

去卵巢大鼠骨代谢及骨髓细胞 OPG、RANKL 基因表达的实验研究

魏劲松 王健 龚颜 曾荣

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2013)03-0207-05

摘要: 目的 观察去卵巢大鼠血清 I 型原胶原 C-端前肽 (PICP)、骨钙素 (BGP) 和 I 型胶原交联羧基末端肽 (ICTP) 的变化, 以及骨髓细胞骨保护素 (OPG) 和核因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 的基因表达变化。方法 取 3 月龄雌性 SD 大鼠 16 只, 随机分 2 组: 假手术对照组 (8 只) 和假手术组 (8 只)。采用双侧卵巢切除术复制骨质疏松大鼠模型。术后 12 周, 应用双能 X 线吸收仪法 (DXA) 测骨密度, ELISA 法测量血清 PICP、BGP 及 ICTP 浓度, qRT-PCR 法半定量骨髓细胞 OPG 和 RANKL mRNA 表达量。结果 与假手术组比较, 大鼠去卵巢 12 周后腰椎和股骨骨密度下降显著 ($P < 0.01$); 血清 PICP、BGP 和 ICTP 含量显著升高 ($P < 0.01$); 骨髓细胞 RANKL 的 mRNA 表达量增加 ($P < 0.05$) 且 OPG/RANKL 的比率降低 ($P < 0.01$), 而两者 OPG 的 mRNA 表达量无显著性差别 ($P > 0.05$)。结论 去卵巢 12 周后的大鼠表现出高骨转换率的特点。OPG/RANKL/RANK 系统失衡可能在以破骨细胞功能亢进为特点的骨代谢中起重要作用。

关键词: 去卵巢大鼠; 核因子 κ B 受体活化因子配体; 骨保护素; 骨代谢

Experimental study of bone metabolism and gene expression of OPG and RANKL in bone marrow cells in ovariectomized rats WEI Jinsong, WANG Jian, GONG Yan, et al. Department of Orthopedics, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

Corresponding author: WEI Jinsong, Email: jlcwjs@163.com

Abstract: Objective To observe the changes of serum procollagen type I C-terminal propeptide (PICP), osteocalcin (BGP), and type I collagen cross-linked telopeptide (ICTP) in ovariectomized rats, as well as the expression of osteoprotegerin (OPG) and the nuclear factor κ B receptor activator factor ligand (RANKL) in bone marrow cells. **Methods** Sixteen 3-month-old female SD rats were randomly divided into 2 groups: the sham-operated control group ($n = 8$) and the ovariectomized group ($n = 8$). Osteoporosis rat model was established using bilateral ovariectomy. Bone mineral density (BMD) was measured using DXA at the 12th week after the surgery. Serum concentrations of PICP, BGP and ICTP were measured using ELISA method. The expression of OPG and RANKL mRNA in bone marrow cells was measured using qRT-PCR. **Results** Compared to those in sham group, BMD of the lumbar vertebrae and the femurs in ovariectomized rats decreased significantly at the 12th week after the surgery ($P < 0.01$). Serum concentrations of PICP, BGP, and ICTP increased significantly ($P < 0.01$). The expression of RANKL mRNA increased significantly ($P < 0.05$), and OPG/RANKL ratio decreased ($P < 0.01$). No significant difference was observed in expression of OPG mRNA ($P > 0.05$). **Conclusions** At the 12th week after ovariectomy, rats show the characteristics of high bone turnover ratio. OPG/RANKL/RANK system imbalance may play an important role in bone metabolism characterized by over-reaction of osteoclasts.

Key words: Ovariectomized rats; Nuclear factor κ B receptor activating factor ligand; Osteoprotegerin; Bone metabolism

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010B031600288)

