

• 药物研究 •

# 联合使用甲状旁腺激素和钙剂对骨质疏松的防治有叠加作用

陈雅君<sup>1</sup> 林晶<sup>1</sup> 胡朝波<sup>1</sup> 刑伟平<sup>1</sup> 李恋<sup>1</sup> 姜国祥<sup>2\*</sup>

1. 海口市第四人民医院骨科
2. 海南医学院附属医院骨科

中图分类号: R285.6 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 09-1149-05

**摘要:** 目的 探索联合使用甲状旁腺激素和钙剂对去势大鼠诱导骨质疏松的防治作用。方法 50 只健康雌性 SD 大鼠随机行假手术(Sham,  $n=10$ ) 和切除双侧卵巢(OVX,  $n=40$ ) 手术后, OVX 大鼠随机的分成 4 组: OVX 组、CA 组、PTH 组、PTH + CA 组。术后第一天 PTH 组及 PTH + CA 开始给予药物治疗: PTH 皮下注射(剂量  $60 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 每周 3 次)。术后 CA 组及 PTH + CA 组大鼠饮食中加入钙剂, 其余组大鼠普通饮食, 直至手术后 12 周为止, 12 时所有大鼠处死取胫骨行 Micro-CT、硬组织切片检测。结果 CA 组、PTH 组、PTH + CA 组和 OVX 组相比, 胫骨近端都有较高的 BMD、BV/TV、Tb. Th、Tb. N、Conn. D、骨矿化沉积率(MAR) 和较低的 Tb. Sp, 其中 PTH + CA 组大鼠胫骨有最高的 BMD、BV/TV、Tb. Th、Tb. N、Conn. D、MAR 和最低 Tb. Sp。钙剂和 PTH 单独使用的效果明显低于他们联合使用对去卵巢大鼠骨质疏松的防治作用。结论 联合使用甲状旁腺激素和钙剂对去势大鼠骨质疏松的防治有叠加作用

**关键词:** 去势大鼠; 骨质疏松症; 甲状旁腺激素; 钙剂

## Combined treatment with parathyroid hormone (1-34) and calcium has an additive effect on the prevention and treatment of osteoporosis

CHEN Yajun<sup>1</sup>, LIN Jing<sup>1</sup>, HU Chaobo<sup>1</sup>, XING Weiping<sup>1</sup>, LI Lian<sup>1</sup>, JIANG Guoxiang<sup>2</sup>

1. Department of Orthopedics, the Fourth People's Hospital, Haikou
2. Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan, China

Corresponding author: JIANG Guoxiang, Email: guoxiang8164@163.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of combined treatment with calcium and PTH on the prevention and treatment of osteoporosis in OVX rats. **Methods** After bilateral ovariectomy (OVX,  $n=40$ ) and Sham-operation (Sham,  $n=10$ ), all animals from OVX group were randomly divided into 4 groups, group OVX, group CA, group PTH, and group PTH + CA. Rats in group PTH and PTH + CA received PTH ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 3 times a week), and in group CA and PTH + CA received high calcium diet for 12 weeks. The proximal tibias of rats were harvested and were evaluated using micro-computerized tomography and undecalcified slices. **Results** Comparison with group OVX, the tibia in group CA, PTH, and PTH + CA had a higher BMD, BV/TV, Tb. Th, Tb. N, Conn. D, and bone mineral apposition rate, but a lower Tb. Sp. Rats in group PTH + CA had the highest BV/TV, Tb. Th, Tb. N, Conn. D, BMD, bone mineral apposition rate, and the lowest Tb. Sp. The effect of PTH or calcium using alone is significantly lower than their combined use for prevention and treatment of osteoporosis in OVX rats. **Conclusion** PTH combined with calcium has an additive effect on osteoporosis in OVX rats.

