

联合甲状旁腺激素和普萘洛尔对人成骨细胞增殖及 OPG 和 RANKL mRNA 表达的影响

李伟 高飞* 杨静

山西医科大学第一医院内分泌科,山西 太原 030001

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2013) 11-1123-07

摘要: **目的** 联合甲状旁腺激素(rhPTH1-34)和普萘洛尔(PRO)处理体外培养的人松质骨源性成骨细胞(HOB),观察其对成人成骨细胞增殖及骨保护素(OPG)和核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)基因表达的影响,探讨其对骨代谢影响的可能机制。**方法** (1)以成人髂骨和股骨颈部松质骨为原料,分离培养原代人成骨细胞并对其鉴定。(2)以人成骨细胞为体外实验模型,固定浓度 rhPTH₁₋₃₄ (50 ng/ml)和不同浓度 PRO(0.1 μ M、1 μ M、10 μ M)分别及联合刺激体外培养的人成骨细胞 72 h 后,采用 CCK-8 法检测细胞增殖能力,用实时荧光定量 PCR 法检测成骨细胞 OPG 和 RANKL 基因的表达。**结果** rhPTH₁₋₃₄ 和 PRO 单独给药均可促进成骨细胞增殖($P < 0.05$),在 PRO 10 μ M 时成骨细胞 OPG 基因的表达量增加($P < 0.05$),且大于 RANKL 基因的表达量;相反,联合 rhPTH₁₋₃₄ 和 PRO 给药抑制成骨细胞增殖($P < 0.05$),并抑制成骨细胞 OPG 和 RANKL 基因的表达($P < 0.05$),且随着 PRO 浓度的增加,OPG 和 RANKL 基因表达均呈下降趋势。**结论** rhPTH₁₋₃₄ 和 PRO 单独给药均可促进成骨细胞增殖,而两者联合给药后却抑制了成骨细胞的增殖,可能是通过调控 OPG 和 RANKL 基因的表达来实现的。

关键词: 甲状旁腺素;普萘洛尔;人成骨细胞;骨保护素;核因子 κ B受体活化因子配体

Effect of parathyroid combined with propranolol on the proliferation of human osteoblasts and the mRNA expression of OPG and RANKL

LI Wei, GAO Fei, YANG Jing

Department of Endocrinology, the First Teaching Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: GAO Fei, Email: gaofxixi@126.com

Abstract: **Objective** To observe the effect of parathyroid (rhPTH₁₋₃₄) combined with propranolol (PRO) on the proliferation of human osteoblasts (HOB) in vitro and the mRNA expression of OPG and RANKL, and to investigate the possible mechanism in bone metabolism. **Methods** The cancellous bone of the ilium and the femoral neck from adult patients were collected. Then, primary human osteoblasts were isolated, cultured in vitro, and identified. Human osteoblasts were treated with a 50 ng/ml of rhPTH₁₋₃₄ combined with different concentrations (0.1 μ M, 1 μ M, and 10 μ M) of propranolol. After 72 hours, cell proliferation was detected using CCK-8, and the mRNA expression of OPG and RANKL was detected using real time quantitative PCR. **Results** The monotherapy of rhPTH₁₋₃₄ or PRO could promote the proliferation of osteoblasts ($P < 0.05$), and the expression of OPG mRNA increased with 10 μ M PRO ($P < 0.05$), which was higher than that of RANKL mRNA. In the contrary, combined treatment of rhPTH₁₋₃₄ and PRO inhibited cell proliferation ($P < 0.05$) and the mRNA expression of OPG and RANKL ($P < 0.05$). Along with the increase of PRO concentration, the mRNA expression of both OPG and RANKL showed a tendency of decrease. **Conclusion** The monotherapy of rhPTH₁₋₃₄ or PRO can promote the proliferation of osteoblasts, while the combined treatment can inhibit the proliferation of osteoblasts, which may act through regulating the mRNA expression of OPG and RANKL mRNA.

