

补肾益髓中药对糖皮质激素性骨质疏松症大鼠骨组织 Runx2 的 mRNA 及蛋白表达的影响

王剑 郑洪新 宗志宏 杨芳 朱辉 张国哲

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)02-0120-06

摘要: 目的 观察糖皮质激素性骨质疏松症(GIOP)大鼠模型骨组织 Runx2 相关基因 2(Runx2) mRNA 及蛋白表达,探讨 GIOP 的发病机制以及补肾益髓中药的疗效及其调控作用。方法 采用后肢肌注射地塞米松(2.5 mg/kg,每周2次,连续9w)的方法复制 GIOP 大鼠模型,按体重分层随机分为正常组、模型空白组、补肾益髓中药组、补中益气颗粒组、血府逐瘀胶囊组、骨疏康颗粒阳性对照组。灌胃给药9w。应用 XR-26 型双能 X 线骨密度仪测定股骨骨密度,以评价动物模型的成立及药物疗效。实时定量 RT-PCR(Real-Time Quantitative RT-PCR)检测骨组织 Runx2 mRNA 表达,Western blot 检测骨组织 Runx2 蛋白表达。结果 (1)股骨骨密度:与正常组比较,模型空白组明显降低($P < 0.01$);与模型空白组比较,补肾益髓中药组明显升高($P < 0.01$),骨疏康颗粒阳性对照组明显升高($P < 0.05$),补中益气颗粒组和血府逐瘀胶囊组虽有升高趋势,但无统计学意义($P > 0.05$)。(2)骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达:与正常组比较,模型空白组明显降低($P < 0.01$);与模型空白组比较,补肾益髓中药组明显上调($P < 0.01$),骨疏康颗粒阳性对照组也有明显上调($P < 0.05$),补中益气颗粒组和血府逐瘀胶囊组虽有所升高,但无统计学意义($P > 0.05$)。结论 (1)肌注射地塞米松可以成功复制 GIOP 大鼠模型,(2)骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达水平降低可能是 GIOP 的发病机制之一,(3)应用补肾益髓中药具有明显防治效果,疗效优于健脾中药和活血中药,其作用机理与上调骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达密切相关。

关键词: 糖皮质激素性骨质疏松症; 补肾益髓; Runx2(Cbfa1/Osf2); 实验研究

Effect of herbs with function of reinforcing kidney and replenish marrow on mRNA and protein expression of Runx2 in bone tissue of rats with glucocorticoid-induced osteoporosis WANG Jian, ZHENG Hongxin, ZONG Zhihong, et al. Basic Medical College, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

Corresponding author: ZHENG Hongxin, Email: zhenghx2002@126.com

Abstract: Objective To observe the mRNA and protein expression of Runx2 in the bone tissue of the rat models with glucocorticoid-induced osteoporosis (GIOP) and discuss the pathogenesis of GIOP and the therapeutic effect and adjustable function of the herbs with the function of reinforcing the Kidney to replenish marrow. **Methods** We established the GIOP rat models by hind limb intramuscular injection of dexamethasone (2.5 mg/kg, twice a week, 9 weeks continuously). We stratified all the rats by different body weight and then divided them randomly into normal group, blank model group, reinforcing the Kidney to replenish marrow herbs group, reinforcing the middle to benefit qi granula group, removing blood-house stasis capsule group and GUSUKANG granula positive control group. We administrated them by gavage for 9 weeks. We detected the femur bone mineral density by using the XR-26 dual energy X-ray absorptiometry to evaluate

基金项目: 国家教育部博士点科研基金资助项目(200801620003); 沈阳市科技局青年科技人才培养项目(1081238-1-01)

作者单位: 110847 沈阳, 辽宁中医药大学基础医学院(王剑、郑洪新、杨芳、朱辉、张国哲); 中国医科大学基础医学院(宗志宏)

