## 铁蓄积小鼠去势前后骨吸收活性的差异

王啸! 刘禄林! 赵国阳! 高超! 李光飞! 沈光思! 俞晨! 费蓓蓓2 徐又佳!\*

1. 苏州大学附属第二医院骨科,苏州 215004

2. 苏州大学附属第二医院妇产科,苏州 215004

#### 中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015)01-0053-06

摘要:目的 了解小鼠在去势前与去势后,铁对骨吸收影响的差异。方法 建立高铁小鼠模型,将小鼠随机分为假手术组(SHAM组)、高铁去势组(F+OVX组)、去势组(OVX组)。铁剂干预两周后去势。在去势前(雌激素存在)与去势7周后(雌激素缺乏)检测小鼠体重,血清铁蛋白;反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测胫骨内抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、降钙素受体(CTR)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、组织蛋白酶 K(cathepsin K)、雌激素受体α(ERα)、雌激素受体β(ERβ)表达情况,股骨远端 Micro-CT 三维分析,提取各组小鼠股骨骨髓细胞进行破骨细胞培养,抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色观察破骨细胞分化 情况。结果 各组小鼠体重无明显差异。F+OVX 组铁蛋白含量明显升高(P<0.05)。Micro-CT 分析表明:雌激素存在时,正常组与铁干预组骨密度及相关指标无明显差异(P>0.05);雌激素缺乏时,与 OVX 组比较,F+OVX 组骨量下降更为严重(P<0.05)。半定量 PCR 结果显示:雌激素存在时,两组 TRAP、CTR、MMP9、cathepsin K 基因表达无统计学差异;雌激素缺乏时, F+OVX 组各基因表达水平较 OVX 组显著升高(P<0.05)。去势后 ERβ表达下降(P<0.05),ERα 无明显差异。TRAP 染色显示去势前各组小鼠破骨细胞数无明显差异(P>0.05);而去势后,F+OVX 组破骨细胞数明显高于 OVX 组(P<0.05)。结 未去势时(有雌激素),FAC 对骨吸收影响甚微;去势后(无雌激素),FAC 能显著增强破骨活性。 关键词:雌激素;去卵巢;铁蓄积;骨吸收

# Variations in bone resorption activity between normal and ovariectomized mice with iron accumulation

WANG Xiao<sup>1</sup>, LIU Lulin<sup>1</sup>, ZHAO Guoyang<sup>1</sup>, GAO Chao<sup>1</sup>, LI Guangfei<sup>1</sup>, SHEN Guangsi<sup>1</sup>, YU Chen<sup>1</sup>, FEI Beibei<sup>2</sup>, XU Youjia<sup>1</sup>

1. Department of Orthopedics

2. Department of Gynaecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China Corresponding author:XU Youjia, Email, xuyoujia@ medmail.com.cn

**Abstract**: **Objective** To explore the effect of iron on bone resorption before and after ovariectomy in mice. **Methods** A mouse model of high iron accumulation was established. The mice were randomly divided into SHAM group, OVX group, and F + OVX group. After 2-week iron intervention, the mice were ovariectomized. Body weight of the mice was examined before and after ovariectomy. Serum ferritin (Fer), gene expression of TRAP, CTR, MMP9, cathepsin K, ER $\alpha$ , and ER $\beta$  were detected. The distal femur was analyzed using 3-D micro-CT. Bone marrow-derived cells were extracted from the femurs of each group for osteoclast culturing. Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) staining was performed to observe the osteoclast differentiation. **Results** Body weight of the mice between each group was not significantly different. The serum Fer was significantly high in F + OVX group (P < 0.05). Micro-CT analysis indicated that BMD and other parameters were not different between SHAM group and iron-treated group in the presence of estrogen (P > 0.05). However, BMD in F + OVX group was much lower than that in OVX group (P < 0.05). Semi-quantitative RT-PCR showed that the expressions of TRAP, CTR, MMP9, and cathepsin K were not significantly different between the 2 groups in the presence of estrogen. The expressions was increased significantly in F + OVX group than in OVX group (P < 0.05). ER $\beta$  significantly decreased after ovariotomy, while the expression of ER $\alpha$  showed no

