

金雀异黄酮对去卵巢大鼠椎体力学性能的影响

马育林 戴如春 盛志峰 金艳 张玉海 廖二元

中图分类号：R285.5 文献标识码：A 文章编号：1006-7108(2009)02-0126-06

摘要：目的 探讨皮下注射金雀异黄酮对 OVX 大鼠椎体力学性能的影响及骨力学性能的决定因素。
方法 40 只 7 月龄雌性 SD 大鼠随机分为去卵巢组(OVX 组)、假手术组(SHAM)、OVX + 17 β 雌二醇干预组(EST , 10 μ g(kg \cdot d))、OVX + 金雀异黄酮干预组(GEN , 5 mg(kg \cdot d))。手术后 15 w 第 5 腰椎进行压缩试验 ,第 6 腰椎先行显微 CT 扫描测量骨密度和微结构参数 ,然后进行疲劳损伤试验 ,最后行大块组织品红染色、塑料包埋和磨片 ,磨片用于微损伤、骨细胞密度检测。结果 去卵巢后 15 w 与 SHAM 组相比 ,OVX 大鼠椎体骨密度、微结构参数、骨细胞密度和最大应力均降低($P < 0.05$) ,微破裂密度和面密度增加($P < 0.05$)。GEN 组骨小梁连接密度较 OVX 组增加($P < 0.05$) ,其他微结构参数与 OVX 组差异无统计学意义。与 OVX 组相比 ,GEN 和 EST 替代组骨细胞密度和最大应力均增加($P < 0.05$) ,微破裂密度和面密度减少($P < 0.05$)。OVX 组、GEN 和 EST 替代组之间骨密度和弹性模量差异无统计学意义。结论 金雀异黄酮对去卵巢大鼠椎体骨力学性能的维持不依赖 BMD 和微结构变化。
关键词：金雀异黄酮；生物力学；骨密度；微结构；骨细胞密

Effects of genistein on the mechanical properties of vertebrae in ovariectomized rats MA Yulin , DAI Ruchun , SHENG Zhifeng , et al . Xiaolan People's Hospital , Zhongsha 528415 , China

Abstract：**Objective** To investigate the effects of subcutaneous injection of genistein on the biomechanical properties of vertebrae in ovariectomized rats and the determinants of bone strength. **Methods** 40 Sprague-Dawley (SD) rats 7 months old , were randomly divided into 4 groups , ovariectomized (OVX) , shamoperated (sham) , OVX and treated with 17 β -estradiol (EST , 10 μ g(kg $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$)) or genistein (GEN , 5 mg(kg $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$)). At 15 weeks postovariectomy , the compressive test was performed on the L5 vertebral body . Micro-computed tomography (μ -CT) was used to measure microstructure parameters and bone mineral density (BMD) of L6 vertebral body . After fatigue damage testing , L6 vertebral body was bulk-stained in 1% basic fuchsin and embedded in methylmethacrylate . Mounted bone slices were used to measure microcrack parameters and osteocyte density (Ot . D/T . Ar) . **Results** At 15 weeks postovariectomy , maximum loading (ML) and Ot . N/T . Ar were significantly lower in OVX rats than other groups . ML decreased significantly in GEN group than in SHAM group . Microcrack density (Cr . Dn) , microcrack surface density (Cr . S . Dn) and microcrack length (Cr . Le) increased significantly in OVX group than in other groups . Volumetric BMD (vBMD) was significantly lower in OVX , EST and GEN group than in SHAM group . Bone mineral content (BMC) was significantly lower in OVX group than in SHAM group . Bone volume fraction (BV/TV) and trabecular number (Tb . N) significantly decreased in OVX , EST and GEN groups than in SHAM group . Structure model index (SMI) was significantly lower in SHAM group than in OVX , EST and GEN groups . Trabecular separation (Tb . Sp) was increased significantly in OVX group than in SHAM and EST groups . There were no significantly differences of trabecular thickness (Tb . Th) between SHAM , GEN and OVX groups , but Tb , Th was significantly lower in EST group than in SHAM group . Connectivity density (Conn . D) was significantly lower in OVX group than in SHAM and GEN groups , and Conn . D was significantly

