

维生素 D 对基质 GLA 蛋白的影响

谢菲飞 杨雅 赖晓阳
南昌大学第二附属医院内分泌代谢科 330066

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 09-1123-05

摘要: 维生素 D 是人体健康所必要的元素,它参与体内钙平衡及骨代谢。基质 GLA 蛋白(matrix gla protein,MGP)是一种维生素 K 依赖性蛋白,是人体内血管和软骨钙化的抑制剂,对骨形成有重要的影响。了解维生素 D 对 MGP 表达的影响对探讨新的骨质疏松发病机理有着重要的意义。本文所述,维生素 D 与 MGP 这两种对骨形成有重要作用的影响因子之间存在着许多内在联系,维生素 D 除了能直接调节多种细胞 MGP 表达,也有可能通过调节钙磷代谢、雌二醇、维生素 K₂ 和 BMP-2 等多途径间接调节 MGP 表达,而且 1,25(OH)₂D₃ 有可能通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路调节 MGP 表达而影响骨形成。这和以往我们了解的维生素 D 在骨代谢中的作用机制有所不同,
关键词: 维生素 D;基质 GLA 蛋白;骨质疏松

The effect of vitamin D on matrix Gla protein

XIE Feifei, YANG Ya, LAI Xiaoyang
Institute of Endocrinology and Metabolism, the Second Attached Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China
Corresponding author: YANG Ya, Email: y_y6757@aliyun. com

Abstract: Vitamin D is an essential element involving in the calcium balance and bone metabolism. Matrix Gla protein is a vitamin K-dependent protein. It plays an important role in bone formation. It is important to understand the effect of vitamin D on the expression of MGP and to explore a new mechanism on osteoporosis. This paper reviews the connection of the two important influencing factors vitamin D and MGP. Besides the direct regulation of cellular MGP expression, vitamin D indirectly regulates MGP expression through the regulation of the metabolism of calcium and phosphors, estradiol, vitamin K₂, and BMP2. Moreover, 1,25(OH)₂D₃ may regulate MGP expression and bone formation by activating Wnt/ β -catenin signal pathway. It is different from our previous knowledge of the function of vitamin D in bone metabolism.
Key words: Vitamin D; Matrix Gla protein; Osteoporosis

许多研究已证实维生素 D 在骨骼健康中的重要作用。维生素 D 可间接通过肠道和肾脏调节钙的水平,也可直接影响成骨细胞以维持正常的生长板钙化和骨矿化。研究发现维生素 D 受体(vitamin D receptor,VDR)基因多态性与骨质疏松的发展有关。Li Y 等^[1]对 25 个研究进行荟萃分析,总共 4075 名中国女性,发现中国绝经后女性的 VDR BsmI 和 ApaI 多态性和骨密度有明显联系。另一项纳入 3243 名绝经后亚洲女性的荟萃分析发现 VDR FokI 多态性与骨密度有关联,并可以和其他遗传标志物一起识别处于骨质疏松的高危人群^[2]。活性维生素 D₃ 可刺激人间充质干细胞/基质细胞分化为

成骨前体细胞后再分化为成骨细胞,增加骨形成和矿化^[3]。成骨细胞系的成熟细胞上维生素 D 受体过表达可增加皮质骨和松质骨^[4]。Lisse TS 等^[5]首次发现活性维生素 D₃ 对人骨细胞的效应不仅限于经典的 VDR 介导的转录反应,而且涉及了 miRNA 直接的转录后机制。细胞分化阶段、细胞内、外环境对于维生素 D 对成骨细胞最终效应有重要作用^[6-7]。此外,Yamaguchi M 等^[8]还证实了维生素 D 对成骨细胞信号传导有多效性。活性维生素 D₃ 作为骨代谢和功能的调节剂,不仅可增加与成骨分化相关的 Wnt 信号通路中相关蛋白的表达^[9],还可以刺激骨基质蛋白的产生(如胶原蛋白、骨桥蛋白、骨钙素、基质 Gla 蛋白)^[10-11],但何种机制调节相关骨基质蛋白的表达仍不明确。

基质 GLA 蛋白(matrix gla protein,MGP),最初

基金项目: 国家自然科学基金(30860112)
* 通讯作者: 杨雅,Email:y_y6757@aliyun. com.