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273090);江苏省自然科学基金资助项目(BK2012608);苏州市应用基础研究项目(SYS201343);苏州市科技支撑计划(SS201327)

<sup>\*</sup> 通讯作者: 徐又佳, Email: xuyoujia@ medmail. com. cn

difference. Results of TRAP staining suggested that the number of TRAP positive cells was not different before ovariectomy, but it was higher in F + OVX group than that in OVX group (P < 0.05). **Conclusion** FAC has little effect on bone resorption in the presence of estrogen. FAC significantly increases osteoclast activity after ovariectomy.

Key words: Estrogen; OVX; Iron accumulation; Bone resorption

I型骨质疏松多见于绝经女性,2009 年《骨折 疏松症中国白皮书》报道 50 岁以上人群中女性发 生率为 78%<sup>[1]</sup>,2012 年 IOF 报道 50 岁以上骨质疏 松性骨折中女性发生率为 50%、男性为 20%<sup>[2]</sup>。铁 蓄积在女性绝经期多见是一个值得重视的现象:当 雌激素下降 90%,血清铁蛋白可以从绝经前到绝经 后提高 2~3 倍<sup>[3]</sup>;而雌激素下降又正好是骨量下降 的阶段,所以,对铁蓄积、雌激素、骨量 3 者的研究就 很有意义。本实验通过构建高铁去势小鼠来模拟女 性绝经后伴铁蓄积现象,观察小鼠未去势伴铁蓄积、 去势伴铁蓄积时骨吸收活性的变化,以探索铁与雌 激素对骨量的影响。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

Micro-CT (SKYSCAN, 1176 型), 酶标仪(Biotech 公司), Gene Amp PCR System 9700PCR 仪(ABI 公司), 高速冷冻离心机(Thermo 公司), 电泳仪 (Bio-RadPowerPPAC200), 酶联免疫吸附试验 (ELISA)试剂盒铁蛋白(Fer)(Abnova), 枸橼酸铁铵 (Sigma), 水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司), 生理盐水(中国大家制药有限公司), α-MEM (Gibco), 新生胎牛血清(Gibco), 细胞因子 M-CSF、 RANKL(PeproTech 公司), 抗酒石酸酸性磷酸酶染 液(sigma)。

1.2 动物分组及处理

选取雌性8周龄ICR小鼠35只(苏州大学实验 动物中心提供),体重(25±1)g。将小鼠随机分为 假手术组(SHAM组,14只)、高铁去势组(F+OVX 组,14只)、去势组(OVX组,7只)。F+OVX组行 枸橼酸铁铵腹腔注射,剂量为0.05g/kg,每周2次, 共8周,SHAM组和OVX组以同样方式和频次给予 等量生理盐水注射。8周后(0d)处死7只SHAM 组和7只F+OVX组小鼠,取血清、股骨、胫骨标本 以检测雌激素存在时,高铁环境对小鼠骨形成的影 响。剩余F+OVX组和OVX组行卵巢切除术:所有 小鼠用3.6%水合氯醛(10 ml/kg)腹腔内注射麻醉 后,逐层切开皮肤、肌层,进入腹腔,找出双侧卵巢, 输卵管结扎并切除卵巢,分层缝合;SHAM组剩余小 鼠仅切除卵巢周围部分脂肪。术后所有小鼠肌注青 霉素 5 万 U/d,持续 3 d,预防感染。1 周后 F + OVX 组以 0.05 g/kg 剂量行枸橼酸铁铵腹腔注射,每周 1 次,共 7 周。SHAM 组和 OVX 组以同样方式和频次 给予等量生理盐水注射。7 周后(50 d)处死所有小 鼠,取血清、股骨、胫骨标本以检测缺乏雌激素时,高 铁环境对小鼠骨形成的影响(见图 1)。