基金项目：国家自然科学基金资助项目(30400514) ,湖南省自然科学基金(06JJ50029) ,卫生部临床学科重点建设资助项目(2004-468-50)

作者单位：528415 中山 ,南方医科大学附属小榄人民医院(马育林) ,中南大学湘雅二医院(戴如春、盛志峰、金艳、廖二元) ,海南省人民医院(张玉海)

通讯作者：廖二元 ,Email : myltgx@yahoo . com . cn

lower in EST group than in GEN group. **Conclusion** The present study demonstrates that genistein preserved biomechanical quality of trabecular bone regardless of microstructure and bone mineral density in OVX rats.

Key words: Genistein; Biomechanics; Microstructure; Bone mineral density; Osteocyte density

骨密度(bone mineral density, BMD)是目前最常用的诊断骨质疏松的指标,但仅能解释 50%~80% 骨强度变化^[1],因此有必要测定决定骨质量的其他指标,如微结构、骨转化、骨基质、矿化、微损伤积累等^[1,2],有利于对抗骨质疏松药物疗效的全面评估。骨细胞丧失可能参与骨重建启动和调节,在一定条件下,还参与疲劳或压缩应力骨折的发生和发展。

合成选择性雌激素受体调节剂(selective estrogen receptor modulators, SERMs)雷诺昔芬(raloxifene)减少骨折危险性不依赖 BMD 的增加^[3],在减少相同椎体骨折危险性时,雷诺昔芬对 BMD 的增加只有双膦酸盐的一半^[4]。最近研究表明,大豆异黄酮是天然的 SERM,与合成 SERM 雷诺昔芬作用相似^[5],没有雌激素相关的副作用。动物试验表明,植物雌激素金雀异黄酮(genistein, GEN)能有效减少去卵巢大鼠骨量丢失^[6]。然而,异黄酮对妇女和绝经后骨质疏松动物模型骨的作用仍不肯定^[7]。

基于以前研究^[8],我们研究的目的是探讨皮下注射 5 mg/(kg·d)金雀异黄酮对 OVX 大鼠椎体力学性能的影响,观察小梁骨微结构、骨量、骨细胞密度、疲劳微损伤和生物力学参数的变化,探讨骨力学性能的决定因素。

1 材料和方法

1.1 材料

7月龄 Sprague-Dawley (SD) 雌性大鼠 40 只,由中南大学湘雅二医院动物实验中心提供,饲养环境温度 25℃,12 h 昼夜照明节律,普通大鼠标准饲料喂养,自由饮水。随机分为去卵巢组(OVX)、17 β 雌二醇(Sigama 公司)替代组(EST 组:10 μ g/(kg·d⁻¹))^[2]、金雀异黄酮替代组(GEN, 5 mg/(kg·d))^[8]和假手术组(SHAM),每组各 10 只,平均体重(304.16 \pm 91.85)g。手术后 15 w 用 3% 戊巴比妥钠麻醉后,腹主动脉放血处死后去除软组织,剥离腰椎段脊柱,用生理盐水纱布包裹维持湿度,塑料袋密封后 -70℃ 保存,以备疲劳损伤和压缩实验及微损伤检测。

1.2 椎体压缩实验^[2]

用 Buehler 精密金刚石慢速锯除去第 5 腰椎椎体两端椎间盘、软骨生长板等结构,并磨平,同时除

去棘突等附属结构。经过这些处理,得到两端截面平行的椎体主干部分,包括中间的松质骨和皮质骨外壳。用 CSS44100 型材料实验机(中国长春科新实验机研究所)进行压缩实验,沿椎体纵轴压缩,压缩速率 2 mm/min。用最终的载荷形变曲线计算每个标本的最大应力(maximum load, ML)和弹性模量(elastic modulus, EM)。

1.3 显微 CT(micro CT μ CT)扫描^[9]

