

# 细胞因子与绝经后骨质疏松症关系的研究进展

杨明园 李超 李明\*

第二军医大学附属长海医院骨科, 上海 200433

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 06-0698-08

**摘要:** 雌激素、免疫细胞因子和骨组织的代谢三者之间具有密切而又复杂的联系。雌激素除了可直接与成骨细胞和破骨细胞上的雌激素受体结合产生生物学效应外,另一方面还可以影响骨细胞和成纤维细胞等对某些细胞因子的表达,如激活 OPG/RANK/RANKL 系统、增加 TGF- $\beta$ 、IGF-1 等的分泌;减少 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  等抑制性细胞因子的表达等。各种细胞因子之间相互作用、联系,组成复杂的调控网络,与细胞外基质一起形成骨组织发育所特需的骨微环境,它们作用于成骨细胞和破骨细胞,介导骨细胞的分化及成熟,参与正常的骨组织的代谢。因此绝经后由于雌激素的丢失,使细胞因子的表达发生改变,其在骨组织的代谢及代谢性骨病的发病中起到重要作用。

**关键词:** 绝经后骨质疏松症;雌激素;细胞因子

## Research progress of the relationship between cytokines and postmenopausal osteoporosis

YANG Mingyuan, LI Chao, LI Ming

Department of Orthopedics, the Affiliated Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: LI Ming, Email: limingch@21cn.com

**Abstract:** The relationship among estrogen, cytokines, and the metabolism of bone tissue is close but complex. Estrogen can not only produce biological effect through binding the estrogen receptors both on osteoblasts and osteoclasts, but also affect the role of the osteoblasts, osteoclasts, and fibroblasts on the production of cytokines, such as activating the OPG/RANK/RANKL system, improving the secretion of TGF- $\beta$  and IGF-1, reducing the expression of IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$ . All the cytokines are closely correlated, forming a complicated network. Together with the extracellular matrix, the cytokines provide a particular bone microenvironment in the development of the bone. The cytokines can promote the differentiation and maturity of bone cells, and regulate the bone metabolism. Because of the loss of estrogen in postmenopausal period, the expression of these cytokines has also changed, which plays an important role in the bone metabolism and the pathogenesis of metabolic bone disease.

**Key words:** Postmenopausal osteoporosis; Estrogen; Cytokines

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis PMOP)为女性绝经后的常见疾病,由于失去雌激素的保护,表现为:全身性的骨量减少及骨组织为结构的改变,以至于骨脆性增加,易导致骨折。多发生于绝经后2年以上的妇女,属于原发性骨质疏松症。大规模临床试验证实,雌激素代替治疗可以防治PMOP。研究证明,雌激素对于骨组织的保护并不是仅仅单独作用于成骨细胞或者破骨细胞,而是可以刺激多种细胞分泌细胞因子把其对于成骨细胞和破骨细胞的作用联系成复杂的网络。因此 Arron 和 Choi 将与骨细胞紧密关联的骨代谢系统和免疫系

统命名为“骨免疫学”,揭示了骨代谢系统与免疫系统之间的相互作用与内在联系,同时免疫细胞在PMOP中的作用也日益受到关注<sup>[1]</sup>。成骨细胞、单核/巨噬细胞及T细胞等及它们分泌的细胞因子为成骨细胞和破骨细胞的分化、骨组织的形成和代谢提供合适的骨微环境。在众多细胞因子中,IL-1、IL-4、IL-6、IL-8、M-CSF等可直接作用于破骨细胞,引起相应的生物学效应;而其他细胞因子则作用于成骨细胞,调节成骨细胞与破骨细胞之间的接触,间接产生效应。PMOP的发病机制较为复杂,细胞因子所组成的免疫调控网络在其中的作用机制目前还不是十分清楚。故本文对细胞因子与绝经后骨质疏松关系的研究进展作一综述。

\*通讯作者:李明,Email:Limingch@21cn.com

## 1 护骨素(OPG)

护骨素(OPG)为TNF受体超家族成员,是近年来研究的新热点,主要研究方向为护骨素(OPG)/核因子- $\kappa$ B活化因子受体(RANK)/核因子- $\kappa$ B活化因子受体配体(RANKL)系统。OPG与RANKL均由成骨细胞分泌;RANK则位于破骨细胞膜上,为含有616个氨基酸的多肽。动物实验证实,给予去卵巢大鼠注射雌激素可增加OPG的含量,结果使骨量增加而OPG基因敲除致OPG缺乏小鼠在成熟前即显示严重骨质疏松和动脉钙化。Xie等<sup>[2]</sup>对691名年龄在28~80岁健康中国妇女进行横断面研究,测量血清OPG的浓度和左髌部、前臂的BMD。发现血清OPG与BMD之间呈负相关;OPG与前臂BMD的关系在调整年龄和BMI指数后仍具有明显相关性;多元线性回归分析表明OPG可解释2.4%~4.4%的T值变化。认为在中国女性中,OPG的升高可增加患骨质疏松的风险。这一研究与动物实验并不一致,因此OPG对BMD的影响还有待进一步探索。细胞因子在PMOP中的作用是一个调控网络,其他细胞因子与OPG/RANK/RANKL系统之间有着复杂的联系。研究发现IL-1、IL-3、IL-6和TNF- $\alpha$ 等细胞因子可诱导成骨细胞表达RANKL;而IL-4、IL-5、IL-10等则可阻止RANKL信号,直接或间接抑制破骨细胞产生<sup>[3]</sup>。此外,Li等<sup>[4]</sup>对成骨细胞株MC3T3-E1进行体外实验,并用酶联免疫吸附法(ELISA)测定ALP、钙沉积、I型胶原、OPG、骨钙素及RANKL。发现成骨细胞株MC3T3-E1的骨重建与RANKL/OPG二者的比值有关。认为OPG对于骨组织的代谢的影响不是取决于OPG或是RANKL的量,而是取决于RANKL/OPG二者的比值,比值越小,与破骨细胞上RANK结合的RANKL越少导致破骨细胞分化的减少,这与Wang等<sup>[5]</sup>的研究结果一致。Weitzmanm等<sup>[6]</sup>认为,RANKL是细胞因子对于破骨细胞的生成和骨吸收的最后下游效应。