Key words: Parathyroid hormone; Propranolol; Human osteoblast; Osteoprotegrin (OPG); Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种骨量减少和骨组织微结构异常为特征,导致骨骼脆性增加和

易发骨折的代谢性骨病。目前,骨质疏松症已被认为是影响人类死亡、机体功能和增加社会成本的最重要的慢性疾病之一。近年来,防治骨质疏松症药物治疗最重要的进展,就是骨形成促进剂的出现,其

*通讯作者:高飞,Email:gaofxixi@126.com

中代表性药物就是甲状旁腺激素类似物(rhPTH₁₋₃₄)。在绝经后女性中,间歇小剂量注射 PTH₁₋₃₄能够增加脊柱、髌部和全身骨密度,降低椎体和非椎体骨折风险^[1]。骨转换标志物和骨组织形态计量学研究已表明,PTH 能够增加骨重建,也能诱导新生骨的塑建^[2]。可见,如果能够使用抗骨吸收药物,阻断 PTH 介导的骨吸收作用,那么 PTH 介导的骨形成作用将会进一步提高。因此,有学者研究发现,相对于单独雌激素替代(HRT)的绝经后女性,联合 HRT 和间歇小剂量 PTH 治疗能够明显增加全身骨矿含量,降低椎体骨折发生率^[3]。此外,有研究者试图联合双膦酸盐与 PTH 治疗严重骨质疏松症患者,以期取得最大的治疗效果,但结果并不支持此种疗法,可能的原因是双膦酸盐对骨吸收的抑制作用,遏制了 PTH 的促成骨作用^[4,5]。

最近研究表明,神经内分泌系统在骨重建中发挥重要的作用^[6,7]。其中,β 肾上腺素能信号在骨代谢中起关键作用。既往研究已表明,骨膜和骨上均有交感神经纤维分布,聚合酶链反应(RT-PCR)结果也证明人成骨细胞表面表达 β2 肾上腺素能受体(β2AR)。交感神经系统通过激活成骨细胞上的 β2AR,抑制成骨细胞增殖和骨形成,同时通过增加 RANKL 的表达而刺激骨吸收。因此,β 受体阻滞剂凭借其抑制骨吸收而又不抑制骨形成的特殊作用,可能会对骨质疏松症和骨折愈合具有潜在的独特治疗作用。非选择性的 β 受体阻断剂普萘洛尔(Propranolol,PRO)已在一些动物实验和临床试验中被证明能够降低骨折发生率^[8,9]。

因此,我们试图通过本实验,观察普萘洛尔能否通过抑制骨吸收而与 PTH 介导的骨形成起协同作用,以期骨质疏松症的临床治疗提供一种新的策略。

1 材料与方法

1.1 主要实验用品及化学试剂

PTH₁₋₃₄(购自上海吉尔生化有限公司),普萘洛尔、抗坏血酸(购自美国 Sigma 公司),DMEM/F12(购自 HyClone),胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素链霉素、PBS、CCK-8(购自武汉博士德公司),碱性磷酸酶染液、碱性磷酸酶活性试剂盒(购自南京建成生物工程研究所),茜素红染液(购自赛业生物科技公司),寡核苷酸引物、Trizol RNA 提取试剂、dNTP、DNA 聚合酶、逆转录酶、β-actin 引物(购自上海生工生物工程公司),SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)(购自大连宝生物工程有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 人成骨细胞(HOB)培养:参照 Gallagher JA 方法^[10]。外科手术取成人松质骨(20~50 岁无代谢性骨病的骨折患者的髌骨或股骨颈)2 g,去除外膜结缔组织,剪成 2 mm³ 大小骨粒,放入锥形瓶中,加入 10 mlPBS 震荡冲洗至少 3 次,直至骨粒发白,然后将骨粒移至 25 cm² 培养瓶中,骨粒间距离保持 1 cm 接种,加入 1 ml 含 15% 胎牛血清(FBS)的 DMEM/F12 培养基,将培养瓶倒置培养在 37℃,5% CO₂ 条件下 4 小时,缓慢翻正培养瓶,再加入 2 ml 含 15% FBS 的 DMEM/F12 培养基,继续在 37℃,5% CO₂ 条件下培养,1 周后更换培养基,注意不要移动骨片,此后每周换液 2 次,约 20~30 d 即可得到骨粒贴壁法所获得的成骨细胞。

1.2.2 人成骨细胞鉴定:将原代 HOB 细胞用 0.25% 胰酶消化,以 3 × 10⁵/ml 密度接种于含盖玻片的 6 孔板中,每隔 3 天 DMEM/F12 培养基(含 15% FBS、VitC50 μg/ml、10nM β-甘油磷酸钠)换液。约在 20~30 d 时,用通过相差显微镜形态学观察、茜素红钙结节染色法和碱性磷酸酶染色法对成骨细胞进行鉴定(具体方法参照说明书)。

1.2.3 实验方案:按照下列方案培养 3 个周期,每个周期 24 h,分别在 6 h 末和 24 h 末换液,收集第 3 周期 24 末的细胞。具体方案见表 1。

