚。临床研究证实了 VK₂ 能降低骨质疏松性骨折的风险,但其对骨转换指标和 BMD 的影响存在争论。动物实验检测 VK₂ 对骨质疏松作用的几项指标如骨转换指标、BMD、骨形态计量学及生物力学结果亦存在不一致处。

本实验中,VK₂ 组与 OVX 组比较,骨形成指标没有变化,而骨吸收指标显著升高,uDPYD 几乎升

高了 10 倍,这与多数文献报道的 VK_2 可以抑制骨吸收结果相反,但 Binkley 等^[8]研究 VK_1 和 VK_2 对 5 月龄大鼠去卵巢骨丢失的影响时,发现 3 个月无论 VK_1 还是 VK_2 均不能从骨转换指标上反映其对去卵巢引起骨转换加快的抑制,Sakamoto 等^[9]给 12 月龄大鼠补充 VK_2 14 周,其中 $uDPYD$ 水平较未用药组虽然无统计学差异,却呈升高趋势。在骨的有机质中,90% 以上为 I 型胶原,当骨吸收增加时,释放至血液或排泄到尿中的 I 型胶原降解产物就会增加, $uDPYD$ 就是其中的一种,它作为骨吸收指标具有很多优点^[10],如①只来源于细胞外的胶原纤维,并非新合成的胶原分子②在血中不被分解,能直接反映基质胶原降解情况③骨胶原含量远高于其他组织,转换也快,所以更具代表性④不受饮食的干扰。所以,通过 $uDPYD$ 能够敏感地反映药物干预引起的骨转换状态。但对于 VK_2 引起 $uDPYD$ 明显升高的原因目前无法解释, VK_2 对骨转换指标影响的不一致性需要进一步的研究。

本实验发现 VK_2 可以显著增加腰椎 BMD,但对股骨 BMD 没有明显改善。资料显示,松质骨的骨重建率是皮质骨的 9 倍^[11],故松质骨对药效反应可能更敏感,而股骨可能需要更长的药物作用时间。但文献也有 VK_2 对 BMD 的改善不明显而能降低骨折风险的报道,提示 VK_2 可能通过影响 BMD 之外的途径来增强骨强度,但在本实验中并未得到证实。

本研究骨组织形态计量学及生物力学结果显示, VK_2 对股骨的骨量和骨结构均没有明显的改善。与 OVX 组比较,各项参数变化幅度不大,这与 VK_2 对股骨 BMD 的结果相似,但与部分文献报道不符。骨组织形态计量学可以准确地确定骨转换率和骨平衡,结果可能的误差来源是图像选择和测量的偏差上,但这种可能性不大。骨生物力学性能是一个综合指标,影响该结果准确性的最大因素是大鼠体重的变化。去卵巢大鼠体重明显增加,力学环境发生变化,引起骨量重新分布,以使骨组织适应新的力学环境,从而表现出相应生物力学指标的改变,这可能部分解释了结果的无差异性。另外,文献中关于 VK 对骨影响的研究多以 3 月龄大鼠为研究对象,本试验选择的为 10 月龄大鼠,正处于老年期过渡阶段,骨代谢趋向缓慢,而且干预时间短,药物效应的发挥可能还未在骨量、骨结构和力学性能上表现出来。综合上述的骨检测指标来看,各项指标变化并不同步,骨转换指标的变化出现最早,而生物力学变化则

要更晚一些。有研究显示,生物力学指标变化要晚于骨形态学变化,而且变化并不明显^[11]。

3.2 VK_2 + SH 对骨的影响

VK_2 和 SH 的联合使用降低了骨转换频率,但在 BMD 和形态学上,未表现出对骨质疏松的有效性,反而在股骨生物力学指标中显示其对骨骼的负面作用。 VK_2 + SH 组最大载荷明显降低,最大应变和弹性模量数值上也低于其他各组,最大应变和弹性模量反映的是骨的材料力学性能,是指骨组织本身的力学性能,其中,最大应变系指骨断裂前发生的最大变形,揭示了材料的弹性性能,其降低说明可塑性降低,弹性模量直接受骨再建的影响,与矿盐密度密切相关,揭示了材料的硬度。上述结果说明, VK_2 + SH 的合用在短期内降低了股骨的结构力学性能,减弱了骨的弹性和硬度,降低了骨强度,其除了与材料力学的降低有关外,可能还存在着其他的作用机制。

