

骨质疏松模型 IL-6 和 NF- κ B 的基因表达特征和意义

陈霞平 杨凤翔 万超 朱小虎

中图分类号: R329.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)10-0727-05

摘要:目的 探讨 IL-6、NF- κ B 和骨形成标志物(BALP 和 BGP)在大鼠骨质疏松模型中的表达水平和在骨质疏松发病中的特征。方法 将 60 只 5 月龄雌性 SD 大鼠随机分为对照组、假手术组和卵巢切除组。在术后第 2、3、4、5、6 月,每组随机取 4 只大鼠检测 BMD、IL-6、BALP 和 BGP。用实时定量 RT-PCR 检测其骨组织中的 IL-6 和 NF- κ B 的基因表达水平。结果 术后第 4、5、6 月卵巢切除组大鼠的骨密度($P < 0.01$)与假手术组和对照组相比显著降低,血清 IL-6 水平在术后第 2 至 6 月明显升高($P < 0.01$),血清 BALP 和 BGP 于术后 4、5、6 月显著增高($P < 0.05$)。实时定量 RT-PCR 分析表明卵巢切除组大鼠 IL-6 和 NF- κ B 的 mRNA 表达水平随时间而增加,且与骨密度呈负相关,IL-6 和 NF- κ B 为正相关。结论 本研究表明骨质疏松大鼠的 IL-6、NF- κ B 和骨形成标志物水平明显增高。这些分子在骨质疏松发病中具有重要作用。

关键词: 骨质疏松; 白细胞介素-6; 核因子; 骨形成标志物

doi: 10.3969/j.issn.1006-7108.2009.10.003

Expression characteristic and significance of interleukin-6, nuclear factor kappa B and bone formation markers in rat models of osteoporosis CHEN Xiaping, YANG Fengxiang, WAN Chao, et al. Affiliated Taihe Hospital of Yunyang Medicine College Pharmacy Department, Shiyan 442000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression levels of IL-6, NF- κ B and bone formation markers(BALP and BGP) in osteoporosis rats and their significance in the pathogenesis of osteoporosis. **Methods** 60 adult female SD rats aged 5 months were randomly divided into three groups: normal control group(control), sham-operated group(sham) and ovariectomized group(OVX). In 2, 3, 4, 5, 6 months after surgery, 4 rats were randomized from each group for assays of BMD, IL-6, BALP and BGP. After that, the rats were sacrificed for the detection of IL-6 and NF- κ B expression levels in bone tissue by Quantitive Real-time RT-PCR analysis. **Results** Compared with the sham and control group, BMD of rats in OVX group was reduced remarkably in 4, 5, 6 months($P < 0.01$); the serum IL-6 level increased significantly from 2 months to 6 months after surgery($P < 0.01$); the serum levels of BALP and BGP were higher dramatically in 4, 5, 6 months($P < 0.05$). The Quantitive Real-time RT-PCR analysis demonstrated that the mRNA levels of IL-6 and NF- κ B in OVX group increased in a time-dependent manner. Moreover, the IL-6 and NF- κ B expression levels were negatively correlated with the BMD. At the same time, there was a positive correlation between IL-6 and NF- κ B. **Conclusion** The results of this study have been indicated that the expression levels of IL-6, NF- κ B and bone formation markers increase significantly in the osteoporosis rats. These molecules could play a role in the pathogenesis.