从牛骨骼中分离的 14Kda 的 N-末端 γ -羧基化蛋白家族的成员,它不仅是一种多功能细胞分化调控因子,也是含 5 个 γ -羧基化的谷氨酸残基和 1 个双硫键的维生素 K 依赖性循环蛋白^[12]。人类 MGP 基因长 3.9Kb,有 4 个外显子,由 3 个长的内含子序列分隔^[13]。MGP 经维生素 K 依赖性 γ -羧化酶将 Gly 残基转变为 Gla 残基而获得活性, γ -羧化和磷酸化都可以调节 MGP 的活性。体内研究发现 MGP 是血管和软骨钙化的抑制剂。MGP 既可依靠结合骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2),又可通过它的磷酸基团和该蛋白质的 Gla 残基直接与羟磷灰石晶体作用防止动脉钙化^[14]。MGP 可调节骨组织中骨的钙化。敲除 MGP 基因的小鼠身材矮小,骨量减少,甚至骨质疏松、骨折^[15]。Tsukamoto K 等^[16]研究发现 MGP 基因的多态性与影响绝经后女性骨密度的决定性因素有密切联系。Tuñón-Le Poultel D 等^[17]再次证实了 MGP 基因变异可能引起骨量丢失和血管钙化。Amina F 等^[18]发现与愈合骨折相比,非愈合骨折的成骨细胞中 MGP 表达呈阳性。诱导小鸡胫骨软骨发育不良模型中观察到愈合过程中,那些处于愈合的区域骨化之前可发现表达 MGP 的细胞,胫骨软骨发育不良区域存在 MGP 的表达,MGP 不仅是抑制剂而且还是生长板上软骨钙化的调节剂^[19]。以上结果均说明 MGP 可能促进骨形成并可抑制血管钙化,在骨质疏松的发病过程中具有重要的作用,但是其促进骨形成的机理仍不十分清楚。

在 MGP 基因序列及功能研究过程中,研究者们逐渐发现 MGP 与维生素 D 之间存在一定的联系和相关性。二十世纪九十年代,研究发现人 MGP 基因的启动子序列中可能存在维生素 D 受体的结合位点。活性维生素 D₃ 不仅可以迅速增加骨细胞 MGP 表达^[13],还能增加血管平滑肌细胞、人破骨细胞和鼠的软骨细胞、骨母细胞中 MGP mRNA 的转录水平^[20]。克隆大鼠的骨肉瘤细胞株模型中 ROS 17/2 经活性维生素 D₃ 干预 48 小时后导致基因表达模式改变,可发现 MGP 的合成和分泌增加^[21]。James DF 等^[22]通过放射免疫法及 Northern blot 技术检测证实活性维生素 D₃ 能呈浓度和时间依赖性刺激骨肉瘤细胞株 UMR106-01、ROS 25/1、ROS 25/4 的 MGP mRNA 表达,经活性维生素 D₃ 干预后 MGP 表达增加 6 到 15 倍。Baudet 等^[23]发现大鼠神经胶质细胞的凋亡是由于活性维生素 D₃ 刺激 MGP 过度表达引起的。活性维生素 D₃ 诱导 A/J 雄性小鼠异常

肾脏钙化与肾脏组织的总 MGP mRNA 和未羧化的 MGP(ucMGP)mRNA 的升高有关,此外还观察到活性维生素 D₃ 诱导 MGP mRNA 的表达可能与维生素 D 受体和维甲酸受体(retinoic acid receptor, RXR)之间相互作用有关,结合 MGP 基因启动子区域的维生素 D 反应元件(vitamin D response element, VDRE)必需含有 VDR 和 RXR^[24]。前期研究发现活性维生素 D₃ 呈剂量依赖性增加原代 SD 大鼠颅骨成骨细胞 MGP mRNA 的表达^[11]。由此推测维生素 D 可通过调节 MGP 表达而影响骨代谢。

