

17 β -雌二醇对去势胰岛素抵抗大鼠骨代谢及 OPG/RANKL 表达的影响

陈穗生 皮佑辉 夏暴权 罗晓嘉 周寿红

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)01-0005-06

摘要: 目的 探讨 17 β -雌二醇对去势胰岛素抵抗大鼠骨代谢生化指标及 OPG/RANKL 表达的影响。方法 36 只雌性大鼠卵巢切除后用高果糖饲料喂养 12 周,诱导胰岛素抵抗产生,大鼠随机分为模型组、雌激素替代组和溶媒对照组,另设正常对照组大鼠 12 只,用普通饲料喂养 12 周。检测各组大鼠动脉收缩压(SBP)、血清雌二醇(E_2)、空腹血糖(FBS)和空腹血清胰岛素(FSI)水平,并计算胰岛素敏感指数(ISI)。测定尿钙、尿脱氧吡啶啉(Dpd)、血清骨钙素(BGP)水平。采用实时定量 PCR 和 Western Blot 检测股骨组织中护骨素/细胞核因子 KB 受体活化因子配体(OPG/RANKL)的表达。结果 与对照组相比,模型组大鼠 SBP、FBS、FSI、尿钙和尿 Dpd 水平均显著性升高(均 $P < 0.05$),ISI、血清雌二醇和血清 BGP 水平显著性降低(均 $P < 0.05$),股骨中 OPG mRNA 和蛋白的表达显著性降低(均 $P < 0.05$),而 RANKL mRNA 和蛋白的表达显著性升高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,17 β -雌二醇替代逆转了上述改变(均 $P < 0.05$)。结论 17 β -雌二醇抑制去势胰岛素抵抗大鼠股骨中骨吸收和促进骨形成,其作用机制可能与 17 β -雌二醇能上调骨组织中 OPG 的表达而降低骨组织中 RANKL 的表达有关。

关键词: 雌二醇; 去势; 胰岛素抵抗; 骨钙素; 护骨素; 细胞核因子 KB 受体活化因子配体

Effects of 17 β -estradiol on bone metabolism and OPG/RANKL expression in ovariectomized rats with insulin resistance CHEN Suisheng, PI Youhui, XIA Boquan, et al. Department of Surgery, the First Hospital of Baiyun Region, Guangzhou 510410, China

Corresponding author: ZHOU Shouhong, Email: zhoushouhong@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the effects of 17 β -estradiol on bone metabolism and OPG/RANKL expression in ovariectomized rats with insulin resistance. **Methods** Thirty-six ovariectomized female rats were fed with high fructose diet for 12 weeks to induce insulin resistance. The rats were randomly divided into model group (M), 17 β -estradiol replacement group (E), and vehicle control group (VC). The rats in normal control group (NC) were fed with normal diet for 12 weeks. Systolic blood pressure (SBP), serum estradiol (E_2), fasting blood sugar (FBS), and fasting serum insulin (FSI) were measured. Insulin sensitivity index (ISI) was calculated accordingly. Levels of urine calcium, urine deoxypyridinoline (Dpd), and serum bone gla protein (BGP) were measured. The expressions of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) in the femur were measured using real-time PCR and Western blot. **Results** The levels of SBP, FBS, FSI, urine calcium and urine Dpd were increased significantly in rats of model group, compared to those in normal control group ($P < 0.05$). The levels of ISI, E_2 , and BGP were decreased significantly in rat of model group compared to those in normal control group ($P < 0.05$). The mRNA and protein expressions of OPG in the femur were decreased significantly and the expression of RANKL in the femur was increased significantly in the model group compared to those in normal control group ($P < 0.05$). Compared to the model group, the above effects were reversed by 17 β -estradiol in 17 β -estradiol replacement group. **Conclusion** 17 β -estradiol inhibited bone resorption and

作者单位: 510410 广州市白云区第一人民医院外科(陈穗生、皮佑辉、夏暴权、罗晓嘉);衡阳市南华大学医学院(周寿红)

通讯作者: 周寿红, Email: zhoushouhong@126.com

promoted bone formation in the femur of ovariectomized rats with insulin resistance. The mechanism might be related to the increase of OPG expression and the decrease of RANKL expression induced by 17β -estradiol.

Key words: Estradiol; Ovariectomized; Insulin resistance; Osteoprotegerin; Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一种严重危害人体健康的常见慢性终身疾病, 其中 2 型 DM 占 90% 以上, 而胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是 2 型 DM 的初始原因和主要的病理生理过程^[1,2]。文献报道糖尿病患者中有 50% 合并骨质疏松^[3]。2 型糖尿病和骨质疏松症皆为老年疾病, 而绝经后骨质疏松 (postmenopausal osteoporosis, PMO) 是老年妇女常患的一种代谢性骨病^[4,6]。随着我国人口的老年化及糖尿病发病率的增加, 绝经期妇女, 由于雌激素水平降低, 骨质疏松更易发生, 因此绝经后糖尿病合并骨质疏松越来越成为医学研究的热点。