Key words: Osteoporosis; Interleukin-6; Nuclear factor kappa B; Bone formation markers

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量减少、骨组织显微结构退化为特征、骨脆性增高、骨折

危险性增加的一种代谢性骨病^[1,2]。随着人口老龄化,因骨质疏松造成的病理性骨折给社会和家庭带来了沉重的负担。

由于本病的发病机制仍未完全阐明,预防和治疗尚有困难。因此,深入研究骨质疏松的发病机制,对本病的早期诊断和早期预防有至关重要的意义。

作者单位: 442000 湖北 十堰 郧阳医学院附属太和医院药学部(陈霞平)、康复医学中心(杨凤翔、万超、朱小虎)

通讯作者: 朱小虎, Email: zhuxh0831@163.com

血清骨特异性碱性磷酸酶(Bone-specific alkaline phosphatase, BALP)和骨钙素(bone osteocalcin, BGP)是骨形成的特异性和敏感性指标^[3,4]。致炎细胞因子白细胞介素-6(cytokine interleukin 6, IL-6)可改变破骨细胞的功能,诱导骨吸收^[5]。NF- κ B 在应激和病原体的刺激下,能迅速在细胞内被激活。它的抑制因子可诱导成熟的破骨细胞凋亡,在体外抑制骨吸收^[6,7]。体外研究已证实 IL-6、NF- κ B、BALP 和 BGP 与骨代谢和骨质疏松的发病相关,而它们在体内的关系却少有报道。笔者旨在研究 IL-6、NF- κ B 和骨形成标志物(BALP 和 BGP)在大鼠骨质疏松模型中的表达水平及其在骨质疏松发病机制中的意义。

1 材料和方法

1.1 实验分组及处理

取 5 月龄雌性 SD 大鼠 60 只,体重 220 ~ 250 g,由湖北省鄖阳医学院实验动物中心提供(许可证号: SCXK(鄂)2005-0008)。每笼养 5 只,在恒定的环境中(22 ± 2)℃,湿度(50 ± 5)%,12 h 昼/夜循环,可自由摄食进水。随机分为对照组(C 组)、假手术组(S 组)、卵巢切除组(OVX 组)3 组,每组 20 只。所有试剂均为分析纯试剂。

1.2 骨质疏松模型复制

环境适应期过后,OVX 组大鼠行双侧卵巢切除术。以 25 mg/kg 的硫喷妥钠腹腔注射麻醉后,在下腹正中做一长 0.5 ~ 1 cm 的纵行切口,切除卵巢。S 组仅手术暴露,不切除卵巢。以尸检未发现卵巢组织和子宫明显萎缩确认卵巢切除成功。术后连续 3d 肌注青霉素预防感染。

1.3 骨密度测定

大鼠经腹腔麻醉后称重,四肢展平置于 DPX2L 型 Lunar 双光子骨密仪(鄖阳医学院附属太和医院生命科学研究所协助)上,通过计算机系统软件测量每只大鼠全身骨密度(BMD)^[8]。

1.4 IL-6 和骨生成标志物的生化测定

在术后 2、3、4、5、6 月测定各组大鼠血清 IL-6、BALP 和 BGP 水平。血清 IL-6 采用 ELISA 法(Catalog # KAC1261, Biosource International, Inc, Camarillo, CA, USA)灵敏度为 3 pg/mL。血清 BALP 按照 EIA 法(Alkphase-B; Metra Biosystems, Palo Alto, CA, USA)测定,批内分析和批间变异系数分别为 4.1% 和 5.2%。血清 BGP 用竞争 EIA 法(NovoCalcin; Metra Biosystems, Palo Alto, CA, USA)测定,批内分析和批间变异系数分别为 4.0% 和 5.3%。

1.5 RNA 提取

动物处死后,快速冲洗掉股骨腔内的骨髓,将股骨至于液氮中速冻后,用 DEPC 水将样本制成细胞悬液,用预冷的 Trizol (Life Technologies, Inc.)提取样本细胞总 RNA,在紫外分光光度计上测 A260/280nm 来定量。

