

补肾中药对骨质疏松症大鼠下丘脑 BMP-4、Smad6 mRNA 及蛋白表达的影响

金珉廷 郑洪新 朱辉

中图分类号: R932.3R361 文献标识码: B 文章编号: 1006-7108(2008)08-0556-05

摘要:目的 探索肾虚骨质疏松症的病理机制,研究补肾中药对肾虚骨质疏松大鼠防治作用的机理。方法 实验采用去双侧卵巢的方法,建立肾虚骨质疏松症模型。补肾中药复方(高、中、低)剂量对实验大鼠治疗 12 周,以骨质疏松康颗粒、盖天力牡蛎钙作为阳性对照药,并设正常对照组和模型空白组。用 RT-PCR 法、Western 印迹法检测肾虚骨质疏松症大鼠下丘脑组织中 BMP-4、Smad6 mRNA 和蛋白表达。结果 ①与正常组比较,模型空白组大鼠下丘脑组织中的 BMP-4 mRNA 和蛋白表达水平明显增强; Smad6 mRNA 和蛋白表达水平明显降低。②与模型空白组比较,补肾中药组对模型大鼠下丘脑组织中的 BMP-4 mRNA 和蛋白表达明显降低,而 Smad6 mRNA 和蛋白表达明显增强。结论 肾虚骨质疏松症的病理机制为肾精不足,骨髓、脑髓失养,表现在下丘脑-垂体-靶腺轴的调控失常,包括下丘脑组织的细胞因子及其信号传导通路的异常。

关键词: 肾虚; 骨质疏松症; BMP-4; Smad6

Effects of nourishing-kidney herbs on the mRNA and protein expression of BMP-4 and Smad6 in hypothalamus of rats with osteoporosis KIM Minjung, ZHENG Hongxin, ZHU Hui. Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China

Abstract: **Objective** TO investigate the pathomechanism of kidney deficiency type osteoporosis, and research the mechanism of preventive and therapeutic effect of nourishing-kidney herbs on rats with kidney deficiency type osteoporosis. **Methods** Established the rat models with kidney deficiency type osteoporosis by ovariectomy in the experiments. Treated the experimental rats with the complex prescription of nourishing-kidney herbs (high, middle, low dosage) for 12 weeks, Gushukang granule group and Gaitianli oyster shell-calcium group as positive control group, also set normal control and blank model group. Detected the mRNA and protein expression of BMP-4 and Smad6 in hypothalamus of rats with kidney deficiency type osteoporosis by using RT-PCR and Western Blotting methods. **Results** First, compared with the normal group, the mRNA and protein expression of BMP-4 in the hypothalamus tissue of blank model group rats increased evidently, and the mRNA and protein expression of Smad6 decreased evidently. Second, compared with the blank model group, the mRNA and protein expression of BMP-4 in the hypothalamus tissue of model rats decreased sharply in nourishing-kidney herbs group, and the mRNA and protein expression of Smad6 increased sharply. **Conclusion** Deficiency of kidney-essence resulting in the non-nourishing of marrow and brain as the pathomechanism of kidney deficiency type osteoporosis could be revealed, showed as the abnormal regulation of hypothalamus-appendix cerebri-target gland core, including the abnormality of cytokine and its signal conduction path in the hypothalamus tissue.

Key words: Kidney weak; Osteoporosis; BMP-4; Smad6

人均寿命的提高,老龄化社会的到来,骨质疏松症人数逐年增加。中医理论认为“肾主骨,主生长发

育”,骨生长发育强劲、衰弱与肾精盛衰关系密切,故骨质疏松症病机多属肾虚,防治多用补肾法。本实验研究根据“肾藏精,精生髓,髓充于骨,汇聚为脑”即肾-髓海(脑髓)-骨(骨髓)密切相关的理论,从体内实验方面,以去卵巢所致肾虚骨质疏松症大鼠的下丘脑组织中骨形成蛋白(BMP-4)及其信号转导分

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672570)

作者单位:110032 沈阳 辽宁中医药大学

通讯作者:郑洪新,Email:zhenghx2002@126.com

子 Smad6 作为观察指标,在分子生物学水平上揭示肾虚骨质疏松发病机制和中医药补肾防治作用机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