随着遗传学、分子生物学的发展,基因多态性与疾病的关系也日益被人们所重视。Shang等<sup>[7]</sup>对108名绝经前和127名绝经后年龄在43~65岁的妇女进行横断面研究,分别测量RANK、RANKL和OPG的14个基因型与腰椎、股骨的BMD。发现5种SNPs(OPG的rs6993813、rs4355801、rs1032129、rs2073618和RANK的rs3018362)与BMD有显著的相关性;风险等位基因的出现频率与其他欧洲方面的研究有所不同,但是这些风险等位基因(除了伴

有G的rs3018362型)对于BMD的影响与欧洲的研究相一致;不管在何种解剖部位,RANKL的任意一个SNPs均与BMD无关。因此他们认为OPG和RANK的基因多态性可能对BMD有影响,而RANKL则未发现有该作用,这能为更好地理解OPG/RANK/RANKL系统的基因多态性对骨代谢的影响提供依据。Paternoster等<sup>[8]</sup>,对15岁儿童面骨密度的SNPs进行队列分析,发现OPG SNP(rs4355801)、RANK SNP(rs3018362)与骨皮质骨矿物质密度(BMD<sub>c</sub>)有显著的联系,提示RANK/RANKL/OPG通路与BMD<sub>c</sub>之间的基因联系可能为这个系统如何影响骨架及皮质骨密度提供了新的研究思路,但与骨的大小没有关联。孙寒晓等<sup>[9]</sup>,选取与骨密度或骨质疏松性骨折相关的23个基因的39个单核苷酸多态性(SNP)位点,在683名上海汉族绝经后女性中通过TaqMan SNP基因分型测定和Mass-Array™ Technology Platform of Sequenom等两种方法进行测定,分析这些位点与绝经后女性人群的骨密度及骨质疏松性骨折的相关关系,结果发现rs11995824(OPG基因)的SNP位点与上海汉族绝经后女性的骨密度(腰椎L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>或髌部)或骨质疏松性骨折相关。

OPG/RANK/RANKL系统在骨质疏松中的作用日益受到关注,同时针对该系统的研究也为PMOP的诊断和治疗开辟了新途径<sup>[10]</sup>。Pichler等<sup>[11]</sup>试图研究在糖皮质激素诱导的骨质疏松小鼠体内RANKL、OPG和骨代谢、跑步机运动、振动训练的关系。他们将小鼠分为5组:1.对照组;2.接受强的松的骨质疏松小鼠;3.接受强的松和跑步机训练的小鼠;4.接受强的松和振动刺激训练的小鼠;5.同时接受强的松、跑步机训练和振动刺激训练的小鼠。同时测定血浆RANKL和OPG的浓度。他们发现在第2、3小组中RANKL的表达显著增加而在第4、5小组则减少;OPG的表达则在第2、3小组中显著下降,在第4、5小组中增加。他们认为机械的刺激可阻止RANKL的活性,这为研究骨质疏松的发生、进展和治疗提供了新思路。Piatek等<sup>[12]</sup>对121名健康女性研究发现,sRANKL和tRANKL的血清基线水平并不能准确地诊断PMOP。因此对于OPG/RANK/RANKL系统的进一步研究才能为PMOP的诊断及治疗带来新的突破。

## 2 白细胞介素

### 2.1 白细胞介素-1(IL-1)

IL-1 为目前已知最有效的骨吸收刺激因子,可直接诱导破骨细胞单核前体细胞融合,形成类破骨多核细胞(OCL),下调成骨细胞的 OPG 表达,还可通过酪氨酸激酶-NF- $\kappa$ B 途径,上调破骨细胞组织酶 K 表达并促进骨吸收。对成骨细胞的培养发现,IL-1 $\beta$  不仅能抑制胶原的表达和骨钙素的分泌<sup>[13]</sup>,同时还能抑制成骨细胞的迁移<sup>[14]</sup>。Hah 等<sup>[15]</sup>,用 0.1 ~ 10 ng/mL TNF- $\alpha$  和 0.01 ~ 1 ng/mL 的 IL-1 $\beta$  培养骨膜细胞并分别给予 MAPK 通路和 JNK 通路抑制剂,并检测 ALP 活性。结果发现:在细胞中预先加入 MAPK 通路抑制剂后,ALP 的活性降低,尤其是在加入 JNK 通路抑制剂干预后。由此他们认为 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  通过增加 ALP 的活性来促进骨膜细胞的分化并且此过程是通过 MAPK 通路中的 JNK 通路。Abrahamsen 等<sup>[16]</sup>,用 RT-PCR 测定了几种细胞因子的 mRNA,发现较慢的骨量丢失与较高的 IL-1 受体拮抗剂(IL-1ra) mRNA/IL-1 $\beta$ mRNA 相关,即 IL-1 $\beta$  在骨中的产生随雌激素水平降低而升高,IL-1ra 的升高保护骨量丢失。IL-1 不仅可以介导骨的吸收,还可以抑制成骨细胞的分化和新骨的形成。Maziel 等<sup>[17]</sup>,检测了 IL-1 受体-1(IL-1RI) 缺如小鼠的生长骨的形态、结构和机械性能以及破骨细胞的数量。他们发现,这些小鼠拥有更多的骨小梁、BDM 和强有力地机械性能;此外,在这些小鼠的骨软骨交界处、骨小梁和皮层骨质中的破骨细胞的数量明显减少;这些均提示 IL-1 与 IL-1RI 相互作用,参与正常的生理骨形成过程。此外,IL-1 与 OPG/RANK/RANKL 系统存在密切的联系。Young 等<sup>[18]</sup>,对 IL-1 $\alpha$  缺如、IL-1 $\beta$  缺如及 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  均缺如的小鼠进行研究,测其股骨密度,骨皮质及骨小梁等,发现 IL 缺如的小鼠骨密度均高于野生型的小鼠。他们认为 IL-1 除了诱导产生 RANKL 外,还通过激活 RANK 信号通路达到促进骨吸收的目的。近年来细胞因子的基因多态性的研究为骨质疏松的研究提供了新思路。Czerny 等<sup>[19]</sup>,对 BMD T-分数低于 -2.5SD 的 226 名和 BMD T 分数高于 -2.5SD 的 224 名绝经后骨质疏松的妇女进行研究,发现在 BMD T 分数低于 -2.5SD 的妇女中,IL-1 $\beta$  和 IL-2 基因多态性与 BMD 之间并没有显著的统计学关系。Zupan 等<sup>[20]</sup>对 671 位斯洛文尼亚人的 IL-1 $\alpha$  基因单核苷酸多态性(SNPs)rs2071375 (+12534G > A) 和 rs17651(+4845G > T) 进行研究,其中 125 位老年男性、490 位绝经后妇女和 56 名绝经前妇女,并对其的股骨颈、腰椎及髌部进行 BMD 的测量。发现在老