骨重建和骨形成是骨缺损和骨损伤得到修复的重要过程, 而成骨细胞是该过程的主要功能细胞。成骨细胞细胞中护骨素 (osteoprotegerin, OPG)/细胞核因子 KB 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL) 是调节骨重建和骨形成的重要途径^[7,8]。因此本研究用高果糖饲料喂养去势大鼠诱导胰岛素抵抗, 模拟绝经后糖尿病合并骨质疏松情况, 进一步观察 17β -雌二醇的替代作用以及对 OPG/RANKL 系统的影响。

1 材料和方法

1.1 主要仪器及试剂

鼠尾动脉血压仪 (HX-II 型) 由中南大学湘雅医学院生理学教研室提供。ECG-6511 型心电图机由上海 KOHDEN 医疗仪器厂生产。HITACH717 全自动生化分析仪由日本日立公司生产。全自动 γ 计数仪由上海第二仪器厂生产。微量核酸测量分析系统为日本岛津公司产品。MRXII 型酶标仪为美国 Dynex 公司产品。 17β -雌二醇 (the 17β -estradiol, 17β -E₂) 购自 Sigma 公司。胰岛素放免法检测试剂盒、雌二醇放免法检测试剂盒和骨钙素放免法检测试剂盒由北京东雅生物工程公司提供。尿钙邻甲酚酞络合酮法检测试剂盒 (南京天鼎生物技术研究所以)。脱氧吡啶啉 ELISA 法检测试剂盒 (上海亿欣生物科技有限公司)。D-果糖由上海生工生物工程有限公司生产, 普通大鼠饲料由南华大学实验动物学部提供。

1.2 动物模型制备和分组

清洁级成年雌性 SD 大鼠 48 只, 3 个月龄, 体重 (220 ± 20) g, 由南华大学实验动物学部提供。大鼠适应性喂养普通饲料 1 周后, 于术前禁食过夜, 自由饮水; 其中 36 只用 1% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 腹腔注射麻醉后, 仰面固定, 无菌状态下, 做腹正中切口, 找到双角子宫, 分别沿每侧子宫找到卵巢, 分离周围脂肪组织, 充分暴露卵巢, 在卵巢与子宫相连接处结扎, 切除卵巢。术后未用抗生素, 自然清醒。双侧卵巢切除后随机分成三组: 模型组 (12 只, M); 17β -雌二醇替代组 (12 只, E): 将 17β -E₂ 溶于无水乙醇中, 按 30 μ g/kg 体重 (参考 Horvath KM 等的剂量^[9]) 用微量注射器进行皮下注射, 每日一次; 溶媒对照组 (12 只, VC): 每天给予相同量的无水乙醇皮下注射。以上三组大鼠同时喂养高果糖饲料 12 周, 高果糖饲料配方参照 Reaven 等^[10]的方法加以改进, 高果糖饲料中三大能量物质按热卡计算: 果糖占 60%, 脂肪占 11%, 蛋白质占 29%。其余 12 只大鼠为正常对照组 (12 只, NC), 喂养普通饲料 12 周。大鼠由专人饲养, 自由进食水, 12 h 光照, 温度在 $22^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$, 每笼 6~8 只。

1.3 大鼠体重、动脉收缩压、血清雌二醇和胰岛素敏感指数的测定

果糖喂养后第 12 周末, 各实验组大鼠在清醒状态下用尾套法 (尾动脉血压计与心电图机相连) 测量尾动脉的收缩压 (systolic blood pressure, SBP)。各组大鼠于实验前禁食、禁水 12 h, 1% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 腹腔注射麻醉后, 仰面固定, 打开胸腔, 充分暴露心脏, 用 16 号针头直接从心尖插入左心室采血制备血清。放射免疫法测定血清雌二醇 (E₂) 浓度; HITACH717 全自动生化分析仪测定空腹血糖 (fasting blood sugar, FBS) 和血清甘油三脂 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 和密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平; 放射免疫法测定空腹胰岛素 (fasting serum insulin, FSI) 水平, 具体操作按试剂盒说明进行; 按照李光伟等^[11]的方法计算胰岛素敏感指数 ISI (Insulin sensitive index, $\text{ISI} = -\ln(\text{FBS} \times \text{FSI})$, 当 $\text{ISI} \leq -4.88$ 说明产生

了胰岛素抵抗)。

1.4 骨代谢生化指标测定

大鼠处死后,取膀胱中的尿液测定尿钙和脱氧吡啶啉(deoxypyridinoline, Dpd),同时心脏放血取血清测定血清中骨钙素(bone gla protein, BGP)水平。尿钙采用邻甲酚酞络合酮法;Dpd采用ELISA方法,结果以每mmol肌酐(Cr)表示;BGP采用放免法。