雌性 Westar 大鼠 140 只(4.5 月龄,未曾交配),体重 240~270g,购自中国医科大学实验动物中心,合格证号 SCXK(辽)2003-0009 号。按体重分层,随机分组,除正常组 15 只以外,余者进行造模处理。双侧卵巢切除术后 10 d 将存活者按体重分层随机分为 6 组(每组 15 只),即模型空白组、实验中药低剂量组、实验中药中剂量组、实验中药高剂量组、骨质疏松颗粒组、盖天力牡蛎钙组,同步进行平行对照研究。

1.2 模型的建立方法与评价

造模方法经腹腔注射盐酸氯胺酮麻醉后,从背部切除双侧卵巢。术后常规肌肉注射青霉素,连续 3 d。造模后,13 周后处死。取左后肢股骨,测定股骨的骨密度。

1.3 动物给药及其方法

补肾中药由鹿茸、牡蛎等中药组成。动物给药:阳性对照药和实验中药中剂量组按人体给药剂量的 6.3 倍计算。实验中药低剂量组给药量为每日 $0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,实验中药中剂量组为 $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,实验中药高剂量组为 $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,骨质疏松颗粒组(辽宁康辰药业有限公司)为 $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,盖天力牡蛎钙组(东盛科技启东盖天力制药股份有限公司)为 $0.0063 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型空白组灌胃给予等体积的生理盐水。造模后 10 d 开始灌胃给药,每天 1 次,连续给药 12 周后处死。

1.4 主要仪器及试剂

XR-36 型双能 X 线骨密度仪(美国, NORLAND), BT-31 恒温水浴振荡仪(日本, AMAMOTO), MR1822 低温高速离心机(法国, Jouan), Biometra PCR 扩增仪(德国), DYY-6B 型稳压稳流电泳仪(北京, 北京六一仪器厂), Chemi Imager 5500 凝胶电泳成像分析系统(美国, Alpha Innotech), Milli-Q Biocel 超纯水机(法国, MILLIPORE), CPS-1 型细胞超声粉碎仪(上海, 上海超声波仪器厂), Heidolph DIA90 型匀浆机(德国, Heidolph), DYY-III 8B 型电泳仪(北京), 0.75 mm 垂直板电泳槽(BioRAD)DDY-III 40B 型水浴式转印电泳槽(北京, 北京六一仪器厂), 722 型分光光度计(上海, 上海精密科学仪器有限公司), Trizol(加拿大

Bio Basic Inc. 进口分装), TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0 试剂盒(TaKaRa 公司)。

1.5 指标测定

动物处死后,取左后肢股骨测定骨密度,取下丘脑,置于 Trizol 液或组织冰冻, -70°C 保存。

1.5.1 大鼠左后肢股骨骨密度测定:取左后肢股骨,使用 NORLAND 公司 XR-36 型双能 X 线骨密度仪,采用小动物骨密度测定软件(The Small Subject Scout Scan),测定股骨的骨密度。扫描宽度 15 cm,长度可任意调节,扫描速度 40 mm/sec,分辨率为 $1.0 \times 1.0 \text{ mm}$ 。

1.5.2 大鼠下丘脑的 BMP-4、Smad6 mRNA 表达检测:RT-PCR 法:①总 RNA 的提取和反转录反应:取下丘脑组织,用 TRIZOL 提取下丘脑组织内 RNA,核酸蛋白分析仪鉴定总 RNA 纯度和浓度,重复 3 次,总 RNA 的 A260 nm/280 nm 均在 1.8~2.0 之间,计算样品总 RNA 浓度,根据测定值调整 RNA 标本浓度为 $1 \mu\text{L}/\mu\text{L}$ 。取 $1 \mu\text{L}$ 总 RNA 逆转录为 cDNA,然后进行 PCR 反应。②PCR 反应:BMP-4 引物由 TaKaRa 公司合成,其上下游引物序列分别为 3'-AGG AGT GTC ACA ACC GAGA-5', 3'-TCT TTA CCA CGG ACC TGT-5', 扩增的基因片段长度为 245 bp, β -actin 为内对照。其上下游引物序列分别为 01-5' GCC AAC CGT GAA ATG, 02-5' CCA GGA TAG AGC CAC CAA, 扩增的基因片段长度为 540bp。Smad6 引物由 TaKaRa 公司合成,其上下游引物序列分别为 3'-AGG AAC TCG GCG AAC TCG-5', 3'-AGG AAT GAC CAG TGT CAC CGC-5', 扩增的基因片段长度为 451 bp。 β -actin 为内对照,其上下游引物序列分别为 01-5' GCC AAC CGT GAA ATG, 02-5' CCA GGA TAG AGC CAC CAA, 扩增的基因片段长度为 540 bp。

