

· 论 著 ·

晚期氧化蛋白质终产物对老年大鼠骨密度和骨微结构的影响

曾纪煊^{1,2} 钟招明^{1*} 肖强² 李小丹³ 朱思远¹ 陈建庭¹

1. 南方医科大学南方医院脊柱骨科, 广州 510515

2. 江西省人民医院骨科, 南昌 330000

3. 广东医学院研究生学院, 湛江 524000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 11-1313-05

摘要: 目的 晚期氧化蛋白质终产物(Advanced Oxidation Protein Products, AOPPs)是一种新型炎症介质,参与多种疾病的发生、发展。本研究探讨 AOPPs 对老年大鼠骨密度和骨微结构的影响。方法 70 只 18 月龄雄性 SD 大鼠随机分为 A、B、C、D、E 5 组,分别给予以下处理:A 组,PBS 液,50 mg/kg·d(静脉注射);B 组,大鼠血清白蛋白溶液(RSA)50 mg/kg·d(静脉注射);C 组,AOPPs 修饰的 RSA 溶液(AOPPs-RSA)50mg/kg·d(静脉注射);D 组,AOPPs-RSA 50mg/kg·d(静脉注射)+apocynin 溶液(NADPH 氧化酶抑制剂)100mg/kg·d(经饮水摄入);E 组,apocynin 100mg/kg·d 溶液(经饮水摄入)。在干预 8 周和 16 周后取动脉血、双侧胫骨、股骨和腰 4(L₄)椎体标本。检测血浆 AOPPs 浓度;测量右侧股骨及 L₄ 椎体骨密度;显微 CT 分析左侧胫骨及 L₄ 椎体骨微结构相关指标,包括骨小梁体积分数(BV/TV,%)、平均骨小梁厚度(Tb.Th,mm)、平均骨小梁数目(Tb.N,1/mm)、骨小梁分离度(Tb.Sp,mm)、骨小梁结构异性程度(Degree of Anisotropy, DA)及结构模型指数(Structure Model Index, SMI)。结果 相对 PBS 组、RSA 组,2 个时间点下 AOPPs-RSA 组老年大鼠血浆 AOPPs 含量明显均升高;L₄ 椎体骨密度降低,而股骨骨密度变化不大;胫骨及 L₄ 椎体 BV/TV、Tb.Th 减小而 Tb.Sp 增大,Tb.N、DA、SMI 无明显变化。AOPPs-RSA 所致以上效应均能被 apocynin 阻断。结论 AOPPs 能引起老年大鼠骨量减少、骨微结构退行性改变,促进骨退化。本研究为探索老年性骨质疏松症的发生、发展机制提供了新的思路。

关键词: 老年性骨质疏松症;晚期氧化蛋白质终产物;氧化应激

Effect of advanced oxidation protein products on bone mineral density and bone microstructure in senile rats

ZENG Jihuan^{1,2}, ZHONG Zhaoming¹, XIAO Qiang², LI Xiaodan³, ZHU Siyuan¹, CHEN Jianting¹

1. Department of Spinal Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

2. Department of Orthopedics, People's Hospital in Jiangxi Province, Nanchang 330000, China

3. Graduate School of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China

Corresponding author: ZHONG Zhaoming, Email: zhongzm@smu.edu.cn

Abstract: Objective Advanced oxidation protein products (AOPPs) is a new defined inflammatory factor and is involved in many diseases. The present study aimed to evaluate the effect of AOPPs on bone mineral density and bone microstructure in senile rats. **Methods** Seventy 18-month-old male Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided to 5 groups, group A (intravenous injection of vehicle), group B (native rat serum albumin, RSA), group C (AOPPs-modified RSA, AOPPs-RSA), group D (AOPPs-modified RSA with oral administration of apocynin, a NADPH oxidase inhibitor), and group E (apocynin alone). After the treatment for 8 weeks or 16 weeks, blood samples, the femurs, tibias, and the fourth vertebral (L₄) bodies were harvested. Plasma AOPPs level was detected. Bone mineral density (BMD) of the right femur was examined and the bone microstructure parameters of the left tibia and L₄ were analyzed using micro-CT, including bone volume over total volume (BV/TV, %), trabecular thickness (Tb.Th, mm), trabecular number (Tb.N, 1/mm), trabecular separation (Tb.Sp, mm), the degree of