第 6 腰椎椎体的处理同第 5 腰椎椎体。应用 GE explore Locus SP 型 μ CT (GE Health Care Co, London, Canada)行第 6 腰椎椎体离体三维扫描。选择的扫描参数:电压 80 kVp,电流 80 μ A,扫描方式 360°旋转,扫描时间 270 min,帧平均 4 帧,角度增益 0.4°,曝光时间 3000 ms,各向同性分辨率 8.0 μ m \times 8.0 μ m \times 8.0 μ m 像素。同时扫描标准体模,校正 CT 值。

选取 3 个圆柱状(80 \times 80 \times 80 μ m 像素)感兴趣区域(region of interest, ROI),用 μ CT 自带的 MicroView 2.1.1+ Adance Bone Analysis (GE Health Care Co) 软件进行定量分析。直接测量指标如下:体积骨密度(volumetric bone mineral density, vBMD)、组织骨密度(tissue bone mineral density, tBMD)、结构模型指数(structure model index, SMI)、骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)、骨面积分数(bone surface fraction, BS/BV)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁间隔(trabecular separation, Tb.Sp)、骨小梁联接密度(connectivity density, Conn.D)。

1.4 疲劳损伤试验^[2]

用游标卡尺测量第 6 腰椎椎体中间截面长度、宽度及椎体高度。用 PLD 5010 型电子疲劳实验机(由中南大学湘雅二医院代谢内分泌研究所和中国长春科新实验机研究所共同研制开发)进行疲劳损伤实验,疲劳损伤载荷 60 N,负载频率为 2.5 Hz,负载次数 10000 次。疲劳损伤后,各椎体用 70% 乙醇固定,用于微损伤和骨细胞密度检测。

1.5 大块组织碱性品红染色和制片^[2]

经疲劳损伤后的椎体在含梯度乙醇(80%、90%、100%)的 1% 碱性品红溶液里染色 12 h (0.07 MPa, 26℃ 真空干燥箱),100% 乙醇浸洗 2 h,二甲苯

浸润透明 24 h ,常规塑料包埋 ,包埋椎体标本用 ISOMET 金刚石慢速锯锯片(沿冠状面 ,连续制作两片) ,厚度约为 100 ~ 250 μm ,然后磨片至 50 ~ 80 μm ,中性树脂封片 ,自然晾干 ,制片后用于骨微损伤和骨细胞密度检测。

1.6 骨微损伤观察和骨细胞密度检测^[2,40]

在 Leica DMLA 显微镜成像分析系统下对骨微损伤和骨细胞密度进行检测。每个标本取 2 个磨片在白光镜($\times 400$)下观测微破裂平均长度(mean microcrack length , Cr. Le , μm) ,微破裂密度(microcrack density , Cr. Dn , # / mm^2) ,微破裂面密度(microcrack surface density , Cr. S. Dn , $\mu\text{m}/\text{mm}^2$) 。在蓝紫荧光(激发波长 425 ~ 440 nm ,光栅 475 nm)显微镜($\times 400$)下 ,每个标本随机取 5 个视野计量骨小梁骨细胞密度(osteocyte density , Ot. N/ T. Ar , # / mm^2) 。

1.7 统计学处理

数据分析用 SPSS 11.0 统计软件完成 ,结果以 $\bar{x} \pm s$ 。组间均数比较用单因素方差分析(one-way ANOVA) 。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 μCT 结果比较

OVX 组 vBMD 显著低于 SHAM 组($P < 0.01$) , EST 组和 GEN 组 vBMD 显著低于 SHAM 组($P < 0.01$) ,而与 OVX 组差异无显著性。各组间 tBMD 差异无显著性。OVX 组骨矿含量(bone mineral content , BMC)显著低于 SHAM 组($P < 0.05$) , EST 和 GEN 组