虽然维生素 D 作为骨质疏松防治的重要药物,在骨代谢中的重要作用已得到认可,而维生素 D 与 MGP 是否存在内在的联系,维生素 D 是通过何种机制调节 MGP 表达仍不十分确定,目前国内外对于骨质疏松的发病机制中维生素 D 与 MGP 之间关系的研究较少,本文就骨代谢中维生素 D 与 MGP 的间接的相关性做一综述。

1 维生素 D 可能通过保证钙磷吸收刺激 MGP 的表达

骨骼富含钙和磷酸盐,而磷酸盐与钙的平衡对骨的代谢有重要作用。维生素 D 通过与 VDR-RXR 的相互作用可增加肠道钙、磷酸盐的吸收,促进上皮钙离子通道和钙结合蛋白的表达。然而磷酸盐和钙离子可增加 MGP 的表达。无机磷酸盐干预 ATDC5 细胞 36 小时后应用荧光定量 PCR 分析 MGP 的表达发现与对照组相比给予无机磷酸盐治疗 4 h 后 MGP 的表达增加,24 h 后可刺激 mRNA 编码 MGP 的稳态水平高达 3 倍以上。该研究首次发现无机磷酸盐通过 ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase,细胞外信号调节激酶)信号通路调节生长板软骨细胞中 MGP 的表达^[25]。Julien M 等^[26]发现无机磷酸盐通过 ERK1/2-Fra-1 途径调节成骨细胞 MGP 表达。进一步的研究揭示无机磷酸盐通过 ERK1/2 通路依赖性刺激成骨细胞中 MGP、骨桥蛋白的表达,然而这一过程可被钙离子调控^[27]。MGP 含有 5 个 γ -羧基化的谷氨酸残基,它可以结合钙离子、晶体钙。实验再次证实晶体可刺激 MGP mRNA 的表达显著上调^[28]。

2 维生素 D 可能通过增强维生素 K 的作用影响 MGP 的表达

动物模型和体外研究均证明了维生素 K 预防骨质疏松的作用。维生素 K₁ 和 K₂ 都是维生素 K

的天然存在形式。许多临床研究发现维生素 D 可以协同维生素 K 对于骨质疏松骨合成代谢的作用。日本大坂医学院的研究再次证实了维生素 K₂ 和活性维生素 D₃ 联合治疗绝经后骨质疏松比单用维生素 K₂ 更能增加骨密度^[29]。Torbergsen AC 等^[30] 研究髌部骨折人群血清维生素 K₁ 和 25(OH)D 的关系发现两者有显著的相互作用。龋齿动物实验中也观察到维生素 K 和维生素 D 的相互作用。随机将切除卵巢的大鼠分成两组,喂食活性维生素 D₃ 的小鼠经维生素 K₂ 干预后股骨中间部位的骨密度比未喂食活性维生素 D₃ 组有明显增加,由此可见,血清活性维生素 D₃ 浓度可以影响维生素 K₂ 对于骨量的效应^[31]。此外还发现只有经活性维生素 D₃ 干预后,维生素 K₂ 才能增加骨钙素 mRNA 的表达,使人骨膜成骨细胞发生矿化^[32]。研究不仅发现维生素 K₂ 呈剂量和时间依赖性诱导无活性 MGP 浓度降低^[33],还发现它上调骨肉瘤细胞株及体外培养的颅骨成骨细胞的 MGP mRNA 的表达,促进骨形成是通过激活类固醇及异质物受体途径^[34]。维生素 K 的抑制剂华法林干预动脉钙化的大鼠模型研究中发现由于无活性 MGP 不能与 BMP-2 结合,从而促进了 BMP-2 的作用,促进了细胞的骨形成,然而维生素 D 通过内皮素受体拮抗剂可逆转上述现象^[35]。前期实验已经验证了维生素 K₂ 剂量依赖性上调颅骨成骨细胞 MGP mRNA 的表达^[11]。