每个逆转录产物均进行 BMP-4、Smad6 和 β -actin 的扩增。按下列组成配制 PCR 反应液: MgCl_2 (25 mmol/L) $1.5 \mu\text{L}$, $5 \times \text{RNA PCR Buffer}$ $5 \mu\text{L}$, 灭菌蒸馏水 $12.9 \mu\text{L}$, 上下游引物各 $1 \mu\text{L}$ (25 pmol/ μL), TaKaRa TaqTM (5 U/ μL) $0.125 \mu\text{L}$, 将反应液加入到逆转录结束后的 PCR 反应管中,内装有 $5 \mu\text{L}$ cDNA,轻轻混匀。总反应体积为 $25 \mu\text{L}$ 。反应条件为: 94°C 预变性 2 min, 94°C 变性 30 s, 58°C 退火 30 s, 1 个循环, 72°C 延伸 1.0 min, 30 次循环。 72°C 延伸 8 min, 1 个循环, -20°C 保存。以 β -actin 作为内对照,退火温度为 51°C ,上下游引物各 $1 \mu\text{L}$ (25 pmol/ μL), TaKaRa Taq (5 U/ μL) $0.125 \mu\text{L}$, 灭菌蒸馏水 $15.9 \mu\text{L}$, 其余扩增条件不变。用 Chemi Imager 5500 凝胶电泳

成像分析系统进行半定量分析,即以 BMP-4、Smad6/ β -actin 的密度比值表示 BMP-4、Smad6 mRNA 的相对表达水平。

1.5.3 大鼠下丘脑中 BMP-4、Smad6 蛋白表达检测: Western blotting 法 蛋白质提取及 SDS-PAGE 电泳基本参照《分子克隆》的方法进行蛋白质提取、分离、转移,免疫化学反应 I 抗为 BMP-4 兔抗鼠多克隆抗体(1:400),II 抗为辣根过氧化物酶耦联的羊抗兔(1:5000);采用 Chemi Imager 5500 型电泳成像分析仪对杂交带进行密度扫描分析,比较 BMP-4、Smad6 蛋白表达水平。

1.6 统计学处理

计量数据采用 SPSS11.0 软件处理,用 ONE-Way ANOVA 进行分析。数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$), $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度(BMD)变化的比较

表 1 各组药物对肾虚骨质疏松大鼠骨密度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	股骨骨密度(g/cm ²)
正常组	15	0.128 $\pm$ 0.01
模型空白组	12	0.112 $\pm$ 0.007**
实验中药(小剂量)组	14	0.126 $\pm$ 0.006 ^{☆☆}
实验中药(中剂量)组	14	0.127 $\pm$ 0.008 ^{☆☆△}
实验中药(大剂量)组	13	0.119 $\pm$ 0.001 ^{**△◇}
牡蛎钙组	14	0.121 $\pm$ 0.01 ^{☆☆}
骨质疏松组	14	0.125 $\pm$ 0.008 ^{☆☆}

注:与正常组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模空组比较[△] $P < 0.05$,^{☆☆} $P < 0.01$;与牡蛎钙组比较[◇] $P < 0.05$;与骨质疏松组比较[◇] $P < 0.05$

股骨的骨密度检测统计结果显示:模型空白组骨密度值明显低于正常组($P < 0.01$),说明肾虚骨质疏松症实验动物模型的成功。与正常组比较,除实验中药小、中剂量组与正常组没有差异,其他组大鼠均有显著差异;与模空组比较,其他各组大鼠均有

非常显著提高;各治疗组大鼠的骨密度值与骨质疏松组比较与实验中药大剂量组有显著差异($P < 0.05$)。治疗组之间,实验中药小、中剂量组接近正常组骨密度值,但实验中药大剂量组不能高于阳性对照组的牡蛎钙组和骨质疏松组。