年男性和女性中 GG/TA 型具有更高的股骨颈和髌部的 BMD;在男性中 GG/GG 型与高股骨颈 BMD 之间并无明显的统计学差异;在女性中 I 型胶原蛋白 C 端交联蛋白的基因变异与骨 ALP 之间有明显的关联。因此认为 IL-1 $\alpha$  基因单核苷酸多态性(SNPs)rs2071375 (+12534G > A) 和 rs17651(+4845G > T) 在骨质疏松症的发病机制具有一定的作用。Ivanova 等<sup>[21]</sup>对 400 名保加利亚绝经后妇女进行病例对照研究,观察 IL-1ra 四个等位基因(A1, A2, A3, A4) 和前臂 BMD 之间的关联。他们发现,与对照组正常的 BMD 相比,A1A1 型更多见于低 BMD 组;A2A2 型在正常与低 BMD 组之间无明显差异;而 A3A3, A4A4 和 A1A3 型仅在正常 BMD 组中分布。因此认为 IL-1ra 基因多态性与前臂 BMD 有关且可能作为骨质疏松研究的一个基因学标记。

## 2.2 白细胞介素-6(IL-6)

IL-6 主要由成骨细胞及单核/巨噬细胞合成并分泌,与 IL-6R 有较高亲和力,但也能与受体 gp130 结合,直接作用于破骨细胞促进其增值、分化、刺激骨吸收;同时也可以刺激其他细胞分泌,增加其他因子的作用,如 IL-6 可与 PGE2 协同作用通过 OPG/RANK/RANKL 通路来调节破骨细胞分化,且 IL-6 和 IL-6R 在 PMOP 中具有极其重要的作用<sup>[22]</sup>,绝经后由于雌激素的丢失会引起体内 IL-6 水平的变化,目前认为体内 IL-6 的水平是反映骨丢失的重要信号且呈正相关。曾天舒等<sup>[23]</sup>,用 72 只 SD 雌性大鼠,随即平均分为假手术对照组,去卵巢鼠及雌激素组。对它们在第 2、4、6、12 周时,各取 6 只大鼠骨髓细胞作细胞培养和提取 RNA,发现去卵巢组的鼠骨髓细胞 IL-6mRNA、IL-6RmRNA 的表达均升高,而在去卵巢组全程未见 gp130 基因表达水平有明显变化,表明骨微环境中 IL-6 及其介导的生物信号增强可以促使骨髓源性破骨细胞形成增多,这种效应主要是通过去卵巢后骨髓细胞 IL-6、IL-6R 基因表达水平上升实现的,而与 gp130 基因表达水平无明显关系。郭惠兰等<sup>[24]</sup>分别用 IL-6mRNA 反义寡核苷酸(ASON-1)、IL-6 受体 mRNA 反义寡核苷酸(ASON-2)、无义寡核苷酸(NSO)、IL-6 或 IL-6 联合 ASON-1 及 ASON-2 作用培养颅盖骨。结果发现:ASON-1 和 ASON-2 均可轻度降低颅盖骨的骨吸收指数,且 ASON-1 的作用具有一定的剂量依赖性;IL-6 作用于头盖骨使骨吸收指数呈剂量依赖性增高;ASON-2 对 IL-6 的抑制作用明显强于 ASON-1,;NSO 对骨吸收指数无明显影响。为进一步了解 IL-6 和

IL-6R的骨吸收作用,探索抑制IL-6及IL-6R的生物活性从而防治PMOP提供了新思路。此外,对于细胞因子多态性的研究可能为骨质疏松的治疗开辟新的途径。Yoshie Oishi等<sup>[25]</sup>对100位年轻女性和100位老年妇女进行BMD和基因多态性的研究,分别测量IL-6(-634C>G; rs1800796), TNF- $\alpha$ (-308G>A; rs1800629), IL-17F(7488T>C; rs763780), TGF- $\beta$ (869T>C; rs1800470), OPG(163A>G; rs3102735)和L1-L4、股骨颈的BMD。发现IL-6和IL-17F基因与BMD显著相关。Deveci等<sup>[26]</sup>对356名土耳其绝经后妇女进行研究,其中201名患有骨质疏松(腰椎T分数<2.5SD),另外155名未患有PMOP(腰椎T分数>-1.5SD)为对照组,比较两组的腰椎和髋部的BMD和IL-6基因SNP(-174G>C)。结果发现变异的C等位基因和突变的CC表型的出现频率在对照组中更高;拥有GG表型的妇女其腰椎和髋部的BMD在所有研究对象中是最低的。因此认为在土耳其妇女中IL-6基因多态性与BMD有一定的相关性且野生的GG表型影响表现型。Moffett等<sup>[27]</sup>对3376例年龄超过65岁女性的IL-6 G-174C多态性分析得出,IL-6 G-174C启动子多态性是骨量丢失的一个基因标志。Magafia等<sup>[28]</sup>发现CA重复序列多态性中的A3型BMD升高,且含有A3杂合子个体比没有A3表现型的个体BMD高。Czerny等<sup>[19]</sup>认为IL-6 GG基因型的妇女比CC和GC基因型的妇女骨密度明显降低,说明IL-6 174 G/C基因型与PMOP之间存在相关关联。