1.5 实时定量PCR分析

大鼠处死后,无菌条件下,取右后肢股骨干两端,剥离附着的肌肉及结缔组织,老虎钳将股骨头钳碎,将一半股骨组织放入装有1 ml Trizol液中,按Trizol试剂盒说明提取股骨组织总RNA。以提取的总RNA为模板,按试剂盒说明进行逆转录反应,合成cDNA第一链,-20℃保存。选取cDNA样品进行10倍梯度稀释,分别进行Real-time PCR反应,反应体系25 μl,含Hot Star Taq Master Mix (2×) 12.5 μl, PCR上下游引物及探针(10 μmol/L)各0.3 μl, cDNA 4 μl, 灭菌去离子水补足25 μl。PCR扩增程序为:95℃ 10 min 激活 Hot Star Taq DNA合成酶,扩增循环94℃ 40 s, 60℃ 70 s,共50个循环。Real-time PCR反应在ABI7500实时定量PCR系统上进行。引物由上海生物工程有限公司合成,OPG引物:上游:5'-TGGCACACGAGTGATGAATGCCG-3',下游:5'-GCTGGAAAGTTTGTCTTTCG-3';RANKL引物:上游:5'-CTGTGCCTACCAAGATTA-3',下游:5'-GCCATTTCAGAGCC-3';GAPDH引物:上游:5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',下游:5'-TCCAACCACCTGTTGCTGTA-3'。

1.6 蛋白质印迹检测

取剩下的股骨组织200 mg,加0.6 ml细胞裂解液Buffer匀浆机匀浆。4℃,12000 r/min,离心1 h,取出上清液置试管内备用。按试剂盒说明提取股骨

组织总蛋白。BAC法进行蛋白质定量。取50 μg蛋白质样本加入2×SDS凝胶加样缓冲液中,煮沸使蛋白质变性。用6% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离,60~100 mA 1 h将蛋白质用半干转膜仪转移至PVDF膜上,丽春红染色观察转移效果,并确定蛋白质分子质量标准位置。5%脱脂牛奶室温封闭2 h,加入1:150一抗,4℃过夜。TBST洗膜3次,每次5~10 min。加入辣根过氧化物酶标记的二抗,4℃ 4~8 h, TBST洗膜3次。蛋白质印迹荧光检测试剂盒显示于X线片,显影、定影后凝胶图像分析系统对胶片扫描,以对照组的面积灰度值为100%与实验组进行比较和半定量分析。

1.7 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用方差分析及t检验,用SPSS 14.0统计软件完成, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高果糖饮食和17β-雌二醇对各组大鼠的SBP、血清FBS和FSI以及ISI的影响

如表1所示:与正常对照组相比,模型组大鼠SBP、FBS水平均显著性升高(均 $P < 0.05$),FSI水平非常显著性升高($P < 0.05$),ISI显著性降低($P < 0.05$);与模型组相比,17β-雌二醇替代组大鼠SBP、FBS水平均显著性降低(均 $P < 0.05$),FSI水平显著性降低($P < 0.05$),ISI显著性升高($P < 0.05$);溶媒对照组与模型组相比以上指标无显著性差异。

雌性的卵巢切除的S-D大鼠高果糖饲料喂养12周,同时给予17β-雌二醇处理。测量收缩压(SBP)、空腹血糖(FBS)和空腹胰岛素(FSI)水平,并计算胰岛素敏感指数(ISI)。NC:正常对照组;M:模型组织组;E:17β-雌二醇替代组;VC:溶媒对照组。

表1 各实验组SBP、FBS、FSI和ISI的变化

组别	SBP(mmHg)	FBS(mmol/L)	FSI(mu/L)	ISI
NC	118.49 ± 7.10	5.78 ± 1.15	19.60 ± 6.51	-4.73 ± 0.71
M	164.72 ± 6.54 [▼]	7.30 ± 1.25 [▼]	67.01 ± 11.42 [▼]	-6.19 ± 0.46 [▼]
E	121.31 ± 4.12 [*]	5.12 ± 0.64 [*]	17.48 ± 8.47 ^{**}	-4.49 ± 0.35 [*]
VC	166.48 ± 5.04	7.32 ± 1.06	68.17 ± 14.69	-6.21 ± 0.40

注:与正常对照组比较[▼] $P < 0.05$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$

2.2 高果糖饮食和17β-雌二醇对各组大鼠骨代谢生化指标的影响

模型组大鼠血清雌二醇水平与正常对照组相比

显著性降低($P < 0.05$);而17β-雌二醇替代组大鼠血清雌二醇水平与模型组相比显著性升高($P < 0.05$),而与正常对照组无显著性差异(表2)。与正

常对照组相比,模型组大鼠尿钙和尿 Dpd 水平显著性升高(均 $P < 0.05$),而血清 BGP 水平显著性降低($P < 0.05$)。与模型组相比,17 β -雌二醇替代组大鼠尿钙和尿 Dpd 水平显著性降低(均 $P < 0.05$),而血清 BGP 水平显著性升高($P < 0.05$)。溶媒对照

组与模型组相比以上指标无显著性差异(表 2)。

雌性的卵巢切除的 S-D 大鼠高果糖饲料喂养 12 周,同时给予 17 β -雌二醇处理。测量血清雌二醇、尿钙、尿脱氧吡啶啉/肌酐(Dpd/Cr)和血清骨钙素(BGP)水平。