1.6 IL-6 和 NF- κ B 表达水平的实时定量 RT-PCR 测定

用 SYBR® Green PCR Master Mix 和 RT-PCR 试剂盒按照说明进行实时定量 RT-PCR 分析, β -actin 作为内参,IL-6 的特异性引物:上游引物:5'-AAG TCG GAG GCT TAA TTA CAC ATG T-3',下游引物:5'-AAG TGC ATC ATC GTT GTT CAT ACA-3',长度为 661 bp。NF- κ B 引物:上游引物:5'-ACG ATC TGT TTC CCC TCA TC-3',下游引物:5'-TGC TTC TCT CCC CAG GAA TA-3',长度为 221 bp。 β -actin 上游引物:5'-CTG TGC CCA TCT ATG AGG GT-3',下游引物:5'-CAG TGA GGC CAG GAT AGA GC-3',长度为 526 bp。反应体系:20 ng RNA, 10 μ L 2 × SYBR Green PCR Master Mix, 6.25 U MultiScribe 逆转录酶, 10 U RNA 酶抑制剂 and 0.1 μ M 引物。总反应体积 20 μ L,反应条件:94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 72℃ 7 min,共 36 个循环。

通过测序鉴定 PCR 产物并与序列库对比。扩增的条带经密度分析进行定量,每个结果测量 3 次,用 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验重复 3 次。

本实验使用 Yasmina Juarranz 等^[9]的相对定量方法,并将靶片段的数量与内参对比。使用公式为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$,表示处理组特定基因表达与对照组的 N 倍差异表达,其中 C_t 是平均阈值循环。 ΔC_t 代表靶基因与 β -肌动蛋白 C_t 值的差异, $\Delta\Delta C_t$ 表示对照组与每个处理组之间的 C_t 差别。扩增产物大小用电泳方法确定。

1.7 统计学处理

所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析与 post-hoc Tukey's 法配对比较。用 Spearman 等级相关分析计算 IL-6、NF- κ B、BALP、BGP 和 BMD 表达水平的相关性。

2 结果

2.1 骨密度测定

表 1 显示 OVX 组大鼠从术后 4 月股骨骨密度开始明显下降,比 S 组(0.097 ± 0.004)和 C 组(0.107 ± 0.001)分别低 18% 和 30%($P < 0.05$, $P < 0.05$)。

在第 6 个月比 S 组和 C 组骨密度显著下降($P < 0.01$, $P < 0.01$)。

2.2 IL-6 和骨生成标志物的生化测定

血清 IL-6 和骨生成标志物水平见表 2。S 组的数值略高于 C 组 ,但无统计学差异。OVX 组的血清

IL-6 水平在术后第 2 ~ 6 月显著升高($2093 \pm 5.68 \sim 2596 \pm 3.69$ pg/mL , $P < 0.01$) ,与其他两组相比有显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$) ,术后 4、5、6 月 OVX 组 BALP 和 BGP 与其他两组相比有显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 不同组别骨密度值变化($\bar{x} \pm s$, g/cm²)

组别	<i>n</i>	第 2 月	第 3 月	第 4 月	第 5 月	第 6 月
C 组	4	0.105 ± 0.002	0.102 ± 0.003	0.107 ± 0.001	0.103 ± 0.007	0.108 ± 0.006
S 组	4	0.100 ± 0.001	0.098 ± 0.005	0.097 ± 0.004	0.097 ± 0.001	0.095 ± 0.007
OVX 组	4	0.096 ± 0.003	0.091 ± 0.006	0.082 ± 0.005 ^{ac}	0.073 ± 0.002 ^{bc}	0.061 ± 0.005 ^{bd}

注 :与 C 组比较 ,^a $P < 0.05$;与 C 组比较 ,^b $P < 0.01$;与 S 组比较 ,^c $P < 0.05$;与 S 组比较 ,^d $P < 0.01$