### 3 胰岛素样生长因子-1(IGF-1)

IGF-1为含有70个氨基酸残基与胰岛素有相似结构的多肽,对骨骼具有多种合成代谢作用,是包括成骨细胞在内的多种细胞的促有丝分裂剂,而且破骨细胞的增殖和分化也需要IGF-1的参与<sup>[29]</sup>。Fritton等<sup>[30]</sup>对肝特异性IGF-1缺乏(liver-specific IGF-1 deficiency, LID)的10-16周龄小鼠分别敲除IGFBP-3(BP3KO)和不耐酸亚单位(ALSKO),发现ALSKO小鼠过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )表达增多,与BP3KO组相比体外培养骨髓间充质基质细胞(MSC)向成脂分化增加;ALSKO组中的ALP减少,表明骨髓中IGF-1与ALS复合物形成受损可诱导MSC向成脂分化,而向成骨分化相对减少。Fritton等<sup>[31]</sup>还对雌激素缺乏时GH/IGF-1轴的作用进行研究,将LID小鼠分为卵巢切除(OVX)组和对照组,发现OVX组在初期保持了机械应力的

完整性而对照组则缺乏此完整性,提示LID小鼠血浆中GH较IGF-1更能减轻去卵巢对骨髓前破骨细胞数目和骨皮质中骨细胞发育的影响。近年来IGF-1在PMOP的临床诊断中日益受到关注。Salminen等<sup>[32]</sup>对350名平均年龄在73岁的妇女的髋关节、腰椎等进行BMD的测定,发现同化增长的IGF-1和胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP)对骨密度值的作用比起PTH等激素有着更密切的关联,这与Lumachi等的研究结果相一致<sup>[33]</sup>。易伟莲等<sup>[34]</sup>根据腰椎BMD结果将受试者分为3组:PMOP组48人例、绝经后非骨质疏松者32例及绝经前对照组30例,测定受试者血清雌二醇(E2)、IL-6、IGF-1等指标的水平并测定其相关性。结果发现:PMOP组患者血清IGF-1和E2的水平低于绝经后非骨质疏松组及对照组;IGF-1与E2呈显著正相关而与年龄呈显著负相关。因此认为IGF-1等指标可作为临床诊断PMOP的辅助指标。IGF-1作为免疫调控网络的一部分,还可以与其他细胞因子协同作用介导骨组织的代谢。Zhao等<sup>[35]</sup>对504名绝经前和绝经后妇女对她们的腰椎和股骨近端BMD及血清中的IGF-1, OPG和RANKL的含量进行测量,发现降低的IGF-1和骨密度的关系受年龄的影响且IGF-1对于骨组织的重建可能由OPG/RANKL系统介导。张娟等<sup>[36]</sup>用不同浓度的IGF-1(1.0、10、50、100 ng/mL)刺激体外培养的MC3T3-E1后发现,随着药物浓度的增加,OPG mRNA转录水平逐渐增加,而RANKL mRNA水平随着药物浓度的增加,其转录水平逐渐减少。Smith等<sup>[37]</sup>对IGF-1不同基因型对骨骼功能的影响进行了研究。他们认为在C3H/He/J(C3H)小鼠和C57BL/6J(B6)小鼠中IGF-1基因的编码区是同序列的,而其3'端非编码区(3' UTR)则是具有多态性的。IGF-1的剪接变异体产生共同的、成熟的IGF-1肽而产生不同的E肽。他们提取了两个剪接产物,外显子4+6(EA)和外显子4+5+6(Eb),发现在成骨细胞的分化过程中他们的含量并没有发生变化;长UTR除了包含一个18重复的正调节序列外,还包含负调节序列miR-29和miR-365,在成骨细胞分化中B6和C3H细胞中miR-29和miR-365含量增加。他们认为IGF-1 3' UTR的不同表达是在B6和C3H小鼠中IGF-1增强调节的可能机制。而Xu等<sup>[38]</sup>对中国妇女中的研究发现,IGF-1的RS35767基因型与BMD之间无显著联系。

## 4 转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )

TGF- $\beta$ , 包括其超家族成员中最大一族的骨形成蛋白 BMP, 通过 BMP-2/Smads/Runx2 (cbfal)/Osterix 和 BMP-2/Smads/Msx2/Osterix 通路与 cbfal 基因特异性增强序列相互作用可刺激靶基因的转录, 不仅能促进成骨细胞前体细胞的增值与分化及骨基质蛋白的合成, 参与新骨的形成<sup>[39,40]</sup>; 而且对于破骨细胞来说也是有效的抑制剂。因此 Tang 等<sup>[41]</sup>认为 TGF- $\beta$  在维持骨稳态中起着重要的作用。Karst 等<sup>[42]</sup>在支持细胞、小鼠脾细胞或骨髓破骨细胞前体的共培养下, 发现低浓度 TGF- $\beta$  能刺激破骨细胞分化, 而高浓度却抑制其分化。进一步研究发现, TGF- $\beta$  的这种作用是通过改变支持细胞 RANKL/OPG 比例来实现的, 而在去除支持细胞的情况下, 发现任何浓度的 TGF- $\beta$  都可以直接刺激破骨细胞生成。Liu 等<sup>[43]</sup>, 用 54 只平均年龄在 6 个月大的雌性 SD 大鼠分为 SHAM 组、OVX 组和 Prognova 组并于 8w 后打破右腿股骨, 术后分别于第 2、4、6、8 周取样, 运用灰度尺度扫描发现, 3 组中 TGF- $\beta$  在骨愈合组织的含量达到峰值后又迅速下降, 尤其在 4w 以后更加显著而且 OVX 的 TGF- $\beta$  含量于第 2 周以后低于其他两组。认为 TGF- $\beta$  在骨组织愈合起着重要作用, 雌激素促进骨质疏松性骨折的愈合可能与加强体内 TGF- $\beta$  的含量有关。TGF- $\beta$  的负性生物调节剂 E 选择素配体-1 (E-selectin ligand-1, ESL-1) 能影响 TGF- $\beta$  的分化并在维持骨微环境中具有重要作用。Yang 等<sup>[44]</sup>发现 *Esl-1*<sup>-/-</sup> 小鼠表现出严重的骨质疏松伴有骨吸收的升高和骨矿化的降低; 在原代培养, *Esl-1*<sup>-/-</sup> 破骨细胞前体细胞在破骨细胞生成中无明显差异, 而 *Esl-1*<sup>-/-</sup> 成骨细胞去显示出延迟的分化和矿化, 这表明 *Esl-1*<sup>-/-</sup> 主要刺激成骨细胞来调节骨稳态。对 *Esl-1*<sup>-/-</sup> 小鼠的头盖骨研究发现, 成熟 TGF- $\beta$  和 TGF- $\beta$  前体的比值 (mature TGF- $\beta$ /proTGF- $\beta$ ratio) 升高, 并伴有 TGF- $\beta$  下游效应靶点表达的升高 (组织型纤溶酶原激活物抑制物, 甲状腺激素相关肽, 结缔组织生长因子和基质金属蛋白酶 13 等)。此外, 用 1D11 在体内治疗发现, 增强的 TGF- $\beta$  通路是 *Esl-1*<sup>-/-</sup> 小鼠骨质减少的主要原因。研究发现 TGF- $\beta$  基因的多态性也与骨质疏松有一定的相关性。Tural 等<sup>[45]</sup>, 研究了 255 名土耳其绝经后妇女的 DNA 多态性样本发现, IL-10 基因的丢失与等位基因频率有着显著的统计学差异, 但是 TGF- $\beta$  基因的