表 2 各实验组血清雌二醇、尿钙、尿脱氧吡啶啉/肌酐和血清骨钙素水平的变化

组别	血清雌二醇 (pmol/L)	尿钙 (mg/dl)	尿 Dpd/Cr (nmol/mmol)	血清 BGP (ng/ml)
NC	72.46 $\pm$ 15.33	8.43 $\pm$ 0.77	15.14 $\pm$ 1.35	45.68 $\pm$ 4.79
M	15.78 $\pm$ 6.85 $\nabla\nabla$	15.12 $\pm$ 1.26	32.25 $\pm$ 4.23	19.35 $\pm$ 2.20
E	69.71 $\pm$ 17.35 $\star\star$	7.55 $\pm$ 0.82	16.20 $\pm$ 1.55	46.04 $\pm$ 5.08
VC	17.46 $\pm$ 6.93	15.69 $\pm$ 1.63	32.71 $\pm$ 4.51	20.43 $\pm$ 1.94

注:与正常对照组比较 $\nabla P < 0.05$, $\nabla\nabla P < 0.01$;与模型组比较 $\star P < 0.05$, $\star\star P < 0.01$

2.3 高果糖饮食和 17 β -雌二醇对各组大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 表达的影响

结果显示(图 1A、B):与正常对照组相比,模型组大鼠股骨组织中 OPG mRNA 的表达显著性降低($P < 0.05$),而 RANKL mRNA 的表达显著性升高

($P < 0.05$);与模型组相比,17 β -雌二醇替代组大鼠股骨组织中 OPG mRNA 的表达显著性升高($P < 0.05$),而 RANKL mRNA 的表达显著性降低($P < 0.05$)。

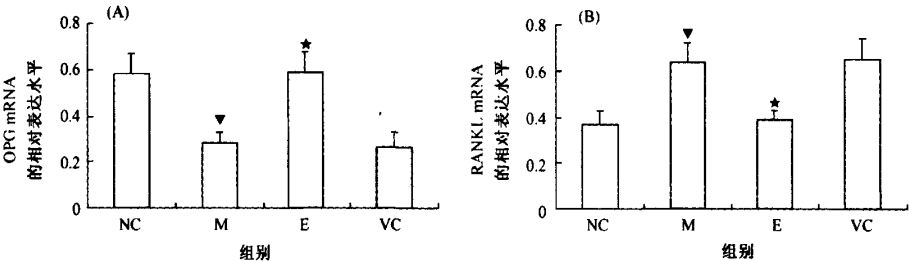


图 1 高果糖饮食和 17 β -雌二醇对各组大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 表达的影响

注:与正常对照组比较 $\nabla P < 0.05$;与模型组比较 $\star P < 0.05$

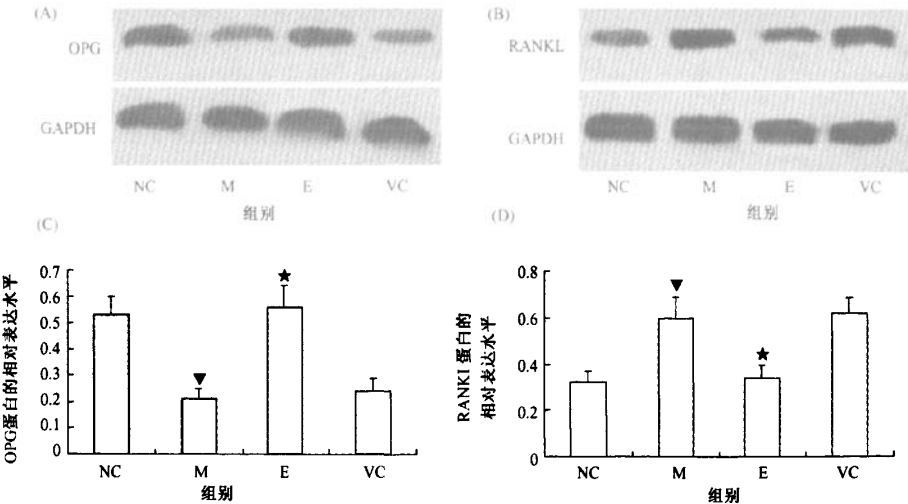


图 2 高果糖饮食和 17 β -雌二醇对各组大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响

A、B 为 Western Blot 技术显示大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达水平的代表图;C、D 为大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达水平的量化图。注:与正常对照组比较 $\nabla P < 0.05$;与模型组比较 $\star P < 0.05$

雌性的卵巢切除的 S-D 大鼠高果糖饲料喂养 12 周,同时给予 17 β -雌二醇处理。采用实时定量 PCR 测定大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 的表达。

2.4 高果糖饮食和 17 β -雌二醇对各组大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响

与正常对照组相比,模型组大鼠股骨组织中 OPG 蛋白的表达显著性降低($P < 0.05$),而 RANKL 蛋白的表达显著性升高($P < 0.05$);与模型组相比,17 β -雌二醇替代组大鼠股骨组织中 OPG 蛋白的表达显著性升高($P < 0.05$),而 RANKL 蛋白的表达显著性降低($P < 0.05$)(图 2A、B、C、D)。