基金项目: 广东省科技计划项目(2013B021800144)

* 通讯作者: 钟招明, Email: zhongzm@smu.edu.cn

anisotropy (DA), and the structure model index (SMI). **Results** Compared to PBS group or RSA group, the AOPPs-RSA group displayed significantly elevated plasma AOPPs level. BMD of L_4 in AOPPs-RSA treated rats decreased markedly while there was no significant difference in their femurs. In the microstructure analysis, AOPPs-RSA treatment was associated with decrease in BV/TV and Tb. N, but increase in Tb. Sp. However, there were no significant change regarding to Tb. N, DA, and SMI. The above effects of AOPPs-RSA were occluded by apocynin. **Conclusion** AOPPs cause bone mass loss and bone microstructure degeneration, and accelerate bone deterioration in senile rats in vivo. These data provide new information toward understanding of the pathogenic basis of senile osteoporosis.

Key words: Senile osteoporosis; Advanced oxidation protein products; Oxidative stress

晚期氧化蛋白质终产物 (Advanced Oxidation Protein Products, AOPPs) 是体内蛋白质在氧化应激状态下生成的一类双酪氨酸蛋白质交联物^[1], 近年来研究发现其具有多种生物学活性, 是一种新型的炎症介质。老年性骨质疏松症 (Senile Osteoporosis, SO) 患者体内 AOPPs 积聚^[2]。我们前期研究发现 AOPPs 能通过激活 NADPH 氧化酶抑制成骨细胞增殖与分化^[3], 并且不同年龄组大鼠体内 AOPPs 浓度与其骨量呈负相关^[4], 但 SO 患者体内升高的 AOPPs 是否参与骨质疏松的发生、发展仍不清楚。本研究以老年雄性 SD 大鼠为 SO 模型, 探讨外源性 AOPPs 对老年大鼠骨密度和骨微结构的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠血清白蛋白 (RSA, sigma); 夹竹桃麻素 (apocynin, sigma); 次氯酸钠 (分析纯); 冰醋酸 (分析纯); 氯胺-T (Sigma); 显微 CT (uCT80, SCACO MEDICAL); SpectraMax M5 多功能酶标仪 (Molecular Devices 公司); XR-46 型双能 X 线骨密度仪 (DXA, NORLAND 公司) 等。

1.2 体外制备 AOPPs-RSA

参照文献介绍的方法, 将 RSA (20 mg/ml) 与 40 mmol/L 的次氯酸等体积混合, 室温下放置反应 30 min 后制备出 RSA 与次氯酸摩尔比为 1/70 的 AOPPs-RSA。制备的 AOPPs-RSA 在 PBS 中透析 24h 以除去游离的次氯酸, 过滤除菌后 4℃ 保存。AOPPs-RSA 中 AOPPs 的浓度采用氯胺-T 法测量: 即血清与 PBS 上清液与 PBS 按 1:5 稀释, 氯胺-T 同法稀释作空白对照, 加入 1.16 mmol/L KI 10 ml 及乙酸 20 ml 后立刻测 340 nm 处的吸收值, AOPPs 浓度以氯胺-T 含量表示 ($\mu\text{mol/L}$)。

1.3 实验动物及分组

本实验经南方医科大学南方医院动物伦理委员会批准实施。70 只 18 月龄老年雄性 SD 大鼠 (由成都达硕生物有限公司提供) 饲养于温度、湿度适宜

的环境中, 严格昼夜周期, 保证充足的水和食物。经过 10 天适应期后, 随机分为 A、B、C、D、E 5 组, 每组 14 只。各组分别给予以下处理: A 组, 生理盐水 (NS) 50 mg/kg·d, 腹腔注射; B 组, RSA 50 mg/kg·d, 腹腔注射; C 组, AOPPs-RSA 50 mg/kg·d, 腹腔注射; D 组, AOPPs-RSA 50 mg/kg·d, 腹腔注射 + apocynin 100 mg/kg·d, 经饮水摄入; E 组, apocynin 100 mg/kg·d, 经饮水摄入。分别干预 8 周和 16 周时各组大鼠在吸入麻醉下腹主动脉取血后处死, 分离双侧胫骨、股骨和第四腰椎 (L_4)。