通讯作者: 郑洪新, Email: zhenghx2002@126.com

the establishment of the animal model and the therapeutic effect of the drugs. We detected the mRNA expression of Runx2 in the bone tissue by Real-Time Quantitative RT-PCR and detected its protein expression by Western blot. **Results** (1) femur bone mineral density: compared with normal group, blank model group decreased significantly ($P < 0.01$); compared with blank model group, reinforcing the Kidney to replenish marrow herbs group increased significantly ($P < 0.01$), GUSUKANG granula positive control group increased significantly ($P < 0.05$), reinforcing the middle to benefit qi granula group and removing blood-house stasis capsule group both tended to increase, but neither of their difference had statistical significance ($P > 0.05$). (2) mRNA and protein expression of Runx2 in the bone tissue: compared with normal group, blank model group decreased significantly ($P < 0.01$); compared with blank model group, reinforcing the Kidney to replenish marrow herbs group up-regulated significantly ($P < 0.01$), GUSUKANG granula positive control group also up-regulated significantly ($P < 0.05$), reinforcing the middle to benefit qi granula group and removing blood-house stasis capsule group both tended to increase, but neither of their difference had statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusions** (1) The GIOP rat models can be established successfully by intramuscular injection of dexamethasone. (2) Maybe it is one aspect of the pathogenesis of GIOP that the level of the mRNA and protein expression of Runx2 in the bone tissue decreases. (3) The reinforcing the Kidney to replenish marrow herbs have more evident preventative and therapeutic effect on GIOP by up-regulating the mRNA and protein expression of Runx2 in the bone tissue than the strengthening the spleen herbs and the promoting blood circulation herbs.

Key words: Glucocorticoid-Induced osteoporosis (GIOP); Reinforcing the kidney to replenish marrow; Runx2 (C/EBP α /Osf2); Experimental research

糖皮质激素性骨质疏松症 (GIOP) 属于继发性骨质疏松症, 其发病率仅次于绝经后骨质疏松症和老年性骨质疏松症而居第三位, 其发病机制尚不完全清楚。中医药的临床实践, 防治 GIOP 具有较为理想的效果, 但其疗效机制有待研究。因此, 深入研究 GIOP 的发病机制, 探讨中医药防治该病的疗效机理具有重要的科学意义和应用价值。Runx 相关转录因子 2 (Runx2/C/EBP α /Osf2), 是骨发育过程中骨髓基质干细胞 (BMSCs) 向成骨细胞 (OB) 分化和成骨细胞成熟的重要转录因子^[1], 能上调前成骨细胞、软骨细胞中各种矿化相关蛋白基因的转录, 使其向成骨细胞方向分化^[2], 在骨代谢调控和骨发育中起到关键作用, 对防治骨质疏松症意义重大^[3]。故本研究以 Runx2 为效应指标, 探讨 GIOP 大鼠模型骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达变化, 以及补肾益髓中药的疗效及其调控作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 120 只, 雌雄各半, 雌性体重 190 ± 10 g, 雄性体重 240 ± 10 g, 3 月龄, 未曾交配, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 动物合格证号: SCXK (沪) 2008-0016。动物购进后, 雌雄分笼饲养于环境温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 自然光照, 喂以全价颗粒饲料 (配方: 玉米面 40%, 白面 26%, 麸子

10%, 豆饼 10%, 鱼粉 10%, 骨粉 2%, 盐 1% 及复合维生素 1%), 自由饮食, 正常适应环境 9 d, 进入实验状态。按体重分层随机分组, 除正常组外, 余者进行造模处理。

1.2 实验动物模型及其分组

1.2.1 糖皮质激素性骨质疏松症大鼠模型的建立方法: 实验开始后, 除正常组外, 其余大鼠左后肢肌肉注射地塞米松磷酸钠注射液 (郑州卓峰制药厂, 批号: 国药准字 H41020055), 剂量为 2.5 mg/kg 体重, 每周 2 次, 连续 9 w, 喂以低钙饲料 (配方: 玉米面 45%, 白面 30%, 麸子 7.5%, 豆饼 15%, 酵母 0.5%, 鸡蛋 1% 及豆油 1%)。正常组大鼠左后肢肌肉注射等量生理盐水, 喂以全价颗粒饲料, 常规饲养 9 w。全部大鼠同室饲养, 自由饮食, 环境同前。

