

肾性骨病动物模型的研究进展

刘金鑫 张岩*

上海理工大学系统生物医学研究中心, 上海 200093

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 09-1138-05

摘要: 慢性肾脏病(CKD)发病率高,防治率低,成为又一个威胁人类健康的重要疾病。肾性骨营养不良(ROD)是CKD主要并发症之一。合适的ROD动物模型对研究ROD乃至CKD的病理机制及药物防治尤为重要。本文综述了由手术法、化学法、辐射法等致ROD的动物模型研究进展,并通过对各种动物模型的评价,为今后临床前基础研究中ROD动物模型的选择提供一些理论依据。

关键词: 慢性肾脏病;肾性骨病;动物模型

Research progress in animal models of renal osteodystrophy

LIU Jinxin, ZHANG Yan

Center for System Biomedical Sciences, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

Corresponding author: ZHANG Yan, Email: medicineyan@aliyun.com

Abstract: Chronic kidney disease (CKD) becomes one of the most vital diseases threatening human health. CKD is clinically characterized by increased morbidity and limited preventive measures. Renal osteodystrophy (ROD) is one of the major complications of CKD. An appropriate animal model for ROD appears to be very important for studying the pathological mechanisms and preventive drugs for ROD, even for CKD. This paper reviews the research progress on animal models for ROD induced by surgery, chemicals, or irradiation. The comparison and evaluation of the animal models provides theoretical evidence for the selection of ROD animal models in the pre-clinical basic study.

Key words: Chronic kidney disease; Renal osteodystrophy; Animal model

慢性肾脏疾病(CKD)是当前世界上的公共健康问题之一,由于其发病率高,防治率低,已成为继心脑血管病、肿瘤、糖尿病之后的又一个威胁人类健康的重要疾病。肾性骨营养不良(ROD),又称肾性骨病,是慢性肾脏疾病的主要并发症之一^[1]。ROD始于CKD早期,伴随CKD的进程,发病率越来越高。临床研究发现,当肾小球滤过率(GFR) < 50%时,有一半患者出现肾性骨病,而当进入慢性肾脏病终末期(ESRD)时,几乎所有的患者都出现了肾性骨病^[2]。ROD临床表现为钙、磷代谢障碍,酸碱平衡失调,骨骼畸形并可引起继发性甲状旁腺功能亢进,骨骼异常,表现为骨质疏松、骨软化、纤维囊性骨炎、骨硬化及转移性钙化^[3]。这些复杂症状严重影响了患者的生活质量,因此ROD被认为是引起

CKD患者发病和死亡的重要因素之一^[4]。

目前,CKD最主要的治疗目标是控制并发症和延缓疾病进展,避免进入尿毒症期。然而,当前还没有先进的技术能让我们从非侵入的方法来准确判断ROD的类型^[5],也没有开发出具有良好疗效的药物,因此,我们需要进一步深入对CKD及ROD的研究。合适的类似于人类发病和病理变化的慢性肾脏疾病动物模型是研究此病及其并发症的关键,并将为临床有效新药的筛选提供实验对象。本文综述了相关动物模型的制备方法、应用及研究现状。

1 手术法

手术法是指通过对模型动物的肾脏进行一定的切除或破坏,对肾脏造成不同程度的损伤,进而诱导形成慢性肾脏疾病,其主要包括以下几种形式:肾大部切除法、肾部分切除加高磷膳食诱导法、电烙术法和单侧输尿管结扎法。

*通讯作者: 张岩, Email: medicineyan@aliyun.com

1.1 肾大部切除法

肾性骨病主要是由于肾单位进行性减少,肾功能进行性下降造成的。部分肾切除可以机械性的减少肾单位,并引发大鼠的肾功能恶化及生理指标的变化^[6],从而逐步发展成 ROD。