BMC 与 SHAM 组比较差异无显著性。SHAM 组 BV/ TV and Tb. N 均显著高于 OVX 组($P < 0.01$) , EST 组($P < 0.01$) 和 GEN 组($P < 0.01$) 。 各组间 BS/ BV 和 DA 差异无显著性。SHAM 组 SMI 较 OVX 组($P < 0.05$) , EST 组($P < 0.01$) 和 GEN 组低($P < 0.01$) 。 OVX 组 Tb. Sp 较 SHAM 组($P < 0.01$) 和 EST 组($P < 0.05$) 显著增加 ,而与 GEN 组无显著差别。OVX 组 Tb. Th 与 SHAM 组和 GEN 组无显著差别 ,而 EST 组 Tb. Th 显著低于 SHAM 组($P < 0.01$) 。 OVX 组 Conn. D 显著低于 SHAM 组($P < 0.01$) 和 GEN 组($P < 0.01$) , GEN 组 Conn. D 显著高于 EST 组($P < 0.05$) 。 OVX、EST 和 GEN 组大鼠骨微结构性能出现下降 ,骨小梁明显变细 ,稀疏 ,断裂 ,趋向于杆状 , SHAM 组结构变化不大 ,见表 1、表 2 和图 1。

2.2 椎体压缩实验结果比较

OVX 组 ML 显著低于 SHAM 组($P < 0.05$) , GEN 组和 EST 组 ML 显著高于 OVX 组($P < 0.05$) ,而 GEN 组 ML 显著低于 SHAM 组($P < 0.05$) , EST 组与 SHAM 组 ML 差异无显著性。各组间 EM 差异无显著性 ,见表 3。

2.3 疲劳微损伤及骨细胞密度比较

OVX 组 Cr. Dn、Cr. S. Dn 和 Cr. Le 均较其他组显著增加($P < 0.05$) , EST 组和 GEN 组较 SHAM 组均差异无显著性。OVX 组 Ot. D/ T. Ar 显著低于 SHAM 组($P < 0.05$) , GEN 组和 EST 组 Ot. D/ T. Ar 显著高于 OVX 组($P < 0.05$) 而与 SHAM 组差异无显著性 ,见表 3。

表 1 不同组别骨密度及微结构指标比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | vBMD(mg/mm^3) | tBMD(mg/mm^3) | BMC(g) | BV/ TV (%) | BS/ BV (%) |
|------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------|
| 假手术组 | 364.6 \pm 38.0 | 739.3 \pm 12.2 | 7.9 \pm 1.2 | 26.0 \pm 4.4 | 31.6 \pm 2.4 |
| OVX | 304.3 \pm 41.3 ^a | 751.8 \pm 18.0 | 6.5 \pm 2.2 ^a | 19.7 \pm 4.2 ^a | 31.9 \pm 2.9 |
| EST | 312.8 \pm 37.5 ^a | 720.4 \pm 14.2 | 6.8 \pm 1.5 | 20.3 \pm 3.7 ^a | 34.7 \pm 2.2 |
| GEN | 316.2 \pm 42.2 ^a | 738.3 \pm 12.5 | 7.31 \pm 2.2 | 20.8 \pm 4.1 ^a | 32.7 \pm 2.4 |

注 :vBMD(volumetric BMD) : 体积骨密度 ; tBMD(tissue BMD) : 组织骨密度 ; BMC(bone mineral content) : 骨矿含量 ; BV/ TV (bone volume fraction) : 骨体积分数 ; BS/ BV (bone surface density) : 骨面积分数。与假手术组(SHAM) 比较 ,^a $P < 0.05$;与去卵巢组比较(OVX) ,^b $P < 0.05$;与 17 β 雌二醇替代组(EST) 比较 ,^c $P < 0.05$ 。

表 2 不同组别骨微结构指标比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | Tb. Th | Tb. N(mm^{-3}) | Tb. Sp(μm) | SMI | Conn. D(mm^2) | DA |
|------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| 假手术组 | 63.7 \pm 4.9 | 4.1 \pm 0.58 | 242.3 \pm 54.2 | 0.66 \pm 0.51 | 68.5 \pm 18.6 | 1.60 \pm 0.55 |
| OVX | 63.3 \pm 5.6 | 3.1 \pm 0.53 ^a | 335.9 \pm 73.1 ^a | 1.14 \pm 0.44 ^a | 47.2 \pm 12.6 ^a | 1.82 \pm 0.74 |
| EST | 57.9 \pm 3.6 ^b | 3.5 \pm 0.45 ^a | 277.1 \pm 49.3 ^b | 1.28 \pm 0.35 ^a | 56.7 \pm 16.9 | 1.83 \pm 0.73 |
| GEN | 61.5 \pm 4.6 | 3.4 \pm 0.52 ^a | 295.6 \pm 90.0 | 1.25 \pm 0.48 ^a | 71.9 \pm 14.9 ^{bc} | 1.79 \pm 0.41 |