1.4 标本的处理及检测

动脉血在常温下静置 30 min 后, 于 4℃ 环境下 2500 r/min 离心 15 min, 分离出血清, 置 -80℃ 保存备用。胫骨、股骨和 L_4 标本在仔细剥离周围软组织后以生理盐水湿润的纱块包埋, 置于 -20℃ 保存备用。

1.4.1 血清 AOPPs 浓度检测: 方法同 1.2 中 AOPPs—RSA 中 AOPPs 的检测。

1.4.2 骨密度测量: 将左侧股骨及 L_4 标本于常温下解冻 30 min, 保持标本湿润, 应用双能 X 线骨密度仪在 “Small Objects” 模式下测量整段股骨和第四腰椎的骨密度值。测定参数设置: 扫描宽度 20 mm, 扫描速度 7 mm/s。

1.4.3 显微 CT 分析: 分别以 12 μm 和 15 μm 的分辨率对左侧胫骨和 L_4 行显微 CT 扫描, 其中胫骨从骺线下 2 mm 开始, 选取其下 180 层的骨松质区为分析区域 (VOI); L_4 以除外上下骨性终板、内皮质以内的所有骨松质区为 VOI, 分析各标本的骨小梁体积分数 (BV/TV)、平均骨小梁数目 (Tb. N)、平均骨小梁厚度 (Tb. Th)、骨小梁分离度 (Tb. Sp)、各向异性程度 (DA) 及结构模型指数 (SMI)。

1.5 统计学处理

所有数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 spss13.0 统计软件进行统计分析, 先对同一时间点下各指标行方差齐性检验: 方差齐时行单因素方差分析 (One-way ANOVA), LSD 法进行多重比较; 方

差不齐时选用 Welch 法进行总体比较, Dunett T3 法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 AOPPs 对老年大鼠血清 AOPPs 含量的影响

相对于 NS 组、RSA 组, 2 个时间点下 AOPPs-RSA 组老年大鼠血清 AOPPs 含量明显升高, 同时给予 AOPPs-RSA 和 apocynin 刺激的老年大鼠血清 AOPP 升高不明显, 单独给予 apocynin 组老年大鼠血清 AOPPs 无明显变化, 见表 1。

表 1 外源性 AOPPs 干预对老年大鼠血浆 AOPPs 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 Effect of AOPPs administration on plasma AOPPs concentration in senile rats

组别	血浆 AOPPs 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	
	8 周	16 周
PBS	214 $\pm$ 6	225 $\pm$ 4
RSA	225 $\pm$ 7	236 $\pm$ 8
AOPPs + RSA	313 $\pm$ 11 **	330 $\pm$ 14 **
AOPPs + RSA + apocynin	248 $\pm$ 6,	250 $\pm$ 10
Apocynin	203 $\pm$ 7	214 $\pm$ 6

注: * AOPPs-RSA 组 vs PBS 组或 RSA 组 $P < 0.05$; * AOPPs-RSA 组 vs AOPPs-RSA + apocynin 组 $P < 0.05$

Note: * $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs PBS group or RSA group;

* $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs AOPPs-RSA + apocynin group

2.2 AOPPs 对老年大鼠股骨和 L₄ 椎体骨密度影响

无论 8 周或 16 周时, AOPPs-RSA 组老年大鼠股骨骨密度只有轻微降低, 各组间差异不明显。 (P 均 > 0.05), 见表 2。

与股骨不同, 2 个时间点下 L₄ 椎体骨密度 AOPPs-RSA 组较 NS 组, RSA 组均明显降低, 而 AOPPs-RSA + apocynin 组降低不明显, 单独给予 apocynin 组骨密度无明显变化, 见表 2。

表 3 AOPPs 干预对老年大鼠胫骨骨小梁微观结构的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 3 Effect of AOPPs administration on trabecular microstructure of the tibias in senile rats

