

## 维生素 K<sub>2</sub> 对 SD 去卵巢大鼠基质 Gla 蛋白 (MGP) 及腰椎基因表达的影响

陈雪英 姜醒华 闫玉刚 方向南 赖晓阳 吴韦 丁颖 杨雅

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)08-0655-07

**摘要:** 目的 研究 MGP 在绝经后骨质疏松发病机制中的作用及维生素 K<sub>2</sub> 对 MGP 及基因表达的影响。方法 36 只 10 个月龄雌性 SD 大鼠,随机分成 3 组,假手术组、去卵巢 (OVX) 组、去卵巢加维生素 K<sub>2</sub> 干预 (OVX + Vitamin K<sub>2</sub>) 组,每组 12 只。OVX + Vitamin K<sub>2</sub> 组在手术 2 周后给予维生素 K<sub>2</sub> 灌胃 (30mg/kg,每周 5 次,持续 12 周)。各组大鼠在术后每 3 周留取血清及尿液。18 周后处死大鼠,酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测血清及尿液中 MGP 的浓度;病理切片观察大鼠腰椎组织结构变化,免疫组化法观察腰椎未羧化 MGP 的表达;荧光实时定量 PCR 观察腰椎 MGP 基因的表达水平。结果 (1) 去卵巢 18 周后,各组血清 MGP 含量逐渐上升,维生素 K<sub>2</sub> 组上升幅度较假手术组及 OVX 组大 ( $P < 0.05$ ),尿液中 MGP 变化不明显;(2) 免疫组化切片中 OVX 组未羧化 MGP (ucMGP) 呈阳性染色,维生素 K<sub>2</sub> 组较 OVX 组表达明显减少;(3) 腰椎 MGP mRNA 的表达:OVX + Vitamin K<sub>2</sub> 组及假手术组明显低于 OVX 组 ( $P < 0.05$ ),且 OVX + Vitamin K<sub>2</sub> 组高于假手术组 ( $P < 0.05$ )。结论 腰椎组织中 MGP 基因表达增高可能是绝经后骨质疏松发生的作用机制之一,调节 MGP mRNA 表达可能是维生素 K<sub>2</sub> 治疗骨质疏松的一种作用途径。

**关键词:** 基质 GLA 蛋白; 绝经后骨质疏松; 维生素 K<sub>2</sub>; 去卵巢大鼠

**Effect of vitamin K<sub>2</sub> on the expression of matrix Gla protein (MGP) and gene in the lumbar vertebrae in ovariectomized rats** CHEN Xueying, JIANG Xinghua, YAN Yugang, et al. The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330033, China

Corresponding author: YANG Ya, Email: y-y6757@yahoo.com.cn

**Abstract: Objective** To elucidate the mechanism of matrix Gla protein (MGP) in postmenopausal osteoporosis and to investigate the effect of vitamin K<sub>2</sub> on the expression of MGP in the lumbar vertebra in ovariectomized rats. **Methods** Thirty-six 10-month-old female SD rats were allocated into 3 groups randomly, including sham operation group, ovariectomized (OVX) group, OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group, with 12 rats in each group. Rats in OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group were administered orally with vitamin K<sub>2</sub> (30 mg/kg/d, 5 times a week) after 2 weeks of ovariectomy for 12 weeks. Serum and urine samples were collected from all rats every 3 weeks after ovariectomy. All rats were sacrificed after 18 weeks. MGP in serum and urine was determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Pathology sections were used to observe the tissue structure change in the rat lumbar vertebra. Expression of uncarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) was detected with immunohistochemistry. MGP mRNA expression in the lumbar vertebra was detected using fluorescent real-time quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR). **Results** 1) After 18 weeks of ovariectomy, serum MGP levels increased gradually. Serum MGP increased more in OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group than in sham operation group ( $P < 0.01$ ) and in OVX group ( $P < 0.05$ ). The change of urine MGP was not obvious. 2) ucMGP was positively stained in Immunohistochemical sections in OVX group. The expression was less in OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group than in OVX group. 3) Expression of MGP

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30860112)

作者单位: 330033 南昌,南昌大学第二附属医院

通讯作者: 杨雅, Email: y-y6757@yahoo.com.cn

mRNA was significantly lower in OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group and in sham group than in OVX group ( $P < 0.05$ ), and was higher in OVX + Vitamin K<sub>2</sub> group than in sham group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Up regulation of MGP may be one of the mechanisms of postmenopausal osteoporosis. Regulation of MGP mRNA expression by Vitamin K<sub>2</sub> could be a pathway for the treatment of osteoporosis.