VK_2 + SH 治疗骨质疏松报道很少。白银透等^[12]进行 VK_2 与 SH 联用 2 年的临床试验,显示 VK_2 与雌三醇合用效果与时间有关,早期可以增强雌三醇的作用,提高骨密度,但其后效果逐渐减弱,甚至降低雌三醇的作用。其作用机制,很可能通过 E_2 -ER-DNA 雌激素反应成分(ERE)这一环节发挥作用,ER 是作用的关键部位。Lukacs 等^[13]认为,循环中 VK 的浓度与成骨细胞羧化骨钙蛋白所获得的 VK 浓度之间可能受雌激素的调节作用,而该作用可能通过成骨细胞的雌激素受体(ER)完成,因为有研究指出,成骨细胞的 ER 可以直接影响 OC 的产生和 VK 的需求,但确切机制仍然不清楚。一项体外研究显示 VK 可以调节雌激素的代谢,尤其是发现 VK_2 可以与 17β -HSD4 结合,降低 E_2/E_1 的比值,阻止 ER α 以剂量依赖方式与目标 DNA 结合^[14]。另有研究也发现 VK_2 能使细胞内雌激素浓度下降 25%。但是,在 ERE 路径上 VK_2 是否通过阻断 E_2 的激活转录效应还不得而知。况且骨代谢调节的基因分子水平极其复杂,VK 与雌激素联合作用的研究还很肤浅,目前也仅有少数临床和体外研究的报道,尤其对于老龄鼠,本研究为第 1 例,所以大量的研究工作还有待完善。

【参 考 文 献】

- [1] Carbonarea L, Valentia M, Bertoldo F, et al. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron*, 2005, 36: 609-616.
- [2] 郭世绂,罗先正,邱贵兴.主编.骨质疏松基础与临床.天津:天津科学技术出版社,2001:297-305.

- [3] Scholz-Ahrens KE, Bohme P, Schrezenmeir J, et al. Vitamin K deficiency affects calcium retention, bone mineralization and Apb in growing and ovariectomized rats. *Osteoporosis Int*, 1996, 6: 141.
- [4] Michelle M, Aixu S, Changcheng Zhou, et al. Vitamin K₂ regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. *J Biol Chem*, 2003, 278(45): 43919-43927.
- [5] Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K. Steroid and Xenobiotic Receptor SXR Mediates Vitamin K₂-activated Transcription of Extracellular Matrix-related Genes and Collagen Accumulation in Osteoblastic Cells. *J Bio Chem*, 2006, 281(25): 16927-16934.
- [6] Urayama S, Kawakami A, Nakashima T, et al. Effect of Vitamin K₂ on osteoblast apoptosis: Vitamin K₂ inhibits apoptotic cell death of human osteoblasts induced by Fas, proteasome inhibitor, etoposide, and staurosporine. *J Lab Clin Med*, 2000, 136(3): 181-193.
- [7] Hiruma Y, Nakahama K, Fujita H, et al. Vitamin K₂ and geranylgeraniol, its side chain component, inhibited osteoclast formation in a different manner. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 314: 24-30.
- [8] Binkley N, Krueger D, Engelke J, et al. Vitamin K supplementation does not affect ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bone*, 2002, 30(6): 897-900.
- [9] Sakamoto W, Isomura H, Fujie K, et al. The effect of Vitamin K₂ on bone metabolism in aged female rats. *Osteoporosis Int*, 2005, 16: 1604-1610.
- [10] Rodgers JB, Monier-Faugere MC, Malluche H. Animal models for the study of bone loss after cessation of ovarian function. *Bone*, 1993, 14: 369-377.
- [11] 崔燎, 陈槐卿, 许碧连, 等. 去卵巢大鼠椎骨组织形态计量学、生物力学特点及相关性研究. *生物医学工程学杂志*, 2004, 21(2): 178-184.
- [12] 白根透, 藤野敬史. 骨粗鬆症治療におけるビタミンKとエストロゲン薬療法の薬効. *Osteoporosis Japan*, 2000, 8: 94-96.
- [13] Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science*, 1988, 241: 84-86.
- [14] Otsuka M, Kato N, Ichimura T, et al. Vitamin K₂ binds 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase 4 and modulates estrogen metabolism. *Life Sciences*, 2005, 76: 2473-2482.

(收稿日期: 2007-11-28)