关于肾脏疾病的动物研究首次公开发表于1889年,许多研究者通过对多种动物的肾脏进行2/3或3/4切除手术来制备肾脏疾病模型^[7]。随后,Chauntin等^[8]在1932年提出了一种5/6肾脏切除的老鼠模型,也就是今天我们所说的肾大部切除法。这种方法多用于大鼠,手术分两步完成:第一步是剪开大鼠一侧或腹部的皮肤,在无菌条件下切除一侧肾脏的2/3;第二步是在大鼠休养1~2周后,按之前的方法切除另一侧的整个肾脏,两次手术共计切除5/6的肾脏。造模成功后,可以发现大鼠的体重明显下降,进食和活动量均减少。术后1周血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)升高,4周后就开始进入肾衰期,随着肾功能的恶化,BUN和Scr会进一步升高,并出现高磷(P)、低钙(Ca)、高甲状旁腺激素(PTH)血症以及骨矿化物含量下降,而PTH升高则会引起肾性骨营养不良、无菌性骨坏死等一系列骨病。

肾大部切除动物模型是经典而成熟的CKD模型,主要应用于慢性肾衰疾病的病理机制的研究。随着对CKD的深入了解,学者们也将此模型用于评价分析因肾损伤而引起的骨组织的变化。Yamaguchi等^[9]采用此方法发现,狨猴股骨在5/6肾切除后骨矿化代谢异常。术后13周,模型组甲状旁腺增生,PTH、BUN、Scr水平显著升高,骨代谢指标碱性磷酸酶(ALP)活性增强,骨小梁、骨髓细胞减少,骨吸收量、骨矿化量减少,骨形成率降低。此外,Iwasaki等对大鼠先行去甲状腺手术(TPTx),再结合5/6肾脏切除,发现与TPTx组相比,CKD动物皮质骨的矿物质含量/基质比、Ca/P比、吡啶交联/基质比等参数发生明显变化,而这些化学成分的变化是引起皮质骨力学性能下降的主要原因^[10]。

1.2 肾部分切除加高磷饮食法

肾部分切除加高磷饮食主要是在3/4或5/6肾切除后配以高磷饮食。周等^[11]在切除大鼠1/2左肾1周后,将右肾动脉结扎(机能切除),2次手术完成后1周,给予高磷饮水,平均每只大鼠每日饮入0.5gNaH₂PO₄(相当于0.14g磷)。术后饲养6月,发现模型组血BUN、Scr、P、PTH进行性升高,血Ca进行性降低,骨代谢指标ALP、骨钙素(BGP)、尿脱

氧嘧啶酚(Dpd)显著升高,骨病理改变与人类肾性骨病相似。关等^[12]将此模型用于ROD药物防治的筛选试验,取得了理想的效果。Neven等^[13]采用5/6肾切除加高磷饮食法。手术完成后2周,开始给予高磷饮食(1.03%磷),术后饲养8周,与正常饮食组相比,高磷饮食组大鼠出现低尿钙,胫骨中Ca²⁺、Mg²⁺浓度均降低,并且破骨细胞增殖率大于成骨细胞,类质骨面积明显增加,骨小梁数量减少,骨吸收大于骨形成;与术前相比,血清中Mg²⁺、PTH水平升高,Ca²⁺浓度降低。

1.3 电烙术法

电烙术法是采用针形电灼烧器灼烧小鼠肾脏表皮,破坏肾功能,从而诱发形成CKD。此法是Gagnon等^[14]于1983年在研究尿毒症时设计的CKD动物模型。将小鼠麻醉后,从背部一侧切口约0.8cm,暴露肾脏,剥离周围脂肪组织和肾包膜,用电灼器电凝肾表皮,深度约1mm,保留距肾门周围2mm的皮质部分不受烧灼,操作全过程不超过10min,休息一周后,切除另一侧的肾脏。若造模成功,小鼠在术后2周出现贫血,血清中BUN、Scr水平上升,尿量及尿蛋白量增加,并出现甲状旁腺机能亢进。

Lund等^[15]针对此动物模型的研究,除发现模型组小鼠的BUN、PTH水平升高,产生继发性甲状旁腺功能亢进外,通过骨组织形态分析,发现其股骨有明显的骨营养不良表征,包括成骨细胞数量、面积均减少,骨形成率、骨矿化沉积率降低,骨密度下降、骨小梁周围纤维化严重、骨髓腔增大,并由纤维化细胞填充等。Davies等^[16]将此模型制备方法用于低密度脂蛋白受体基因敲除(LDLR^{-/-})的小鼠,研究发现,在喂予高脂食物的小鼠中,股骨远端松质骨的矿物沉积率明显降低,成骨细胞减少,骨形成减缓,逐步演化成低转化型骨营养不良。