丢失却不存在此差异而且在联合基因分析中发现, IL-10/TGF- $\beta$ 1 CCCC 联合基因可能是一个可以预测土耳其妇女患 PMOP 风险的一个指标。Utennam 等<sup>[46]</sup>对 278 名 PNOP 患者及 95 名绝经后正常对照组进行队列研究, 评估 TGF- $\beta$ 1 的三种 SNPs (T869C, C-509T 和 G915C) 与 BMD、血清 TGF- $\beta$ 1 水平之间的联系。发现在 PMOP 患者中血清 TGF- $\beta$ 1 的含量显著低于对照组; 在 PMOP 组中 CT + CC (T869C) 型的血清 TGF- $\beta$ 1 的水平显著低于对照组; 在 PMOP 组和对照组之间 CT + CC (T869C) 基因型的出现频率具有显著地差异; 在年龄超过 50 岁的患者中, 具有 TC + CC 型的 T869C 多态性的患者具有较高的患骨质疏松的风险; 在 POMOP 患者中 T869C 基因型中的 CT + CC 型与血清低 TGF- $\beta$ 1 有关; Logistic 回归分析显示, T869C 基因型增加了患骨质疏松的易感性。

## 5 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

TNF- $\alpha$  是目前发现的一种强有力的骨吸收诱导剂。TNF- $\alpha$  除了能刺激破骨细胞前体细胞的增值与分化外及骨吸收外, 还能抑制成骨细胞 ALP 的释放, 减少骨矿含量, 抑制新骨的形成和钙化。实验证明, 雌激素对于骨保护作用的机制可能是通过 TNF- $\alpha$  介导的。万勇等<sup>[47]</sup>用新生大鼠颅盖骨进行成骨细胞原代培养; 用 TNF- $\alpha$  (200U/ml) 和 TNF- $\alpha$  + E2 ( $10^{-8}$  mol/L) 刺激; 用 AO-EB 观察成骨细胞凋亡; 用 RT-PCR 测定成骨细胞的 Fas、FasL、TNFR1 和 TNFR2 mRNA 的含量。结果发现  $10^{-8}$  mol/L 的 E2 明显抑制由 TNF- $\alpha$  诱导的成骨细胞 Fas 和 TNFR1 mRNA 的表达而对 FasL、TNFR2 的表达无明显影响。认为雌激素可通过成骨细胞凋亡受体的表达来改变成骨细胞对致死性细胞因子如 TNF- $\alpha$ 、FasL 的凋亡敏感性。随着研究的不断进展, TNF- $\alpha$  抑制骨细胞分化成熟的新的分子机制不断被发现并且可能成为新的治疗靶点。Wang 等<sup>[48]</sup>研究认为 TNF- $\alpha$  与 IFN- $\gamma$  协同作用, 用过 NF $\kappa$ B/SMAD7 通路引起 MSC 的失活。Koh 等<sup>[49]</sup>研究发现, 雌激素缺乏所引起的 IL-1 与 TNF- $\alpha$  可刺激破骨细胞系分泌 Hsp60, Hsp60 则可刺激破骨细胞的分化与骨吸收; 另外 Hsp60 可上调骨髓巨噬细胞 Toll 样受体-2 (TLR-2) 的表达, 运用 TLR-2 阻断剂可完全阻断 Hsp60 诱导的细胞分化, 证实 Hsp60 与 TLR-2 是新发现的因雌激素减少所引起的骨量丢失的分子机制。在雌激素丢失引起的骨质疏松症中, TNF- $\alpha$  已被证实可阻止骨髓间