雌性的卵巢切除的 S-D 大鼠高果糖饲料喂养 12 周,同时给予 17 β -雌二醇处理。采用 Western Blot 技术测定大鼠股骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白的表达。

3 讨论

随着我国人口老龄化的加剧及糖尿病发病率的增加,糖尿病合并骨质疏松越来越受到人们的关注。糖尿病是全身性代谢紊乱性疾病,不仅包括糖、脂、蛋白质三大营养物质的代谢紊乱,也涉及水盐电解质及骨矿代谢异常^[12]。糖尿病患者本身由于高渗性利尿可造成钙镁磷大量丢失,导致骨量减少和骨质疏松,同时由于胰岛素不足或胰岛素抵抗,蛋白质合成代谢障碍、骨基质合成减少,最后导致骨密度下降^[13,14]。本实验显示雌性 S-D 大鼠卵巢切除后高果糖喂养 12 周导致动脉收缩压升高、高胰岛素血症、胰岛素敏感性降低($ISI < 4.88$),说明存在外周胰岛素抵抗,胰岛素抵抗模型是成功的。同时血清中雌激素的水平显著性降低。但是同时给予 17 β -雌二醇却降低了动脉收缩压升高,降低了空腹血糖和空腹胰岛素水平,增加了胰岛素敏感性,血清中雌激素的水平也显著性增加,这提示 17 β -雌二醇能拮抗高果糖饮食诱导胰岛素抵抗产生的效应。

骨代谢生化指标反映骨代谢情况,骨吸收和骨形成两者紧密关联,可反映骨重建,预测骨丢失。Dpd 是骨内 I 型胶原重要组成成分,是骨的特异性标志物,在骨胶原合成过程中参与胶原分子间交叉连接,使分子间形成稳定的共价交联。骨骼更新期间,骨溶解,骨胶原蛋白水解,此时可释放出这些胶原,Dpd 以游离状态进入血液,并以原形从肾脏直接排出,是目前反映骨吸收的重要指标之一^[15,16]。骨组织中含有大量的钙,骨吸收时钙被释放,进入到血

液中,可以从尿中排出,使尿钙增高,因此尿钙水平可反映骨钙丢失和骨吸收状态^[17,18]。骨钙素是一种维生素 K 依赖性钙结合蛋白,由成骨细胞合成,与骨基质结合后部分释放入血,是反映骨形成速率的特异性指标之一^[19,20]。本实验显示雌性 S-D 大鼠卵巢切除后高果糖喂养 12 周,使大鼠的尿钙和尿 Dpd 水平显著性升高,而血清 BGP 水平显著性降低,这提示去势胰岛素抵抗大鼠骨骼中存在着骨钙丢失、破骨作用增强和成骨作用减弱。但是同时给予 17 β -雌二醇却降低了大鼠的尿钙和尿 Dpd 水平,增加血清 BGP 水平,这说明 17 β -雌二醇具有抗去势胰岛素抵抗大鼠中骨吸收和促进骨形成的作用。

护骨素(OPG)是由成骨细胞分泌的蛋白质分子,它属于 TNF 受体超家族的成员之一^[21]。OPG 的配体细胞核因子 KB 受体活化因子配体(RANKL),又称破骨细胞分化因子也一种主要由成骨细胞分泌的蛋白质分子^[22]。OPG/RANKL 系统在成骨细胞刺激破骨细胞成熟的过程中起着十分主要的作用。RANKL 与破骨细胞表面的 RANK 结合后,通过激活核因子(NF- κ B)和 c-Fos、c-src、c-Jun N-末端激酶、c-myc、钙调磷酸蛋白磷酸酶和 p38 以及丝氨酸-苏氨酸激酶 Akt/PKB 途径引起破骨细胞内一系列酶促级联反应,使破骨细胞前体分化、存活、融合为成熟破骨细胞,活化并抑制其凋亡^[23,24]。RANKL 对破骨细胞的形成,进而促进局部骨质的重吸收,都起到关键性作用。而成骨细胞分泌的可溶性蛋白 OPG,由于其结构与 RANK 十分相似,从而竞争性抑制 RANKL 与破骨细胞膜上的 RANK 结合,抑制破骨细胞前体的分化、存活与融合,抑制成熟破骨细胞活化及骨吸收活性,导致破骨细胞凋亡。RANKL 和 OPG 的比例决定了破骨细胞介导的骨质破坏的发生、程度和过程^[25,26]。周玮^[27]等报道高糖环境可导致成骨细胞中和 RANKL 表达增多而 OPG 的表达减少,从而导致骨质疏松。而雌二醇对高糖环境下的 MG63 细胞中上述因子的表达可产生一定的对抗效应。我们的结果显示去势胰岛素抵抗大鼠股骨组织中 OPG mRNA 和蛋白的表达显著性降低,而 RANKL mRNA 和蛋白的表达显著性升高;但是同时给予 17 β -雌二醇却增加了大鼠股骨组织中 OPG mRNA 和蛋白的表达,降低了 RANKL mRNA 和蛋白的表达。这些结果说明 17 β -雌二醇拮抗去势胰岛素抵抗大鼠中骨吸收和促进骨形成的作用可能是通过 OPG/RANKL 系统实现的。