注 :Tb. Th(trabecular thickness) : 骨小梁厚度 ; Tb. N(trabecular number) : 骨小梁数目 ; Tb. Sp(trabecular separation) : 骨小梁间隔 ; SMI(structure model index) 结构模型指数 ; Conn. D(connectivity density) : 骨小梁连接密度 ; DA(degree of anisotropy) : 各向异性度。与假手术组(SHAM) 比较 ,^a $P < 0.05$;与去卵巢组比较(OVX) ,^b $P < 0.05$;与 17 β 雌二醇替代组(EST) 比较 ,^c $P < 0.05$ 。

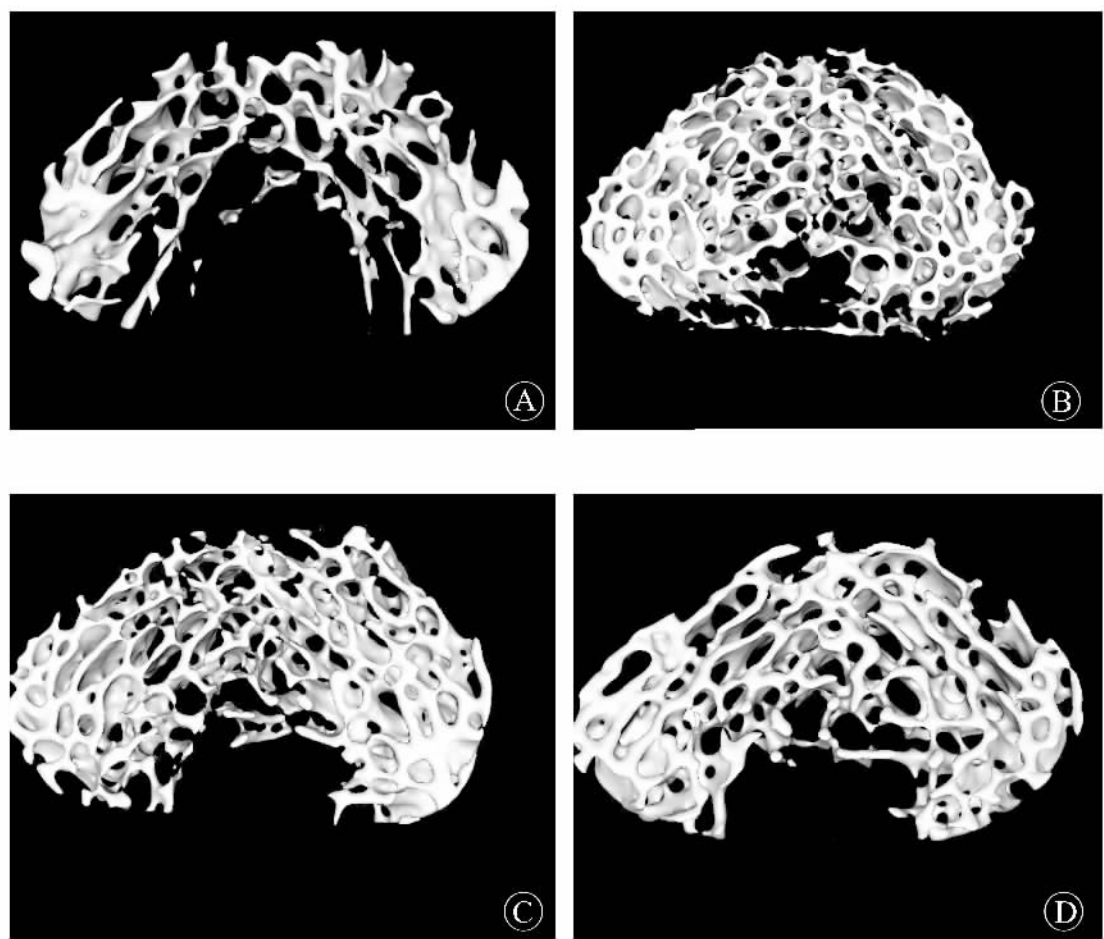


图 1 OVX 和雌激素替代治疗 15 w 后对椎体小梁骨微结构的影响
A :OVX 组骨微结构下降显著 ,骨小梁明显变细、稀疏、断裂、趋向于杆状 ;
B SHAM 组骨小梁密集 ;C :EST 组 ;D :GEN 组骨微结构下降亦明显

表 3 不同组别力学、微破裂及骨细胞指标比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | ML (N) | EM (MPa) | Cr. Dn (# /mm ²) | Cr. S. Dn ($\mu\text{m}/\text{mm}^2$) | Cr. Le (μm) | Ot. N/T. Ar (# /mm ²) |
|------|--------------------------------|-------------------|----------------------------------|--|-----------------------------|---------------------------------------|
| 假手术组 | 148.1 \pm 15.1 | 630.0 \pm 132.7 | 0.46 \pm 0.13 ^b | 13.7 \pm 5.4 ^b | 24.2 \pm 8.1 ^b | 1760.8 \pm 376.6 ^b |