1.2.2 动物分组: A 组为正常组。造模大鼠按体重分层随机分组, 即 B 组为模型空白组, C 组为补肾益髓中药组, D 组为补中益气颗粒组, E 组为血府逐瘀胶囊组, F 组为骨疏康颗粒阳性对照组。

1.3 研究因素及给药剂量与方法

1.3.1 研究因素: 实验因素: 补肾益髓法及其中药复方。处方组成: 鹿茸 (脱毛, 冻干, 粉碎, 过 80 目筛)、淫羊藿 (水提, 浓缩, 上大孔树脂, 乙醇洗脱)、牡蛎 (洗净, 晒干, 纳米技术粉碎, 平均粒径 780 nm)。功效: 补肾填精、益髓壮骨。

对照药: 补中益气颗粒 (北京汉典制药有限公司)

司,批号:090101)、血府逐瘀胶囊(天津宏仁堂药业有限公司,批号:国药准字 Z12020223),比较健脾益气、活血中药复方与补肾益髓中药复方的差异。

阳性对照药:骨疏康颗粒(辽宁康辰药业有限公司,批号:国药准字 Z20003255)为首个治疗骨质疏松症的中药复方,其功效为补肾益气、活血壮骨。

1.3.2 给药剂量与方法:给药剂量:大鼠等效剂量按成人每日用药量的 6.3 倍计算(成人体重按 60 kg 计算),容积为 1 mL/100 g 体重。A 组、B 组给予等体积的生理盐水;C 组给药量为 1.139 g/(kg·d) [鹿茸:0.8 g/(kg·d),淫羊藿提取物:0.076 g/(kg·d),牡蛎:0.263 g/(kg·d)];D 组给药量为 0.945 g/(kg·d);E 组给药量为 0.504 g/(kg·d);F 组给药量为 2.1 g/(kg·d)。

给药方法:从肌注地塞米松当天开始,每日上午灌胃 1 次,连续 9 周。

1.4 标本采集及制备

末次灌胃后,禁食 24 h,次日取材。取右后肢全股骨,剔除肌肉及筋膜(保留骨膜),生理盐水冲洗后,用生理盐水湿润的医用纱布包裹,再以预先准备的锡纸包裹,置 -70℃ 冰箱冻存,待测骨密度。无菌取左后肢股骨头,剥离肌肉及结缔组织,生理盐水洗净,用消毒的老虎钳将其夹碎,取一半放入盛有 1 mL Trizol 的 EP 管内,置 -70℃ 冰箱冻存待做 Real-Time Quantitative RT-PCR;取另一半放入高压灭菌的空白 EP 管内,置 -70℃ 冰箱冻存待做 Western Blot。

1.5 骨质疏松症大鼠模型确立的评价标准

目前国内外主要是通过检测骨密度来诊断骨质疏松,最常用的检测方法是双能 X 射线吸收测量法(DXA)。我们应用 XR-26 型双能 X 线骨密度仪测定大鼠离体股骨骨密度来评价骨质疏松症大鼠模型复制是否成功。

1.6 指标检测及其方法

1.6.1 大鼠离体股骨骨密度(BMD)测定:检测仪器:XR-26 型双能 X 线骨密度仪(美国 NORLAND 公司)及其所附的“the Small Subject Scout Scan”软件。参数设置:扫描宽度为 10cm,长度可任意调节,扫描速度为 60 mm/sec,分辨率为 1.0×1.0 mm,组内 CV(变异系数)在 0.82%~1.24% 之间。结果:骨密度采用单位面积内的骨矿物质含量表示(g/cm²)。