1.4 单侧输尿管结扎术

肾间质纤维化是各种原因导致肾小管间质损伤病变的最终结果,而肾间质纤维化是导致终末期肾衰竭的主要原因之一^[17]。单侧输尿管结扎术(UUO)是一种制备肾纤维化简便、有效、快捷的手术方式。将小鼠麻醉后,选择一侧并依次切开皮肤至腹膜,然后游离肾脏及输尿管,将输尿管用丝线结扎,逐步缝合。动物行UUO手术后,肾脏尿液积聚,引起肾间质压力日益增加,导致肾脏损伤。术后3天,通过病理组织检测可以发现肾小管进行性萎缩,间质水肿伴有逐渐加重的淋巴细胞;2周后,肾皮质

区有弥漫性炎症细胞浸润,间质面积进一步增宽,可见大量的纤维组织增生^[18]。因此,在UUO手术法建立的肾间质纤维化动物模型的基础上,根据病情的发展,可以进一步作为终末期肾脏疾病及其并发症的动物模型,加以研究分析。

Zhang等^[19]研究发现,肾间质纤维化会导致肾脏维生素D代谢酶及钙转运蛋白含量的改变,从而可能引起维生素D内分泌系统和骨代谢的异常。Gu等^[20]的研究证实了以上猜测,结果显示,UUO小鼠胫骨近端软骨细胞区膨胀,类骨质减少,骨小梁连接减少;继续研究UUO小鼠骨代谢相关调控分子的变化,发现促骨形成因子Cbfa1、1型胶原(Type 1 collagen)表达量下降,骨吸收因子组织蛋白酶K(CtsK)、碳酸酐酶II(CaII)表达量升高。值得注意的是,通过对骨组织肾素-血管紧张素系统(RAS)组分的检测,发现RAS活性升高在UUO小鼠骨损伤进程中扮演重要角色。

2 化学法

化学法一般是指依据各种肾毒性药物的肾损伤原理,诱发形成慢性肾脏疾病的方法。这些肾毒性药物主要包括:腺嘌呤、丙基硫氧嘧啶等。

2.1 腺嘌呤

腺嘌呤直接损伤肾小球上皮细胞,破坏肾小球滤过膜,导致肾小球滤过膜的分子屏障和电荷屏障功能降低,大量血浆蛋白,尤其是白蛋白进入原尿,超过了肾小管的重吸收能力而产生大量蛋白尿^[21]。高浓度腺嘌呤通过黄嘌呤氧化酶的作用生成极难溶于水的2,8-二羟基腺嘌呤,沉积在肾小管,影响了氮质化合物的排泄,导致高氮血症、毒素蓄积及电解质、氨基酸代谢紊乱,最终引起肾功能衰竭^[22]。

腺嘌呤摄食致肾损伤的动物模型由Yokozawa等^[23]于1982年首次报道。使用含0.75%腺嘌呤饲料喂养大鼠,2周后测得血清BUN、Scr水平升高,电解质代谢紊乱。随着进食日数增加,肾脏明显增大,大量腺嘌呤代谢物在肾组织中蓄积,大部分肾小管两端纤维化,有淋巴细胞浸润,出现了严重的甲状旁腺功能亢进。通过对骨组织形态检测,发现骨吸收增强、骨纤维化、类骨质增加等病变^[24]。该ROD动物服用盐酸司维拉姆后,血清中的Ca、P及PTH水平降低,抑制主动脉钙化,降低类骨质、纤维化含量^[25]。Damment等^[26]也发现碳酸镧治疗后能够纠正此种动物模型的血磷酸盐过多和继发性甲状旁腺功能亢进,并能抑制骨纤维化。