**Key words:** MGP; Postmenopausal osteoporosis; Vitamin K<sub>2</sub>; Ovariectomized rats

绝经后骨质疏松症与血管钙化是绝经后女性常见且同时存在的疾病<sup>[1-2]</sup>。现认为血管钙化是一个与生理性骨和软组织形成过程相似的主动的病理进程<sup>[3]</sup>。近十余年研究发现基质 Gla 蛋白(Matrix $\gamma$ -carboxylglutamic acid Protein; Matrix Gla Protein, MGP)和血管钙化密切相关。MGP 是一种维生素 K 依赖性循环蛋白,最初从牛骨髓中分离出来,其活化需要维生素 K 作为辅酶的  $\gamma$ -羧化作用来完成,是软骨及血管钙化的最主要的抑制蛋白<sup>[4-6]</sup>。MGP 是否参与绝经后骨质疏松的发病机制,维生素 K<sub>2</sub> 这种骨质疏松的治疗药物对去卵巢大鼠腰椎 MGP 基因表达的影响如何,尚未见报道。本实验采用酶联免疫吸附法(ELISA)法检测去卵巢大鼠尿液中 MGP 的浓度变化,免疫组化法观察 ucMGP 在腰椎中的表达,同时用荧光实时定量 PCR 方法,观察维生素 K<sub>2</sub> 对去卵巢大鼠骨组织 MGP mRNA 表达的影响,探讨 MGP 在绝经后骨质疏松发病中的作用以及维生素 K<sub>2</sub> 治疗绝经后骨质疏松的相关作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验试剂和主要仪器

维生素 K<sub>2</sub>(Sigma, St. Louis, MO),大鼠基质  $\gamma$  羧基谷氨酸蛋白(MGP)定量检测试剂盒(购自上海江莱生物科技有限公司);基质  $\gamma$  羧基谷氨酸蛋白(未羧化)一抗(购自吉泰生物杭州办事处, ALX-804-642);二抗(EliVision™ 试剂盒);酶标仪(美国宝特 ELX2800 型);PRISM7300PCR 仪(美国 ABI 公司);RNAstore 样本保存液(TIANGEN, DP408);RNAiso Plus(D9108S);PrimeScript® RT reagent Kit (Perfect Real Time) (DRR037S) Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time) (DRR039A);PCR 相关配套试剂均购自日本 TaKaRa 公司;其余试剂均为市售分析纯。

### 1.2 分组与造模<sup>[7]</sup>

36 只 10 月龄 Sprague-Dawley 雌性大鼠(江西省中医学院实验动物中心提 JZDW NO:2009-0477)按照 1:2 的比例随机分为假手术组与模型组,各组大鼠称重后,用 3% 戊巴比妥钠 0.1ml/100g 腹腔注

射,麻醉后,肋弓下第 3 腰椎处,脊柱旁 1cm,肋弓下 2cm 处开一约 1.5cm 切口,逐层分离至腹腔,翻开脂肪,找到梅花状的卵巢,切除后 1 号无菌丝线结扎。假手术组仅切除卵巢附近的相当于卵巢大小的一部分脂肪。术后均肌注青霉素 40 万 U, 2 次/d, 连续 3d。术后分笼饲养。饲养 2 周后将模型组分为 2 组,一组为单纯去卵巢(OVX)组、一组为去卵巢加维生素 K<sub>2</sub> 干预(OVX + Vitamin K<sub>2</sub>)组。

### 1.3 药物干预及标本收集

维生素 K 用食用油溶解,假手术组和 OVX 组给予 0.3ml 食用油灌胃,OVX + Vitamin K<sub>2</sub> 组给予维生素 K<sub>2</sub> 灌胃 0.3ml,每周 5 次,共 12 周,给药剂量为 30mg/kg · d,给药剂量每 2 周按体重调整 1 次。从术后 1 周后每 3 周收集 1 次各组大鼠的血清和尿液(-20℃ 保存待测),总收集 6 次。18 周后注射过量戊巴比妥钠处死动物,迅速剥开动物取腰椎清除肌肉及结缔组织用 PBS 冲洗后,第 1 节一部分放于入 4% 多聚甲醛固定液中,一部分放于组织保存液中保存,2~4 节于 4℃ 保存待测。

### 1.4 血清及尿中 MGP 含量检测

6 次血清及尿液中 MGP 浓度采用 ELISA 法进行检测,测定参照试剂盒说明进行,所有标本均为集中检测。

### 1.5 腰椎中 ucMGP 的测定

腰椎在 4% 多聚甲醛固定液中于 4℃ 冰箱过夜后置入 10% EDTA 脱钙液中,浸泡至用针刺无阻力时用流水冲洗 24h,用石蜡包埋后切片行免疫组化测定。石蜡包埋切片及脱水后标本用 HE 染色观察组织完整性,做免疫组化(EliVision 法)检测 ucMGP 的表达,步骤按说明书进行,一抗为 anti-Glu MGP,二抗为 EliVision™ plus 试剂盒。