Parameters	8 weeks					16 weeks				
	Vehicle (Group1)	RSA (Group2)	AOPPs-RSA (Group3)	AOPPs-RSA + Apocynin (Group4)	Apocynin (Group5)	Vehicle (Group1)	RSA (Group2)	AOPPs-RSA (Group3)	AOPPs-RSA + Apocynin (Group4)	Apocynin (Group5)
BV/TV (%)	0.1487 $\pm$ 0.0014	0.1464 $\pm$ 0.0034	0.1384 $\pm$ 0.0044*	0.1455 $\pm$ 0.0032	0.1475 $\pm$ 0.0071	0.1434 $\pm$ 0.0155	0.1416 $\pm$ 0.0094	0.1263 $\pm$ 0.0036*	0.1344 $\pm$ 0.0055 ^b	0.1417 $\pm$ 0.0086
Tb. Th (mm)	0.1164 $\pm$ 0.0053	0.1124 $\pm$ 0.0056	0.1053 $\pm$ 0.0031*	0.1120 $\pm$ 0.0033	0.1142 $\pm$ 0.0137	0.1115 $\pm$ 0.0056	0.1099 $\pm$ 0.0053	0.0954 $\pm$ 0.0076*	0.1083 $\pm$ 0.0028 ^b	0.1094 $\pm$ 0.0034
Tb. N (/mm)	1.9301 $\pm$ 0.4724	1.6459 $\pm$ 0.2149	1.9108 $\pm$ 0.4638	1.6374 $\pm$ 0.2974	2.000 $\pm$ 0.4357	1.8620 $\pm$ 0.4341	1.5739 $\pm$ 0.2832	1.5695 $\pm$ 0.3480	1.8572 $\pm$ 0.4459	1.8708 $\pm$ 0.3605
Tb. Sp (mm)	0.4762 $\pm$ 0.0206	0.4690 $\pm$ 0.0237	0.5733 $\pm$ 0.0391*	0.4807 $\pm$ 0.0196 ^b	0.4743 $\pm$ 0.0279	0.5022 $\pm$ 0.0341	0.4906 $\pm$ 0.0345	0.6696 $\pm$ 0.0142*	0.5217 $\pm$ 0.0133 ^b	0.5183 $\pm$ 0.0142
SMI	1.7461 $\pm$ 0.2527	1.8031 $\pm$ 0.2753	1.5430 $\pm$ 0.3210	1.6797 $\pm$ 0.2267	1.4953 $\pm$ 0.2805	1.5398 $\pm$ 0.2794	1.4073 $\pm$ 0.2544	1.6762 $\pm$ 0.3282	1.5463 $\pm$ 0.3381	1.5480 $\pm$ 0.2627
DA	1.7104 $\pm$ 0.1603	1.6622 $\pm$ 0.1341	1.7948 $\pm$ 0.1987	1.8090 $\pm$ 0.1877	1.8033 $\pm$ 0.1809	1.8017 $\pm$ 0.0594	1.8022 $\pm$ 0.1954	1.8417 $\pm$ 0.1195	1.7511 $\pm$ 0.1978	1.7878 $\pm$ 0.1683

注: * AOPPs-RSA 组 vs PBS 组或 RSA 组 $P < 0.05$; ^b AOPPs-RSA 组 vs AOPPs-RSA + apocynin 组 $P < 0.05$

Note: * $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs PBS group or RSA group; ^b $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs AOPPs-RSA + apocynin group

表 2 外源性 AOPPs 干预对老年大鼠股骨及 L₄ 椎体骨密度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 2 Effect of AOPPs administration on BMD of the femurs and the L₄ vertebral bodies