**Key words:** OVX rats; Parathyroid hormone; Osteoporosis; Calcium

骨质疏松症是一种以骨量降低, 骨组织显微结构发生退变, 导致骨脆性增加, 骨强度下降, 易导致骨折的骨骼疾病<sup>[1]</sup>。随着世界老年化进展, 骨质疏松的患病率越来越高, 骨质疏松相关骨折已经成为

很大的世界性难题, 防治骨质疏松对临床医生来说是一项巨大的挑战<sup>[2]</sup>。预计到 2050 年, 世界上半的髌部骨折会出现在亚洲的国家<sup>[3]</sup>。这些表明对骨质疏松的防治在亚洲相对而言更为急迫。研究表明小剂量间断使用 PTH 可以加快机体的骨转换, 促进成骨细胞的活性, 最终会提高骨量, 增加骨密度,

\* 通讯作者: 姜国祥, Email: guoxiang8164@163.com

改善骨质疏松<sup>[4]</sup>。近年来钙的营养问题已引起人们越来越多的重视,钙与机体生长发育、骨骼发育和骨质丢失都有关,终身足够的钙摄入对预防原发性骨质疏松症有一定的作用。目前临床上有较多种类的抗骨质疏松药物,但这些药物尚不能完全治愈骨质疏松,为了取得最大疗效,人们寻求联合或序贯治疗等方法防治骨质疏松症。本研究联合使用甲状旁腺激素和钙剂来对骨质疏松进行干预,为临床上这两类药物的联合使用提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

PTH (GIBCO 公司), Micro-CT (SkyScan1176, 荷兰), 手术操作器械(美国史塞克医疗器械公司)。钙黄绿素、四环素 (sigma, 美国), 硬组织切片机 (EXAKT300, 德国), 显微镜 (ZEISS Axio Imager M1, 德国), Image-Pro Plus 全自动图像分析仪 (Media Cybernetics, 美国)。

## 2 方法

### 2.2 骨质疏松动物模型的建立

50 只健康的雌性 Sprague-Dawley 大鼠 (3 月龄, 体重 220 ~ 240 g。由上海实验动物中心提供) 用于去卵巢 (OVX,  $N=40$ ) 制作骨质疏松模型和假手术 (Sham,  $N=10$ )。手术开始前, 所有大鼠称重, 根据体重, 适量腹腔注射 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 进行麻醉, 麻醉成功后, 于大鼠背部正中线下 1/3 处作一长约 2 cm 纵行切口, 向两侧钝性分离皮下软组织, 于脊柱旁开 0.5 cm 处钝性分开肌肉组织, 显露卵巢脂肪包被组织, 轻轻提起卵巢, 于输卵管卵巢交界处丝线结扎, 完整摘除双侧卵巢, 逐层缝合, 关闭创口。术后前 3d 给予青霉素肌肉注射 (2.5 万 U/kg) 预防感染。术后所有的去卵巢 (OVX) 大鼠随机的分成四组: OVX 组、CA 组、PTH 组、PTH + CA 组。

### 2.3 术后饮食及治疗

术后第一天开始给予药物治疗, PTH 组和 PTH + CA 组: PTH 腹部皮下注射 (剂量 60  $\mu$ g/kg, 每周 3 次); OVX 组及 CA 组注射同样剂量的生理盐水直至手术后 12 周为止。术后 OVX 组、PTH 组及 Sham 组饲养食物是基础饲料, 其配方如下 (g/kg): 酪蛋白 100, 黄豆粉 150, 小麦面粉 526, 花生油 40, 纤维素 25, 淀粉 110, AIN-76 混合维生素 1012, AIN-76 混合无机盐 35, D L-蛋氨酸 2, 氯化胆碱 2。基础饲料

中维生素 D 含量为 1000 IU/kg, 含钙 0.7 g/kg。CA 组及 PTH + CA 组大鼠: 基础饲料加碳酸钙, 含钙实测值 3.0 ~ 3.3 g/kg。每周称量大鼠体重, 根据体重变化来调整药物剂量。所有大鼠在处死前第 20 天以及处死前第 5 天, 分别每日腹腔内注射 15 mg/kg 剂量的钙黄绿素及四环素。本实验所使用的药物剂量参考以前发表的治疗骨质疏松效果明显的文献中所使用剂量<sup>[5, 6]</sup>。