1.6.2 骨组织 Runx2 的 mRNA 及蛋白表达

1.6.2.1 骨组织 Runx2 的 mRNA 表达:Trizol 法提取大鼠股骨头总 RNA,分光光度法测 260 nm 与 280

nm 的 OD 值,用 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 估计 RNA 纯度,约在 2.0 左右,提示为 RNA 纯品。按 SYBR PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa 大连宝生物公司)说明进行反转录和 Real-Time Quantitative PCR 扩增。主要仪器:ABI 7500 型定量 PCR 仪(美国)。检测方法:SYBR Green I 嵌合荧光法。引物设计与合成:先在 Gene Bank 中查找目标基因的全序列,然后使用 Primer5.0 软件设计引物(引物序列见表 1),由北京华大基因公司合成引物。结果:Real-Time Quantitative RT-PCR 数据收集由 7000 System SDS Software 自带软件完成,通过软件计算所有样品的 Ct 值,以 β-actin 作为内参照基因进行校准,采用 2^{-ΔΔCt} (Livak) 方法对目标基因(Runx2)的 mRNA 表达进行相对定量。公式:ΔCt = Ct_(target) - Ct_(ref); Avg. ΔCt_(calibrator) = Avg. Ct_(target, calibrator) - Avg. Ct_(ref, calibrator); ΔΔCt = ΔCt - Avg. ΔCt_(calibrator); 2^{-ΔΔCt} 表示通过参照基因校准的目标基因(Runx2)mRNA 的相对表达水平。

表 1 引物序列

基因名称		引物序列(5'-3')	扩增产物长度(bp)
Runx2	Sense	TGATGCGTATTCCCGTAGA	290
	Antisense	CATGGTGCCTTGTCG	
β-actin	Sense	CGTGCGTGACATTAAGAG	132
	Antisense	TTGCCGATAGTGATGACCT	

1.6.2.2 骨组织 Runx2 的蛋白表达:细胞裂解法提取大鼠股骨头总蛋白,Lowry 法蛋白定量,SDS-PAGE 凝胶电泳,Western Blot 蛋白质印迹。主要仪器:电泳仪(美国 BIO-RAD, PowerPac200)。主要试剂:一抗:羊抗 Runx2 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),二抗:碱性磷酸酶标记的兔抗羊 IgG(北京中山生物公司)。检测方法:化学发光法免疫检测。结果:应用 Tanon-2500R 型全自动数码凝胶成像系统成像,使用 Scion Image 软件对蛋白电泳带进行灰度值分析,以 β-actin 作为内参照蛋白进行校准,采用目标蛋白条带灰度值/β-actin 条带灰度值来表示目标基因(Runx2)的相对蛋白表达水平。

1.7 统计学处理

使用 SPSS 15.0 统计软件,用单因素方差分析(One-Way ANOVA)对骨密度以及 Real-Time Quantitative RT-PCR 和 Western Blot 结果进行统计分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组股骨骨密度比较

表 2 离体股骨骨密度检测统计结果显示:与正常组比较,模型空白组明显降低($P < 0.01$);与模型空白组比较,补肾益髓中药组明显升高($P < 0.01$),骨质疏松颗粒阳性对照组明显升高($P < 0.05$),补中益气颗粒组和血府逐瘀胶囊组虽有升高趋势,但无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠离体股骨骨密度($\bar{x} \pm s$)

组别	n	股骨骨密度(g/cm^2)
A 组	22	$0.1080 \pm 0.0072^{\Delta\Delta}$
B 组	21	$0.0993 \pm 0.0059^{**}$
C 组	18	$0.1062 \pm 0.0061^{\Delta\Delta}$
D 组	21	$0.1025 \pm 0.0040^{**}$
E 组	20	$0.0999 \pm 0.0055^{**}$
F 组	18	$0.1028 \pm 0.0034^{**\Delta}$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型空白组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ (以下同)

模型空白组大鼠骨密度比正常组显著降低,说明骨质疏松症实验动物模型复制成功。补肾益髓中药、阳性对照药骨质疏松颗粒可明显升高模型大鼠的骨密度,疗效显著;而健脾中药和活血中药虽可使其骨密度有升高趋势,但差异不显著。

2.2 各组骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达比较

Real-Time Quantitative RT-PCR 和 Western blot 结果显示:大鼠骨组织可检测到 Runx2 mRNA 及蛋白表达。图 1~4 分别为骨组织 Runx2、 β -actin 的 Real-Time Quantitative RT-PCR 扩增曲线和融解曲线,融解曲线单一峰无非特异性荧光,说明产物特异性强,无引物二聚体,定量准确。图 5、6 分别为雄性、雌性大鼠骨组织 Runx2、 β -actin 蛋白表达的 Western 印迹条带。