### 1.6 荧光实时定量 PCR 观察腰椎 MGP mRNA 的表达

**1.6.1 骨组织总 RNA 提取:**从样本保存液中取出,用滤纸吸干表面液体。将部分腰椎骨(约 100 mg)置于盛有液氮的研钵内,快速研成粉末状;迅速将粉末移入匀浆器,充分研磨,加入 RNAiso Plus (100 mg 组织 + 2 ml 以上),余按照说明书操作提取中 RNA

后,立即进行相关检测和逆转录。

**1.6.2 逆转录合成 cDNA:**按照试剂盒(PrimeScript® RT reagent Kit, TaKaRa)要求操作,取 2 $\mu$ l RNA 样本做逆转录反应,反应体系 20 $\mu$ l,反应条件:37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5s,1个循环,结束。

**1.6.3 荧光实时定量 PCR 反应:**(1)引物和探针设计及合成:管家基因 GAPDH 作为内参基因,引物及探针均有由 TaKaRa 有限公司(大连)设计合成。MGP 引物序列:上游引物 5'-CGCTACGCCCTGATCTACG-3',下游引物 5'-GGAATATGAAACCAGACTCCGTAAC-3',探针序列:5' ( FAM )-ACGCCGCTACAACCGCTACTTCAG ( Eclipse )-3'; GAPDH 序列:上游引物 5'-TGGTCTACATGTTCCAGTATGACT-3',下游引物 5'-CCATTTGATGTTACGGGATCTC-3'。探针序列:5' ( FAM )-CCACGGCAAGTTCAACGGCAGT ( Eclipse )-3'。

(2)荧光定量扩增效率曲线的建立:PCR 反应的体系优化,确立最优的 Real Time PCR 条件,首先固定探针浓度,优化引物浓度,确定最佳引物浓度后,应用优化的引物浓度优化探针浓度。用优化的引物和探针浓度作目的基因的扩增效率曲线,确定 PCR 扩增效率。本实验作相对定量,对于内参基因同样优化引物浓度,探针浓度及建立扩增效率曲线。比较目的基因与内参基因的扩增效率的斜率有无显著性差异。

(3)TaqMan 探针法荧光定量 PCR 检测大鼠骨组织中 MGP mRNA 的表达水平:根据最终的优化体系,对目的基因和内标基因行荧光实时定量 PCR 反应。目的基因 MGP 优化后的反应体系:Premix Ex Taq™ (1x)25 $\mu$ l,MGP 上下游引物(10 $\mu$ M)各 1.0 $\mu$ l,荧光探针溶液 2.0 $\mu$ l,ROX Reference Dye (50x) 1.0 $\mu$ l,DNA 模板 2.0 $\mu$ l,灭菌蒸馏水 16.0 $\mu$ l,总反应体系为 50.0 $\mu$ l;内标基因 GAPDH 优化后的反应体系:Premix Ex Taq™ (1x)25 $\mu$ l,GAPDH 上下游引物(10 $\mu$ mol/L)各 0.8 $\mu$ l,荧光探针溶液 1.6 $\mu$ l,ROX Reference Dye (50x) 1.0 $\mu$ l,DNA 模板 2.0 $\mu$ l,灭菌蒸馏水 18.0 $\mu$ l,总反应体系为 50.0 $\mu$ l。目的基因 MGP 和内标基因 GAPDH 的反应条件均为:预变性:95 $^{\circ}$ C 3s,PCR 反应:95 $^{\circ}$ C 5s,60 $^{\circ}$ C 34s,循环 40 次。每标本目的及内参检测都设立复孔。

(4)目的基因相对表达量的计算:Ct 是代表每个样本 2 次重复的平均 Ct 值。比较 MGP 基因与 GAPDH 基因的扩增效率的斜率有无显著性差异。

如果没有,以 GAPDH 做为内参照,利用 Ct 值,应用比较阈值法即  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ , ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$  所得结果即表示目的基因相对于正常对照组的倍数,公式为  $\Delta\Delta C_t = (C_{t_{MGP}} - C_{t_{GAPDH}})_{\text{实验组}} - (C_{t_{MGP}} - C_{t_{GAPDH}})_{\text{对照组}}$ )。如果有显著性差异,按 Rasmussen 计算出相对表达差异<sup>[8]</sup>。

## 1.7 统计学处理

所有结果以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。采用 SPSS 16.0 统计软件处理实验数据,不同时间各组间的比较采用重复测量数据的两因素多水平方差分析,多组比较采用单因素方差分析,符合方差齐性时采用 LSD 法,不符合方差齐性时采用 Dunnett T 3 法,两两比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$  示差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 建模结果

卵巢切除后 18 周显微镜下观察腰椎脱钙切片显示:假手术组骨小梁排列整齐、规则,连续性好,小梁间隙分布匀称(图 1A);OVX 组大鼠骨小梁断裂,不连续,骨髓腔变大(图 1B),而干预组骨小梁较 OVX 组规则,连续(图 1C)。