提示:各组均能提高去卵巢实验大鼠股骨的骨密度值,其中实验中药小、中剂量组能达到正常大鼠的骨密度值,其效果最优;实验中药小、中剂量组能提高去卵巢实验大鼠股骨的骨密度值,其效果与骨质疏松组类似。

2.2 RT-PCR 检测下丘脑中 BMP-4 和 Smad6 mRNA 的表达结果

PCR 产物经琼脂糖电泳后,BMP-4 mRNA 可分别于 245bp(BMP-4)、700bp(β -actin)见到条带,Smad6 mRNA 可分别于 451bp(Smad6)、700bp(β -actin)见到条带(图 1),与设计引物相符。半定量 RT-PCR 显示(图 2),与正常组比较,模型空白组 BMP-4 mRNA 表达水平明显增强 $P < 0.01$ 。与模型空白组比较,各组 mRNA 表达明显降低 $P < 0.05$ 。治疗组之间,无明显差异。与正常组比较,模型空白组 Smad6 mRNA 表达水平明显降低 $P < 0.01$ 。与模型空白组比较,其他治疗各组 mRNA 表达水平明显增强 $P < 0.05$ 。治疗组间,实验中药中剂量组的 mRNA 表达最强。

2.2 Western 印迹杂交检测下丘脑中 BMP-4 和 Smad6 的蛋白表达结果

Western 杂交结果显示,大鼠下丘脑组织可检测到 BMP-4 和 Smad6 的蛋白表达。BMP-4 的蛋白表达:与正常组比较,模型空白组明显增强 $P < 0.01$;与模型空白组比较,各组蛋白表达明显下调 $P < 0.01$ 。治疗间,无明显差异。Smad6 的蛋白表达:与正常组比较,模型空白组的表达降低 $P < 0.01$;与模型空白组比较,其他治疗各组蛋白表达水平明显增

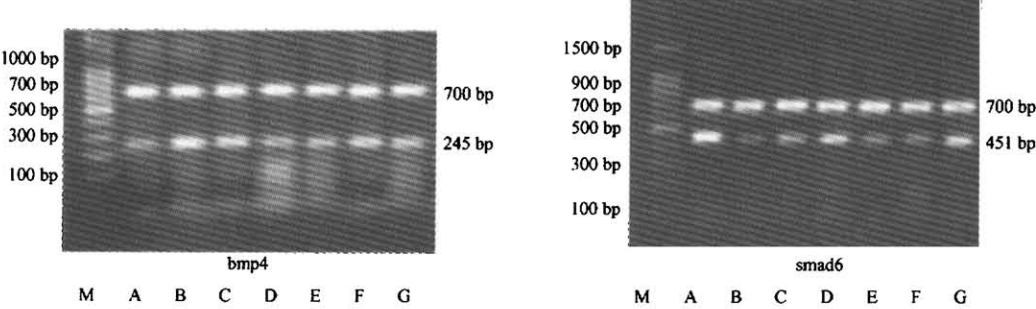


图 1 大鼠下丘脑组织 BMP-4 和 Smad6 mRNA RT-PCR 及 β -actin 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图
M. Marker; A. 正常组; B. 模型空白组; C. 实验中药低剂量组; D. 实验中药中剂量组;
E. 实验中药高剂量组; F. 牡蛎钙组; G. 骨质疏松组

强 $P < 0.01$ 。治疗组间,实验中药中剂量组表达最增强。

表 2 各组大鼠下丘脑组织中 BMP-4 和 Smad6 mRNA 表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMP-4 mRNA 表达量	Smad6 mRNA(mRNA/ β -actin 表达量 密度值)
正常组	5	0.622 $\pm$ 0.077 ^{☆☆}	1.028 $\pm$ 0.042 ^{☆☆}
模型空白组	5	0.971 $\pm$ 0.028 ^{**$\triangle$$\diamond$}	0.414 $\pm$ 0.092 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(小剂量)组	5	0.842 $\pm$ 0.07 [☆]	0.564 $\pm$ 0.081 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(中剂量)组	5	0.706 $\pm$ 0.154 ^{☆☆$\triangle$}	0.781 $\pm$ 0.01 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(大剂量)组	5	0.736 $\pm$ 0.134 ^{☆☆}	0.487 $\pm$ 0.079 ^{**}
牡蛎钙组	5	0.836 $\pm$ 0.083 ^{☆☆}	0.532 $\pm$ 0.042 ^{**$\triangle$}
骨质疏松组	5	0.822 $\pm$ 0.073 ^{☆☆}	0.51 $\pm$ 0.058 ^{**$\triangle$}