近来,研究发现,通过腺嘌呤摄食诱导的ROD动物模型主要表现为高骨转化型^[27, 28],结合分子水平的分析结果,发现模型动物骨组织TGF- β 1及其下游信号如SMAD2受体等活性增强^[27]。大鼠经腺嘌呤摄食处理9周后,其发生高转换型骨代谢紊乱的程度比单纯的5/6肾切除诱导的骨代谢失常更加严重^[28],这在今后相关基础研究中动物模型的选择上也是需要注意的。

2.2 丙基硫氧嘧啶

Sepehri等^[29]给大鼠以10 mg/kg剂量注射丙基硫氧嘧啶(PTU),连续注射18 d,PTU组大鼠出现肾间质性纤维化、肾炎以及肾充血等异常症状。卢等^[30]给大鼠以40 mg/kg剂量喂食PTU,连续喂养20天后,大鼠出现饮食减少、体重下降、活动减少、反应迟钝、毛色无光泽、易脱落、叫声低弱、大便稀溏等肾阳虚症状。Marino等^[31]用PTU成功诱导小鼠甲状腺功能减退后,出现抑制体重增长、尾长、胫骨长度以及心、肝、肾的质量的症状,继续检测发现,胫骨生长减缓,部分是由软骨细胞区的增殖区细胞增殖率下降所导致。

3 辐射法

随着人们接触辐射源增多,因其严重的副作用而引发的疾病也逐年增加,肾辐射损伤就是其中之一^[32]。当肾受到一定剂量、一定时间的辐射后,会引起肾单位减少、肾小球硬化、肾小管纤维化,机体会出现蛋白尿、氮血症、高血压等临床症状^[33],进一步诱发导致骨代谢障碍、骨骼异常等病变,表现为骨量减少、骨结构破坏、成骨细胞功能减弱、破骨细胞功能活跃等特点,类似于慢性肾功能衰竭所致的肾性骨病,由此形成了一种肾辐射损伤诱发肾性骨病动物模型。实际早在1981年,Norrdin等^[34]对出生2天的小狗进行全身⁶⁰Co γ 辐射,诱发行成了不同程度肾衰的模型组,应用于人类肾性骨病的研究。

吴等^[35]在原先模型基础上设计出局部辐射损伤致慢性肾衰模型。在脊椎两侧肾脏体表投影部位纵行切口,暴露两侧肾脏,将大鼠侧卧并固定于辐射大鼠模具上,铅板遮挡肾脏以外的组织,暴露的肾脏放置于¹³⁷Cs γ 射线照射装置内接受 γ 射线照射,一次性照射,照射剂量为15Gy。3个月后,肾辐射组的骨干重、灰重、BMD等骨量指标及股骨三点弯载荷和腰椎压缩载荷等指标均明显降低。此外,骨组织形态检测显示,骨小梁稀疏,出现穿孔、断裂,骨小梁结点减少、间距增加,骨髓腔面积增大等病变。

4 总结与展望

目前,肾性骨病模型的制备方法主要有手术法和化学法两大类。运用各种方法破坏肾脏,造成肾单位减少以及肾血流量和肾小球滤过率增加,由此引发了肾内压增高、肾皮质内细胞浸润、蛋白尿和高血压,进而导致肾小球硬化,最后发生肾功能不全。残留肾组织的这些病理变化是CKD及ROD发生、发展的主要原因和病理基础。

肾大部切除是一种比较简便易行的方法,通过简明的两步手术,达到实验目的,并且可以避免因坏死组织留于体内而影响实验结果,但是,肾大部切除的ROD模型因肾功能下降太快,以至于存活时间较短,不能很深入的研究ROD骨病理改变^[11]。改善后得到的肾部分切除加高磷饮食法,此法由肾部分切除诱导动物进入慢性肾衰期,然后在高磷饮食的促进下,发展成ROD,从实验结果看,这种模型的发病机理与人ROD比较相似。电烙术法和辐射法都需要一些特殊的设备,并掌握一些复杂的技术,又由于肾辐射模型的特殊性,因此一般不是太常用。UUO模型是比较常用且成熟的肾小管损伤模型,通过引起肾间质纤维化,最终导致肾脏衰竭并产生肾性骨病,基本可以反映人类的梗阻性肾脏病变的过程。化学法是一种相对比较容易设计且进行的方法,以腺嘌呤模型为例,造模周期短且成功率高,但也有报道称该模型的动物死亡率较高^[36],因此还需要进一步完善这些方法。