### 2.2 各组大鼠血清及尿液中 MGP 含量结果

血清中 MGP 含量用折线图表示见图 2。

维生素 K<sub>2</sub> 干预组血清 MGP 浓度高于其他两组 ( $P < 0.05$ ),OVX 组高于假手术组 ( $P < 0.05$ ),维生素 K<sub>2</sub> 干预组随时间呈上升趋势,OVX 组上升至第 4 次取血时(即去卵巢后 12 周)停止上升。假手术组 MGP 上升趋势不明显。

尿液中 MGP 含量用折线图表示其变化趋势见图 3。

维生素 K<sub>2</sub> 干预组尿液中 MGP 浓度高于其他两组 ( $P < 0.05$ ),OVX 组高于假手术组 ( $P < 0.05$ ),维生素 K<sub>2</sub> 干预组随时间呈下降趋势,至第 3 次尿液(即去卵巢后 9 周)不再下降,至第 5 次尿液(去卵巢后 15 周)又稍有上升。OVX 及假手术组呈下降趋势。

### 2.3 各组腰椎 ucMGP 的表达

假手术组无 ucMGP 的表达。OVX 组 ucMGP 有阳性表达,呈棕黄色颗粒聚集。OVX + 维生素 K<sub>2</sub> 组仅极少量 ucMGP 的表达(见图 4)。

### 2.4 腰椎 MGP mRNA 的表达

**2.4.1 扩增效率曲线的建立:**优化后的最终扩增效率及其曲线(表 1 和图 5)。从图 5 可见两扩增效率曲线的拟合度比较好, $R^2$  均接近 1。两曲线的斜率

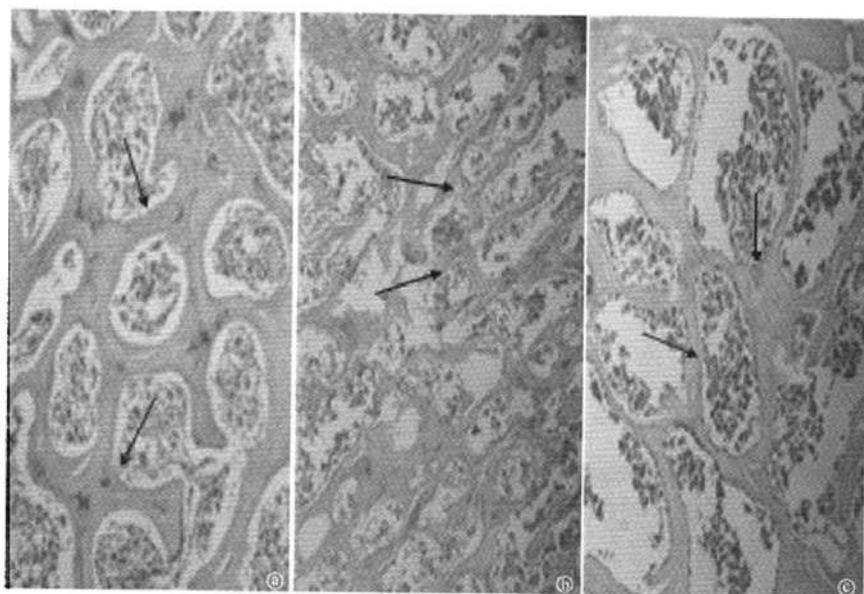


图1 建模后18周时各组腰椎组织学观察(HE染色,200x)(箭头所指为骨小梁)

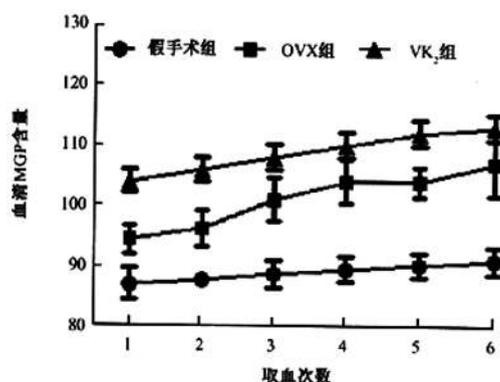


图2 各组大鼠6次取血的血清中MGP的含量变化

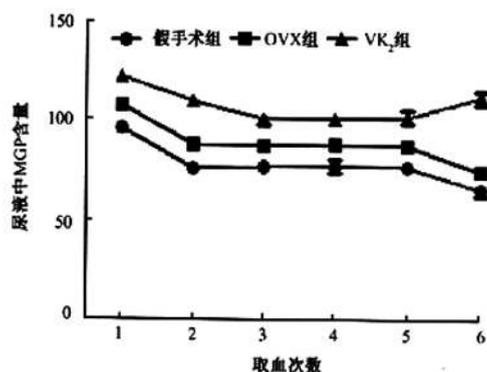


图3 各组大鼠6次取尿的尿液中MGP的含量变化

在-3.32附近,从而得到的扩增效率  $E = 10^{[-1/\text{Slope}]}$  是2左右,表明每增加1个循环,产物基本可扩增1倍。

万方数据

表1 目的基因(MGP)与内参基因(GAPDH)的扩增效率

基因	Ct值					Slope (斜率)	Efficiency (斜率)
	125ng	25ng	5ng	1ng	0.2ng		
MGP	19.84	21.97	24.34	26.57	29.13	-3.3249	1.999
GAPDH	18.13	20.65	22.94	25.46	27.90	-3.4837	1.937