Fig. 1 Diagram of grouping

#### 1.3 标本收集

各组小鼠到干预时间终点前,计量天平记录小 鼠体重。随后用4%水合氯醛以1 ml/100 g 剂量麻 醉,摘眼球取血1 ml,3 000 r/min 离心 20 min,取上 层血清用于检测。取双侧股骨及胫骨,剔去骨周围 的肌肉。血清、股骨、胫骨冻存在-80℃冰箱。

1.4 血清检测

酶联免疫吸附法检测血清铁蛋白(Fer),具体操 作步骤按说明书进行。

1.5 反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测

取双侧胫骨置于液氮中预冷1h,随后置入研钵 中,边加液氮边研磨直至磨成粉末,立即加入1 ml 的 Trizol 试剂溶解粉末,提取 RNA 后逆转录成 cDNA,于-40 ℃保存,进行聚合酶链反应时取出模 板,总反应体积20 μL:内含2×Taq PCR mix 10 μL, Water(nuclease-free) 7 μL,上、下游引物各1 μL。 PCR 仪中,CTR 反应条件为94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s,35 个循环; ER- $\alpha$ 、ER- $\beta$ 、TRAP、MMP9、 cathepsin K 反应条件为94 ℃ 30 s,58 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,33 个循环。琼脂糖凝胶电泳,分析各组光密 度。引物根据 Genebank 与 Primer 5 设计,由上海生 工合成。各基因引物序列及分子大小如表 1。

**表1** β-actin、TRAP、CTR、MMP9、cathepsin K、ERα、ERβ 基因的引物序列及分子大小

Table 1 The gene primers and molecular size of  $\beta$ -actin, TRAP, CTR, MMP9, cathepsin K, ER $\alpha$ , and ER $\beta$ 

基因	引物序列	bp
TRAP	上游:TACCTGTGTGGACATGACC	150
	下游:CAGATCCATAGTGAAACCGC	
cathepsin K	上游:TGTATAACGCCACGGCAAA	194
	下游:GGTTCACATTATCACGGTCACA	
MMP9	上游:TCCAGTACCAAGACAAAG	182
	下游:TTGCACTGCACGGTTGAA	
CTR	上游:TCAGGAACCACGGAATCCTC	102
	下游:ACATTCAAGCGGATGCGTCT	
$\mathrm{ER}$ – $\alpha$	上游:TTCTGATGATTGGTCTCGTCTG	220
	下游:ATGATGGATTTGAGGCACACA	
$\mathrm{ER}$ - $\beta$	上游:ATGATGGTCAGAAGTGGGACAT	250
	下游:GTGGGCAAAGAGATGGAAAGTA	
β-actin	上游:TCCTGTGGCATCCACGAAACT	306
	下游:GAAGCATTTGCGGTGGACGAT	

**1.6** Micro-CT 扫描股骨远端进行三维重建及参数 分析

取右侧股骨,放入 Micro-CT 样品杯中固定。在 相同的条件下扫描,进行骨计量学分析和三维形态 重建。分析参数包括骨密度(BMD)、相对骨体积 (BV/TV)、骨小梁厚度(Tb. Th)、骨小梁数量(Tb. N)。

1.7 骨髓源性巨噬细胞(BMM)培养

动物模型干预结束后取各组小鼠处死,无菌条 件下取出股骨、胫骨,剔除肌肉组织,浸泡于75%乙 醇中10 min。用1 ml注射器吸取 α – MEM(10% FBS、100 U/ml青霉素,100 μg/ml链霉素)将股骨、 胫骨中骨髓细胞冲出,200 目滤网过滤后接种于培 养皿中,加入α – MEM 培养基培养16 h,转移上清 于另一培养皿中,加入含 50 ng/mlM-CSF 的α – MEM 培养基,3 d 后贴壁细胞即为 BMM。