表 2 不同组别血清 IL-6、BALP 和 BGP 在不同时期水平变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	第 2 月	第 3 月	第 4 月	第 5 月	第 6 月
IL-6 (pg/mL)						
C 组	4	1866 ± 8.09	1859 ± 8.11	1887 ± 6.28	1829 ± 3.65	1872 ± 3.37
S 组	4	1901 ± 7.89	1920 ± 7.72	1936 ± 5.40	1961 ± 4.76	1983 ± 2.58
OVX 组	4	2093 ± 5.68 ^{ac}	2115 ± 5.07 ^{ac}	2298 ± 6.33 ^{bc}	2401 ± 4.24 ^{bd}	2596 ± 3.69 ^{bd}
BALP (U/L)						
C 组	4	72.33 ± 0.19	72.68 ± 0.71	73.87 ± 0.42	76.21 ± 1.04	80.23 ± 0.27
S 组	4	72.42 ± 0.21	73.91 ± 0.62	75.77 ± 0.51	79.28 ± 1.17	82.37 ± 0.59
OVX 组	4	72.50 ± 0.46	88.06 ± 1.01 ^{ac}	118.01 ± 0.26 ^{bd}	137.69 ± 0.19 ^{bd}	156.88 ± 0.73 ^{bd}
BGP (ng/mL)						
C 组	4	12.25 ± 0.02	12.37 ± 0.07	12.42 ± 0.03	12.67 ± 0.02	12.90 ± 0.11
S 组	4	12.36 ± 0.05	12.41 ± 0.03	12.58 ± 0.01	12.96 ± 0.07	13.07 ± 0.08
OVX 组	4	12.43 ± 0.02	12.75 ± 0.04	16.07 ± 0.08 ^{bc}	18.59 ± 0.12 ^{bd}	20.17 ± 0.03 ^{bd}

注 :与 C 组比较 ,^a $P < 0.05$;与 C 组比较 ,^b $P < 0.01$;与 S 组比较 ,^c $P < 0.05$;与 S 组比较 ,^d $P < 0.01$

2.3 IL-6 和 NF-κβ 的 mRNA 表达

OVX 组的 IL-6 和 NF-κβ 表达水平从术后第 2 月开始逐月升高。在卵巢切除术 2 月后与 C 组和 S 组相比 ,OVX 组 IL-6 和 NF-κβ mRNA 的表达增加了 1.5 ~ 2 倍 ,在第 4 和 6 个月分别增加 2 ~ 3 倍和 4 ~ 5 倍。3 组之间 IL-6 和 NF-κβ 的 mRNA 表达有显著差异($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$,图 1)。此外 ,Spearman 相关分析表明 ,OVX 组的 IL-6 ($r_s = - 0.58$, $P = 0.023$)、NF-κβ($r_s = - 0.59$, $P = 0.020$)、BALP($r_s = - 0.43$, $P = 0.031$)、BGP($r_s = - 0.49$, $P = 0.028$)的表达水平与 BMD 呈负相关 ,同时 ,IL-6 表达水平与 NF-κβ 呈正相关($r_s = 0.66$, $P = 0.025$)。

3 讨论

骨是运动系统中与钙、磷代谢直接相关的器官。由于衰老和绝经 ,这两种物质代谢失衡就会导致骨质疏松。骨密度下降和骨转换加快 ,会造成骨质疏松性

和骨折的危险性增加^[10-15]。另外 ,老年骨质疏松患者患下列疾病的风险也增加 :高血压、钙代谢异常疾病、癌症、糖尿病^[16-18]。因此 ,本实验通过研究 IL-6、NF-κβ 和骨生成标志物(BALP 和 BGP)在骨质疏松活体内的表达 ,探讨该病诊断和治疗的检测方法。

卵巢切除大鼠是研究绝经后骨质疏松公认的良好模型。原因有二^[19-20] :首先 ,卵巢切除后的大鼠由于骨量丢失加快造成了骨重建的负平衡。其次 ,该模型的骨量丢失与绝经后骨质疏松有相似的病理生理学机制。基于以上几点 ,本实验采用大鼠作为模型 ,术后第 4 月 OVX 组大鼠的骨密度下降。近来研究表明 ,骨密度下降是骨流失和骨折风险增加的标志。结合骨密度下降和骨小梁变少的病理切片 ,可以确定骨质疏松大鼠模型复制成功。