2.4.2 荧光实时定量PCR检测各组MGP mRNA表达的变化:用TaqMan实时定量RT-PCR法进行检测MGP mRNA,各组骨组织MGP mRNA相对表达量见表2:OVX组较其余两组MGP mRNA表达明显增多,维生素K<sub>2</sub>+OVX组较假手术组MGP mRNA表达增多( $P < 0.01$ )。

表2 各组骨组织MGP mRNA相对表达量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Ct		Ct <sub>2</sub> - $\Delta\Delta$ Ct (和OVX组比较)
	MGP	GAPDH	
假手术组	34.30 ± 0.7088	24.39 ± 1.313	0.1034 ± 0.0982 *
OVX组	28.66 ± 0.5438	22.58 ± 0.9120	1 *
VK <sub>2</sub> 组	28.31 ± 1.396	21.01 ± 1.415	0.4952 ± 0.2432 *

注:各组比较\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

许多研究显示MGP与PMOP具有相关性,如骨质疏松药物可以调节血管和成骨细胞MGP的表达<sup>[9-11]</sup>,MGP多态性与骨密度及PMOP相关<sup>[12-13]</sup>。但MGP在PMOP发病机制中的具体作用还不清楚。现已明确MGP是血管钙化的抑制剂,同时认为血管钙化是一个与生理性骨和软组织形成过程相似的

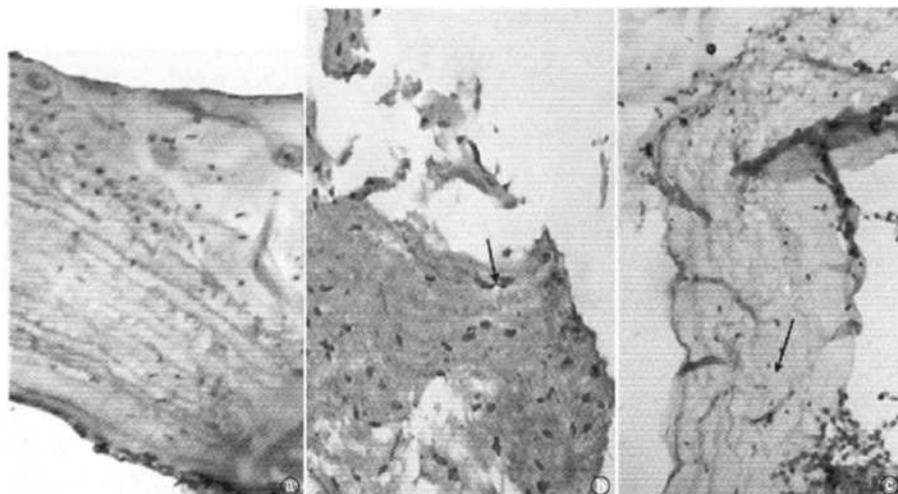


图4 各组大鼠腰椎未羧化MGP的表达情况  
a:假手术组, b:OVX组, c:OVX + 维生素K<sub>2</sub>组

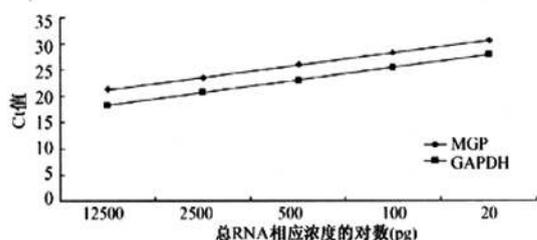


图5 目的基因(MGP)与内参基因(GAPDH)的扩增效率曲线

主动的病理进程<sup>[3]</sup>。骨质疏松药物如双膦酸盐、降钙素等能调节胎球蛋白-MGP矿化复合物(FMC)的形成<sup>[14]</sup>。胎球蛋白在肝脏中合成,但在骨中有较高的浓度,只和已羧化的MGP结合<sup>[15]</sup>。现有研究<sup>[16]</sup>显示已羧化MGP和FMC的缺少可能是骨关节炎患者软骨钙化的原因,那么如果MGP在骨中表达增多,作用增强,是否可以抑制骨的矿化,导致骨质疏松?维生素K<sub>2</sub>高摄入,对保持绝经后妇女骨健康有利<sup>[17]</sup>,维生素K是MGP中谷氨酸羧化所必需的辅酶,可以使其羧化的MGP增多,所以维生素K缺乏时谷氨酸羧化异常可能是维生素K缺乏致骨质疏松发生的作用机制之一,但其具体的作用机理尚不明确。本实验从血清学、病理学、分子生物学多方面观察去卵巢大鼠MGP基因的表达变化,及维生素K<sub>2</sub>对其表达的影响,探讨MGP在绝经后骨质疏松发病中的作用及维生素K<sub>2</sub>治疗绝经后骨质疏松的作用机理。