表 1 实验方案
Table 1 Experimental Scheme

组别	前 6 h	后 18 h
对照组	DMEM/F12	DMEM/F12
PTH 组	PTH ₁₋₃₄ 50ng/ml + DMEM/F12	DMEM/F12
PRO 组	PRO 0.1μmol/L + DMEM/F12 PRO 1μmol/L + DMEM/F12 PRO 10μmol/L + DMEM/F12	PRO 0.1μmol/L + DMEM/F12 PRO 1μmol/L + DMEM/F12 PRO 10μmol/L + DMEM/F12
PTH + PRO 组	PTH ₁₋₃₄ 50ng/ml + PRO 0.1μmol/L + DMEM/F12 PTH ₁₋₃₄ 50ng/ml + PRO 1μmol/L + DMEM/F12 PTH ₁₋₃₄ 50ng/ml + PRO 10μmol/L + DMEM/F12	PRO 0.1μmol/L + DMEM/F12 PRO 1μmol/L + DMEM/F12 PRO 10μmol/L + DMEM/F12

1.2.4 不同实验组对人成骨细胞增殖影响的测定 (CCK-8 法):取第 4 代成骨细胞制备细胞悬液,按照每孔 5000 个细胞接种于 96 孔板,待细胞贴壁(细胞接种后 2~4 h)后,按照表 1 实验方案给药,然后放入培养箱中培养。3 个周期末时,每孔加入 CCK-8 10 μ l,轻轻摇匀,继续孵育 2 个小时,在 450 nm 波长处检测各孔吸光度值(OD 值)。以上实验每组 5 孔重复。

1.2.5 不同实验组对人成骨细胞 OPG 及 RANKL mRNA 表达的影响:按照表 1 实验方案给药 3 个周期后,弃去培养基应用 Trizol 法提取细胞总 RNA。逆转录反应条件参照试剂盒说明。PCR 反应体系为: cDNA5.0 μ l, SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (Tli RNaseH Plus)25 μ l,上下游引物各 0.5 μ l,用 DEPC-H₂O 补足至 50 μ l 体积。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变形 30 s,95 $^{\circ}$ C 变形 5 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 40 个循环。以 β -actin 为管家基因,对照孔为校正值,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因表达的相对变化。以上实验重复 3 次,每组设 3 孔重复。引物序列见表 2。

表 2 OPG 和 RANKL 的引物序列

Table 2 Primer sequences of OPG and RANKL		
扩增基因	引物序列	扩增长度
OPG	5'-GGCAACACAGCTCACAAGAA-3'	117bo
	5'-TGACCTCTGTGAAAACAGCG-3'	
RANKL	5'-AGAGCGCAGATGGATCCTAA-3'	180bp
	5'-AAGGAGCTGTGAAAAGGAA-3'	
β -actin	5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3'	184bp
	5'-AGCACTGTGTTGCCGTACAG-3'	

1.3 统计学处理

所有数据均以数据软件包 SPSS13.0 处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较分别采用 t 检验或单因素方差分析,采用析因分析的方法进行两因素交互作用分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。各种统计图采用 Sigmaplot10.0 软件设计。

2 结果

2.1 人成骨细胞的形态及鉴定

组织块法分离纯化的人成骨细胞贴壁前呈球形,贴壁后呈不规则形、锥形或梭形,细胞表面有多个短突起,胞核为单个核,呈圆形或椭圆形,还可见透明折光结节为钙矿化结节(见图 1)。骨钙素免疫组化染色后,多数细胞胞浆可见弥散的棕色,并可见红棕色颗粒(见图 2)。茜素红染色后呈大小形态不一的橘红红色结节(见图 3)。上述特征均符合典型

人成骨细胞特征。

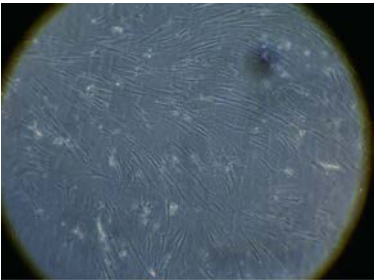


图 1 成骨细胞镜下形态

Fig. 1 Morphology of HOB under microscope



图 2 骨钙素免疫组化染色

Fig. 2 Immunohistochemical staining of osteocalcin

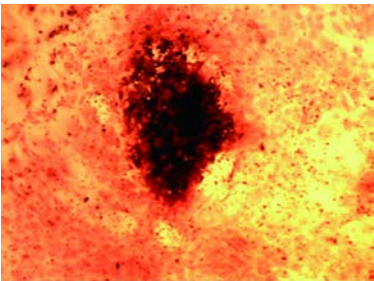


图 3 茜素红染色

Fig. 3 Alizarin red staining

2.2 不同实验组对人成骨细胞的增殖能力的影响 (CCK-8 法)