1.8 TRAP 染色并对 TRAP 阳性细胞计数

将 BMM 消化后以 1 × 10<sup>3</sup> 密度接种于 96 孔板, 每组 6 个复孔,加入含 30 ng/mlM-CSF 和 50 ng/ mlRANKL 的 α-MEM,48 h 后换液,96 h 后弃去培养 基,柠檬酸盐固定 3 min,以萘酚 AS-BI 磷酸盐为底 物的孵育液 37 ℃孵育 1 h,去离子水洗 3 次,倒置显 微镜下计数 TRAP 阳性细胞并拍照。 1.9 统计学方法

实验数据以平均值 ± 标准差(x̄ ± s)表示,采用 统计软件 SPSS 19.0 进行统计学分析。多组间比较 采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较用 LSD 法检验,组内采用 SNK 法进行两两比较。

#### 2 结果

#### 2.1 各组小鼠体重结果

各组小鼠体重均无明显差异,以此排除体重对 骨密度及骨形成的影响(见图 2)。



图2 各组小鼠体重

Fig. 2 Body weight of mice in each group

#### 2.2 血清 Fer 检测结果

Elisa 检测提示,与 SHAM 组比较,OVX 组 Fer 无明显差异,而 F + OVX 组 Fer 水平明显升高(P < 0.01),见图 3。



#### 2.3 半定量 PCR 检测胫骨相关基因指标

雌激素存在时(0 d),除 CTR 外,SHAM 组与 F +OVX 组各基因均无统计学差异(P>0.05),说明 雌激素存在时,FAC 对骨吸收影响甚微。50d 时破 骨相关基因 TRAP、cathepsin K、CTR、MMP9 表达趋 势分布为:F+OVX 组>OVX 组>SHAM 组(P < 0.05),说明雌激素缺乏时,铁对破骨细胞分化能力 的促进作用显现(见图 4、表 2)。

#### 2.4 股骨 Micro-CT 扫描

对各组小鼠股骨远端松质骨进行 Micro-CT 检查,结果显示:雌激素存在的情况下(0 d),两组指标 无统计学差异;而雌激素缺乏时(50 d),与 SHAM

**表 2** TRAP、CTR、MMP-9、cathepsin K、ERα、ERβ 在各实验组中与 β-actin 的光密度比值(同一时间点, 与 SHAM 组相比, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01; 与 OVX 组相比, \**P* < 0.05)

**Table 2** The optical density ration of TRAP, CTR, MMP-9, cathepsin K, ER $\alpha$ , and ER $\beta$ / $\beta$ -actin in each experimental group (\* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01 vs SHAM group; \**P* < 0.05 vs OVX group at the same time point)

基因 —	0	d		50 d	
	SHAM 组	F + OVX 组	SHAM 组	OVX 组	F + OVX 组
TRAP	$0.085 \pm 0.032$	$0.080 \pm 0.027$	$0.097 \pm 0.027$	0.361 ± 0.045 **	0. 554 ± 0. 044 **
cathepsin K	$0.092 \pm 0.028$	$0.098 \pm 0.025$	$0.111 \pm 0.033$	0.530 ± 0.047 **	0.661 ± 0.042 *#
CTR	$0.248 \pm 0.029$	0. 357 $\pm$ 0. 035 *	$0.272 \pm 0.031$	0.414 ±0.039 **	0. 710 $\pm$ 0. 040 **
MMP9	$0.185 \pm 0.036$	$0.236 \pm 0.031$	$0.201 \pm 0.049$	0.380 ± 0.047 $^{*}$	0. 545 $\pm$ 0. 042 **
ERβ	$0.262 \pm 0.043$	$0.231 \pm 0.036$	$0.285 \pm 0.032$	0.096 ± 0.033 **	0. 120 ± 0. 035 **
ERα	$0.296 \pm 0.049$	$0.315 \pm 0.044$	$0.241 \pm 0.061$	$0.277 \pm 0.055$	$0.344 \pm 0.064$



**图 4** RT-PCR 检测 TRAP、cathepsin K、CTR、MMP9、 ERβ、ERα 基因表达

Fig. 4 The expression of TRAP, cathepsin K, CTR, MMP9, ER $\beta$ , and ER $\alpha$  detected using RT-PCR