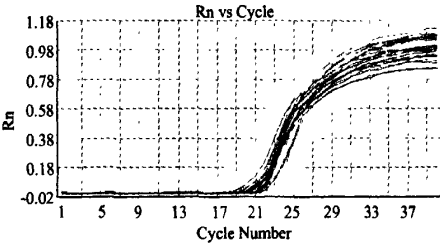


图 1 骨组织 Runx2 扩增曲线

图 7、8 骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达检测统计结果显示:与正常组比较,模型空白组明显降低

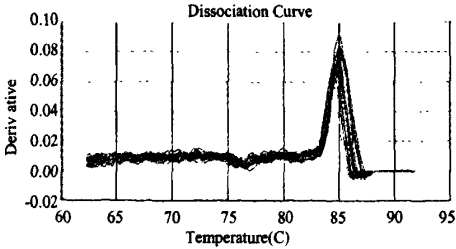


图 2 骨组织 Runx2 融解曲线

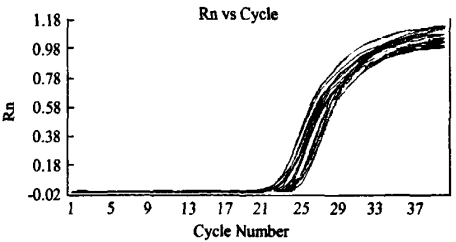


图 3 骨组织 β -actin 扩增曲线

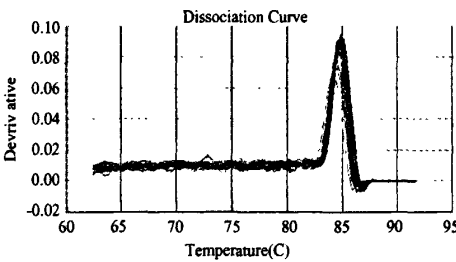


图 4 骨组织 β -actin 融解曲线

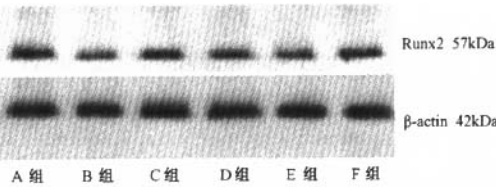


图 5 雄性大鼠骨组织 Runx2、 β -actin 蛋白表达的 Western 印迹条带

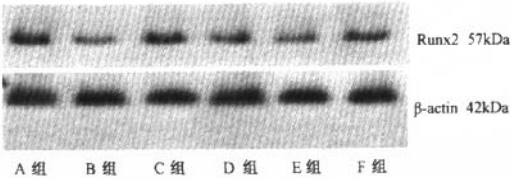


图 6 雌性大鼠骨组织 Runx2、 β -actin 蛋白表达的 Western 印迹条带

($P < 0.01$);与模型空白组比较,补肾益髓中药组明显上调($P < 0.01$),骨质疏松颗粒阳性对照组明显上

调 ($P < 0.05$); 补中益气颗粒组和血府逐瘀胶囊组虽有升高趋势, 但无统计学意义 ($P > 0.05$)。

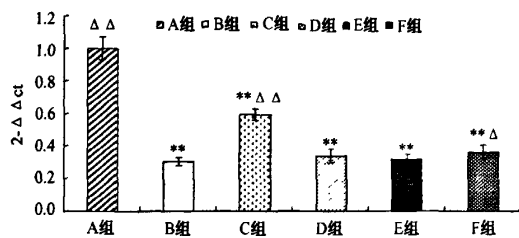


图7 各组大鼠骨组织 Runx2 mRNA 表达比较示意图 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

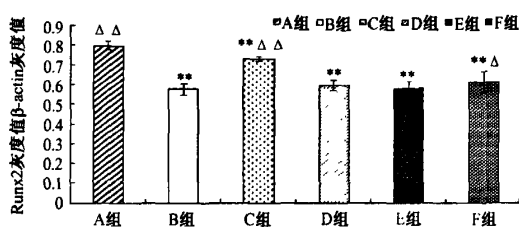


图8 各组大鼠骨组织 Runx2 蛋白表达比较示意图 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

模型空白组大鼠骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达比正常组显著降低, 与骨质疏松症的发病机制有关; 补肾益髓中药、阳性对照药骨质疏松康颗粒的疗效机制之一为明显上调骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达, 明显优于健脾中药和活血中药。