由图 4 可见,PTH 组与对照组相比,其 OD 值显著高于对照组,差异具有统计学意义。采用 LSD 法进行两两比较,PRO 各浓度组 OD 值之间差异无统计学意义,但均高于对照组,差异有统计学意义。由表 3 可见,PTH 组以及 PTH 与 PRO 的 OD 值的交互作用差别有统计学意义。由图 5 可见,当无 PTH 时,随着 PRO 浓度增加,OD 值呈上升趋势;而当同时加入 PTH 时,随 PRO 浓度增加,OD 值反而呈下降趋势,表明两因素具有拮抗作用。

2.3 不同实验组对人成骨细胞 OPG 和 RANKL 基因表达的影响

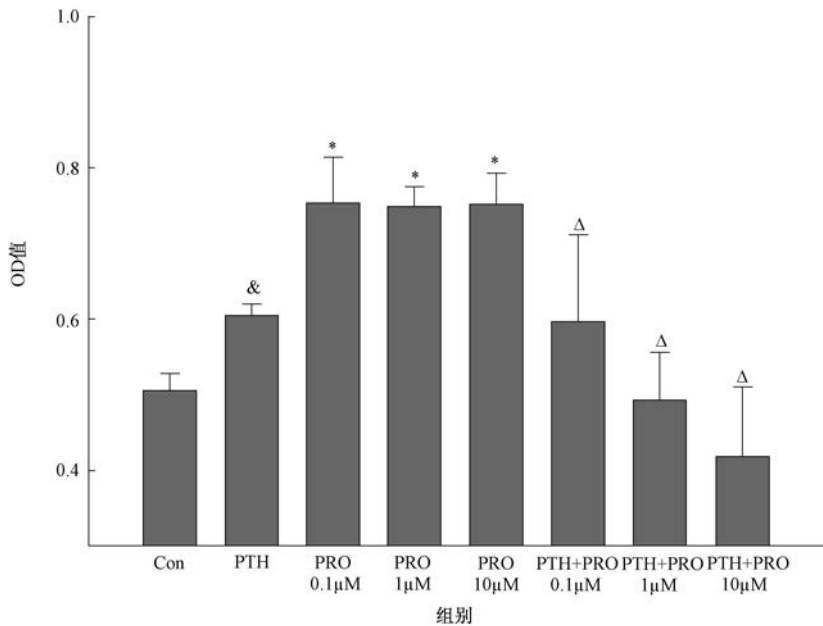


图 4 不同实验组对人成骨细胞的增殖能力 (OD 值) 的影响
Fig. 4 Effect of different treatments on the proliferation (OD value) of HOB in different experimental groups.

注:Con 为对照组,PRO 为普萘洛尔组,PTH + PRO 为联合用药组,& 代表 PTH 组与对照组比较,OD 值显著升高 ($P < 0.05$); * 代表 PRO 不同浓度组与对照组相比较,OD 值显著升高 ($P < 0.05$); Δ 代表联合用药组与 PTH 组比,OD 值降低 ($P < 0.05$)。

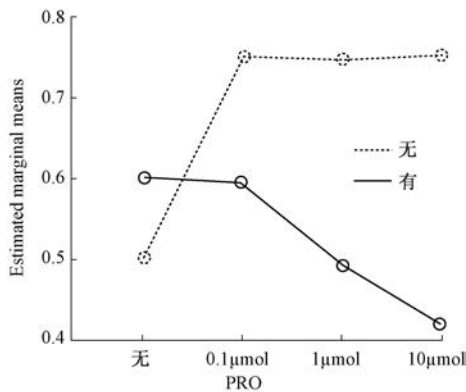


图 5 72hCCK8 增殖结果(OD 值)
两因素析因分析边际均数图

Fig. 5 The marginal mean figure of two-factor factorial analysis of proliferation (OD value) using CCK8 at 72 h

表 3 CCK8 增殖结果(OD 值)两因素析因分析
Table 3 The two-factor factorial analysis of proliferation using CCK8 (OD value)

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
PTH	0.26	1	0.26	63.76	<0.001
PRO	0.08	3	0.03	6.52	<0.001
PTH * PRO	0.27	3	0.09	21.84	<0.001
Error	0.13	32	0.00		