| OVX | 107.5 \pm 20.2 ^a | 694.1 \pm 194.0 | 2.02 \pm 0.39 | 121.5 \pm 24.0 | 58.1 \pm 6.8 | 1299.6 \pm 352.8 |
| EST | 138.3 \pm 14.1 ^b | 717.9 \pm 164.5 | 0.50 \pm 0.12 ^b | 28.0 \pm 9.1 ^b | 36.5 \pm 9.7 ^b | 1550.9 \pm 202.2 ^b |
| GEN | 125.6 \pm 13.9 ^{ab} | 540.0 \pm 52.5 | 0.51 \pm 0.12 ^b | 24.0 \pm 6.4 ^b | 28.5 \pm 7.5 ^b | 1550.7 \pm 215.5 ^b |

注 :ML(maximum loading) :最大应力 ;EM(elastic modulus) :弹性模量 ;Cr. Dn(Microcrack density) :微破裂密度 ;Cr. S. Dn(Microcrack surface density) :微破裂面密度 ;Cr. Le(Mean microcrack length) :微破裂平均长度 ;Ot. N/T. Ar(osteocyte density) :骨小梁骨细胞密度。与假手术组(SHAM)比较 ,^a $P < 0.05$;与去卵巢组比较(OVX) ,^b $P < 0.05$;与 17 β 雌二醇替代组(EST)比较 ,^c $P < 0.05$

3 讨论

本研究目的是探讨皮下注射 5 mg(kg·d)金雀异黄酮 15 周后对 OVX 大鼠椎体力学性能的影响及骨力学性能的决定因素。骨微结构和骨量是决定骨强度的重要因素 ,但其他因素的改变也会影响骨的整体力学性能 ,如骨组织物质构成、微损伤积累和骨细胞密度等。我们研究结果与 Hotchkiss 等^[11]的发

现一致 ,金雀异黄酮没有完全阻止 OVX 大鼠小梁骨微结构退变和骨密度下降 ,而骨细胞密度、抵抗疲劳微损伤和应力骨折的能力没有显著下降 ,5 mg(kg·d)金雀异黄酮与 10 μg (kg·d)17 β -E₂ 作用相似。

大多数临床研究和动物实验表明 ,抗骨质疏松药物治疗在增加 BMD 的同时减少了骨折危险性 ,但 BMD 不是骨力学性能的惟一决定因素。我们研究发现金雀异黄酮和 17 β 雌二醇治疗虽然未能阻止小