3 活性维生素 D 可能通过调节雌激素影响 MGP 的表达

绝经后骨质疏松症发病机制的核心是雌激素的缺乏,当雌激素缺乏时可刺激骨吸收的增加和骨质快速的丢失。维生素 D 不仅协同雌激素的作用^[36-37],而且可以调节雌激素的表达。基因研究发现雌激素受体 α 和维生素 D 受体基因型对腰椎骨密度和骨折有相互作用。Swami S 等^[38] 发现雌激素受体启动子区域包含两个负性维生素 D 受体反应元件。1,25(OH)₂D₃ 不仅可调节成骨细胞样细胞的雌激素受体表达和雌激素介导的信号^[38-39],还通过维生素 D 受体介导上调雌激素合成酶而增加雌激素的合成^[40]。然而雌激素可调节 MGP 的表达。研究发现雌激素不仅以抑制 RANKL-BMP (NF- κ B 受体活化素配体-骨形态发生蛋白)成骨途径的方式诱导脉管系统 MGP 的增加^[41],它还可有效诱导雌激素受体阳性细胞的 MGP 基因表达^[42]。前期观察

雌二醇对去卵巢 SD 大鼠 MGP 表达的影响发现雌二醇可提高去卵巢大鼠 MGP mRNA 的表达。雌激素干预后腰椎组织中未羧化的 MGP 转换为活性的 MGP,从而改善骨结构^[43]。

4 维生素 D 可能通过调节 BMP 影响 MGP 表达

Broege 等^[44]证实了体内 BMP 信号通路是通过多个步骤调节破骨细胞分化。经 BMP-2 干预后可增加破骨细胞分化导致 *Twsg1*^{-/-} 小鼠骨质疏松^[45]。大家已经公认 BMP 在骨形成和骨细胞分化方面有重要作用。日常摄入外源性 1,25(OH)₂D₃ 可抑制体外 BMP-2 诱导的信号通路。进一步的研究发现维生素 D 受体位点特异性结合 BMP-2 启动子区域 C 序列并通过 DNA 甲基化和修饰组蛋白而抑制 BMP-2 转录,呈时间和剂量依赖性调节 BMP-2 的表达^[46]。另一研究显示活性维生素 D₃ 能通过 BMP 信号途径诱导人真皮成纤维细胞的成骨细胞分化^[47]。MGP 浓度的增加可有效限制 BMP 的活性,作为 BMP 的抑制剂,它有可能是通过 BMP-2 而发挥抑制钙化的作用^[48]。MGP 作为 BMP 的结合蛋白,通过直接的蛋白质间相互作用与 BMP 物理性结合,防止 BMP-2 与受体结合而拮抗它的作用,其中涉及必要的脯氨酸和 MGP 的 γ -羧基谷氨酸残基^[49]。由此推测维生素 D 有可能可以通过调节 BMP 的活性而影响 MGP 表达。

5 维生素 D 可能通过影响 Wnt 信号通路调节 MGP 的表达

经典的 Wnt 信号通路已经证实了在骨折早期阶段可以使间充质细胞分化为软骨细胞或成骨细胞系^[50],它对于调节骨骼发育和维持骨量的重要作用已经被广泛研究^[51-53]。Wnt/ β -catenin 信号传导通路包括了 β -catenin、LRP5 等相关蛋白。在成骨细胞、人成骨样 TE-85 骨肉瘤细胞上,VDR 可以通过增加 β -catenin 转录而促进 Wnt 信号通路明显增强骨的合成代谢^[9]。此外,Fretz 等^[54]在维生素 D 受体 ChIP-chip 分析过程中发现活性维生素 D 可诱导其受体与 Wnt/ β -catenin 信号通路中的 LRP5 基因位点结合,诱导 LRP5 mRNA 转录。Wnt3a 与成骨细胞培养基一起干预成骨前体细胞强效协同诱导 MGP 的表达,比 Wnt3a 单独干预使 MGP 表达增加 35 倍。然而当成骨细胞培养基和 Wnt 拮抗剂 sFRP3 共同培养主动脉瓣膜间质细胞后可减弱对

MGP 的诱导表达^[55]。Fazenda C 等^[56]在体内、外实验都证实了 MGP 是 Runx2 的主要靶基因,外源性 Runx2 过表达可上调 MGP 转录和表达。这些研究已经证明了 Wnt 信号通路可诱导 MGP 的表达。根据这些资料我们推测活性维生素 D₃ 有可能是通过 Wnt 信号通路调节 MGP 的表达。