作者单位: 524023 湛江市, 广东医学院附属医院骨科

通讯作者: 魏劲松, Email: jlcwjs@163.com

骨质疏松症是以骨量低下, 骨骼的显微结构退化为特征, 继而骨组织的脆性增加和骨折风险度增加的全身性骨骼系统疾病。原发性绝经后骨质疏松

症较为常见,其发病机制是由于妇女绝经后卵巢功能的衰退,体内雌激素水平下降,骨重建过程遭到破坏,骨吸收和骨形成平衡失调,导致骨量丢失。骨密度(bone mineral densist,BMD)用来衡量骨折风险和观察药物治疗效果的金标准,但是也有其局限性。骨转化标志物包括骨形成标志物骨钙素(BGP)、I型原胶原 C-端前肽(carboxyterminal propeptide of procollagen type I,PICP)和碱性磷酸酶(ALP),以及骨吸收标志物 I 型胶原交联羧基末端肽(carboxy-terminal cross-linked telopeptides of type I collagen, ICTP 或 CTX-I)。其不依赖于 BMD,且能反映骨折风险度和药物治疗效果。OPG/RANKL/RANK 系统调节破骨细胞分化及其功能及其重要,体外研究表明雌激素能通过雌激素受体 α 刺激大鼠骨髓基质细胞高表达骨保护素(osteoprotegerin, OPG)^[1]。为了进一步探讨 OPG/RANKL/RANK 调节系统在活体内对雌激素缺乏所导致的骨质疏松作用,我们观察了去卵巢大鼠骨髓细胞 OPG 及核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)基因表达变化趋势。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

3 月龄健康 SPF 级雌性 SD 大鼠 16 只,体重 245 ~ 300 g,购于广东省医学实验动物中心,许可证号 SCXK(粤)2008-0002,饲养于室温 24℃ ~ 26℃,相对湿度 45% ~ 65%,12 h 间隔照明环境中。实验过程对动物的处置符合中华人民共和国科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》要求,按照体重标号随机将大鼠分为假手术组和手术组,每组各 8 只。

1.2 建立去势大鼠骨质疏松模型

7% 水合氯醛 0.5 ml/100 g 腹腔注射,麻醉成功后取侧卧位。于肋弓下缘 1.0 cm、脊柱旁 1.0 cm 处脱毛后常规消毒,无菌条件下取双侧纵行长约 1.0

cm 切口,切开皮肤和肌肉,进入腹腔。无齿镊轻轻将乳白色脂肪组织提出腹腔,翻开找到粉红色“菜花样”卵巢组织后钳夹并结扎切除。观察无活动性出血后将子宫及周围脂肪塞入腹腔并缝合切口。假手术组找到卵巢后保留卵巢,切除卵巢周围等量脂肪组织。术后平均 4 天缝线可自行脱落。各组 SD 大鼠给予标准普通饲料喂养,分笼饲养,每笼两只自由活动,饲养环境和饲料相同。

1.3 标本收集以及处理

术后 12 周将所有大鼠 7% 水合氯醛 0.5 ml/100 g 腹腔注射麻醉后右心室采血处死。血液放于 4℃ 冰箱静置 3 小时后,用离心机 2500 转/分 4℃ 离心 20 分钟,吸取上清液分装 EP 管,存放于 -80℃ 超低温冰箱保存待 ELISA 检测。大鼠处死后迅速取出右侧股骨,将表面的肌肉、韧带等组织清理干净,酒精冲洗后用无菌生理盐水漂洗 3 次,用无菌手术器械无菌条件下将股骨两端修剪,暴露骨髓腔,用 2.5 ml 一次性无菌注射器抽取 DMEM(塞默飞世尔生物化学制品有限公司,批号 NWK0495)低糖培养基 1 ml 反复冲洗骨髓腔,将细胞悬液冲入无酶 2 ml 冻存管中,放于 -80℃ 超低温冰箱保存待 qRT-PCR 检测。取处死后大鼠左侧股骨和第 4 腰椎,分离周围软组织,用生理盐水浸润的湿纱布加锡纸包裹,贮于 -20℃ 冰箱内保存待测骨密度。

1.4 大鼠血清骨转换标志物含量测定

血清标本中 PICP、ICTP 及 BGP 分别用美国 RB 分装大鼠 PICP ELISA Kit、ICTP ELISA Kit、BGP ELISA Kit 按 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.5 骨髓细胞基因检测

将冻存的骨髓细胞经液氮研磨至粉末后采用 Trizol(美国 Invitrogen 公司)提取法提取总 RNA。以 β -actin 为内参照,SYBRGreen I(美国 Biorad 公司)标记产物。SD 大鼠 OPG、RANKL 及 β -actin 特异性引物设计和合成由广州吉塞生物技术有限公司完成。

表 1 上述引物设计如下

Table 1 Details of primers

引物名称	引物序列	扩增片段长度
OPG	5' GCCCAGACGAGATTGACAGA 3' (上游)	160bp
	5' ACGGTTTTGGGAAAGTGCTA 3' (下游)	
RANKL	5' CCGTGCAAAGGCAATTACAA 3' (上游)	150bp
	5' GGATGTCGGCAGCATTGAT 3' (下游)	
β -actin	5' AGGGAAATCGTGCGTGACAT 3' (上游)	150bp
	5' AGGGAAATCGTGCGTGACAT 3' (上游)	