梁骨微结构退变和 BMD 降低,但力学性能并未显著下降,这提示可能存在影响骨质量的其他因素,如骨细胞密度、骨转化、骨基质、矿物构成指数等^[12]。雌激素和雌激素类似物可促进胶原合成,抑制上皮组织糖基化终末产物形成,防止胶原非酶催化铰链^[13],改善骨组织物质构成性能而维持骨生物力学性能。雷诺昔芬对骨生物力学性能的改善不依赖骨体积和 BMD,而在于骨组织物质水平的改善^[14]。Tamoxifen 可抑制 OVX 诱导的小梁骨胶原糖基化^[15],而胶原非酶糖基化铰链会增加骨脆性^[16]。骨细胞占骨组织功能细胞总数的 95% 左右,骨细胞不仅是重要的应力传导细胞,而且直接调节骨矿物质和细胞外基质的代谢^[17],在维持骨力学性能中起重要作用。在本研究中,金雀异黄酮维持小梁骨力学性能不完全依赖微结构和 BMD,可能得益于骨组织物质构成性能的改善。金雀异黄酮和 17β -E₂ 替代治疗 15 w 后,体积骨密度与 OVX 组没有显著差异,可能与剂量和疗程有关,与戴如春等^[21]结果一致。

我们研究发现除了 Conn.D 之外,金雀异黄酮替代治疗没有显著影响 OVX 大鼠小梁骨微结构变化,与 Ren 等^[18]结果一致。另外,在雌激素缺乏引起的骨量丢失过程中,Tr.Th 并无显著变化,甚至 17β -E₂ 替代治疗后骨小梁厚度更薄,可能是一种代偿现象^[9,19],这种代偿反应的分子机制尚不清楚。最近,在老年 SD 大鼠发现硫化大豆甾元^[18]可阻止 OVX 诱导的 BMD 和骨力学性能下降,对骨微结构有中度保护作用。到目前为止,纯化的大豆异黄酮和含大豆异黄酮的大豆蛋白提取物对大鼠和人骨的作用不一致。造成差异的原因可能是异黄酮之间的协调或拮抗效益、研究对象的年龄差别、雌激素水平、对异黄酮消化代谢差异以及研究持续时间的不同等^[19]。因此,金雀异黄酮对骨的作用有待进一步研究来阐明。

雌激素对成骨细胞/骨细胞作用取决于细胞所处时期及雌激素受体 α/β (ER α /ER β) 相对表达量^[20]。青年人成骨细胞/骨细胞以表达 ER α 为主,而老年人成骨细胞/骨细胞以表达 ER β 为主^[21],雌激素主要通过 ER α 促进 I 型胶原表达。雌激素和不同受体亚型的亲和力有差异,与 ER α 的结合能力是 ER β 的数倍。金雀异黄酮因为分子结构与雌激素相似,能激活 ER,发挥对骨组织的保护作用,但它具有更高的 ER β 亲和性,与 ER α 的结合时间及亲和力则不及雌激素,而最近 Hertrampf 等^[22]发现金雀异黄酮骨保护作用由 ER- α 介导。我们研究结果发现,金雀异黄

酮在维持 OVX 大鼠骨结构和力学性能方面略逊于 17β -E₂,原因可能在于它们与 ER 亚基亲和力不同有关。骨细胞对雌激素和应力反应由 ER α 介导,细胞 ER α 表达量仅由雌激素调节^[23],因此,雌激素缺乏时骨细胞对应力诱导的合成代谢减弱,推测与骨质量下降有关。

总之,我们研究发现金雀异黄酮替代治疗对去卵巢大鼠椎体 BMD 和微结构性能没有显著影响,但在一定程度上维持了小梁骨力学性能,骨组织物质构成和骨细胞密度可能是骨力学性能的重要决定因素。