综上所述,维生素 D 与 MGP 这两种对骨形成有重要作用的影响因子之间存在着许多内在联系,维生素 D 除了能直接调节多种细胞 MGP 表达,也有可能通过调节钙磷代谢、雌二醇、维生素 K₂ 和 BMP-2 等多途径间接调节 MGP 表达,而且 1,25 (OH)₂D₃ 有可能通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路调节 MGP 表达而影响骨形成。这和以往我们所了解的维生素 D 在骨代谢中的作用机制有所不同,在此总结了骨代谢中可能存在的,维生素 D 对 MGP 的一些直接或间接的影响,为我们今后寻找新的骨质疏松症发病机制和治疗方法提供了重要的线索。

【 参 考 文 献 】

[1] Li Y, Xi B, Li K, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in Chinese women [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(5):5709-17.

[2] Wang D1, Liu R, Zhu H, et al. Vitamin D receptor FokI polymorphism is associated with low bone mineral density in postmenopausal women: a meta-analysis focused on populations in Asian countries [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013, 169(2):380-6.

[3] Zhou S, Glowacki J, Kim SW, et al. Clinical characteristics influence in vitro action of 1,25-dihydroxyvitaminD3 in human marrow stromal cells [J]. J Bone Miner Res, 2012, 27:1992-2000.

[4] Gardiner, EM, Baldock, PA, Thomas, GP, et al. Increased formation and decreased resorption of bone in mice with elevated vitamin D receptor in mature cells of the osteoblastic lineage [J]. FASEB J, 2000, 14, 1908-1916.

[5] LisseTS, ChunRF, Rieger S. Vitamin D activation of functionally distinct regulatory miRNAs in primary human osteoblasts [J]. J Bone Miner Res, 2013, 28(6):1478-8.

[6] Woeckel VJ, Alves RD, Swagemakers SM, et al. 1 α ,25-(OH)₂D₃ acts in the early phase of osteoblast differentiation to enhance mineralization via accelerated production of mature matrix vesicles [J]. J Cell Physiol, 2010, 225(2):593-600.

[7] Cui J, Ma C, Qiu J, et al. A novel interaction between insulin-like growth factor binding protein-6 and the vitamin D receptor inhibits the role of vitamin D3 in osteoblast differentiation [J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 338(1-2):84-92.

[8] Yamaguchi M, Weitzmann MN. High dose 1, 25 (OH)₂D₃ inhibits osteoblast mineralization in vitro [J]. Int J Mol Med, 2012;29(5):934-8.

[9] Haussler MR, Haussler CA, Whitfield GK, et al. The nuclear vitamin D receptor controls the expression of genes encoding factors which feed the “Fountain of Youth” to mediate healthful aging [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2010, 12, 1(1-2):88-97.

[10] Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, et al. Molecular mechanisms of vitamin D action [J]. Calcif Tissue Int, 2013;92(2):77-98.

[11] 方向南, 赖晓阳, 杨雅, 等. 四种骨质疏松治疗药物对原代 SD 大鼠成骨细胞 MGP 表达的影响 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28(12):956-961.

Fang XN, Lai XY, Yang Y, et al. Effect of four different anti-osteoporosis agents on the expression of matrix gla protein in primary osteoblasts of SD rat. Zhonghua Nei Fen Mi Za Zhi [J]. 2012;28(12):956-961 (in chinese).

[12] Nemesik J, Kiss I, Tislér A. Arterial stiffness, vascular calcification and bone metabolism in chronic kidney disease [J]. World J Nephrol, 2012;1(1):25-34.

[13] Cancela L, Hsieh CL, Francke U, et al. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix gla protein gene [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1990, 265(25):15040-15048.

[14] O’Young J, Liao Y, Xiao Y, et al. Matrix Gla protein inhibits ectopic calcification by a direct interaction with hydroxyapatite crystals [J]. J Am Chem Soc, 2011, 133(45):18406-12.

[15] Luo G, Ducy P, McKee MD, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein [J]. Nature, 1997;386(6620):78-81.