表达量校正为 1,采用 LSD 法进行两两比较,PRO 组与对照组相比,当 PRO 浓度为 0.1 μM 和 1 μM 时,OPG 和 RANKL mRNA 表达量与对照组无统计学差异,当 PRO 浓度为 10 μM 时,RANKL mRNA 表达量与对照组无统计学差异,OPG mRNA 表达量较对照组显著增高,有统计学差异。由表 4 可见,PTH 组以及 PTH 与 PRO 的 OPG mRNA 表达量的交互作用差别有统计学意义。由图 7 可见,当无 PTH 时,随着 PRO 浓度增加,OPG mRNA 表达量呈上升趋势;而当同时加入 PTH 时,随 PRO 浓度增加,OPG mRNA 表达量反而呈下降趋势,表明两因素具有拮抗作用。由表 5 可见,PTH 组以及 PTH 与 PRO 的 RANKL mRNA 表达量的交互作用差别有统计学意义。由图 8 可见,当无 PTH 时,随着 PRO 浓度增加,RANKL 含量基本不变;而当同时加入 PTH 时,随 PRO 浓度增加,RANKL 含量反而呈下降趋势。

表 4 OPG mRNA 两因素析因分析

Table 4 The two-factor factorial analysis of OPG mRNA

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
PTH	3.795	1	3.795	194.646	<0.001
PRO	35.260	3	11.753	602.775	<0.001
PTH * PRO	46.300	3	15.433	791.502	<0.001
Error	0.312	16	0.019		

由图 6 可见,对照组 OPG 和 RANKL mRNA 的

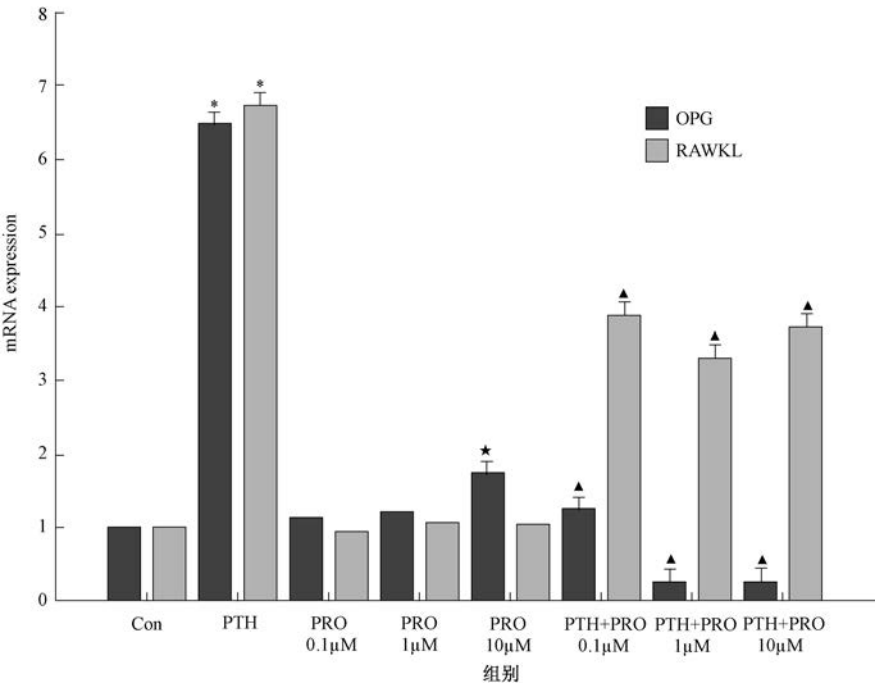


图 6 不同实验组对人成骨细胞 OPG 和 RANKL mRNA 表达量的影响

Fig. 6 Effect of different treatments on the mRNA expression of OPG and RANKL of HOB in different experimental groups

注：* 代表 PTH 组与对照组相比,OPG 和 RANKL mRNA 表达显著升高($P < 0.05$)；* 代表 PRO 10μM 组与对照组相比,OPG mRNA 表达显著升高($P < 0.05$)；▲代表联合用药组与 PTH 组相比,OPG 和 RANKL mRNA 表达均显著下降($P < 0.05$)。