【参 考 文 献】

- [1] Delmas PD, Seeman E. Changes in bone mineral density explain little of the reduction in vertebral or nonvertebral fracture risk with anti-resorptive therapy. *Bone*, 2004, 34(4): 599-604.
- [2] Dai RC, Liao EY, Yang C, et al. Microcracks: an alternative index for evaluating bone biomechanical quality. *J Bone Miner Metab*, 2004, 22(3): 215-223.
- [3] Sarkar S, Reginster JY, Crans GG, et al. Relationship between changes in biochemical markers of bone turnover and BMD to predict vertebral fracture risk. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(3): 394-401.
- [4] Allen MR, Iwata K, Sato M, et al. Raloxifene enhances vertebral mechanical properties independent of bone density. *Bone*, 2006, 39(5): 1130-1135.
- [5] Setchell KDR. Soy isoflavones-Benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulator (SERMs). *J Am Coll Nutr*, 2001, 20(S5): S354-S362.
- [6] Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology*, 1999, 140(4): 1893-1900.
- [7] Picherit C, Chanteranne B, Bennetau-Pelissier C, et al. Dose-dependent bone-sparing effects of dietary isoflavones in the ovariectomized rat. *Br J Nutr*, 2001, 85(3): 307-316.
- [8] Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, et al. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporos Int*, 1998, 8(3): 274-281.
- [9] Sheng Z, Dai R, Wu X, et al. Regionally-specific compensation for bone loss in the tibial trabeculae of estrogen deficient rats. *Acta Radiologica*, 2007, 48(5): 531-539.
- [10] Da Costa Go'mez TM, Barrett JG, Sample SJ, et al. Up-regulation of site-specific remodeling without accumulation of microcracking and loss of osteocytes. *Bone*, 2005, 37(1): 16-24.
- [11] Hotchkiss CE, Weis C, Blaydes B, et al. Multigenerational exposure to genistein does not increase bone mineral density in rats. *Bone*, 2005, 37(5): 720-727.
- [12] Compston J. Bone Quality: What is it and How is it Measured? *Arch Bras Endocrinol Metab*, 2006, 50(4): 579-585.

(上接第 130 页)

- [13] Jackson S , James M , Abrams P . The effect of oestradiol on vaginal collagen metabolism in postmenopausal women with genuine stress incontinence . BJOG , 2002 , 109(3) : 339-344 .
- [14] Allen MR , Hogan HA , Hobbs WA , et al . Raloxifene enhances material-level mechanical properties of femoral cortical and trabecular bone . Endocrinology , 2007 , 148(8) : 3908-3913 .
- [15] Moro L , Bettica P , Romanello M , et al . 17 beta-Estradiol and tamoxifen prevent the over-glycosylation of rat trabecular bone collagen induced by ovariectomy . Eur J Clin Chem Clin Biochem , 1997 , 35 (1) : 29-33 .
- [16] Viguet-Carrin S , Roux JP , Arlot ME , et al . Contribution of the advanced glycation end product pentosidine to compressive biomechanical properties of human lumbar vertebrae . Bone , 39(5) : 1073-1079 .
- [17] Feng JQ , Ward LM , Liu S , et al . Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism . Nature Genetics , 2006 , 38(11) : 1310-1315 .
- [18] Ren P , Ji H , Shao Q , et al . Protective effects of sodium daidzein sulfonate on trabecular bone in ovariectomized rats . Pharmacology , 2007 , 79(3) : 129-136 .
- [19] Weaver CM , Cheong JMK . Soy isoflavone and bone health : the relationship is still unclear . J Nutr , 2005 , 135(5) : 1243-1247 .
- [20] Ireland DC , Bord S , Beavan SR , et al . Effects of estrogen on collagen synthesis by cultured human osteoblasts depend on the rate of cellular differentiation . J Cell Biochem , 2002 , 86(2) : 251-257 .
- [21] Hernandez CJ , Majeska RJ , Schaffler MB . Osteocyte density in woven bone . Bone , 2004 , 35(5) : 1095-1099 .
- [22] Hertrampf T , Gruca MJ , Seibel J , et al . The bone-protective effect of the phytoestrogen genistein is mediated via ER α -dependent mechanisms and strongly enhanced by physical activity . Bone , 2007 , 40(6) : 1529-1535 .
- [23] Zaman G , Jessop HL , Muzylak M , et al . Osteocytes use estrogen receptor α to respond to strain but their ER α content is regulated by estrogen . J Bone Miner Res , 2006 , 21(8) : 1297-1306 .

(收稿日期 : 2008-09-28)