综上所述,寻找并建立与人类发病机制相类似的动物造模方法,对研究慢性肾脏疾病及肾性骨病十分重要。目前应用的各种模型各有优缺点,各种造模方法也各有侧重。随着科技的发展和研究的深入,期待有更简单,更高效,更合适的肾性骨病动物模型。

【参 考 文 献】

- [1] Mazzaferro S, Tartaglione L, Rotondi S, et al. News on biomarkers in CKD-MBD. *Semin Nephrol*, 2014, 34(6):598-611.
- [2] Mula-Abed WA, Al Rasadi K, Al-Riyami D. Estimated glomerular filtration rate (eGFR): A serum creatinine-based test for the detection of chronic kidney disease and its impact on clinical practice. *Oman Med J*, 2012, 27(2):108-113.
- [3] Mejía N, Roman-García P, Miar AB, et al. Chronic kidney disease—mineral and bone disorder: a complex scenario. *Nefrología*, 2011, 31(5):514-519.
- [4] Stompór T, Olszewski A, Kierzkowska I. Can we prolong life of patients with advanced chronic kidney disease: what is the clinical evidence? *Pol Arch Med Wewn*, 2011, 121(3):88-93.
- [5] Sprague SM. Renal bone disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2010, 17(6):535-539.
- [6] Suzuki Y, Yamaguchi I, Onoda N, et al. Differential renal glomerular changes induced by 5/6 nephrectomization between common marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) and rats. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, 65(5):667-676.
- [7] Shobeiri N, Adams MA, Holden RM. Vascular calcification in animal models of CKD: A review. *Am J Nephrol*, 2010, 31(6):471-481.
- [8] Chauntin A, Ferris EB. Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomy. *Arch Intern Med*, 1932, 49:767-787.
- [9] Yamaguchi I, Myojo K, Sanada H, et al. Five-sixth Nephrectomy in Female Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) as a Chronic Renal Failure Model: A Longitudinal Course of Serum Biochemical, Hematological and Histopathological Changes. *J Toxicol Pathol*, 2014, 27(3-4):183-195.
- [10] Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, et al. Changes in chemical composition of cortical bone associated with bone fragility in rat model with chronic kidney disease. *Bone*, 2011, 48(6):1260-1267.
- [11] Zhou JJ, Guan X, Zhao D. Study on rat model of renal osteodystrophy due to part nephrectomy and high dietary phosphorus. *Chin J Integr Tradit West Nephrol*, 2002, 3(10):567-569.
- [12] Guan X, Zhou JJ, Zhao D. The experiment study of Bushenzhuangutang on rat models of renal osteodystrophy. *Chin J Integr Tradit West Nephrol*, 2003, 4(1):10-12.
- [13] Neven E, De Schutter TM, Dams G, et al. A magnesium based phosphate binder reduces vascular calcification without affecting bone in chronic renal failure rats. *PLoS One*, 2014, 9(9):e107067.
- [14] Gagnon RF, Duguid WP. A reproducible model for chronic renal failure in the mouse. *Urol Res*, 1983, 11(1):11-14.
- [15] Lund RJ, Davies MR, Brown AJ, et al. Successful treatment of an adynamic bone disorder with bone morphogenetic protein-7 in a renal ablation model. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(2):359-369.
- [16] Davies MR, Lund RJ, Mathew S, et al. Low Turnover Osteodystrophy and Vascular Calcification Are Amenable to Skeletal Anabolism in an Animal Model of Chronic Kidney Disease and the Metabolic Syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(4):917-928.
- [17] Kashiwagi E, Tonomura Y, Kondo C, et al. Involvement of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and osteopontin in renal tubular regeneration and interstitial fibrosis after cisplatin-induced renal failure. *Exp Toxicol Pathol*, 2014, 66(7):301-311.
- [18] Zhang Y, Kong J, Deb DK, et al. Vitamin D receptor attenuates renal fibrosis in obstructive nephropathy by suppressing the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(6):966-973.

- [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)