[16] Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the human matrix Gla protein locus in elderly women [J]. J Bone Miner Metab, 2000, 18(1):27-30.

[17] Tuñón-Le Poultel D, Cannata-Andía JB, Román-García P, et al. Association of matrix Gla protein gene functional polymorphisms with loss of bone mineral density and progression of aortic calcification [J]. Osteoporos Int, 2014, 25(4):1237-46.

[18] Zebboudj AF, Imura M, Boström K. Matrix GLA protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2 [J]. J Biol Chem, 2002, 277(6):4388-94.

[19] Dan H, Simsa-Maziel S, Reich A, et al. The role of matrix Gla protein in ossification and recovery of the avian growth plate [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2012, 3:79.

[20] Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein [J]. Nephrology, 2006, 11(5):455-461.

[21] James DF, Paul AP. Induction of matrix Gla protein synthesis during prolonged 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 treatment of osteosarcoma cells [J]. Calcif Tissue Int, 1990, 46(4):270-279.

[22] James DF, Yoko Otawara, Paul AP. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates the synthesis of matrix γ -carboxyglutamic acid protein by osteosarcoma Cells [J]. J Biol Chem, 1987, 263:911-916.

- [23] Baudet C, Perret E, Delpach B, et al. Differentially expressed genes in C6.9 glioma cells during vitamin D-induced cell death program[J]. *Cell Death Differ*, 1998, 5(1):116-25.
- [24] Fu XY, Wang XD, Mernitz H, et al. 9-Cis retinoic acid reduces $1\alpha, 25$ -Dihydroxycholecalciferol-Induced renal calcification by altering vitamin K-Dependent gamma-carboxylation of matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in A/Jmale Mice [J]. *J Nutr*, 2008, 138(12):2337-2341.
- [25] Julien M, Magne D, Masson M, et al. Phosphate stimulates matrix gla protein expression in chondrocytes through the extracellular signal regulated kinase signaling pathway [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(2):530-7.
- [26] Julien M, Khoshniat S, Lacrosette A, et al. Phosphate-dependent regulation of MGP in osteoblasts; role of ERK1/2 and Fra-1 [J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(11):1856-68.
- [27] Khoshniat S, Bourguin A, Julien M, et al. Phosphate-dependent stimulation of MGP and OPN expression in osteoblasts via the ERK1/2 pathway is modulated by calcium [J]. *Bone*, 2011, 48(4):894-902.
- [28] Lu X, Gao B, Yasui T, et al. Matrix Gla protein is involved in crystal formation in kidney of hyperoxaluric rats [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2013, 37(1):15-23.
- [29] Ushiroyama T, Ikeda A, Ueki M. Effect of continuous combined therapy with vitamin K(2) and vitamin D(3) on bone mineral density and coagulofibrinolysis function in postmenopausal women [J]. *Maturitas*, 2002, 41(3):211-21.
- [30] Torbergson AC, Watne LO, Wyller TB, et al. Vitamin K1 and 25(OH)D are independently and synergistically associated with a risk for hip fracture in an elderly population: A case control study [J]. *Clin Nutr*, 2014, pii: S0261-5614(14)00041-7.
- [31] Hara K, Akiyama Y, Tomiuga T, et al. Influence of vitamin D3 on inhibitory effect of vitamin K2 on bone loss in ovariectomized rats [J]. *Nihon Yakuigaku Zasshi*, 1994, 104(2):101-9.
- [32] Koshihara Y, Hoshi K, Ishibashi H, et al. Vitamin K2 promotes $1\alpha, 25(\text{OH})_2$ vitamin D3-induced mineralization in human periosteal osteoblasts [J]. *Calcif Tissue Int*, 1996, 59(6):466-73.
- [33] Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G, et al. Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 59(2):186-95.
- [34] Kuniko HI, Satoshi I. Steroid and xenobiotic receptor mediates a novel vitamin K2 signaling pathway in osteoblastic cells [J]. *J Bone Miner Metab*, 2008, 26(1):9-12.
- [35] Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(2):317-27.
- [36] Schnatz PF, Marakovits KA, O'Sullivan DM, et al. Response to an adequate dietary intake of vitamin D3 modulates the effect of estrogen therapy on bone density [J]. *J Womens Health (Larchmt)*, 2012, 21(8):858-64.