3 讨论

骨质疏松症是临床常见的代谢性骨病, 其特点是骨量减少、骨的微观结构退化, 骨强度降低导致骨的脆性增加, 而易于发生骨折。中医理论认为“肾藏精生髓主骨”, 《医经精义》明确指出: “肾藏精, 精生髓, 故骨者, 肾之合也, 髓者, 精之所生也, 精足则髓足, 髓在骨内, 髓足则骨强”, 说明肾精盛衰直接影响骨的强弱, 肾精充盛, 则骨髓生化有源, 骨才能得到骨髓的滋养而强健有力。糖皮质激素 (GC) 有良好的抗炎、免疫抑制、抗休克等作用, 广泛应用于临床, 但过量的 GC 可造成许多严重的副作用, 主要是对骨的影响, 导致骨质疏松, 即糖皮质激素性骨质疏松症 (GIOP)。外源性 GC 属阳刚温燥之药邪^[4], 长期、超生理剂量作用于人体, 伤阴、机体阴阳平衡的稳态被打破, 耗损肾精, 日久则肾精亏虚, 骨髓生化乏源, 骨失于骨髓的滋养而痿弱无力, 引发骨质疏松症。肾精亏虚, 影响及脾, 脾失健运, 气血生化乏

源, 后天之精不足, 则肾精失之化生而更加亏虚; 水谷精微失于布散, 骨髓失于充润, 血行瘀滞不畅, 均会加重骨质疏松。因此, GIOP 的中医病机主要是肾虚髓亏, 亦与脾虚、血瘀有关。临床防治该病应以补肾益髓法为主, 并适当兼以健脾、活血。故本研究以补肾益髓中药作为实验因素, 与健脾中药、活血中药进行比较, 以阐发中医学对 GIOP 病机的认识, 为临床防治该病提供实验依据。

Runx2 是骨发育过程中 BMSCs 向 OB 分化和 OB 成熟的重要转录因子^[1], 能上调前成骨细胞、软骨细胞中各种矿化相关蛋白基因的转录, 使其向 OB 方向分化^[2], 在骨的形成和发育过程中起到关键作用, 对防治骨质疏松症意义重大^[3]。OB 是由多向分化潜能的 BMSCs 经骨祖细胞、前成骨细胞等多个独立阶段分化而来的。Runx2 属于 Runt 家族, 分子结构中含有一个 128 个氨基酸组成的高保守序列-runt 结构域, 为 DNA 结构域, 具有与其靶基因启动子区的成骨细胞特异性顺式作用元件 (OSE) 相结合的能力, 并能够与广泛表达的伴侣蛋白 Cbfb 形成杂二聚体而增加 Runt 与 DNA 的亲合力^[5]。Ducy 等^[6]研究发现, Runx2 与 OSE 结合后, 能够激活多种 OB 增殖分化特异性标志物骨钙蛋白、骨桥素、骨涎蛋白和 I 型胶原基因的转录和表达, 从而激活与启动 BMSCs 向成骨细胞系分化并调节 OB 成熟, 对膜内和软骨内骨化成骨均有控制作用^[5]。Nakashima 等^[7,9]研究发现 Osterix (OSX) 是成骨细胞分化和骨形成过程中所必需的特异性转录因子, 前成骨细胞分化成为成熟的 OB 需要 OSX 的参与。Runx2 位于 OSX 的上游^[10], Runx2 对于 OSX 的表达是必需的^[9], OSX 转录受 Runx2 正性调控^[11]。Chisato 等^[12]研究发现, 外源性 Runx2 在促使软骨细胞向肥大细胞分化的同时还能刺激肥大细胞软骨细胞表达血管内皮细胞生长因子 (VEGF), 诱导血管侵入, 促进软骨内化骨。Runx2 除调节 OB 分化外, 还调节已分化 OB 的功能和骨细胞外基质蛋白的基因表达, 从而控制骨骼形成和发育的过程。许多体外研究表明, Runx2 能上调多种骨基质蛋白的表达, 对骨骼的形成十分重要^[3]。综上所述, Runx2 是调节 OB 分化和成熟的重要转录因子, 通过影响多个成骨特异性基因的表达而参与 OB 分化及正常骨骼发育的全过程, 对防治骨质疏松症有重大意义。