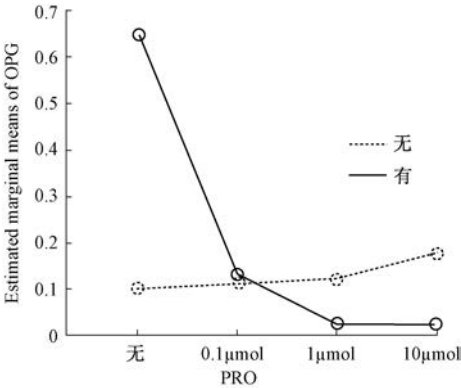


图 7 OPG mRNA 两因素析因分析边际均数图

Fig. 7 The marginal mean figure of two-factor factorial analysis of OPG mRNA

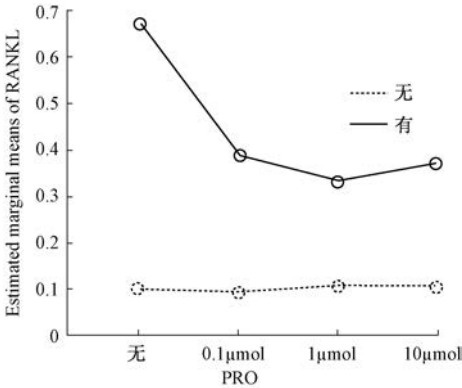


图 8 RANKL mRNA 两因素析因分析边际均数图

Fig. 8 The marginal mean figure of two-factor factorial analysis of RANKL mRNA

表 5 RANKL mRNA 两因素析因分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
PTH	69.146	1	69.146	2 627.588	<0.001
PRO	10.884	3	3.628	137.862	<0.001
PTH * PRO	11.311	3	3.770	143.277	<0.001
Error	0.421	16	0.026		

3 讨论

骨质疏松症是一种骨量减少和骨组织微结构异常为特征,导致骨骼脆性增加和易发骨折的代谢性骨病。尽管目前存在多种治疗方法,但是骨质疏松症仍然存在诊断和治疗的不足,造成巨大的直接和

间接经济损失,使得丧失生产能力。近年来,骨质疏松症的治疗取得了较大的进展,但是目前的治疗药物主要是基于抑制骨吸收,如双膦酸盐类、雌激素、选择性雌激素受体剂、降钙素、雷奈酸锶,虽然各种药物之间作用机制不尽相同,但是抑制破骨细胞介导的骨吸收是它们最终的共同通路,它们的疗效均有限,部分原因就是它们仅针对骨吸收而对骨形成无显著作用^[11]。

rhPTH₁₋₃₄作为目前唯一的骨形成促进剂,可以显著刺激骨形成,增加骨量和骨密度,继而极大程度降低了骨折发生率。同时,它还能够增加骨转换,导致皮质骨骨吸收的增加,这一点在甲状旁腺功能亢进症患者身上已得到充分证明^[12]。同样地,接受 PTH 治疗的患者中,皮质骨骨密度变化很小。因此,联合骨吸收抑制剂和 PTH 有可能降低皮质骨的骨转换,促进骨形成作用。最初有研究者试图联合双膦酸盐和 PTH 治疗严重骨质疏松症患者,以取得最大疗效,但结果并不完全支持此种疗法,可能的原因是双膦酸盐对骨吸收的抑制作用,遏制了 PTH 的促成骨作用。而另一项临床试验表明,如果采用序贯疗法(即先使用 PTH 治疗再联合双膦酸盐治疗),可能有效提高全身骨密度^[13]。此外,有动物实验和临床试验表明,联合 PTH 和雷洛昔芬治疗较 PTH 单药治疗的骨形成作用更强^[14],而联合 HRT 和 PTH 可以降低椎体骨折发生率^[15]。

近年来,有研究认为交感神经对骨代谢具有分解效应,而且可能是通过成骨细胞上 $\beta 2AR$ 所介导^[16]。体外研究显示,肾上腺素能受体激动剂能够刺激小鼠颅盖骨的骨吸收。有研究进一步证明,全身应用 β 肾上腺素能受体激动剂导致骨形成降低和骨量减少,而应用非选择性 β 受体阻断剂普萘洛尔则具有相反地作用^[17]。此外,其他研究也证明,应用 β 受体阻滞剂与骨折风险降低有关,同时可能克服绝经后妇女的骨量丢失^[8,9]。因此,我们设想联合 PTH 和 PRO 作用于人成骨细胞,可能会对骨形成具有协同效应。