充质细胞(MSC)的成骨分化,其机制却不十分清楚,但认为微小RNA(miRNA)在其中起着至关重要的作用<sup>[50]</sup>。而Yang等<sup>[51]</sup>通过实验证明了一种新的机制:TNF- $\alpha$ 抑制一种关键miRNA(miR-21)从而达到抑制MSC的作用。他们从雌激素缺失诱导的骨质疏松症的MSC中筛选出表达不同的miRNA并发现miR-21的含量显著降低;miR-21可通过抑制Spry1(可以抑制MSC的成骨化)来促进MSC的成骨化;上调miR-21可部分地抵消由TNF- $\alpha$ 引起的成骨效应;在OVX小鼠中,他们发现增加miR-21的表达、抑制Spry1的表达和阻断TNF- $\alpha$ 的效应可以改善炎性环境、显著增加骨形成量。因此他们认为这项研究可能为骨质疏松和其他炎性骨代谢病的新的治疗策略提供分子基础。在细胞因子网络中,TNF- $\alpha$ 的作用于其他细胞因子也有着密切的关联。Polzer等<sup>[52]</sup>,用人TNF- $\alpha$ 小鼠(hTNFtg小鼠)与缺乏IL-1(IL-1<sup>-/-</sup>hTNFtg)的小鼠培育后进行组织形态学的测定,发现hTNFtg小鼠出现严重的骨缺失、骨小梁厚度和数量的减少;而IL-1<sup>-/-</sup>hTNFtg小鼠却完全相反。实验表明,只有IL-1的存在才能使TNF- $\alpha$ 介导的破骨细胞的骨吸收作用;IL-1的缺乏可完全恢复增加的破骨细胞系,hTNFtg小鼠的骨吸收和增长的RANKL水平。此外对于TNF的基因多态性的研究也取得了一定的进展。Shmarina等<sup>[53]</sup>198名囊性纤维化的患者和130位对照者进行研究,他们同时具有TNF- $\alpha$ -308GA和LT- $\alpha$ +252AG基因型。结果发现,拥有TNF- $\alpha$ -308GA和LT- $\alpha$ +252GG的患者具有较高的患有骨质疏松的风险。

## 6 其他

除了上述细胞因子外,PMOP还与其他细胞因子有着密切的关系。IL-15对骨转换的生理调节起到主要的作用:破骨细胞的IL-15途径对RANKL提供共刺激信号引起破骨细胞生成;IL-15刺激T细胞增殖并促进产生RANKL、IL-17和IFN- $\gamma$ ;IL-15R $\alpha$ <sup>-/-</sup>小鼠的骨重建减少骨松质和皮质的微结构得到改善,使骨量增加<sup>[54]</sup>。IL-17是IL-6的上游信号,与TNF- $\alpha$ 协同作用促进骨转换;通过诱导hMSCs表达M-CSF和RANKL促进破骨细胞生成。一氧化氮(NO)可抑制破骨细胞活性、防止骨吸收<sup>[55]</sup>,给予雌激素后体内NO的水平上升。血管内皮生长因子(VEGF)能促进成骨细胞诱导分化,且成骨细胞在其他细胞因子的作用下也能合成分泌VEGF;成纤维细胞生长因子(FGF)也具有类似作用且呈剂量依

赖性<sup>[56]</sup>。此外,miRNA在PMOP中的作用也日益受到关注。Huang等<sup>[57]</sup>对人类脂肪来源的间充质干细胞(hADMSCs)研究发现:向脂肪细胞分化时miR-22降低而在向成骨细胞分化时miR-22的表达却增加。miR-22在hADMSCs中的下游靶蛋白是HDAC6,它可以通过抑制HDAC6来调节hADMSC的分化去向。

## 7 小结

骨组织的发育离不开骨微环境的稳定。PMOP发病机制中的细胞因子不仅包括经典的OPG、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 等,同时涉及到最近才发现的NO、miRNA、内皮素(ET)以及活性氧等。PMOP可以认为是一个炎性反应过程,患者由于失去雌激素的保护,不仅影响成骨细胞与破骨细胞的凋亡活性,同时细胞因子构成的骨微环境发生紊乱,最终导致骨细胞功能的脱偶联。加深对PMOP骨微环境中细胞因子的研究,可能为这些细胞因子成为新的药物靶点提供可能的理论依据,目前针对于OPG/RANK/RANKL系统的抗骨质疏松药物正在加紧研究<sup>[58]</sup>,试图通过调控这些细胞因子所形成的骨微环境,达到治疗PMOP的目的。深入对PMOP发病机制中细胞因子的作用研究,必将为PMOP的诊断和治疗提供崭新的思路和广阔的前景。

## 【参 考 文 献】

- [1] Faienza MF, Ventura A, Marzano F, et al. Postmenopausal Osteoporosis: The Role of Immune System Cells[J]. Clinical and Developmental Immunology, 2013, 2013.
- [2] Xie GQ, Lei DD, He HB, et al. Relationship between serum TGF- $\beta$ 1, OPG levels and osteoporotic risk in native Chinese women[J]. Clinica Chimica Acta, 2013, 423: 116-121.
- [3] Jurado S, Garcia-Giralt N, Diez-Perez A, et al. Effect of IL-1 $\beta$ , PGE(2), and TGF- $\beta$ 1 on the expression of OPG and RANKL in normal and osteoporotic primary human osteoblasts. J Cell Biochem, 2010, 15;110(2):304-310.
- [4] Li F, Yang Y, Zhu P, et al. Echinacoside promotes bone regeneration by increasing OPG/RANKL ratio in MC3T3-E1 cells[J]. Fitoterapia, 2012, 83(8): 1443-1450.
- [5] Wang F, Liu Z, Lin S, et al. Icariin enhances the healing of Rapidpalatal expansion induced root resorption in rats. Phytomedicine, 2012, 19(11): 1035-1041.
- [6] Weitzmann MN. The Role of Inflammatory cytokines, the RANKL/OPG axis, and the immunoskeletal interface in physiological bone turnover and osteoporosis[J], Scientifica, 2013, 2013.
- [7] Shang M, Lin L, Cui H. Association of genetic polymorphisms of RANK, RANKL and OPG with bone mineral density in Chinese