反应条件:95℃预变性 5 分钟,95℃变性 15 秒,60℃退火 15 秒,72℃延伸 32 秒;40 个循环(72℃32 秒收集荧光信号)。融解曲线分析:温度 60℃~95℃。以内参 β -actin 相对定量 OPG、RANKL 基因表达。

1.6 骨密度测定

将标本送于暨南大学附属华侨医院核医学科,用美国通用(GE)公司 PRODIGY LUNAR 双能 X 线骨密度仪,各股骨和腰椎摆放位置一致,扫描结果用附带的小动物软件分析。

1.7 统计学分析

统计资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 17.0 for windows 统计软件下进行处理,所有资料先行正态性和方差齐性检验,两组均数比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 实验动物数量分析

所有大鼠无脱失,未见脱毛等现象,均进入结果分析。

2.2 去卵巢大鼠骨密度变化

去卵巢 SD 大鼠 12w 后股骨骨密度较假手术组有明显下降($P < 0.01$);第 4 腰椎骨密度相对假手术组也有明显下降($P < 0.01$)。(见表 1)

表 1 两组大鼠股骨和腰椎骨密度比较($\bar{x} \pm s$, $n = 8$, g/cm^2)

Table 1 Comparison of BMD of the femurs and the lumbar spine between the two groups($\bar{x} \pm s$, $n = 8$, g/cm^2)

组别	股骨骨密度	第 4 腰椎骨密度
假手术组	0.242 ± 0.078	0.208 ± 0.137
去卵巢组	$0.182 \pm 0.098^{**}$	$0.154 \pm 0.158^{**}$

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,与假手术组比较,** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, vs. sham-operated group; ** $P < 0.01$, vs. sham-operated group

2.3 去卵巢大鼠血清骨转换标志物变化

去卵巢组血清中反映骨形成的骨转换标志物 PICP 和 BGP 含量较假手术组明显增高($P < 0.01$),反映骨吸收的骨转换标志物 ICTP 含量较假手术组也明显增高($P < 0.01$)。(见表 2)

2.4 去卵巢大鼠骨髓细胞 OPG 和 RANKL 基因表达变化

大鼠去卵巢后 12 周后骨髓细胞 RANKL 的 mRNA 相对表达量为(1.911 ± 0.390),相对假手术组(1.426 ± 0.260),升高差异有统计学意义($P < 0.05$)。但是 OPG 的 mRNA 去卵巢组基因的相对表达量是(3.111 ± 0.998),与假手术组($4.405 \pm$

2.625)相比,并无统计学差异($P > 0.05$)。而将各大鼠 OPG 相对表达量与 RANKL 相对表达量算出比值后进行统计学分析,去卵巢组 OPG/RANKL 为(1.604 ± 0.306),相对假手术组(2.938 ± 1.141),明显降低($P < 0.01$)。(见图 1 和图 2)

表 2 两组大鼠血清 PICP、BGP、ICTP 比较($\bar{x} \pm s$, $n = 8$ $\mu g/L$)

Table 2 Comparison of serum PICP, BGP, and ICTP between the two groups($\bar{x} \pm s$, $n = 8$ $\mu g/L$)

组别	血清 PICP	血清 BGP	血清 ICTP
假手术组	7.590 ± 1.238	916.618 ± 55.995	6.204 ± 0.477
去卵巢组	$9.620 \pm 1.038^{**}$	$1047.049 \pm 70.552^{**}$	$7.190 \pm 0.696^{**}$

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,与假手术组比较,** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, vs. sham-operated group; ** $P < 0.01$, vs. sham-operated group