NF-κβ 可以激活 IL-6 转录 ,许多细胞核受体可以拮抗 NF-κβ 的活性 ,如糖皮质激素受体、雄激素受体、黄体酮受体、过氧化物酶体增生物激活受体。大

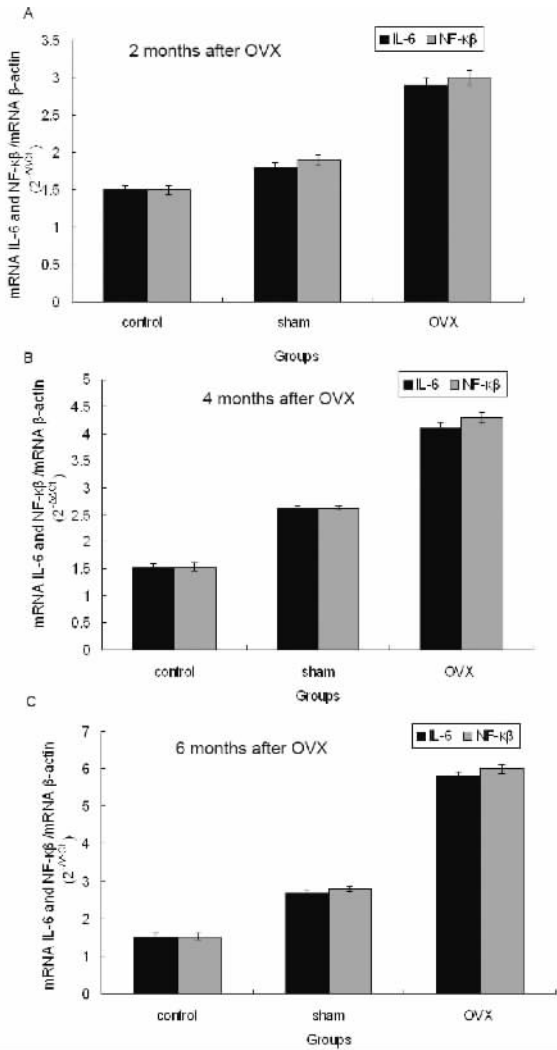


图1 定量 RT-PCR 分析检测 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ 的基因表达

A~C 卵巢切除术后 2、4、6 个月血清中 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ mRNA 的表达。从卵巢切除术后 2 个月起,OVX 组 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ 的表达水平呈时间依赖性的增加,与对照组和假手术组比较有统计学意义 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)

量证据表明,为了提高骨吸收和骨转换,NF- $\kappa\beta$ 可以抑制 α 受体介导的雌二醇激活,刺激 IL-6 的表达^[21-23]。目前认为 IL-6 与骨重建和骨质疏松的发病有关,它能够刺激破骨细胞的生成,调节骨吸收。近来的研究证实雌激素能够减少 IL-6 在间质细胞/成骨细胞中的表达,通过破坏 IL-6 基因的方法可逆转大鼠因卵巢切除导致的骨质流失^[24,25]。另外,在其他一些以骨量过度减少为特点的疾病也发现 IL-6 水平增高,如类风湿性关节炎、牙周病、多发性骨髓瘤和甲状旁腺功能亢进症^[26-28]。然而,以前一些关于 IL-6 在骨质疏松患者或动物模型中如何改变的研究得出了矛盾的结果。不同的研究发现无论是用免疫测定法还是半定量的 RT-PCR 技术测定卵巢切

除大鼠的血清 IL-6 蛋白,都不能发现 mRNA 表达的细微差异^[29,30]。因此,为了提高结果的可靠性,我们联合运用生化测定和实时定量 RT-PCR (quantitative real-time RT-PCR) 技术来检测 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ 在骨质疏松大鼠模型中的表达水平。