组相比,OVX 组骨小梁变疏松,F+OVX 组骨小梁更 加疏松、连续性下降(见图 5)。相关分析参数统计 结果显示,雌激素缺乏时(50d),与 SHAM 组相比, OVX 组总体骨密度值(BMD)、骨体积分数(BV/ TV)、骨小梁厚度(Tb.th)、骨小梁数量(Tb.N)均下 降(P<0.05);F+OVX 组与 OVX 组比较,BMD、 Tb.th、BV/TV、Tb.N 显著下降(P<0.05)(见表3)。 2.5 破骨样细胞 TRAP 染色结果

未去势时两组 TRAP 阳性细胞无明显差异(图 6),说明在雌激素存在的情况下,铁对破骨细胞活



图5 股骨远端松质骨三维重建图

Fig. 5 The three-dimention reconstruction of cancelous bone area in the distal femur

性影响不大。去势后,OVX 组 TRAP 阳性细胞较 F + OVX 组少(*P* < 0.05),见图 7,说明雌激素一旦消失,铁对破骨细胞分化能力的促进作用就会突出。

#### 3 讨论

骨质疏松的特点是骨量下降、骨脆性改变,是多种因素作用下发生的一种系统性疾病。绝经后骨质 疏松(I型)是中老年妇女常见的疾病,其主要病因 就是雌激素水平的下降。雌激素是抑制骨吸收活性 最重要的内源性激素,通过结合骨组织中的 ER,激

表3 股骨 Micro-CT 参数在各组中的差异(同一时间点,与 SHAM 组相比,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与 OVX 组相比,\*P<0.05) Table 3 Comparison of micro-CT structural parameters of the femur among each group (\*P<0.05,\*\*P<0.01 vs SHAM, \*P<.05 vs OVX)

参数 —	0	d		50 d	
	SHAM	F + OVX	SHAM	OVX	F + OVX
BMD(mg/mm <sup>3</sup> )	$0.188 \pm 0.060$	$0.187 \pm 0.029$	$0.197 \pm 0.072$	0. 114 ± 0. 013 *	$0.902 \pm 0.064$ **
BV/TV(%)	20. 371 ± 6. 616	$17.510 \pm 9.372$	22. 158 ± 9. 144	10. 598 ± 2. 605 *	7.072 ± 0.299 **
Tb. N(N/mm)	2. 131 ± 0. 522	$1.926 \pm 1.080$	2. 238 $\pm 0.673$	1. 110 ± 0. 220 *	0. 879 ± 0. 014 **
Tb. Th(um)	95.940 ± 5.996	95. 980 ± 3. 238	98. 580 ± 9. 230	89. 395 ± 0. 488 *	80. 455 ± 4. 716 **



**图 6** 骨髓源性破骨细胞 TRAP 染色结果及阳性细胞计数,100 倍(0 d, 与 SHAM 组相比, \* *P* < 0.05; 与 OVX 组相比, \**P* < 0.05)

Fig. 6 TRAP-positive staining and counting of osteoclasts derived from bone marrow, 100 magnification (0 d, \*P < 0.05 vs SHAM; \*P < 0.05 vs OVX)



**图 7** 骨髓源性破骨细胞 TRAP 染色结果及阳性细胞计数,100 倍(50 d, 与 SHAM 组相比, \* *P* < 0.05; 与 OVX 组相比, \**P* < 0.05)

**Fig. 7** TRAP-positive staining and counting of osteoclasts derived from bone marrow, 100 magnification (50 d, \*P < 0.05 vs SHAM; \*P < 0.05 vs OVX)

活下游相关通路,从而抑制破骨细胞的分化<sup>[4]</sup>。由 此可见,I型骨质疏松主要是由于破骨活性的加强, 而非成骨活性的抑制所致。故临床上常用福善美、 密盖息、倍美力等破骨细胞抑制药治疗I型骨质疏 松<sup>[5]</sup>。因此,对雌激素和破骨细胞的深入研究有助 于探索骨质疏松的发病机制及找到可能的防治手 段。不过,骨质疏松的发病并非单因素,近年来,后 天因素"铁蓄积"逐渐进入学者的视野。