总之,17 β -雌二醇能拮抗去势胰岛素抵抗大鼠

中骨吸收和促进骨形成,其作用机制可能与 17β -雌二醇能上调骨组织中 OPG 的表达而降低骨组织中 RANKL 的表达有关。

【参 考 文 献】

- [1] Bian L, Hanson RL, Ossowski V, et al. Variants in ASK1 are associated with skeletal muscle ASK1 expression, *in vivo* insulin resistance, and type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes*, 2010, 59(5):1276-1282.
- [2] Albu JB, Heilbronn LK, Kelley DE, et al. Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2010, 59(3): 627-633.
- [3] Paula FJ, Rosen CJ. Obesity, diabetes mellitus and last but not least, osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2010, 54(2): 150-157.
- [4] Saag KG, Geusens P. Progress in osteoporosis and fracture prevention: focus on postmenopausal women. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(5): 251.
- [5] 薛月华, 游利, 谢匡成, 等. 2 型糖尿病患者绝经期骨密度与甲状旁腺素、雌激素相关性研究. *中国骨质疏松杂志*, 2006, 12(3): 236-238.
- [6] 邓宏明, 肖常青. 2 型糖尿病患者合并骨质疏松的多因素分析. *中国骨质疏松杂志*, 2002, 8(3): 202-205.
- [7] Nyambo R, Cross N, Lippitt J, et al. Human bone marrow stromal cells protect prostate cancer cells from TRAIL-induced apoptosis. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(10): 1712-1721.
- [8] Chuang FH, Hsue SS, Wu CW, et al. Immunohistochemical expression of RANKL, RANK, and OPG in human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*, 2009, 38(10): 753-758.
- [9] Horvath KM, Hartig W, Van der Veen R, et al. 17β -estradiol enhances cortical cholinergic innervation and preserves synaptic density following excitotoxic lesions to the rat nucleus basalis magnocellularis. *Neuroscience*, 2002, 110(3): 489-504.
- [10] Asagami T, Reaven GM, Tsao PS. Enhanced monocyte adherence to thoracic aortae from rats with two forms of experimental hypertension. *Am J Hypertens*, 1999, 12(1): 890-893.
- [11] 李光伟, 潘孝仁. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指标. *中华内分泌代谢杂志*, 1993, 32(10): 656-660.
- [12] Ouyang J, Hu G, Wen Y, et al. Preventive effects of syngeneic bone marrow transplantation on diabetic nephropathy in mice. *Transpl Immunol*, 2010, 22(3-4): 184-190.
- [13] Curran DR, McArdle JR, Talwalkar JS. Diabetes mellitus and bone disease in cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med*, 2009, 30(5): 514-530.
- [14] Li H, Cui R, Cai H, et al. The effect of thiazolidinediones on bone mineral density in Chinese older patients with type 2 diabetes. *J Bone Miner Metab*, 2010, 28(1): 77-81.
- [15] 王新祥, 张允岭, 吴坚, 等. 葛根对骨质疏松模型小鼠骨密度和骨组织构造的作用. *中国骨质疏松杂志*, 2008, 14(5): 349-354.
- [16] 谈志龙, 邢国胜, 于顺禄, 等. 中药葛根对去卵巢大鼠骨代谢生化指标的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2003, 9(2): 108-110.
- [17] Caudarella R, Vescini F, Rizzoli E, et al. Salt intake, hypertension, and osteoporosis. *J Endocrinol Invest*, 2009, 32(4): 15-20.
- [18] Kemi VE, Kärkkäinen MU, Rita HJ, et al. Low 18 calcium: phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake. *Br J Nutr*, 2010, 103(4): 561-568.
- [19] Binkley N, Harke J, Krueger D, et al. Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover, density, or geometry in healthy postmenopausal North American women. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(6): 983-991.
- [20] Kawano T, Troiano N, Adams DJ, et al. The anabolic response to parathyroid hormone is augmented in Rac2 knockout mice. *Endocrinology*, 2008, 149(8): 4009-4015.
- [21] Liu C, Walter TS, Huang P, et al. Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling. *J Immunol*, 2010, 184(12): 6910-6909.
- [22] Jules J, Ashley JW, Feng X et al. Selective targeting of RANK signaling pathways as new therapeutic strategies for osteoporosis. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(9): 923-934.
- [23] Leibbrandt A, Penninger JM. RANKL/RANK as key factors for osteoclast development and bone loss in arthropathies. *Adv Exp Med Biol*, 2009, 649(4): 100-113.
- [24] D'Amelio P, Isaia G, Isaia GC. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *J Endocrinol Invest*, 2009, 32(4): 6-9.
- [25] 彭维杰, 李岱, 罗丹, 等. 雌激素治疗去卵巢大鼠骨丢失的不同部位效应观察. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(2): 108-111.
- [26] Helas S, Goettach C, Schoppet M, et al. Inhibition of receptor activator of NF-kappaB ligand by denosumab attenuates vascular calcium deposition in mice. *Am J Pathol*, 2009, 175(2): 473-478.
- [27] 周玮, 王加林, 姬秋和, 等. 葡萄糖、雌二醇对 MC63 细胞株 TRAIL, OPG, OPGL mRNA 表达的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2008, 14(9): 638-641.