本研究表明 OVX 组大鼠血清 IL-6、BALP 和 BGP 水平比其他两组显著增高(表 2),OVX 组大鼠 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ 的 mRNA 水平比 S 组明显增高。导致这样结果的原因可能为:雌激素可以通过抑制蛋白质与 NF- $\kappa\beta$ 位点结合起到使 IL-6 表达减少的作用^[31];另外,与 OVX 组大鼠相比, S 组大鼠能分泌更多雌激素,这一点可以解释为什么在 OVX 组大鼠的 IL-6 和 NF- $\kappa\beta$ mRNA 水平均上调。这些研究结果亦与 IL-6 能通过刺激破骨细胞形成来促进骨吸收相一致。Poli 等^[32]和 Bellido 等^[33]证实 IL-6 缺乏大鼠去势后发生骨量减少的几率小。本研究 Spearman 相关分析证实这 4 个指标与 BMD 呈负相关。

总之,本实验证实了 IL-6、NF- $\kappa\beta$ 、BALP 和 BGP 在骨质疏松发病中的变化,这些分子在骨质疏松发病机制中起到了重要作用。

【参考文献】

- [1] O'Brien C, Jilka RL, Fu Q, et al. IL-6 is not required for arathyroid hormone stimulation of RANKL expression, osteoclast formation, and bone loss in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 289: E784-E793.
- [2] Saburo Hidaka, Yoshizo Okamoto, Satoshi Uchiyama, et al. Royal Jelly Prevents Osteoporosis in Rats: Beneficial Effects in Ovariectomy Model and in Bone Tissue Culture Model. *eCAM*, 2006, 3(3): 339-348.
- [3] Eren E, Yilmaz N. Biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in patients with β -thalassaemia major. *J Clin Pract*, 2005, 59(1): 46-51.
- [4] Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, et al. Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhibition of nitric oxide synthesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 286: 768-774.
- [5] Chen SU, Chou CH, Lee H, et al. Lysophosphatidic acid up-regulates expression of interleukin-8 and -6 granulosa-lutein cells through its receptors and NF- $\kappa\beta$ dependent pathways: implications for angiogenesis of corpus luteum and ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93: 935-943.
- [6] Xing L, Carlson L, Story B, et al. Expression of either NF-kappaB p50 or p52 in osteoclast precursors is required for IL-1 induced bone resorption. *J Bone Miner Res* 2003, 18: 260-269.
- [7] Franzoso G, Carlson L, Xing L, et al. Requirement for NF-kB in osteoclast and B-cell development. *Gene Devel*, 1997, 11: 3482-3496.