- [37] Song L, Zhang X, Zhou Y. A synergistic role of $1, 25$ -dihydroxy vitamin- D (3) in 17β -estradiol induced proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 659(2-3):273-80.
- [38] Swami S, Krishnan AV, Peng L, et al. Transrepression of the estrogen receptor promoter by calcitriol in human breast cancer cells via two negative vitamin D response elements [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2013, 20(4):565-77.
- [39] Colin EM, Uitterlinden AG, Meurs JB, et al. Interaction between vitamin-D receptor genotype and estrogen receptor alpha genotype influences vertebral fracture risk [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88(8):3777-84.
- [40] Nashold FE, Spach KM, Spanier JA, et al. Estrogen controls vitamin D3-mediated resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis by controlling vitamin D3 metabolism and receptor expression [J]. *J Immunol*, 2009; 183(6):36, s 72-81.
- [41] Osako MK, Nakagami H, Koibuchi N, et al. Estrogen inhibits vascular calcification via vascular RANKL system: common mechanism of osteoporosis and vascular calcification [J]. *Circ Res*, 2010, 107(4):466-75.
- [42] Sheikh MS, Shao ZM, Chen JC, et al. Differential regulation of matrix Gla protein (MGP) gene expression by retinoic acid and estrogen in human breast carcinoma cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1993, 92(2):153-60.
- [43] 陈雪英, 姜醒华, 杨雅, 等. 雌二醇对去卵巢大鼠基质 GLA 蛋白表达的影响 [J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(11):833-838.
- Chen XY, Jiang XH, Yang Y, et al. The expression of matrix GLA protein in ovariectomized SD rats [J]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2012; 47(11):833-8 (in Chinese).
- [44] Broege A, Pham L, Jensen ED, et al. Bone morphogenetic proteins signal via SMAD and MAP kinase pathways at distinct times during osteoclastogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(52):37230-40.
- [45] Pham L, Beyer K, Jensen ED, et al. Bone morphogenetic protein 2 signaling in osteoclasts is negatively regulated by the BMP antagonist, twisted gastrulation [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(3):793-803.
- [46] Fu B, Wang H, Wang J, et al. Epigenetic regulation of BMP2 by $1, 25$ -dihydroxyvitamin D3 through DNA methylation and histone modification [J]. *PLoS One*, 2013; 8(4):e61423.
- [47] Hee CK, Nicoll SB. Endogenous bone morphogenetic proteins mediate $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D(3)-induced expression of osteoblast differentiation markers in human dermal fibroblasts [J]. *J Orthop Res*, 2009, 27(2):162-8.
- [48] Yao Y, Bennett BJ, Wang X, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification [J]. *Circ Res*, 2010, 107(4):485-94.
- [49] Yao Y, Shahbazian A, Bostrom KI. Proline and gamma-carboxylated glutamate residues in matrix Gla protein are critical for binding of bone morphogenetic protein-4 [J]. *Circ Res*, 2008, 102(9):1065-1074.

[19]

Zhang Y, Wu SY, Gu SS, et al. Changes of renal vitamin D metabolic enzyme expression and calcium transporter abundance in obstructive nephropathy. *Nephrology*, 2011, 16 (8) : 710–714.

[20]

Gu SS, Zhang Y, Wu SY, et al. Early molecular responses of bone to obstructive nephropathy induced by unilateral ureteral obstruction in mice. *Nephrology*, 2012, 17(8) : 767–773.

[21]

Tong Y, Han B, Guo H, et al. Protection of Chinese herbs against adenine-induced chronic renal failure in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2010, 7(4) : 331–338.

[22]

Wang J, Wang F, Yun H, et al. Effect and mechanism of fucoidan derivatives from *Laminaria japonica* in experimental adenine-induced chronic kidney disease. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3) : 807–813.

[23]

Yokozawa T, Oura H, Okada T. Metabolic effects of dietary purine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1982, 28(5) : 519–526.