部位	组别	骨密度 (g/mm^2)	
		8 周	16 周
股骨	PBS	0.183 $\pm$ 0.0039	0.179 $\pm$ 0.0026
	RSA	0.182 $\pm$ 0.0031	0.180 $\pm$ 0.0033
	AOPPs + RSA	0.178 $\pm$ 0.0035	0.175 $\pm$ 0.0041
	AOPPs + RSA + apocynin	0.180 $\pm$ 0.0022	0.176 $\pm$ 0.0028
	Apocynin	0.181 $\pm$ 0.0024	0.178 $\pm$ 0.0031
L ₄ 椎体	PBS	0.146 $\pm$ 0.0042	0.141 $\pm$ 0.0019
	RSA	0.144 $\pm$ 0.0034	0.143 $\pm$ 0.0031
	AOPPs + RSA	0.135 $\pm$ 0.0026 **	0.125 $\pm$ 0.0029 **
	AOPPs + RSA + apocynin	0.142 $\pm$ 0.0035	0.139 $\pm$ 0.0042
	Apocynin	0.144 $\pm$ 0.0033	0.142 $\pm$ 0.0029

注: * AOPPs-RSA 组 vs PBS 组或 RSA 组 $P < 0.05$; * AOPPs-RSA 组 vs AOPPs-RSA + apocynin 组 $P < 0.05$

Note: * $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs PBS group or RSA group; * $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs AOPPs-RSA + apocynin group

2.3 各组老年大鼠胫骨和 L₄ 腰椎显微 CT 分析结果

无论胫骨或 L₄ 椎体, 2 个时间点下 AOPPs-RSA 组与 NS 组、RSA 组相比, 其 BV/TV、Tb. Th 明显降低, 而 Tb. Sp 明显升高, 加入 apocynin 后 (AOPPs-RSA + apocynin 组) 以上变化不再明显, 单独给予 apocynin 刺激对骨小梁微观结构不产生明显影响。无论 8 周或 16 周, 各组 Tb. N、DA、SMI 均无明显差异, 见表 3、表 4。

3 讨论

SO 具有骨转换率低, 骨皮质和骨松质均缓慢减少的特点^[5]。老年雄性 SD 大鼠骨代谢特点与 SO 患者相似, 其骨量和骨微观结构变化能很好的模拟

表 4 外源性 AOPPs 干预对老年大鼠 L₄ 椎体骨小梁微观结构的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)Table 4 Effect of AOPPs administration on trabecular microstructure of L₄ bodies in senile rats

Parameters	8 weeks					16 weeks				
	Vehicle (Group1)	RSA (Group2)	AOPPs-RSA (Group3)	AOPPs-RSA + Apocynin (Group4)	Apocynin (Group5)	Vehicle (Group1)	RSA (Group2)	AOPPs-RSA (Group3)	AOPPs-RSA + Apocynin (Group4)	Apocynin (Group5)
BV/TV (%)	0.4398 ± 0.0106	0.4347 ± 0.0118	0.3942 ± 0.0201 ^a	0.4266 ± 0.0131 ^b	0.4341 ± 0.0205	0.4255 ± 0.0110	0.4157 ± 0.0222	0.3642 ± 0.0275 ^a	0.4004 ± 0.0098 ^b	0.4251 ± 0.0147
Tb.Th (mm)	0.1390 ± 0.0013	0.1385 ± 0.0015	0.1305 ± 0.0019 ^a	0.1352 ± 0.0043 ^b	0.1381 ± 0.0051	0.1360 ± 0.0024	0.1369 ± 0.0035	0.1200 ± 0.0049 ^a	0.1297 ± 0.0011 ^b	0.1355 ± 0.0044
Tb.N (/mm)	3.5550 ± 0.7180	3.5128 ± 0.7556	3.2942 ± 0.6620	3.0152 ± 0.2855	3.2007 ± 0.5270	3.7426 ± 0.5867	3.2848 ± 0.6121	3.0694 ± 0.4873	3.0448 ± 0.6928	3.2942 ± 0.6620
Tb.Sp (mm)	0.3241 ± 0.0136	0.3451 ± 0.2259	0.4453 ± 0.1879 ^a	0.3829 ± 0.0092 ^b	0.3425 ± 0.0209	0.3764 ± 0.0328	0.3687 ± 0.0154	0.5238 ± 0.0245 ^a	0.3995 ± 0.1065 ^b	0.3814 ± 0.0271
SMI	-2.006 ± 0.9595	-2.0980 ± 0.8455	-2.0443 ± 0.4351	-1.9079 ± 0.4716	-2.1902 ± 0.6565	-2.2853 ± 0.9063	-2.5070 ± 0.7521	-2.0633 ± 0.5531	-2.0382 ± 0.6682	-2.4106 ± 0.5791
DA	1.1451 ± 0.0479	1.4916 ± 0.0493	1.4465 ± 0.0932	1.4613 ± 0.0761	1.4974 ± 0.0542	1.4621 ± 0.0603	1.4974 ± 0.0542	1.4816 ± 0.0577	1.5002 ± 0.0815	1.4847 ± 0.0700