在骨质疏松症的研究中, 刘泽朋等^[11]研究表明, 糖皮质激素可能通过下调 Runx2 的 mRNA 和蛋白表达, 抑制成骨细胞分化和活性, 抑制骨形成, 导

致糖皮质激素性骨质疏松。黎波等^[13]实验研究表明,去卵巢骨质疏松大鼠 Runx2 的骨组织基因表达显著下降,与假手术组比较具有显著性差异。而给予补肾活血中药益骨胶囊干预后骨组织 Runx2 基因表达显著提高,相当于假手术组的 0.19 ~ 0.92 倍。王和鸣等^[14,15]采用含药血清的方法体外培养 BMSCs,以单味补肾中药巴戟天的水、醇提取物含药血清干预大鼠 BMSCs 的诱导成骨分化过程,发现巴戟天的水、醇提取物可通过增加 Cbfa1 (Runx2) 表达而显著促进 BMSCs 向成骨细胞分化。关于中药对糖皮质激素性骨质疏松症 Runx2 的作用,国内外文献报道尚未见到。

本研究选用笔者导师郑洪新教授在中医“肾藏精生髓主骨”理论的指导下,经多年科研、临床实践的补肾益髓中药复方(主要由鹿茸、淫羊藿和牡蛎组成,功效:补肾填精、益髓壮骨)作为实验因素,选用补中益气颗粒(功效:补中益气)和血府逐瘀胶囊(功效:活血祛瘀)作为比较,选用骨疏康颗粒(功效:补肾益气、活血壮骨)作为阳性对照药,以 Runx2 mRNA 及蛋白表达作为效应指标,探讨 GIOP 的发病机制以及补肾益髓中药的疗效及其调控作用。结果表明,模型空白组大鼠骨密度比正常组显著降低,说明肌注地塞米松可以成功复制糖皮质激素性骨质疏松症大鼠模型。模型空白组大鼠骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达比正常组显著降低,成骨特异性基因表达受到阻碍,成骨细胞分化、成熟受到抑制。补肾益髓中药可明显上调模型大鼠骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达,激活成骨特异性基因表达,促进成骨细胞分化、成熟,明显升高模型大鼠的骨密度,疗效显著;而单纯健脾中药和活血中药虽可使其表达和骨密度有升高趋势,但无统计学意义。因此,骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达水平降低可能是 GIOP 的发病机制之一,应用补肾益髓中药,可明显上调其表达,对该病具有显著防治效果,疗效优于健脾中药和活血中药,提示防治 GIOP 应以补肾益髓法为主,根据临床具体情况可适当兼以健脾、活血中药为宜。

【参 考 文 献】

[1] 白宇,张柳. 核结合因子 $\alpha 1$ 的调控机制. 中国骨质疏松杂志,

2007,13(11):821-823.