注:与正常组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与模型空白组比较[☆] $P < 0.05$,^{☆☆} $P < 0.01$;与牡蛎钙组比较 ^{$\triangle$} $P < 0.05$, ^{$\triangle\triangle$} $P < 0.01$;与骨质疏松组比较 ^{$\diamond$} $P < 0.05$, ^{$\diamond\diamond$} $P < 0.01$

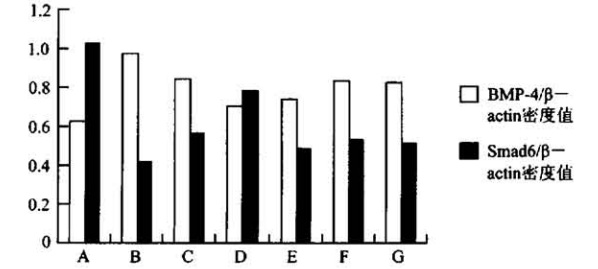


图 2 大鼠下丘脑组织 BMP-4 和 Smad6 mRNA/ β -actin 密度值的比较

表 3 各组大鼠下丘脑组织中 BMP-4 和 Smad6 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMP-4 蛋白 表达量	Smad6 蛋白(吸光度值) 表达量
正常组	5	18.00 $\pm$ 2.236 ^{☆☆}	99.00 $\pm$ 5.00 ^{☆☆}
模型空白组	5	66.00 $\pm$ 3.162 ^{**$\triangle$$\diamond$}	17.00 $\pm$ 4.123 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(小剂量)组	5	50.00 $\pm$ 7.746 ^{**$\triangle$}	59.00 $\pm$ 11.314 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(中剂量)组	5	36.00 $\pm$ 4.472 ^{**$\triangle$$\diamond$}	83.00 $\pm$ 6.595 ^{**$\triangle$$\diamond$}
实验中药(大剂量)组	5	48.00 $\pm$ 7.071 ^{**$\triangle$}	41.00 $\pm$ 4.637 ^{**$\triangle$}
牡蛎钙组	5	48.00 $\pm$ 11.18 ^{**$\triangle$}	43.00 $\pm$ 4.472 ^{**$\triangle$}
骨质疏松组	5	51.00 $\pm$ 15.229 ^{**$\triangle$}	40.00 $\pm$ 7.906 ^{**$\triangle$}

注:与正常组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与模型空白组比较[☆] $P < 0.05$,^{☆☆} $P < 0.01$;与牡蛎钙组比较 ^{$\triangle$} $P < 0.05$, ^{$\triangle\triangle$} $P < 0.01$;与骨质疏松组比较 ^{$\diamond$} $P < 0.05$, ^{$\diamond\diamond$} $P < 0.01$

3 讨论

3.1 中医对骨质疏松症的认识

中医理论认为,“肾为先天之本”、“肾藏精主骨生髓”、“其充在骨”。肾精充足则骨髓生化有源,骨骼得以滋养而强健有力;肾精亏虚则骨髓生化无源,骨骼失养而痿弱无力。《素问·痿论》指出:“肾气热则腰脊不举,……水不胜火,骨枯而髓虚,足不任身”《素问·脉要精微论》亦有“腰者,肾之府,转摇不能,肾将惫矣”;“骨者,髓之府,不能久立,行则振掉,骨将惫矣”。说明肾、骨、髓之间的病理联系,肾虚、骨