注: ^a AOPPs-RSA 组 vs PBS 组或 RSA 组 $P < 0.05$; ^b AOPPs-RSA 组 vs AOPPs-RSA + apocynin 组 $P < 0.05$

Note: ^a $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs PBS group or RSA group; ^b $P < 0.05$, AOPPs-RSA group vs AOPPs-RSA + apocynin group

SO 的病变过程^[6],因而成为研究 SO 的理想动物模型并被广泛应用。

SO 是一种老年性疾病,衰老条件下机体内活性氧类物质(Reactive Oxygen Species, ROS,超负离子、羟自由基、过氧化氢等)产生增加或清除减少使体内 ROS 蓄积,导致氧化应激。氧化应激时体内蛋白质、脂质、核酸等大分子物质易遭受氧化损伤,而蛋白质的氧化优先于脂质,且羟自由基与蛋白质作用的可能性要比 DNA 大 20 倍。AOPPs 就是在氧化应激状态下生成的一类蛋白质氧化修饰物,其在 SO 等高龄患者中的含量明显升高。

近年来的研究表明,AOPPs 不仅是氧化应激后果,也是 ROS 的来源,其作为一类新型的炎症介质,通过促进细胞内 ROS 生成进而广泛参与多种疾病的病理过程。肥胖、糖尿病、慢性肾脏疾病、动脉粥样硬化、慢性炎症性肠病等多种疾病都被证实伴有血清 AOPPs 含量显著升高。AOPPs 能够激活单核细胞,诱导呼吸链爆发,增加 ROS 的生成,刺激 TNF- α 、IL-6、IL-1 等促炎细胞因子的合成释放,诱发细胞炎症反应,参与慢性肾衰患者全身微炎症状态的发生发展^[7]; AOPPs 也是受体 RAGE 的重要配体,能通过细胞表面受体 RAGE 介导的信号通路激活内血管内皮细胞^[8],亦能通过相同信号通路激活前脂肪细胞并导致其凋亡^[9]。体内研究方面,AOPPs 能明显放大糖尿病性肾病大鼠模型肾脏内炎症反应,加速肾功能恶化^[10];也能促进正常新西兰白兔的大动脉壁产生细胞炎症和脂滴沉积,并加快高脂血症白兔动脉粥样斑块的形成^[11]。我们前期通过次氯酸氧化修饰法,体外制备 AOPPs,研究证实它能诱导成骨样细胞内 ROS 生成、激活 ROS 敏感 NF- κ B 信号,抑制成骨样细胞的增殖和分化^[3]。本研究结果进一步表明,外源性 AOPPs 能明显加快老年大鼠骨量丢失及骨微观结构退化。

ROS 性质不稳定,直接检测极为不易,比较常用的做法是通过测量各种被氧化修饰的大分子物质如蛋白质、脂类、DNA/RNA 等的含量间接反应体内氧化应激水平。AOPPs 是一类富含双酪氨酸的蛋白交联物,而双酪氨酸是常用的蛋白质氧化标记物,Witko-Sarsat 等研究发现血液透析患者血浆 AOPPs 浓度与双酪氨酸呈正相关,因此 AOPPs 被认为是一种良好的氧化应激标志物^[11]。本研究通过检测并对比各组大鼠血浆 AOPPs 浓度评价外源性 AOPPs 对大鼠体内氧化应激水平的影响。无论 8 周或 16 周,相对于 PBS 或 RSA,外源性 AOPPs 干预大鼠体内 AOPPs 浓度明显升高,而 AOPPs + apocynin 组大鼠血浆 AOPPs 浓度变化不大。该结果说明 AOPPs 干预组大鼠体内升高的 AOPPs 不是简单外源性 AOPPs 积聚,而是体内氧化应激水平升高。