铁蓄积影响骨代谢进而参与骨质疏松症发生的 研究有很多。2006年和2008年美国Weinberg发表 两篇文章强调"铁"是骨质疏松症发生的危险因 素<sup>[6-7]</sup>。此后对铁蓄积性骨量下降的临床报告和基 础研究越来越多。美国Huang等<sup>[3,8]</sup>进行雌激素相 关研究时提出经典的雌激素与铁蛋白负相关交汇 图,并将骨代谢与之相联系,他发现绝经妇女多伴有 铁蓄积,随着雌激素水平下降,铁蛋白水平反而升 高。2012年首尔科学家报道正常人骨量丢失与铁 蓄积存在相关性,从临床上提出铁蓄积可能是骨质 疏松症一个独立因素<sup>[9]</sup>。同年,Jia等<sup>[10-11]</sup>发现,在 高铁环境下,破骨细胞的活性明显增强。绝经后妇 女的高铁状态可能通过促进破骨细胞的分化,从而 加重雌激素缺乏所致的骨量下降。

问题就在此,临床上对绝经妇女经常应用激素 替代治疗(HRT)来延缓骨量下降,而给予雌激素并 不能有效降低体内铁水平<sup>[12]</sup>,这部分铁蓄积的绝经 妇女尽管铁蛋白水平偏高,在接受 HRT 后骨质仍有 所改善。该状态可以归纳为高铁女性在补充雌激素 后骨量停止下降。这似乎提示在骨代谢过程中,雌 激素可以抑制铁蓄积对骨的破坏作用。

基于以上疑问,本实验从在体实验上进行了初 步探索,检测相关破骨基因 TRAP、CTR、MMP9、 cathepsin K。这些基因都是研究破骨活性常用的基 因,尤其是抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP),它是骨吸 收和破骨细胞活性的良好标志物,TRAP 缺乏和过 度表达的大鼠模型分别表现为骨硬化和骨质疏 松<sup>[13]</sup>。RT-PCR 结果显示:未去势时,铁对于破骨相 关基因几乎无影响,而在此高铁基础上去势(去除 雌激素).50d 后去势铁干预组较单纯去势组破骨活 性增强。由此初步证实:在雌激素存在的情况下,由 于雌激素对破骨细胞强大的抑制作用,铁的骨破坏 能力不明显。一旦雌激素缺乏,其对骨的保护作用 随之消失,铁的作用才得以显现。半定量 PCR 结果 中 ERα 在3 组间比较无明显差异,这可能是由于 ERα 多分布于皮质骨,骨质疏松主要累及松质骨, 对皮质骨影响较小[14]。本实验未去势小鼠与去势 后小鼠铁蛋白维持在同一高水平,以说明去势小鼠 是由于雌激素缺乏,高铁对骨形成的破坏作用得以 显现,而不是由于铁进一步升高导致的骨量丢失。 有趣的是,本课题组曾用雄性 ICR 小鼠以相同的 FAC 干预手段干预两个月,结果发现铁蓄积雄性小 鼠较正常小鼠骨量下降<sup>[10]</sup>。但本实验采用雌性 ICR 小鼠作为研究对象后发现,铁蓄积雌性小鼠骨 量与正常小鼠相差无几,这一结论似乎揭示了性别 差异对铁蓄积性骨量下降有影响。

Micro-CT 能得出骨的三维结构形态参数,有助 于了解骨质疏松的病理结构改变<sup>[15]</sup>。本研究通过 Micro-CT 扫描观察,发现高铁去势小鼠总体骨密度 值、骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数量较单纯去 势小鼠均显下降;而未去势的高铁小鼠与正常小鼠 无明显差异。这些结果从骨显微结构和组织形态学 角度说明雌激素能拮抗铁蓄积对骨的破坏作用。