[24]

Aoki C, Uto K, Honda K, et al. Advanced glycation end products suppress lysyl oxidase and induce bone collagen degradation in a rat model of renal osteodystrophy. *Lab Invest*, 2013, 93(11) : 1170–1183.

[25]

Katsumata K, Kusano K, Hirata M, et al. Sevelamer hydrochloride prevents ectopic calcification and renal osteodystrophy in chronic renal failure rats. *Kidney Int*, 2003, 64(2) : 441–450.

[26]

Damment S, Secker R, Shen V, et al. Long-term treatment with lanthanum carbonate reduces mineral and bone abnormalities in rats with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(6) : 1803–1812.

[27]

Liu S, Song W, Boulanger JH, et al. Role of TGF-β in a mouse model of high turnover renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(5) : 1141–1157.

[28]

Ferrari GO, Ferreira JC, Cavallari RT, et al. Mineral bone disorder in chronic kidney disease: head-to-head comparison of the 5/6 nephrectomy and adenine models. *BMC Nephrol*, 2014, 15 : 69.

[29]

Sepehri G, Derakhshanfar A, Saburi L. Does propylthiouracil increase the gentamicin-induced nephrotoxicity in rat? *Iran J Basic Med Sci*, 2013, 16(11) : 1190–1195.

[30]

Lu DZ, Wo XD, Li Y, et al. Effects of Warming and Tonifying Kidney-Yang Drugs on liver mitochondria proteome of rats with kidney-yang deficiency. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2007, 22(2) : 102–108.

[31]

Marino R, Hegde A, Barnes KM, et al. Catch-up growth after hypothyroidism is caused by delayed growth plate senescence. *Endocrinology*, 2008, 149(4) : 1820–1828.

[32]

Pradeep K, Ko KC, Choi MH, et al. Protective effect of hesperidin, a citrus flavanoglycone, against γ-radiation-induced tissue damage in Sprague-Dawley rats. *J Med Food*, 2012, 15 (5) : 419–427.

[33]

Moulder JE, Cohen EP, Fish BL. Captopril and losartan for mitigation of renal injury caused by single-dose total-body irradiation. *Radiat Res*, 2011, 175(1) : 29–36.

[34]

Norrdin RW. Animal model of human disease. Renal osteodystrophy in dogs with radiation nephropathy. *Am J Pathol*, 1981, 103(3) : 466–469.

[35]

Wu MY, Zhu GY, Gao LF, et al. Effects of soy isoflavones on bone mass and bone structure in rats by radioactive injury to kidney. *Chin J Osteoporos*, 2006, 12(2) : 152–156.

[36]

Ali BH, Al-Salam S, Al Husseni I, et al. Effects of Gum Arabic in rats with adenine-induced chronic renal failure. *Exp Biol Med*, 2010, 235(3) : 373–382.

(收稿日期 : 2015-02-18)

(上接第 1127 页)

[50]

Chen Y, Alman BA. Wnt pathway, an essential role in bone regeneration[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106(3) : 353–62.

[51]

Liedert A, Röntgen V, Schinke T, et al. Osteoblast-specific *Krm2* overexpression and *Lrp5* deficiency have different effects on fracture healing in mice [J]. *PLoSOne*, 2014, 9 (7) : e103250.

[52]

Whyte JL, Smith AA, Helms JA. Wnt signaling and injury repair [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(8) : a008078.

[53]

Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments [J]. *Nat Med*, 2013, 19(2) : 179–92.

[54]

Fretz JA, Zella LA, Kim S, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces expression of the Wnt signaling co-regulator LRP5 via regulatory elements located significantly downstream of the gene's transcriptional start site [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007, 103(3–5) : 440–5.

[55]

Gao J, Liu Q, Liu X, et al. Cyclin G2 suppresses estrogen-mediated osteogenesis through inhibition of Wnt/β-catenin signaling [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3) : e89884.

[56]

Fazenda C, Simões B, Kelsh RN, et al. Dual transcriptional regulation by runx2 of matrix Gla protein in *Xenopus laevis* [J]. *Gene*, 2010;450(1–2) : 94–102.

(收稿日期 : 2014-10-28)