雌性大鼠虽没有绝经期,但去卵巢后的身体状态与绝经后女性相似,是国际上最为常用的一种模

拟妇女绝经后骨质疏松的模型<sup>[18]</sup>。本实验应用10个月龄的SD大鼠,更符合绝经后妇女的身体代谢情况。去卵巢18周后腰椎脱钙切片假手术组显示小梁排列整齐、规则,连续性好,小梁间隙分布匀称,而OVX组骨小梁断裂,不连续,骨髓腔变大。维生素K<sub>2</sub>干预组腰椎骨质破坏程度介于两组之间。这提示大鼠在去卵巢后雌激素减少使骨结构发生改变,骨量丢失,而维生素K<sub>2</sub>对去卵巢大鼠的骨丢失有保护作用。这和Iwamoto等<sup>[19]</sup>研究维生素K<sub>2</sub>可增加胫骨矿化相一致。同时说明我们的骨质疏松模型建立成功,维生素K<sub>2</sub>对OVX大鼠的骨质疏松有一定的治疗作用。

血清MGP表达的检测发现维生素K<sub>2</sub>干预组最高、OVX组其次、假手术组最低(差异有统计学意义),血液中MGP含量随时间的变化呈上升趋势,维生素K<sub>2</sub>组血清MGP水平更高,可能由于维生素K<sub>2</sub>促进其表达引起。血中上升趋势较明显,而尿中MGP变化不明显,可能因尿液中的MGP含量受各种代谢因素的影响更多,或是尿液中存在和血液中影响MGP不同机制。

在大鼠腰椎脱钙后免疫组化切片显示OVX组中ucMGP的表达明显较假手术组增多,维生素K<sub>2</sub>干预组有少量表达,假手术组中几乎无表达。表明骨质疏松模型中腰椎ucMGP增多,维生素K<sub>2</sub>干预使ucMGP的表达减少。MGP是维生素K依赖性循环蛋白,维生素K是MGP中谷氨酸羧化所必需的物质,只有MGP中谷氨酸残基(Glu)羧化成γ-羧基谷氨酸残基(Gla)后才具有活性,维生素K<sub>2</sub>干预

组 ucMGP 减少,是其已羧化的表现。而此组的骨质疏松较轻,说明 MGP 的谷氨酸羧化异常可能是导致维生素 K 缺乏后绝经后骨质疏松的发病机制之一。

实时荧光定量 PCR (FQ-PCR) 技术是一种新的体外核酸扩增技术,具有特异性好,灵敏度高,线性关系好,重现性好等特点,本研究建立了采用 TaqMan 探针荧光定量 PCR 检测腰椎中 MGP 基因表达,并利用相对定量公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  来进行基因差异表达的比较,可以更为客观地反映基因表达水平的差异情况。本实验显示去卵巢大鼠 MGP mRNA 表达升高,而维生素 K<sub>2</sub> 可以下调 MGP 基因的表达,这与血清中 MGP 蛋白的表达相反,与腰椎中未羧化的 MGP 的表达一致,这与 Schurgers 等<sup>[20]</sup> 的报道相一致,其用维生素 K 的拮抗剂——华法林干预大鼠,干预组血清 MGP 比正常组下降 20%。这说明循环 MGP 蛋白和腰椎组织 MGP mRNA 表达不一致,可能因为不同部位 MGP 蛋白及基因的表达机制和调节因素存在差异,但具体机制有待进一步研究。

结合本实验中各检测指标的变化,大鼠在去卵巢 18 周后发生骨质丢失且腰椎中 ucMGP 的表达及 MGP mRNA 的表达水平升高,维生素 K<sub>2</sub> 干预使 ucMGP 减少,MGP mRNA 的表达降低,说明维生素 K<sub>2</sub> 下调 MGP mRNA 的表达,MGP 总蛋白及羧化 MGP 蛋白下调,减轻了骨质的丢失,延缓了骨质疏松的发生。当然也可能是因为维生素 K 通过其他途径,如增加骨钙素的羧化促进骨形成,增加前列腺素的表达,促进成骨细胞分泌相关蛋白,抑制破骨细胞凋亡抑制骨吸收等<sup>[21]</sup>,来发挥对骨质疏松的治疗作用的。但本实验没有检测 FMC 的表达含量,未能明确 MGP 是否以 FMC 的形式参与了骨质疏松的发病过程。综上所述,腰椎 MGP 表达增高,抑制骨组织的矿化可能是绝经后骨质疏松发生的作用机制之一,调节 MGP 的表达可能是维生素 K<sub>2</sub> 治疗绝经后骨质疏松的作用途径之一,更详细的调节机制需要进一步的研究。