- [8] Griffin MG, Kimble R, Hopfer W, et al. Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) of the rat accuracy, precision and measurement of bone loss. J Bone Miner Res, 1993, 8: 7952-8001.
- [9] Juarranz Y, Abad C, Martinez C, et al. Protective effect of vasoactive intestinal peptide on bone destruction in the collagen-induced arthritis model of rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther, 2005, 7: R1034-R1045.
- [10] O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. Endocrinology, 2004, 145: 1835-1841.
- [11] Özmen B, Kirmaz C, Aydin K, et al. Influence of the selective oestrogen receptor modulator (raloxifene hydrochloride) on IL-6, TNF- α , TGF- β and bone turnover markers in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Eur Cytokine Netw, 2007, 18: 148-153.
- [12] Yousefzadeh G, Larijani B, Mohammadirad A, et al. Determination of oxidative stress status and concentration of TGF- β in the blood and saliva of osteoporotic subjects. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1091: 142.
- [13] NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA, 2001, 285: 785.
- [14] Sarkar S, Reginster JY, Crans GG, et al. Relationship between changes in biochemical markers of bone turnover and BMD predict vertebral fracture risk. J Bone Miner Res, 2004, 19: 394.
- [15] Hansdötiir H, Franzson L, Prestwood K, et al. The Effect of Raloxifene on markers of bone turnover in older women living in long-term care facilities. J Am Geriatric Soc, 2004, 52: 779.
- [16] Walsh BW, Cox DA, Sashegy A, et al. Role of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in the effect of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein in postmenopausal women. Am J Cardiol, 2001, 88: 825.
- [17] Lan JM, Russell L, Kan SN. Osteoporosis. Clin Orthop, 2000, 372: 139-150.
- [18] Todhunter CE, Sutherland-Craggs A, Bartram SA, et al. Influence of IL-6, COL1A1, and VDR gene polymorphisms on bone mineral density in Crohn's disease. Gut, 2005, 54: 1579-1584.
- [19] Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, et al. Tumor necrosis factor prevents alendronate-induced osteoclast apoptosis *in vivo* by stimulating Bcl-xL expression through Ets-2. Arthritis Rheum, 2005, 52: 2708-2718.
- [20] Pereda CA, Hannon RA, Naylor KE, et al. The impact of subcutaneous oestradiol implants on biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal women. BJOG, 2002, 109: 812-820.
- [21] Han JH, Choi SJ, Kurihara N, et al. Macrophage inflammatory protein-1 α is an osteoclastogenic factor in myeloma that is independent of receptor activator of nuclear factor κ B ligand. BLOOD, 2001, 97(11): 3349-3353.
- [22] Mann J, Oakley F, Johnson PWM, et al. CD40 Induces Interleukin-6 Gene Transcription in Dendritic Cells. The Journal Biological Chemistry, 2002, 277(19): 17125-17138.
- [23] Cappellen David, Luong-Nguyen NH, Bongiovanni S, et al. Transcriptional Program of Mouse Osteoclast Differentiation Governed by the Macrophage Colony-stimulating Factor and the Ligand for the Receptor Activator of NF κ B. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(24): 21971-21982.
- [24] Palmqvist P, Persson E, Conaway HH, et al. IL-6, Leukemia Inhibitory Factor, and Oncostatin M Stimulate Bone Resorption and Regulate the Expression of Receptor Activator of NF- κ B Ligand, Osteoprotegerin, and Receptor Activator of NF- κ B in Mouse Calvariae. The Journal of Immunology, 2002, 169: 3353-3362.
- [25] Oz-Arslan D, Ruscher W, Myrtek D, et al. IL-6 and IL-8 release is mediated via multiple signaling pathways after stimulating dendritic cells with lysophospholipids. J Leukoc Biol, 2006, 80: 287-297.
- [26] Jimi E, Aoki K, Saito H, et al. Selective inhibition of NF- κ B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction *in vivo*. Nature Medicine, 2004, 10: 617-624.
- [27] Ikeda F, Nishimura R, Matsubara T, et al. Critical roles of c-Jun signalling in regulation of NFAT family and RANKL-regulated osteoclast differentiation. J Clin Invest, 2004, 114: 475-484.
- [28] Buxton EC, Yao W, Lane NE. Changes in serum receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, osteoprotegerin, and interleukin-6 levels in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with human parathyroid hormone. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89: 3332-3336.
- [29] Taketa T, Sakai A, Tanaka S. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor prevents reduction of trabecular bone mass in collagen-induced arthritic mice in association with suppression of RANKL/OPG ratio and IL-6 mRNA expression in synovial tissues but not in bone marrow cells. J Bone Miner Metab, 2008, 26(2): 143-151.
- [30] Evans BA, Eلفord C, Pexa A, et al. Human osteoblast precursors produce extracellular adenosine, which modulates their secretion of IL-6 and osteoprotegerin. J Bone Miner Res, 2006, 21(2): 228-236.
- [31] Galien R, Garcia T. Estrogen receptor impairs interleukin-6 expression by preventing protein binding on the NF- κ B site. Nucleic Acids Res, 1997, 25: 2424-2429.
- [32] Poli V, Balena R, Fattori E, et al. Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion. EMBO J, 1994, 13: 1189-1196.
- [33] Bellido T, Jilka RL, Boyce BF, et al. Regulation of interleukin-6, osteoclastogenesis and bone mass by androgens. The role of the androgen receptor. J Clin Invest, 1995, 95: 2886-2895.

(收稿日期 : 2009-04-20)