骨髓源性巨噬细胞 TRAP 染色的结果与以上结 果一致。未去势时(0d)两组小鼠破骨样细胞数量 无明显差异,去势后(50d)铁干预组小鼠 TRAP 阳 性细胞数较正常去势组升高。初步证实铁蓄积只有 在雌激素缺乏的情况下才能成为骨量下降的诱因。

最近的研究提示铁促进骨质疏松的可能与氧化 应激有关<sup>[16-17]</sup>。铁蓄积时,转铁蛋白活性受抑制, 非转铁蛋白结合的铁离子浓度增加,胞内贮存铁的 铁蛋白增加,大量胞内铁离子通过 Fenton 反应催化 自由基的形成<sup>[18]</sup>,这些自由基作为胞内第二信使, 能激活下游 NF-kB 通路<sup>[19]</sup>,而 NF-kB 通路是破骨 细胞分化成熟最重要的通路<sup>[20]</sup>。因此,活性氧 (ROS)在高铁性骨质疏松的发病机制中扮演着重要 的角色。雌激素作为一种抗衰老药物,具有清除氧 自由基的能力<sup>[21]</sup>,当雌激素存在时,铁产生的部分 自由基可能被雌激素清除,故铁的破骨作用在一定 程度上受到抑制。当妇女步入绝经期,这种抑制作 用随着雌激素的消失而逐渐淡化,最终,铁对破骨活 性的促进作用加重绝经后骨质疏松的症状。

综上所述,铁对骨吸收的促进程度可能受雌激 素水平的影响。高铁环境作为独立因素时,对骨的 破坏作用才得以体现,一旦将雌激素纳入考虑,该破 坏作用便会显著降低。在研究铁代谢与骨代谢的过 程中引入雌激素,综合3者进行实验探索,这一结果 既是 I 型骨质疏松的模拟,又是对铁蓄积型骨质疏 松的补充。关于铁离子是否通过其他途径影响骨代 谢还需要进一步研究。

#### 【参考文献】

 Editorial Board of Osteoporosis Prevention and Treatment (China White Paper), China Health Promotion Foundation. White paper on osteoporosis [J]. Chinese Journal of Health Management, 2009,3(3):148-154.