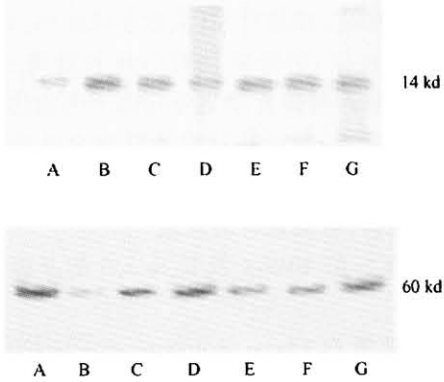


图 3 大鼠下丘脑组织 BMP-4 和 Smad6 的 Western blot 结果

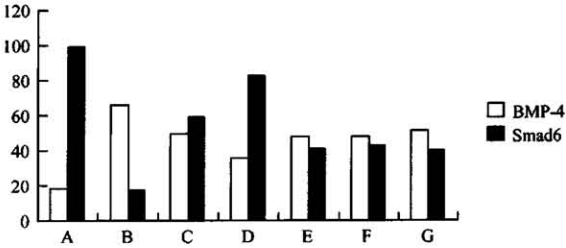


图 4 大鼠下丘脑组织 BMP-4 和 Smad6 蛋白表达的 Western blot 结果分析

精不足、骨髓失养可致骨骼脆弱无力,出现腰背酸痛、膝酸软等骨质疏松症状,从根本上认识到了肾虚是骨质疏松症的主要病机。

同时,中医学还强调肾与脑髓的关系,《灵枢·海论》说:“脑者,髓之海”,髓有骨髓、脊髓和脑髓之分,三者均属于肾中精气化生。因此,肾中精气的盛衰,不仅是影响骨的生长和发育,而且也影响及脊髓和脑髓的充盈和发育,所以肾与脑髓也有密切关系。

3.2 补肾中药治疗骨质疏松症的作用机制

根据中医“肾藏精、主骨生髓、脑为髓海”的理论,中医防治骨质疏松症多从补肾着手。补肾中药具有促进成骨细胞、抑制破骨细胞功能的双向调节作用,促进骨折愈合^[1]。同时,现代研究认为,补肾中药可提高下丘脑-垂体-靶腺轴的功能,观察用地塞米松(DMX)造成雌性大鼠骨质疏松模型的治疗机制是补肾中药通过下丘脑-垂体-卵巢轴的影响实现对激素的调节作用^[2]。调节性激素水平,还可以提高成骨细胞雌激素受体水平。研究表明:补肾方药具有提高绝经后骨质疏松患者性激素水平及骨密度的作用,健骨方具有类雌激素样作用及促进骨形成

的作用^[3]。通过补肾补骨汤对去势大鼠骨代谢影响的动物实验研究,发现对 SD 大鼠 3 项指标(骨密度、骨形态、I 型胶原)的维持具有明显的效果,而且在体外可明显地抑制破骨细胞分化因子的表达和促进护骨因子的表达;提示补肾中药可减少骨质疏松大鼠的骨丢失,提高骨骼抵抗外力冲击的能力,能有效防治骨质疏松,避免骨折的发生^[4]。

3.3 关于下丘脑 BMP-4 及其 Smad6 的基因和蛋白表达

骨形成蛋白(bone morphogenetic protein,简称 BMP)家族属于转化生长因子(α TGF- β)超家族,最初从牛的骨基质提取出来,在活体内可诱导异位成骨。但近年来的研究表明,BMPs 还是生长发育的调控分子。近年来的研究显示,BMPs 家族包括 20 种以上的成员,BMPs 除了在硬组织的发育和再生中发挥重要作用外,在生殖、心、肾、造血系统等的发育以及病变中也发挥着调控作用^[5-8]。其中 BMP-4 具有诱导异位成骨,促进骨折愈合的能力。实验研究发现 BMP-4 诱导骨髓基质细胞向成骨细胞分化的作用可能是其促进骨形成、治疗相关骨骼疾病的作用机制之一^[9]。

Smad6 蛋白是 TGF- β 细胞内信号转导的负调控蛋白(Anti-Smads)^[10],是细胞内 I 型受体丝氨酸/苏氨酸激酶的拮抗蛋白,能与活化 TGF- β I 型受体牢固结合,阻止 R-Smads(Receptor activated Smads)的磷酸化,从而自动反馈调节 TGF- β 对靶基因的转录。Smad6 由 BMPs 诱导产生,抑制 TGF- β 和 BMP 的信号转导。此外,Smad6 还可抑制 Smad4 与 R-Smads 的结合,从而抑制信号转导^[11]。