#### 【参 考 文 献】

- [ 1 ] Tankò LB, Bagger YZ, Christiansen C. Low bone mineral density in the hip as a marker of advanced atherosclerosis in elderly women. *J Calcif Tissue Int*, 2003, 73 (1): 15-20.
- [ 2 ] Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, et al. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int*, 2008, 19 (8): 1161-1166.
- [ 3 ] Park JH, Om I N, Iemitsu M, et al. Relationship between arterial calcification and bone loss in a new combined model rat by ovariectomy and vitaminD<sub>3</sub> plus nicotine. *Calcif Tissue Int*, 2008, 83 (3): 192-201.
- [ 4 ] Luo G, Ducy P, McKee MD, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking Matrix GLA protein. *Nature*, 1997, 386(6620): 78-81.
- [ 5 ] Berkner KL, Runge KW. The physiology of vitamin K nutriture and Vitamin K-dependent protein function in atherosclerosis. *Thromb Haemost*, 2004, 2(12): 2118-2132.
- [ 6 ] Jono S, Ikari Y, Vermeer C, et al. Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography. *Thromb Haemost*. 2004, 91 (4):790-794.
- [ 7 ] BAO Shengyong, WANG Hua, YAN Dewen, et al. The effect of "Shuanggu Yitong" acupuncture therapy on insulin-like growth factor-1 and the bone histomorphology of the experimental rats with postmenopausal osteoporosis. *Chin J Osteoporos*, 2008, 14 (19): 619-623.
- [ 8 ] Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Mol Endocrinol*, 2002, 29 (1): 23-39.
- [ 9 ] Price PA, Buckley JR, Willianson MK, The amino bisphosphonate ibandronate prevents Vitamin D toxicity and inhibits Vitam D-induced calcification of arteries, cartilage, lungs and kidneys in rats. *Nutr*, 2001, 13(11):2910-2915.
- [ 10 ] Suttamanatwong S, Jensen ED, Schilling J, et al. Sp proteins and Runx-mediate regulation of matrix gla protein (MGP) expression by parathyroid hormone. *Cell Biochem*, 2009, 107 (2): 284-292.
- [ 11 ] Osako MK, Nakagami H, Koibuchi N, et al. Estrogen inhibits vascular calcification via vascular RANKL system: common mechanism of osteoporosis and vascular calcification. *Circ Res*, 2010, 107(4): 466-475.
- [ 12 ] Kim JG, Ku SY, Lee DO, et al. Relationship of osteocalcin and matrix Gla protein gene polymorphisms to serum osteocalcin levels and bone mineral density in postmenopausal Korean women. *Menopause*, 2006, 13 (3): 467-473.
- [ 13 ] Kinoshita H, Nakagawa K, Narusawa K. A function single nucleotide polymorphism in the Vitam-K-dependent gamma-glutamyl carboxylase gene (Arg325Gln) is associated with bone mineral density in elderly Japanese women. *Bone*, 2007, 40 (2): 451-456.
- [ 14 ] Schafer C, Heiss A, Schwarz A, et al. The serum protein alpha-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *Clin Invest*, 2003, 112 (3): 357-366.
- [ 15 ] Price PA, Nguyen TM, Williamson MK. Biochemical characterization of the serum fetuin mineral complex. *Biol Chem*, 2003, 278 (24): 22153-22160.

(下转第 682 页)

对于预测老年人髋部骨折的危险性是一种简单、实用的方法,特别是流行病学调查和骨折风险筛查中更是首选<sup>[13]</sup>。而通过X线测量双侧髋部 Singh 指数、皮质骨厚度等参数来评定双侧髋部骨折风险的高低,这在日后的骨折防治上更有指导意义。当一侧髋部的 Singh 指数较对侧低并下降至IV度或以下,同时该侧的股骨上段皮质厚度较对侧低时,该侧的髋部骨折风险明显增大。这时,我们需要给予相应的全身抗骨质疏松治疗措施外,还需要有针对性的给予高风险一侧髋部的骨折防治:加强局部的功能锻炼,加强跌倒的防范<sup>[14]</sup>,尤其是一侧髋部的保护;通过局部理疗、针灸等刺激加强局部骨质的强度,改善骨质疏松的程度;积极治疗关节炎等原发病,改善肢体功能。这些措施在骨折后康复期同样重要。