- [2] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. *Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation.* Cell, 1997, 89:747-754.
- [3] 李彬,张柳. RUNX2 与骨代谢的调控. 中国骨质疏松杂志, 2009,15(1):63-66.
- [4] 金明柱,郑洪新. 糖皮质激素诱导肾虚骨质疏松症大鼠骨组织 PPAR γ 2 与 TGF- β 1/Smads 的 mRNA 及蛋白表达. 辽宁中医药大学博士学位论文,2007:59.
- [5] 蔺辉星,周振雷. Runx2 研究进展. 中国畜牧兽医,2009,36(2):53-56.
- [6] Stein GS, Lian JB, van Wijnen AJ, et al. Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression. *Oncogene*, 2004, 23:4315-4320.
- [7] Nakashima K, Xin Z, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, 2002, 108(1):17.
- [8] Ohshima Y, Nifuji A, Maeda Y, et al. Spatiotemporal association and bone morphogenetic protein regulation of sclerostin and osterix expression during embryonic osteogenesis. *Endocrinology*, 2004, 145(10):4685.
- [9] 余向前,张柳. Osterix 对成骨细胞分化影响的研究进展. 华北煤炭医学院学报,2007,9(1):44-45.
- [10] Lee MH, Kwon TG, Park HS, et al. BMP-2-induced Osterix expression is mediated by Dlx5 but is independent of Runx2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309(3): 689.
- [11] 刘泽朋,马信龙,马剑雄,等. 大鼠激素性坏死股骨头 Runx2、Osterix 表达的变化. 中国中西医结合外科杂志,2009,15(5): 551-555.
- [12] Ueta C, Iwamoto M, Kanatani N, et al. Skeletal malformations caused by overexpression of Cbfa1 or its dominant negative form in chondrocytes. *J Cell Biol*, 2001, 153: 87-100.
- [13] 黎波,张荣华. 去卵巢骨质疏松大鼠骨内谷氨酸信号通路及益骨胶囊干预研究. 暨南大学博士学位论文,2008:57.
- [14] 王和鸣,王力,李楠. 巴戟天对 MSCs 向成骨细胞分化影响的实验研究. 福建中医学院学报,2004,14(3):16-20.
- [15] 王和鸣,王力,李楠. 巴戟天对 MSCs 向成骨细胞分化过程 Cbfa1 表达的影响. 中国中医骨伤科杂志,2004,12(6):22-26.

(收稿日期:2010-08-02)

补肾益髓中药对糖皮质激素性骨质疏松症大鼠骨组织Runx2的mRNA及蛋白表达的影响

作者: 王剑, 郑洪新, 宗志宏, 杨芳, 朱辉, 张国哲
作者单位: 王剑, 郑洪新, 杨芳, 朱辉, 张国哲 (辽宁中医药大学基础医学院, 沈阳, 110847), 宗志宏 (中国医科大学基础医学院)
刊名: 中国骨质疏松杂志 
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS
年, 卷(期): 2011, 17 (2)

参考文献(15条)

1. 王和鸣;王力;李楠 巴戟天对MSCs向成骨细胞分化过程Cbf α 1表达的影响 2004 (06)
2. 王和鸣;王力;李楠 巴戟天对MSCs向成骨细胞分化影响的实验研究[期刊论文]-福建中医学院学报 2004 (03)
3. 黎波;张荣华 去卵巢骨质疏松大鼠骨内谷氨酸信号通路及益骨胶囊干预研究 2008
4. Ueta C;Iwamoto M;Kanatani N Skeletal malformations caused by overexpression of Cbf α 1 or its dominant negative form in chondrocytes[外文期刊] 2001
5. 刘泽朋;马信龙;马剑雄 大鼠激素性坏死股骨头Runx2、Osterix表达的变化[期刊论文]-中国中西医结合外科杂志 2009 (05)
6. Lee MH;Kwon TG;Park HS BMP-2-induced Osterix expression is mediated by Dlx5 but is independent of Runx2 2003 (03)
7. 余向前;张柳 Osterix对成骨细胞分化影响的研究进展[期刊论文]-华北煤炭医学院学报 2007 (01)
8. Ohyama Y;Nifuji A;Maeda Y Spatiotemporal association and bone morphogenetic protein regulation of sclerostin and osterix expression during embryonic osteogenesis[外文期刊] 2004 (10)
9. Nakashima K;Xin Z;Kunkel G The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation[外文期刊] 2002 (01)
10. Stein GS;Lian JB;van Wijnen AJ Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression[外文期刊] 2004 (24)
11. 蔺辉星;周振雷 Runx2研究进展[期刊论文]-中国畜牧兽医 2009 (02)
12. 金明柱;郑洪新 糖皮质激素诱导肾虚骨质疏松症大鼠骨组织PPAR γ 2与TGF- β 1/Smads的mRNA及蛋白表达 2007
13. 李彬;张柳 RUNX2与骨代谢的调控[期刊论文]-中国骨质疏松杂志 2009 (01)
14. Ducy P;Zhang R;Geoffrey V Osf2/Cbf α 1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation [外文期刊] 1997
15. 白宇;张柳 核结合因子 α 1的调控机制 2007 (11)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201102008.aspx