氧化应激与骨质疏松的发生发展关系密切,其通过多种途径影响骨代谢过程^[12]。通过激活 ERK 和 NF- κ B 受体,氧化应激抑制成骨细胞向骨细胞增殖与分化。对破骨细胞,氧化应激则发挥相反的作用。一方面通过促进 NF- κ B 受体相关配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)和巨细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)的合成增加破骨细胞形成,另一方面增强破骨细胞的融骨活性使骨吸收增加。因此,氧化应激对骨代谢的总体效应是抑制骨形成,促进骨吸收^[13]。人体内氧化应激水平与骨量呈负相关。本研究中 AOPPs 干预组大鼠体内氧化应激水平普遍升高,这可能是导致该组大鼠骨量丢失的重要原因,但其机制有待研究。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate NADPH)氧化酶是细胞内 ROS 产生的主要来源,NADPH 氧化酶抑制剂夹竹桃麻素(Apocynin)能明显抑制该酶功能进而阻

断多种 ROS 介导的生物学效应。我们的前期发现 apocynin 可阻断 AOPPs 对成骨样细胞的增殖和分化的抑制作用^[3], 本研究进一步证实 apocynin 能有效抑制外源性 AOPPs 所致的老年大鼠骨量丢失和骨微观结构退化。以上结果说明, NADPH 氧化酶可能在 AOPPs 的致骨退化效应中发挥重要作用。

总之, AOPPs 作为一种新型的炎症介质, 能引起老年大鼠骨量减少、骨微结构退行性改变, 促进骨退化。这一发现为探索老年性骨质疏松症的发生、发展机制提供了新的思路。

【参 考 文 献】

- [1] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia[J]. *Kidney Int*, 1996, 49(5):1304-1313.
- [2] Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K, et al. Age- and gender-related alteration in plasma advanced oxidation protein products (AOPP) and glycosaminoglycan (GAG) concentrations in physiological ageing[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50(3):557-563.
- [3] Zhong Z M, Bai L, Chen J T. Advanced oxidation protein products inhibit proliferation and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-kappaB pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2009, 24(1-2):105-114.
- [4] Zhang Y B, Zhong Z M, Hou G, et al. Involvement of oxidative stress in age-related bone loss[J]. *J Surg Res*, 2011, 169(1): e37-e42.
- [5] 陈发秀, 尹绢, 邱元芝. 老年骨质疏松和高血压病[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014(06): 690-693.
Chen F X, Yin J, Qiu Y Z. The relationship between senile osteoporosis and hypertension [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2014, 06:690-693.
- [6] Wang L, Banu J, McMahan C A, et al. Male rodent model of age-related bone loss in men[J]. *Bone*, 2001, 29(2):141-148.
- [7] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen K T, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure[J]. *J Immunol*, 1998, 161(5):2524-2532.
- [8] Guo Z J, Niu H X, Hou F F, et al. Advanced oxidation protein products activate vascular endothelial cells via a RAGE-mediated signaling pathway[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(10): 1699-1712.
- [9] Zhou L L, Cao W, Xie C, et al. The receptor of advanced glycation end products plays a central role in advanced oxidation protein products-induced podocyte apoptosis[J]. *Kidney Int*, 2012, 82(7):759-770.
- [10] Shi X Y, Hou F F, Niu H X, et al. Advanced oxidation protein products promote inflammation in diabetic kidney through activation of renal nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(4):1829-1839.
- [11] Liu S X, Hou F F, Guo Z J, et al. Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promoting oxidative stress and inflammation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(5):1156-1162.
- [12] 吴睿, 陈建庭. 氧化应激在骨质疏松中的作用[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2010, 16(03):222-224.
Wu Q, Chen J T. Role of oxidative stress in osteoporosis[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2010, 16(03):222-224.
- [13] Suda N, Morita I, Kuroda T, et al. Participation of oxidative stress in the process of osteoclast differentiation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1157(3):318-323.

(收稿日期: 2015-02-28)