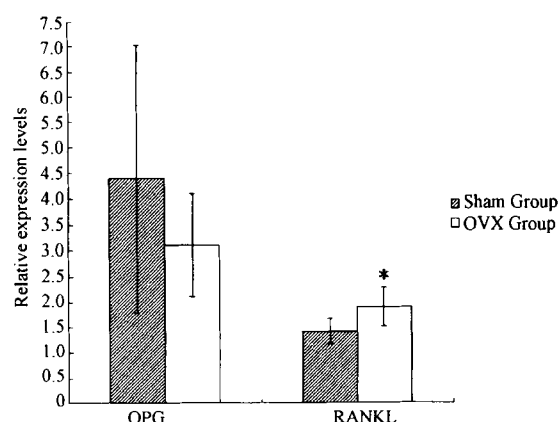


图 1 骨髓细胞 OPG 和 RANKL mRNA 表达变化

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$

Fig. 1 Changes of RANKL and OPG mRNA expression in bone marrow cells

* $P < 0.05$, vs. sham-operated group

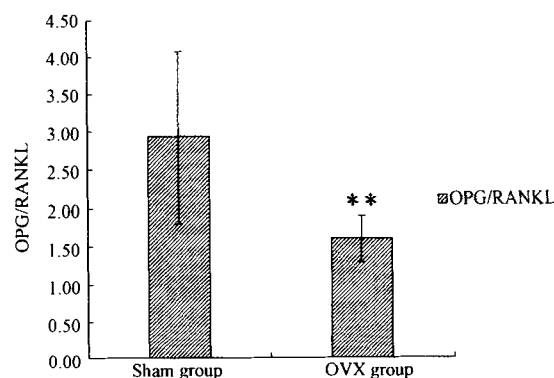


图 2 骨髓细胞 OPG 与 RANKL 比率变化

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$

Fig. 2 Changes of OPG and RANKL ratio in bone marrow cells

** $P < 0.01$, vs. sham-operated group

3 讨论

去卵巢大鼠骨质疏松模型最早于 19669 年由 Savill 首先建立,现已成为研究绝经后骨质疏松症的经典动物模型^[2]。美国食品与药物管理局(FDA)和世界卫生组织(WTO)也推荐运用此造模方式研究绝经后骨质疏松症^[3]。但不同月龄段的大鼠骨组织代谢特点不尽相同,选择合适阶段的大鼠对绝经后骨质疏松的针对性实验研究十分关键。雌性大鼠 2~3 月龄已经性成熟,12 月龄后进入老年期,骨重建周期为 30~40 天^[4]。本实验选取 3 月龄大鼠去卵巢 12 周后双能 X 线吸收仪法(DXA)检测腰椎和股骨骨密度,结果去势腰椎和股骨骨密度均较正常对照组显著下降,提示手术造模成功。

DXA 是国际学术界公认诊断骨质疏松症的“金标准”,能够直接反应 BMD,但不是所有 BMD 低的人群就会发生骨折,仅仅依靠 BMD 的变化低估了骨质疏松症骨折的风险度^[5]。骨转化标志物(Bone turnover markers, BTMs)可以初步评估骨折风险及药物对体内骨代谢微环境治疗的影响,且不依赖于 BMD,被骨质疏松诊疗指南所推荐。但 BTMs 会受年龄、性别、绝经时期、疾病、运动量、季节和样品采集时间等因素影响,有其局限性^[6]。评估骨形成的生化指标主要有 BGP、PICP、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP),反映骨吸收的主要标志物是 ICTP。在临床和实验研究中,骨转换标志物 PICP、BGP 和 ICTP 等可能作为诊断和评估药物治疗效果的指标。人类女性绝经后由于雌激素缺乏,破骨细胞的骨吸收功能亢进,导致了骨吸收标志物增加。同时,为弥补多个骨吸收所形成的陷窝,成骨细胞的骨形成功能反馈性增强,结果导致骨形成标志物也会增加。在本实验中,我们观察到大鼠去势 12 周后血清中 PICP、BGP、ICTP 水平都比假手术组升高($P < 0.01$)。说明去卵巢后雌激素的缺乏会导致骨转化率增高,这与国外动物实验研究相符合^[7,8],也与人类骨质疏松症表现的骨吸收过强而骨形成相对不足所致的骨转换失衡相一致^[9,10]。

绝经后骨质疏松症破骨功能明显亢进,而破骨作用离不开破骨细胞的分化与成熟。在巨噬/单核细胞系分化成破骨细胞及破骨细胞激活的过程中, RANKL 与核因子 κ B 受体活化因子(receptor activator of NF- κ B, RANK)相结合发挥着重要的作用。而 OPG 伴演假受体角色竞争性抑制 RANK 和 RANKL 的结合从而阻止巨噬/单核细胞系向破骨细