(收稿日期: 2010-08-20)

的影响

作者: 陈穗生, 皮佑辉, 夏暴权, 罗晓嘉, 周寿红

作者单位: 陈穗生, 皮佑辉, 夏暴权, 罗晓嘉 (广州市白云区第一人民医院外科, 510410), 周寿红 (衡阳市南华大学医学院)

刊名: 中国骨质疏松杂志 

英文刊名: CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS

年, 卷(期): 2011, 17(1)

参考文献(54条)

1. Asagami T; Reaven GM; Tsao PS [Enhanced monocyte adherence to thoracic aortae from rats with two forms of experimental hypertension](#) 1999(01)
2. Bian L; Hanson RL; Ossowski V [Variants in ASK1 are associated with skeletal muscle ASK1 expression, in vivo insulin resistance, and type 2 diabetes in Pima Indians](#) 2010(5)
3. Bian L; Hanson RL; Ossowski V [Variants in ASK1 are associated with skeletal muscle ASK1 expression, in vivo insulin resistance, and type 2 diabetes in Pima Indians](#) [外文期刊] 2010(05)
4. Albu JB; Heilbronn LK; Kelley DE [Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes](#) 2010(3)
5. 邓宏明; 肖常青 [2型糖尿病患者合并骨质疏松的多因素分析](#) [期刊论文] - 中国骨质疏松杂志 2002(03)
6. Paula FJ; Rosen CJ [Obesity, diabetes mellitus and last but not least, osteoporosis](#) 2010(2)
7. 薛月华; 游利; 谢匡成 [2型糖尿病患者绝经期骨密度与甲状旁腺素、雌激素相关性研究](#) [期刊论文] - 中国骨质疏松杂志 2006(03)
8. Saag KG; Geusens P [Progress in osteoporosis and fracture prevention: focus on postmenopausal women](#) 2009(5)
9. Saag KG; Geusens P [Progress in osteoporosis and fracture prevention: focus on postmenopausal women](#) [外文期刊] 2009(05)
10. 薛月华; 游利; 谢匡成; 巫协宁; 张黎明; 徐晓寅 [2型糖尿病患者绝经期骨密度与甲状旁腺素、雌激素相关性研究](#) 2006(3)
11. Binkley N; Harke J; Kroeger D [Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover, density, or geometry in healthy postmenopausal North American women](#) [外文期刊] 2009(06)
12. 邓宏明; 肖常青 [2型糖尿病患者合并骨质疏松的多因素分析](#) 2002(3)
13. Kemi VE; Klirkkainen MU; Rim HJ [Low 18 calcium:phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake](#) [外文期刊] 2010(04)
14. Nyambo R; Cross N; Lippitt J [Human bone marrow stromal cells protect prostate cancer cells from TRAIL-induced apoptosis](#) 2004(10)
15. 李光伟; 潘孝仁 [检测人群胰岛素敏感性的一项新指标](#) 1993(10)
16. Chuang FH; Hsue SS; Wu CW [Immunohistochemical expression of RANKL, RANK, and OPG in human oral squamous cell carcinoma](#) 2009(10)