- [2] Kanis J A, McCloskey E V, Johansson H, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women[J]. Osteoporos Int,2013,24(1):23-57.
- [3] Jian J, Pelle E, Huang X. Iron and menopause: does increased iron affect the health of postmenopausal women [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11:2939-2943.
- [4] SHANG Min. The relationship between Estrogen receptor ER $\alpha$ , ER $\beta$  and postmenopausal osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2010, 16(4):295-299.
- [5] BIAN Yimin, LAI Shuizhao. Study on osteoporosis and its prevention and treatment of drug[J]. Capital Medicine, 2001, 8 (4):34-35.
- [6] Weinberg E D. Iron loading: a risk factor for osteoporosis[J]. Biometals,2006,19(6):633-635.
- [7] Weinberg E D. Role of iron in osteoporosis [J]. Pediatr Endocrinol Rev, 2008,6 (Suppl1):81-85.
- [8] Yang Q, Jian J, Katz S, et al. 17beta-Estradiol inhibits iron hormone hepcidin through an estrogen responsive element half-site
  [J]. Endocrinology, 2012, 153: 3170-3178.
- [9] Kim BJ, Ahn SH, Bae SJ, et al. Iron overload accelerates bone loss in healthy postmenopausal women and middle-aged men; a 3year retrospective longitudinal study [J]. J Bone Miner Res, 2012,27;2279-2290.
- [10] Jia P, Xu Y J, Zhang Z L, et al. Ferric ion could facilitate osteoclast differentiation and bone resorption through the production of reactive oxygen species [J]. J Orthop Res, 2012, 30:1843-1852.
- [11] JIA Peng, HE Yinfeng, XU Youjia, et al. The effect of ferricion on the differentiation of osteoclast and bone resorption [J]. National Medical Journal of China, 2012, 92:2214-2218.
- [12] Akinloye. Effects of contraceptives on serum trace elements, calcium and phosphorus levels [J]. West Indian Med, 2011, 60: 308-315.
- [13] ZENG Fangxin, XIONG Zhongyun. Tartrate resistant acid phosphatase and bone metabolism [J]. West China Medical Journal, 2005, 20(3):545-545.
- [14] Lanyon L, Armstrong V, Ong D, et al. Is estrogen receptor alpha key to controlling bones 'resistance to fracture [J]. Journal of Endocrinology,2004,182(2):183-191.
- [15] Jiang Y, Zhao J, Liao EY, et al. Application of micro-CT assessment of 3-D bone microstructure in preclinical and clinical studies[J]. Bone Miner Res, 2005, 23 (Suppl):122-131.
- [16] He Y F, Ma Y, Gao C, et al. Iron overload inhibits osteoblast biological activity through oxidative stress [J]. Biol Trace Elem Res, 2013, 152(2):292-296.
- [17] Yamasaki K, Hagiwara H. Excess iron inhibits osteoblast metabolism[J]. Toxicol Lett, 2009, 191(2-3):211-215.
- [18] Tsay J, Yang Z, Ross F P, et al. Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress [J]. Blood, 2010, 116:2582-2589.
- [19] Bar-Shai M, Carmeli E, Ljubuncic P, et al. Exercise and immobilization in aging animals: The involvement of oxidative stress and NF-kappa B activation [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2008, 44(2):202-214.
- [20] Deborah Veis Novack. Role of NF-κB in the skeleton [J]. Cell Res, 2011, 21:169-182.
- [21] Kim J K, Pedram A, Razandi M, et al. Estrogen prevents cardiomyocyte apoptosis through inhibition of reactive oxygen species and differential regulation of p38 kinase isoforms [J]. J Biol Chem, 2006, 281 (10):6760-6767.

### 铁蓄积小鼠去势前后骨吸收活性的差异



作者:	王啸, <u>刘禄林</u> , 赵国阳, <u>高超</u> , <u>李光飞</u> , <u>沈光思</u> , <u>俞晨</u> , <u>费蓓蓓</u> , <u>徐又佳</u> , <u>WANG</u>
	<u>Xiao</u> , <u>LIU Lulin</u> , <u>ZHAO Guoyang</u> , <u>GAO Chao</u> , <u>LI Guangfei</u> , <u>SHEN Guangsi</u> , <u>YU</u>
	Chen, <u>FEI Beibei</u> , <u>XU Youjia</u>
作者单位:	王啸,刘禄林,赵国阳,高超,李光飞,沈光思,俞晨,徐又佳,WANG Xiao,LIU Lulin,ZHAO
	Guoyang,GAO Chao,LI Guangfei,SHEN Guangsi,YU Chen,XU Youjia(苏州大学附属第二医院
	骨科,苏州,215004), 费蓓蓓,FEI Beibei(苏州大学附属第二医院妇产科,苏州,215004)
刊名:	中国骨质疏松杂志
英文刊名:	Chinese Journal of Osteoporosis
年,卷(期):	2015(1)

引用本文格式: <u>王啸</u>. <u>刘禄林</u>. <u>赵国阳</u>. <u>高超</u>. <u>李光飞</u>. <u>沈光思</u>. <u>俞晨</u>. <u>费蓓蓓</u>. <u>徐又佳</u>. <u>WANG Xiao</u>. <u>LIU Lulin</u>. <u>ZHAO</u> <u>Guoyang</u>. <u>GAO Chao</u>. <u>LI Guangfei</u>. <u>SHEN Guangsi</u>. <u>YU Chen</u>. <u>FEI Beibei</u>. <u>XU Youjia</u> 铁蓄积小鼠去势前后骨吸收活性 <u>的差异[期刊论文]-</u>中国骨质疏松杂志 2015(1)