- peri-and postmenopausal women [J]. *Clinical biochemistry*, 2013, 46(15): 1493-1501.
- [8] Paternoster L, Ohlsson C, Sayers A, et al. OPG and RANK polymorphisms are both associated with cortical bone mineral density: findings from a metaanalysis of the avon longitudinal study of parents and children and gothenburg osteoporosis and obesity determinants cohorts. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 95(8): 3940-3948.
- [9] 孙寒晓, 赵琳, 张旻佳, 等. 对绝经后妇女骨密度和骨质疏松性骨折的多基因交互作用研究[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28(08): 641-646.  
Sun HX, Zhao L, Zhang MJ, et al. Influences of multiple gene interactions on bone mineral density and osteoporotic fractures in postmenopausal women. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012, 28(8): 641-646.
- [10] Neyro JL, Cancelo J, Palacios S. Inhibition of RANK-L in the pathophysiology of osteoporosis. Clinical evidences of its use[J]. *Ginecologia y obstetricia de Mexico*, 2013, 81(3): 146-157.
- [11] Pichler K, Loreto C, Leonardi R, et al. In rat with glucocorticoid-induced osteoporosis, RANKL is downregulated in bone cells by physical activity (treadmill and vibration stimulation training) [J]. *Histology and Histopathology*, 2013, 28: 1185-1196.
- [12] Piatek S, Adolf D, Wex T, et al. Multiparameter analysis of serum levels of C-telopeptide crosslaps, bone-specific alkaline phosphatase, cathepsin K, osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand in the diagnosis of osteoporosis[J]. *Maturitas*, 2013, 74(4): 363-368.
- [13] Lencel P, Magne D. Inflammaging: the driving force in osteoporosis? *Med Hypotheses*, 2011, 76(3): 317-321.
- [14] Hengartner NE, Fiedler J, Ignatius A, et al. IL-1 $\beta$  inhibits human osteoblast migration [J]. *Molecular Medicine*, 2013, 19(4): 36.
- [15] Hah YS, Kang HG, Cho HY, et al. JNK signaling plays an important role in the effects of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  on in vitro osteoblastic differentiation of cultured human periosteal-derived cells [J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(8): 4869-4881.
- [16] Abrahamsen B, Shalhoub V, Larson EK, et al. Cytokine RNA levels in transiliac bone biopsies from healthy early postmenopausal women [J]. *Bone*, 2000, 26(2): 137-145.
- [17] Simsa-Maziel S, Zaretsky J, Reich A, et al. IL-1RI participates in normal growth plate development and bone modeling [J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2013, 305(1): E15-E21.
- [18] Lee YM, Fujikado N, Manaka H, et al. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions [J]. *International Immunology*, 2010, 22(10): 805-816.
- [19] Czerny B, Kaminski A, Kurzawski M, et al. The association of IL-1 $\beta$ , IL-2, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2010, 149(1): 82-85.
- [20] Zupan, Janja, et al. Interleukin-1 $\alpha$  gene variants influence bone mineral density and the risk of osteoporotic hip fractures in elderly Slovenian people. 2012: 1379-1385.
- [21] Ivanova JT, Boyanov MA, Toshev AK. Polymorphisms of the human IL-1 receptor antagonist gene and forearm bone mineral density in postmenopausal women [J]. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2012, 16(4): 580.
- [22] Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, et al. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions [J]. *Clinical Science*, 2012, 122(4): 143-159.
- [23] 曾天舒, 陈璐璐, 夏文芳, 等. 雌激素对大鼠去卵巢后白细胞介素-6介导的骨吸收的影响 [J]. *中华老年医学杂志*, 2005, 24(1): 53-56.  
Zeng TS, Cheng LL, Xia WF, et al. The effects of estrogen on IL-6 induced bone absorption in ovariectomized rats. *Chin J Geriatr*, 2005, 24(1): 53-56.
- [24] 郭惠兰, 张晓, 揭新明. IL-6受体 mRNA 反义寡核苷酸抑制骨吸收的体外研究 [J]. *广东医学院学报*, 2003, 21(5): 425-427.  
Guo HL, Zhang X, Jie XM. Inhibitory effect of IL-6 receptor mRNA antisense oligonucleotide on mouse bone resorption. *Journal of Guangdong Medical College*, 2003, 25(5): 425-427.
- [25] Oishi Y, Watanabe Y, Shinoda S, et al. The IL6 gene polymorphism -634C > G and IL17F gene polymorphism 7488T > C influence bone mineral density in young and elderly Japanese women [J]. *Gene*, 2012, 504(1): 75-83.
- [26] Deveci D, Ozkan ZS, Yuce H. Is there any relation between IL-6 gene -174 G > C polymorphism and postmenopausal osteoporosis? [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2012, 164(1): 98-101.
- [27] Moffett SP, Zmuda JM, Gauley JA, et al. Association of the G-174C variant in the interleukin-6 promoter region with bone loss and fracture risk in older women. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(10): 1612-1618.
- [28] Magafia JJ, Gómez R, Cisneros B, et al. Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women [J]. *Hum Genet*, 2008, 39(6): 618-624.
- [29] Tahimic CG T, Wang Y, Bikle DD. Anabolic effects of IGF-1 signaling on the skeleton [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2012, 4: 1-6.
- [30] Fritton JC, Kawashima Y, Mejia W, et al. The insulin-like growth factor-1 binding protein acid-labile subunit alters mesenchymal stromal cell fate [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(7): 4709-4714.
- [31] Fritton JC, Emerton KB, Sun H, et al. Growth hormone protects against ovariectomy-induced bone loss in states of low circulating insulin-like growth factor (IGF-1) [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(2): 235-246.
- [32] Salminen H, Sääf M, Ringertz H, et al. The role of IGF-1 and IGFBP-1 status and secondary hyperparathyroidism in relation to osteoporosis in elderly Swedish women. *Osteoporosis International*, 2008, 19(2): 201-209, DOI: 10.1007/s00198-007-0463-4.
- [33] Lumachi F, Camozzi V, Doretto P, et al. Circulating PTH, vitamin D and IGF-1 levels in relation to bone mineral density in elderly