此外,目前研究表明,成骨细胞与破骨细胞之间的通讯主要通过 RANKL/RANK/OPG 系统。RANKL 是由前成骨细胞和成骨细胞所表达,RANK 在前破骨细胞和破骨细胞中提呈表达,RANKL 激活其受体 RANK,作用是诱导成熟破骨细胞的分化和增加破骨细胞存活。OPG 是肿瘤坏死因子受体超家族中的成员,也是 RANKL 的可溶性诱饵受体,抑制 RANKL 与 RANK 的结合^[18]。在成骨细胞中,

PTH 调节 RANKL 和 OPG 的表达,二者对于破骨细胞生成起主要作用。RANKL 属于肿瘤坏死因子超家族成员,通过与破骨细胞的造血前体细胞表面 RANK 结合,促进它们的分化与生存。RANKL 也能够刺激已经完全形成的破骨细胞。RANKL 的破骨效应可被 OPG 抑制,OPG 通过与 RANKL 结合从而阻止 RANKL 与它的受体 RANK 结合。RANKL 和 OPG 的平衡是骨形成和骨吸收过程的重要决定因子^[19]。

在我们的实验中,鉴于间歇应用 PTH 促骨形成作用已经非常明确,所以我们选择了 50ng/ml 固定剂量的 PTH,分别与不同浓度的 PRO 共同作用于人成骨细胞。我们采用 CCK-8 试剂盒检测细胞的增殖变化,结果显示:作用 3 个周期后,PTH 单药组较对照组的 OD 值增加($P < 0.05$);PRO 不同浓度组的 OD 值均高于对照组($P < 0.05$),但未见浓度依赖性($P > 0.05$),这表明普萘洛尔对于人成骨细胞具有促进增殖作用,这与既往部分文献报道一致;而两药联合作用后的 OD 值却较 PTH 组明显下降($P < 0.05$),且随着联合用药组中 PRO 浓度的增加,OD 值呈不同程度下降($P < 0.05$),呈不同程度的下降,这与我们的设想恰恰相反。而 RT-PCR 的结果也证明:PRO 10 μ M 组 OPG mRNA 表达量较对照组显著升高($P < 0.05$),其表达量高于 RANKL mRNA,说明 PRO 10 μ M 时通过刺激 OPG 促进骨合成;两药联合作用 3 个周期后,OPG 和 RANKL mRNA 的表达量均较 PTH 组下降($P < 0.05$),但联合用药组不同浓度之间无统计学差异($P > 0.05$),这与增殖实验的结果是一致的。

最近,Karsenty 实验室的研究结果显示,条件性地敲除成骨细胞上的 $\beta 2AR$ 可以导致骨量的显著增加,也进一步证明了 $\beta 2AR$ 在交感神经调节骨转换中起着关键作用^[20]。同理,我们使用非选择性的 β 受体阻断剂普萘洛尔,通过阻断 $\beta 2AR$,同样促进了人成骨细胞的增殖,而且可能是通过提高 OPG mRNA 的表达来实现的。

联合 PTH 和 PRO 处理人成骨细胞后,细胞增殖下降,且 OPG 和 RANKL mRNA 表达量均下降,这与我们最初的设想是恰恰相反的。我们的实验结果与 Ryo Hanyu 等结果类似,他们最初设想缺乏 $\beta 2AR$ 的小鼠将会阻断交感神经对骨量的负调节,进而会进一步提高 PTH 的骨合成作用,但结果实验却证明 $\beta 2AR$ 的缺乏抑制了 PTH 介导的骨合成作用,而且伴随着 PTH 靶基因的下降,其中涉及到骨基质合成

(ALP、Col1 α 1 和 BSP)、成骨细胞增殖(cyclin D1)和周期蛋白的调节(Per-1)。他们认为成骨细胞上的 β 2AR 在 PTH 介导的骨合成作用中发挥着重要作用^[21]。但 Dominique 的实验结果却与我们的相反,他们的结果提示,联合 PRO 和 PTH 治疗去卵巢小鼠,与 PTH 单药治疗相比,能够明显提高骨量和改善椎骨的骨微结构^[22]。

综上所述,我们的实验表明,联合 PRO 和 PTH 抑制了人成骨细胞的增殖、OPG 和 RANKL mRNA 的表达量,进而对骨代谢起负性调节作用,而目前关于此方面的研究结果并不一致,还需要通过进一步的实验,从不同角度验证其联合后作用效果及机制,进而为未来临床治疗骨质疏松症提供新的策略。