胞的分化和阻止破骨细胞激活,达到抑制骨吸收的目的^[11]。骨髓细胞中造血细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、基质细胞和成骨细胞表面表达 RANKL,而 OPG 由成骨细胞和基质细胞产生^[12,13]。我们实验 qRT-PCR 结果显示 RANKL 和 OPG 定位表达于骨髓细胞,这与国外研究一致^[12-14]。qRT-PCR 分析显示与假手术组比较,去卵巢雌性大鼠组骨髓细胞 RANKL mRNA 表达量降低($P < 0.05$)。破骨分化指标 OPG/RANKL 比率,去卵巢三个月后明显下降($P < 0.01$)。但是 OPG mRNA 表达量去卵巢后无显著下降($P > 0.05$)。说明在去卵巢大鼠骨质疏松中,骨髓细胞主要是 RANKL 的表达增强,致使 OPG/RANKL 比率下降,导致造血干细胞向破骨细胞分化增强及破骨细胞激活增加,最终导致破骨功能亢进,骨吸收增加。这与我们实验的血清骨转换标志物变化是相一致的。实验表明在 3 月龄大鼠去势 12 周后,也表现出与人类绝经后相似的 OPG/RANKL/RANK 系统失衡、破骨细胞功能亢进为特点的骨代谢^[15]。

现阶段,许多绝经后骨质疏松的研究的评价大多集中在以 BMD 变化为“金标准”的基础上,但是雌激素减少所致的一系列体内生理生化等代谢的变化也不可忽视,正是由于体内骨代谢的失衡导致 BMD 的下降,最终被检测诊断出骨质疏松。因此对于研究绝经后骨质疏松症来说,好的去势骨质疏松动物模型不能仅仅达到骨量下降,能否模拟人类骨代谢的特点同样重要。本实验经 3 月龄大鼠双侧卵巢切除 12 周后,通过对血清 PICP、BGP、ICTP 含量的对比,表明大鼠去卵巢后主要表现为破骨功能亢进,骨吸收大于骨形成的高转换骨代谢特点。其中, OPG/RANKL/RANK 系统失衡机制起重要作用。由于骨髓细胞 RANKL mRNA 的表达增高造成 OPG 和 RANKL 的基因表达比例失衡,整个平衡系统被打破,破骨细胞功能亢进,最终导致中轴承重骨骨量丢失。造模理想,能够成功模仿与人类相似的绝经后骨质疏松症高转换性骨代谢的特点,为今后药物开发和机理研究等实验提供了模型理论基础。但骨质疏松本身就是个复杂的过程,其机制目前尚未完全了解,仍需我们进一步的研究。

【参 考 文 献】

- [1] Saika M, Inoue D, Kido S, et al. 17beta-estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor-alpha. *Endocrinology*, 2001, 142(6):

- 2205-2212.
- [2] Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner*, 1991, 15(3): 175-191.
- [3] Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, et al. FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone*, 1995, 17(4): 125-133.
- [4] 王立童,詹红生.原发性骨质疏松动物模型的复制及其机制. *亚太传统医药*, 2009, 5(8): 178-180.
- [5] Lee J, Vasikaran S. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis. *Ann Lab Med*, 2012, 32(2): 105-112.
- [6] Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O. et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int*, 2011, 22(2): 391-420
- [7] Kim TH, Jung JW, Ha BG, et al. The effects of luteolin on osteoclast differentiation, function in vitro and ovariectomy-induced bone loss. *J Nutr Biochem*. 2011 Jan;22(1):8-15.
- [8] Yoon KH, Cho DC, Yu SH, et al. The Change of Bone Metabolism in Ovariectomized Rats : Analyses of MicroCT Scan and Biochemical Markers of Bone Turnover. *J Korean Neurosurg Soc*, 2012, 51(6):323-327.
- [9] Yasumizu T, Okuno T, Fukada Y, et al. Age-related changes in bone mineral density and serum bone-related proteins in premenopausal and postmenopausal Japanese women. *Endocr J*, 2000, 47(2): 103-109.
- [10] Claudon A, Vergnaud P, Valverde C, et al. New automated multiplex assay for bone turnover markers in osteoporosis. *Clin Chem*, 2008, 54(9): 1554-1563.
- [11] Trouvin AP, Goëb V. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss. *Clin Interv Aging*, 2010, 19(5):345-354.
- [12] Kartsogiannis V, Zhou H, Horwood NJ, et al. Localization of RANKL (receptor activator of NF kappa B ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskelatal tissues. *Bone*, 1999, 25(5): 525-534.
- [13] Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli F, et al. Detection of osteoprotegerin (OPG) and its ligand (RANKL) mRNA and protein in femur and tibia of the rat. *J Mol Histol*, 2005, 36(1-2): 59-67.
- [14] Tanaka H, Mine T, Ogasa H, et al. Expression of RANKL/OPG during bone remodeling in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 411(4):690-694.
- [15] Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest*, 2003, 111(8): 1221-1230.