当然,X线的评定有其局限性,还需要配合其他检查来综合评估骨质疏松的情况,以更好的制定个性化的预防措施,有针对性的预防高风险一侧髋部的骨折发生。随着我国社会老年化的进程,骨质疏松症将会是一个越来越普遍的疾病。髋部骨折作为其严重的并发症之一,需要引起我们更多的重视,我们应该将抗骨质疏松治疗和防治骨质疏松性骨折结合起来,一起进行相关的干预。未病先防,只有这样,才能减低致死率和致残率,减轻医疗负担,取得更好的社会效益。

#### 【参 考 文 献】

- [1] Davison CW, Merrilees MJ, Wilkinson TJ, et al. Hip fracture mortality and morbidity can we do better. *N Z Med J*, 2001, 114: 329.
- [2] Black DM, Cummings SR, Melton LJ 3rd. Appendicular bone mineral and a woman's lifetime risk of hipfracture. *J Bone Miner Res*, 1992, 7(6): 639-646.
- [3] Singh M, Nagrath AR, Maini PS. Changes in trabecular pattern of the upper end of the femur as an index of osteoporosis. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1970, 51: 457-467.
- [4] The NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA*, 2001, 285: 785-795.
- [5] Wilkins CH, Birge SJ. Prevention of osteoporotic fractures in the elderly. *Am J Med*, 2005, 118(11): 1190-1195.
- [6] 张志强. 髋部骨折相关病因的研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2006, 12(6): 639-642.
- [7] Riggs BL, Melton LJ I III. The prevention and treatment of osteoporosis. *N Engl J Med*, 1992, 327: 620-627.
- [8] Melton IJ III, Kan SH, Wahner HW, et al. Lifetime fracture risk: an approach to hip fracture risk assessment based on bone mineral density and age. *J Clin Epidemiol*, 1988, 41: 985-994.
- [9] 方世明. Singh 指数法的临床应用探讨. *中国骨质疏松杂志*, 2001, 7(3): 191.
- [10] Michelotti J, Clark J. Femoral neck length and hip fracture risk. *J Bone Miner Res*, 1999, 14: 1714-1720.
- [11] 韦永中, 刘沛, 包丽华. 股骨上段几何结构在老年妇女髋部骨折发生中的作用. *中华老年医学杂志*, 2001, 20(2): 111-112.
- [12] 郭世斌. 废用性骨质疏松症. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2008, 1(2): 81-84.
- [13] 戴力扬. 老年性骨质疏松与髋部骨折. *骨与关节损伤杂志*, 1995, 10(2): 67-70.
- [14] Rao SS, Cherukuri M. Management of hip fracture: the family physician's role. *Am Fam Physician*, 2006, 73: 2195-2200.
- [1] Davison CW, Merrilees MJ, Wilkinson TJ, et al. Hip fracture mortality and morbidity can we do better. *N Z Med J*, 2001, 114: 329. (收稿日期: 2011-03-05)
- (上接第 660 页)
- [16] Wallin R, Schurgers LJ, Loeser RF. Biosynthesis of the vitamin K-dependent matrix Gla protein (MGP) in chondrocytes: a fetuin-MGP protein complex is assembled in vesicles shed from normal but not from osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(8): 1096-1103.
- [17] Koitaya N, Ezaki J, Nishimuta M, et al. Effect of low dose vitamin K<sub>2</sub> (MK-4) supplementation on bio-indices in postmenopausal Japanese women. *Nutr Sci Vitaminol*, 2009, 55(1): 15-21.
- [18] Tezval M, Biblis M, Sehmisch S, et al. Improvement of Femoral Bone Quality After Low-Magnitude, High-Frequency Mechanical Stimulation in the Ovariectomized Rat as an Osteopenia Model. *Calcif Tissue Int*. 2010, 88(1): 33-40.
- [19] Iwamoto J, Yeh JK, Schmidt A, et al. Raloxifene and Vitamin K<sub>2</sub> Combine to Improve the Femoral Neck Strength of Ovariectomized Rats. *Calcif Tissue Int*, 2005, 77(2): 119-126.
- [20] Schurgers LJ, Spronk HM, Soute BA, et al. Regression of warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats. *Blood*, 2007, 109(7): 2823-2831.
- [21] Saito M. Effect of vitamin K on bone material properties. *Clin Calcium*, 2009, 19(12): 1797-1804. (收稿日期: 2010-11-30)

# 维生素K2对SD去卵巢大鼠基质G1a蛋白(MGP)及腰椎基因表达的影响

作者: [陈雪英](#), [姜醒华](#), [闫玉刚](#), [方向南](#), [赖晓阳](#), [吴韦](#), [丁颖](#), [杨雅](#)  
作者单位: [南昌大学第二附属医院, 南昌, 330033](#)  
刊名: [中国骨质疏松杂志](#)   
英文刊名: [CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS](#)  
年, 卷(期): 2011, 17(8)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zggzsszz201108001.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201108001.aspx)