- women[J]. *In Vivo*, 2013, 27(3):415-418.
- [34] Yi WL, Liao DQ, Lin BY. The changes and relationship with sex hormone, cytokine and bone metabolic index in postmenopausal osteoporosis patients. *Laboratory Medicine*, 2012, 27(4): 15.
- [35] Zhao HY, Liu JM, Ning G, et al. Relationships between insulin-like growth factor-I (IGF-I) and OPG, RANKL, bone mineral density in healthy Chinese women[J]. *Osteoporosis International*, 2008, 19(2):221-226.
- [36] 张娟, 董进. IGF-I 对 MC3T3-E1 OPG mRNA RANKL mRNA 水平的影响[J]. *山西医药杂志: 上半月*, 2009, 38(B06): 13-15.
- Zhang J, Dong J. The impact of IGF-I on MC3T3-E1 OPG mRNA RANKL mRNA. *Shangxi Medicinal Journal*. 2009, 38(B06): 13-15.
- [37] Smith SS, Kessler CB, Shenoy V, et al. Igf-I 3' untranslated region: strain-specific polymorphisms and motifs regulating igf-I in steoblasts[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1): 253-262.
- [38] Xu W, Wang G. No association of rs35767 polymorphism of igf-I with bone mineral density in chinese postmenopausal women [c]//osteoporosis international. 236 grays inn rd, 6th floor, London we1x 8hl, England; Springer London LTD, 2012, 23: S801-S801.
- [39] Chen G, Deng C, Li YP. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2012, 8(2):272.
- [40] Zhen G, Wen C, Jia X, et al. Inhibition of TGF-[beta] signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis [J]. *Nature Medicine*, 2013, 19(6): 704-712.
- [41] Tang SY, Alliston T. Regulation of postnatal bone homeostasis by TGF [beta] [J]. *Bone Key Reports*, 2013, 2.
- [42] Karst M, Gorny G, Galvin RJ, et al. Roles of stromal cell RANKL, OPG, and M-CSF expression in biphasic TGF- $\beta$  regulation of osteoclast differentiation. *J Cell Physiol*, 2004, 200(1):99-106.
- [43] 刘洪倩, 乔林, 李志, 等. 雌激素对去势大鼠骨折愈合 TGF- $\beta$  表达的影响[J]. *现代预防医学*, 2009, 36(9): 1782-1784.
- Liu HQ, Qiao L, Li Z, et al. Effects of estrogen on the expression of TGF- $\beta$  in fracture healing of ovariectomized rats. *Modern Preventive Medicine*, 2009, 36(9): 1782-1784.
- [44] Yang T, Grafe I, Bae Y, et al. E-selectin ligand 1 regulates bone remodeling by limiting bioactive TGF- $\beta$  in the bone microenvironment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(18):7336-7341.
- [45] Tural S, Alayli G, Kara N, et al. Association between osteoporosis and polymorphisms of the IL-10 and TGF- $\beta$  genes in Turkish postmenopausal women[J]. *Human Immunology*, 2013, 74(9): 1179-1183.
- [46] Uttenham D, Tungtrongchitr A, Phonrat B, et al. Association of T869C gene polymorphism of transforming growth factor- $\beta$ 1 with low protein levels and anthropometric indices in osteopenia/osteoporosis postmenopausal Thai women [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2012, 11(1):87-99.
- [47] 万勇, 金小岚, 游志清, 等. 雌二醇对大鼠成骨细胞凋亡受体 mRNA 表达的影响[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2009, 2(3): 183-188.
- Wang Y, Jin XL, You ZQ. Effects of estradiol (E2) on expressions of death receptors (DRs) mRNA of rat osteoblasts in vitro. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research*, 2009, 2(3): 183-188.
- [48] Wang L, Zhao Y, Liu Y, et al. IFN -  $\gamma$  and TNF -  $\alpha$  Synergistically Induce Mesenchymal Stem Cell Impairment and Tumorigenesis via NF $\kappa$ B Signaling [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(7): 1383-1395.
- [49] Koh JM, Lee YS, Kim YS, et al. Heat shock protein 60 causes osteoclastic bone resorption via toll-like receptor-2 in estrogen deficiency[J]. *Bone*, 2009, 45(4): 650-660.
- [50] van Wijnen AJ, van de Peppel J, van Leeuwen J P, et al. MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2013, 11(2): 72-82.
- [51] Yang N, Wang G, Hu C, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2013, 8(3):59-573.
- [52] Polzer K, Joosten L, Gasser J, et al. Interleukin-1 is essential for systemic inflammatory bone loss [J]. *Annals of Rheumatic Diseases*, 2010, 69(01):284-290.
- [53] Shmarina G, Pukhalsky A, Petrova N, et al. TNF gene polymorphisms in cystic fibrosis patients; contribution to the disease progression [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2013, 11(1):1-8.
- [54] Djaafar S, Pierroz DD, Chicheportiche R, et al. Inhibition of T cell-dependent and RANKL-dependent osteoclastogenic processes associated with high levels of bone mass in interleukin - 15 receptor-deficient mice [J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2010, 62(11):3300-3310.
- [55] 王斯晨, 桂斌捷, 周健. 骨细胞在骨重建中的功能与作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(11): 2060-2066.
- Wang SS, Gui BJ, Zhou J. Osteocytes and bone remodeling. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2013, 17, (11): 2060-2066.
- [56] 张莉莉, 李玉坤. 生长因子对骨代谢影响的研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2012, 39(2): 121-126.
- Zhang LL, Li YK. Influence of growth factors to bone metabolism: research advances. *J Int Pharm Res*, 2012, 39(2): 121-126.
- [57] Huang S, Wang S, Bian C, et al. Upregulation of miR-22 promotes osteogenic differentiation and inhibits adipogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by repressing HDAC6 protein expression [J]. *Stem Cells and Development*, 2012, 21(13):2531-2540.
- [58] Wu K, Lin TH, Liu HC, et al. Dextromethorphan inhibits osteoclast differentiation by suppressing RANKL-induced nuclear factor- $\kappa$ B activation [J]. *Osteoporosis International*, 2013, 24(8): 2201-2214.

# 细胞因子与绝经后骨质疏松症关系的研究进展

作者: [杨明园](#), [李超](#), [李明](#), [YANG Mingyuan](#), [LI Chao](#), [LI Ming](#)  
作者单位: [第二军医大学附属长海医院骨科, 上海, 200433](#)  
刊名: [中国骨质疏松杂志](#)   
英文刊名: [Chinese Journal of Osteoporosis](#)  
年, 卷(期): 2014(6)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zggzsszz201406026.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201406026.aspx)