(收稿日期:2012-08-23)

(上接第 250 页)

- [5] Battaglini R, Kim D, Fu J, et al. c-myc is required for osteoclast differentiation. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(5): 763-773.
- [6] Sasaki N, Kusano E. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites. Measurement and clinical role of OPG. *Clin Calcium*, 2006, 16(6): 956-962.
- [7] Parfitt AM. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone*, 2002, 30(1): 5-7.
- [8] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan C, et al. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997, 89(2): 309-319.
- [9] Gori F, Hofbauer LC, Dunstan CR, et al. The expression of osteoprotegerin and RANK ligand and the support of osteoclast formation by stromal-osteoblast lineage cells is developmentally regulated. *Endocrinology*, 2000, 141(12): 4768-4776.
- [10] Tsuda E, Goto M, Mochizuki SI, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *J Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, 234(1): 137-142.
- [11] Ann E. Kearns, Sundeep Khosla and Paul J. Kostenuik. Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand and Osteoprotegerin Regulation of Bone Remodeling in Health and Disease. *Endocrine Reviews*, 2008, 299(2): 155-192.
- [12] 王信,汪洋,张健. RANK_RANKL 在假体松动中的分子机制研究与探讨[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2009, 15(9): 680-684. Wang X, Wang Y, Zhang J. Effects of RANK/RANKL signal activation on differentiation and apoptosis of osteoclast. *Chin J Osteoporos*, 2009, 15(9): 680-684.
- [13] 王信,汪洋,朱勇军,等. 诱导小鼠破骨前体细胞成熟分化的实验条件探讨[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2011, 17(3): 190-194. Wang X, Wang Y, Zhu Y J, et al. Study on experimental conditions of mouse osteoclast precursor cell differentiation. *Chin J Osteoporos*, 17(3): 190-194.

(收稿日期:2012-08-17)

作者: 魏劲松, 王键, 龚颜, 曾荣
作者单位: 广东医学院附属医院骨科, 湛江市, 524023
刊名: 中国骨质疏松杂志 ISTIC
英文刊名: Chinese Journal of Osteoporosis
年, 卷(期): 2013, 19(3)

参考文献(15条)

1. Saika M; Inoue D; Kido S 17beta-estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor-alpha 2001(06)
2. Kalu DN The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss 1991(03)
3. Thompson DD; Simmons HA; Pirie CM FDA guidelines and animal models for osteoporosis 1995(04)
4. 王立童; 詹红生 原发性骨质疏松动物模型的复制及其机制 2009(08)
5. Lee J; Vasikaran S Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis 2012(02)
6. Vasikaran S; Eastell R; Bruyère O Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards 2011(02)
7. Kim TH; Jung JW; Ha BG The effects of luteolin on osteoclast differentiation, function in vitro and ovariectomy-induced bone loss 2011(01)
8. Yoon KH; Cho DC; Yu SH The Change of Bone Metabolism in Ovariectomized Rats: Analyses of MicroCT Scan and Biochemical Markers of Bone Turnover 2012(06)
9. Yasumizu T; Okuno T; Fukada Y Age-related changes in bone mineral density and serum bone-related proteins in premenopausal and postmenopausal Japanese women 2000(02)
10. Claudon A; Vergnaud P; Valverde C New automated multiplex assay for bone turnover markers in osteoporosis 2008(09)
11. Trouvin AP; Go(e)b V Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss 2010(05)
12. Kartsogiannis V; Zhou H; Horwood NJ Localization of RANKL (receptor activator of NF kappa B ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskelatal tissues 1999(05)
13. Silvestrini G; Ballanti P; Patacchioli F Detection of osteoprotegerin (OPG) and its ligand (RANKL) mRNA and protein in femur and tibia of the rat 2005(1-2)
14. Tanaka H; Mine T; Ogasa H Expression of RANKL/OPG during bone remodeling in vivo 2011(04)
15. Eghbali-Fatourehchi G; Khosla S; Sanyal A Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women 2003(08)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201303003.aspx