【参 考 文 献】

- [1] Han SL, Wan SL. Effect of teriparatide on bone mineral density and fracture in postmenopausal osteoporosis: meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Int J Clin Pract, 2012, 66(2): 199-209.
- [2] Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: the critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling[J]. J Bone Miner Res, 2005, 20:177-84.
- [3] Foqulman I, Fordham JN, et al. Parathyroid hormone (1-84) treatment of postmenopausal women with low bone mass receiving hormone replacement therapy[J]. Calcif Tissue Int, 2008, 83: 85-92.
- [4] Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, et al. The effects of parathyroid hormone and adendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis[J]. N Engl J Med, 2003, 349: 1207-15.
- [5] Khosla S. Parathyroid hormone plus alendronate—A combination that does not add up[J]. N Engl J Med, 2003, 349:1277-79.
- [6] Naqao M, Feinstein TN. Sympathetic control of bone mass regulated by osteopontin. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 17767-72.
- [7] HUANG HH, BRENNAN TC. Functional alpha1- and beta2-adrenergic receptors in human osteoblasts[J]. J Cell Physiol 2009, 220:267-75.
- [8] Graham S, Hammond-Jones D. The effect of beta-blockers on bone metabolism as potential drugs under investigation for osteoporosis and fracture healing. Expert Opin Investing Drugs [J]. 2008, 17:1281-99.
- [9] Schlienqer RG, Kraenzlin ME, Jick SS, et al. Use of beta-blockers and risk of fractures[J]. JAMA, 2004, 292:1326-32.
- [10] Gallagher JA. Human osteoblast culture[J]. Methods Mol Med,

2003, 80:3-18.

- [11] Cranney A, Guyatt G, Griffith L, et al. Metaanalyses of therapies for postmenopausal osteoporosis; IX, summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis[J]. Endocr Rev, 2002, 23:570-8.
- [12] Parisien M, Silverberg SJ, Shane E, et al. The histomorphometry of bone in primary hyperparathyroidism: preservation of cancellous bone structure[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1990, 70:930-8.
- [13] Rittmaster RS, Bolognese M, Ettinger MP, et al. Enhancement of bone mass in osteoporotic women with parathyroid hormone followed by alendronate[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85:2129-34.
- [14] Deal C, Omizo M, Schwartz EN, et al. Combination teriparatide and raloxifene therapy for postmenopausal osteoporosis: results from a 6-month double-blind placebo-controlled trial[J]. J Bone Miner Res, 2005, 20:1905-11.
- [15] Ste-Marie LG, Schwartz SL, Hossain A, et al. Effect of teriparatide rhPTH(1-34) on BMD when given to postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. J Bone Miner Res, 2006, 21:283-91.
- [16] Motyl KJ, Rosen CJ. The skeleton and the sympathetic nervous system; it's about time[J]! J Clin Endocrinol MeTab. 2012, 97:3908-11.
- [17] Moore RE, Smith 2nd CK, Bailey CS, et al. Characterization of β -adrenergic receptors on rat and human osteoblast-like cells and demonstration that β -receptor agonists can stimulate bone resorption in organ culture[J]. Bone Miner, 1993, 23:301-315.
- [18] Kanzawa M, Sugimoto T, Kanatani M, et al. Involvement of osteoprotegrin/osteogenesis-inhibitory factor in the stimulation of osteoclast formation by parathyroid hormone in mouse bone cells[J]. Eur J Endocrinol, 2000, 142: 661-4.
- [19] Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease[J]. Endocr Rev, 2008, 29:155-92.
- [20] Kajimura D, Hinoi E, Ferron M, et al. Genetic determination of the cellular basis of the sympathetic regulation of bone mass accrual[J]. J Exp Med 2011, 208:841-851.
- [21] Hanyu R, Wehbi VL, Moriya S, et al. Anabolic action of parathyroid hormone regulated by the β 2-adrenergic receptor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109:7433-8.
- [22] Prerroz DD, Bouxsein ML, Rizzoli R, et al. Combined treatment with a beta-blocker and intermittent PTH improves bone mass and microarchitecture in ovariectomized mice[J]. Bone. 2006, 39: 260-7.

(收稿日期: 2013-01-17)

联合甲状旁腺激素和普萘洛尔对人成骨细胞增殖及OPG 和 RANKL mRNA 表达的影响

作者：[李伟](#)，[高飞](#)，[杨静](#)，[LI Wei](#)，[GAO Fei](#)，[YANG Jing](#)

作者单位：[山西医科大学第一医院内分泌科, 山西太原, 030001](#)

刊名：[中国骨质疏松杂志](#)

ISTIC

英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：

2013(11)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201311004.aspx