在检索文献中,尚未见到骨质疏松症有关下丘脑组织 BMP-4、Smad6 mRNA 和蛋白表达的报道。

本研究通过观察去势大鼠中骨形成蛋白-4(BMP-4 mRNA)、Smad6 在下丘脑中表达的变化,初步探讨 BMP-4 mRNA、Smad6 在骨质疏松发病过程中的意义。结果表明,下丘脑组织 BMP-4 mRNA 和蛋白表达,模型空白组明显增强;而下丘脑组织 Smad6 mRNA 表达和蛋白表达明显降低。从而揭示肾虚骨质疏松症的病理机制,肾精不足,骨髓、脑髓失养,表现在下丘脑-垂体-靶腺轴的调控失常,包括下丘脑组织的细胞因子及其信号传导通路的异常。

在本实验研究中,将雌性大鼠切除双侧卵巢造成骨质疏松,模拟女性由于雌激素缺乏而引起的骨质疏松症的临床特征。由于切除卵巢导致性激素水

平急剧下降,在局部,对骨重建相关的 BMP-4、Smads 的基因蛋白表达出现降低/升高的异常变化;而在整体,可能由于性激素分泌过少而致对下丘脑的反馈抑制减少,反而出现下丘脑组织的 BMP-4、Smads 基因蛋白表达的异常变化,下丘脑可能通过释放过多的 BMPs,以及影响信号转导通路,而调控神经-内分泌网络。这种实验结果耐人寻味,令人思索。内分泌激素的反馈调控机制与中医阴阳相互关系,即阴阳二气在运动变化中“此消彼长,此长彼消”颇相一致,可能解释人体生命活动的复杂现象。今后将进一步深入研究,以期能有更新的发现,更好地阐述肾虚骨质疏松症的病理机制和补肾中药的调控作用。

综上所述,由于在骨发生和形成过程中 BMP-4 对各种骨细胞的作用有很大的差异,所以很有必要探讨 BMP-4 与 Smad6 等信号蛋白及转录因子作用的特异性,这将有助于将来调节 Smad6 的活性和转录因子对基因表达的影响来治疗骨质疏松症方面的疾病。

【参 考 文 献】

- [1] 汤耿民,沈霖,方肇年,等. 中药促进骨折愈合疗效机理研究新进展. 中国中医骨伤科杂志, 2000, 8(4): 56-58.
- [2] 安胜军,李恩,赵京山. 补肾方药对地塞米松所致实验性骨质疏松大鼠卵巢功能的影响. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(1): 46-49.
- [3] 柯青,刘海全,牛维. 补肾方药对绝经后骨质疏松症患者骨密度及血钙、血清碱性磷酸酶的影响. 中国临床康复, 2005, 9(31): 186.
- [4] 滕晓英,王连唐. 补肾补骨汤治疗绝经后骨质疏松症的疗效及分子机制. 中国病理生理杂志, 2004, 20(11): 2005-2010.
- [5] Kingsley DM. The TGF β superfamily; New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. Genes Dev, 1994, 8: 133.
- [6] Barlow AJ, Francis-West PH. Ectopic application of recombinant BMP-2 and BMP-4 can change patterning of developing chick facial primordia. Development, 1997, 124: 391.
- [7] Kawakami Y, Ishikawa T, Shimabara M, et al. BMP signaling during bone pattern determination in the developing limb. Development, 1996, 122(11): 355.
- [8] Vukicevic S, Helder MN, Luyten FP. Developing human lung and kidney are major sites for synthesis of bone morphogenetic protein 3 (osteogenin). J Histochem Cytochem, 1994, 42: 869.
- [9] 胡平安,廖二元,肖新华,等. 骨形态生成蛋白-4 与 17 β -雌二醇诱导 MBA-1 细胞分化的研究. 广东医学, 2007, 28(10): 1580-1582.
- [10] Hata A, Lagna G, Massague J, et al. Smad6 inhibits BMP/Smad1 signaling by specifically competing with the Smad4, tumor suppressor. Genes Dev, 1998, 12: 186-197.
- [11] 陈细明,廖贤平. TGF- β /Smad 信号通路与慢性移植性肾病的研究进展. 医学综述, 2007, 13(1): 46-48.

(收稿日期: 2008-03-11)