17. [Horvath KM;Hartig W;Van der Veen R](#) [17 betaestradiol enhances cortical cholinergic innervation and preserves synaptic density foHowing exeitotoxic lesions to the rat nucleus bosalis magnocellularis](#) [外文期刊] 2002(03)
18. [Horvath KM.Hartig W.Van der Veen R](#) [17 betaestradiol enhances cortical cholinergic innervation and preserves synaptic density foHowing exeitotoxic lesions to the rat nucleus bosalis magnocellularis](#) 2002(3)
19. [Chuang FH;Hsue SS;Wu CW](#) [Immunohistochemical expression of RANKL,RANK, and OPG in human oral squamans cell carcinoma](#) [外文期刊] 2009(10)
20. [Asagami T.Reaven GM.Tsao PS](#) [Enhanced monocyte adherence to thoracle aortae from rats with two forms of experimental hypertension](#) 1999(1)
21. [Nyambo R;Cross N;Lippitt J](#) [Human bone marrow stromal cells protect prostate cancer cells from TRAIL-induced apoptosm](#) [外文期刊] 2004(10)
22. [李光伟. 潘孝仁](#) [检测人群胰岛素敏感性的一项新指标](#) 1993(10)
23. [Paula FJ;Rosen CJ](#) [Obesity,diabetes mellitus and last but not least,osteoporosis](#) [外文期刊] 2010(02)
24. [Ouyang J.Hu G.Wen Y](#) [Preventive effects of syngeneic bone marrow transplantation on diabetic nephropathy in mice](#) 2010(3-4)
25. [Albu JB;Heilbronn LK;Kelley DE](#) [Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes](#) [外文期刊] 2010(03)
26. [Curran DR.MeArdle JR.Talwalkar JS](#) [Diabetes mellitus and bone disease in cystic fibrosis](#) 2009(5)
27. [周玮;王加林;姬秋和](#) [葡萄糖、雌二醇对MG63细胞株TRAIL, OPG, OPGL mRNA表达的影响](#) [期刊论文]-[中国骨质疏松杂志](#) 2008(09)
28. [Li H.Cui R.Cai H](#) [The effect of thiazolidinediones on bone mineral density in Chinese older patients with type 2 diabetes](#) 2010(1)
29. [Helas s;Goettsch C;Sehoppet M](#) [Inhibition of receptor activator of NF-kappaB ligand by denosumab attenuates vascular calcium deposition in mice](#) [外文期刊] 2009(02)
30. [王新祥. 张允岭. 吴坚. 千叶大成. 山田和彦. 石见佳子](#) [葛根对骨质疏松模型小鼠骨密度和骨组织构造的作用](#) 2008(5)
31. [彭维杰;李岱;罗丹](#) [雌激素治疗去卵巢大鼠骨丢失的不同部位效应观察](#) [期刊论文]-[中国骨质疏松杂志](#) 2007(02)
32. [谈志龙. 邢国胜. 于顺禄. 李建兵. 郭若霖. 白人骁](#) [中药葛根对去卵巢大鼠骨代谢生化指标的影响](#) 2003(2)
33. [D'Amelio P;Isaia G;Isaia GC](#) [The osteoprotegerin/RANK/RANKL system:a bone key to vaaculfr disease](#) 2009(04)
34. [Caudarella R.Veseini F.Bizzoli E](#) [Salt intake, hypertension, and osteoporosis](#) 2009(4)
35. [Leibbrandt A;Penninger JM](#) [RANKL/RANK as key factors for osteoelast development and bone loss in arthropathies](#) 2009(04)
36. [Kemi VE.Klirkkainen MU.Rim HJ](#) [Low 18 calcium:phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake](#) 2010(4)

37. [Jules J;Ashley JW;Feng X Selective targeting of RANK signaling pathways as new therapeutic strategies for osteoporosis\[外文期刊\] 2010\(09\)](#)
38. [Binkley N.Harke J.Kroeger D Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover,density,or geometry in healthy postmenopausal North American women 2009\(6\)](#)
39. [Liu C;Walter TS;Huang P Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling\[外文期刊\] 2010\(12\)](#)
40. [Kawano T.Troiano N.Adams DJ The anabolic response to parathyroid hormone is augmented in Rac2 knockout mice 2008\(8\)](#)
41. [Kawano T;Troiano N;Adams DJ The anabolic response to parathyroid hormone is augmented in Rac2 knockout mice\[外文期刊\] 2008\(08\)](#)
42. [Liu C.Walter TS.Huang P Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling 2010\(12\)](#)
43. [Caudarella R;Veseini F;Bizzoli E Salt intake,hypertension,and osteoporosis 2009\(04\)](#)
44. [Jules J.Ashley JW.Feng X Selective targeting of RANK signaling pathways as new therapeutic strategies for osteoporosis 2010\(9\)](#)
45. [谈志龙;邢国胜;于顺禄 中药葛根对去卵巢大鼠骨代谢生化指标的影响\[期刊论文\]-中国骨质疏松杂志 2003\(02\)](#)
46. [Leibbrandt A.Penninger JM RANKL/RANK as key factors for osteoclast development and bone loss in arthropathies 2009\(4\)](#)
47. [王新祥;张允岭;吴坚 葛根对骨质疏松模型小鼠骨密度和骨组织构造的作用\[期刊论文\]-中国骨质疏松杂志 2008\(05\)](#)
48. [D'Amelio P.Isaia G.Isaia GC The osteoprotegerin/RANK/RANKL system:a bone key to vascular disease 2009\(4\)](#)
49. [Li H;Cui R;Cai H The effect of thiazolidinediones on bone mineral density in Chinese older patients with type 2 diabetes 2010\(01\)](#)
50. [彭维杰.李岱.罗丹.李青.何明 雌激素治疗去卵巢大鼠骨丢失不同部位效应观察 2007\(2\)](#)
51. [Curran DR;McArdle JR;Talwalkar JS Diabetes mellitus and bone disease in cystic fibrosis\[外文期刊\] 2009\(05\)](#)
52. [Helas s.Goettsch C.Sehoppet M Inhibition of receptor activator of NF-kappaB ligand by denosumab attenuates vascular calcium deposition in mice 2009\(2\)](#)
53. [Ouyang J;Hu G;Wen Y Preventive effects of syngeneic bone marrow transplantation on diabetic nephropathy in mice 2010\(3-4\)](#)
54. [周玮.王加林.姬秋和.张南雁 葡萄糖、雌二醇对MG63细胞株TRAIL,OPG,OPGL mRNA表达的影响 2008\(9\)](#)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201101002.aspx