### 2.4 Micro-CT 检测

所有存活的大鼠在术后周时处死, 完整取下大鼠双侧胫骨, 剔除周围软组织, 生理盐水冲洗后, 采用 10% 的多聚甲醛固定用于 Micro-CT 检测。将左侧胫骨置于扫描床上, 扫描兴趣区为腔骨近端内松质骨。断层扫描后, 3D 重建, 去除骨皮质影像, 分析软件定量分析。获得大鼠胫骨感兴趣区域骨微结构参数骨体积分数 (bone volume/total volume, BV/TV)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb. Th)、骨小梁数量 (trabeculae number, Tb. N)、骨小梁分离度 (trabecular spacing, Tb. Sp)、连接密度 (connective density, Conn. D.) 及骨密度 (BMD)。

### 2.5 硬组织切片

待所有胫骨经过 Micro-CT 检测后, 所有标本用 4% 多聚甲醛固定, 梯度酒精脱水, 甲基丙烯酸甲酯包埋。包埋块修整后置于硬组织切片机沿胫骨纵轴冠状面切片, 清洗打磨抛光, 切片最终厚度约为 30 ~ 40  $\mu$ m; Masson 染色, 切片在荧光显微镜及光镜下观察。使用 Image-Pro Plus 6.0 全自动图像分析仪对骨矿化沉积率 (MAR) 进行计算。

### 2.6 统计学处理

应用 SPSS19.0 统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  方式表示; 采用两因素析因设计的方差分析; 两组间比较采用两样本  $t$  检验; 组间两两比较采用方差分析下的 LSD 方法,  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 手术对大鼠的影响

截止到术后 12 周时, 有 2 只大鼠由于手术不当、麻醉不当和伤口感染死亡, 它们其中 1 只属于 PTH 组, 一种属于 CA, 最终共有 48 只大鼠进入最终试验结果评估。12 周时 Sham 大鼠的胫骨骨密度为  $(231.78 \pm 29.23) \text{ mg/cm}^2$ , 而 OVX 组大鼠胫骨骨密度为  $(162.26 \pm 26.98) \text{ mg/cm}^2$ 。相对 Sham 组, OVX 组大鼠的骨密度下降 42.59% ( $P < 0.05$ )。这表明我们的模型建立是成功的。

### 3.2 大鼠骨密度的改变

12 周时,大鼠胫骨近端的骨密度由 Micro-CT 检测的结果如表 1 所示,我们可以发现各治疗组的胫骨近端的骨密度都明显高 OVX 组。相对于 OVX 组,CA 组、PTH 组、PTH + CA 组分别增加了 21.5%、32.7%、42.5%,有明显的统计学意义( $P < 0.05$ )。从表 1 我们可以发现 PTH + CA 组的骨密度最高,和 CA 组、PTH 组比较也有明显的统计学意义( $P < 0.05$ ),这表明联合使用 PTH 和 CA 治疗骨质疏松有相互促进作用。

表 1 大鼠胫骨近端骨密度的变化( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Change of BMD of the proximal tibia in the rats

| Groups   | Number | 12 weeks( $\text{mg}/\text{cm}^2$ )   |
|----------|--------|---------------------------------------|
| OVX      | 10     | 162.26 $\pm$ 26.98                    |
| CA       | 9      | 197.23 $\pm$ 31.28 <sup>*&amp;</sup>  |
| PTH      | 9      | 215.31 $\pm$ 33.21 <sup>*#</sup>      |
| PTH + CA | 10     | 231.55 $\pm$ 36.25 <sup>*#&amp;</sup> |

注: \* : 与 OVX 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ); #: 与 CA 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ); & : 与 PTH 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )

### 3.3 Micro-CT 三维重建分析及骨微观参数

我们通过 Micro-CT 对感兴趣区域进行三维重建,重建的结果如图 1 所示,通过内置软件计算的骨微观参数如表 2 所示。我们可以通过观察图 1 明显的发现相对而言 PTH + CA 组骨小梁的数量明显多于其它组,而且骨小梁联系紧密,骨小梁更粗。骨微观参数更加明显的表明 PTH + CA 组有最高的 BV/TV、Tb. Th、Tb. N、Conn. D 和最低 Tb. Sp,而 OVX 组有最高的 Tb. Sp 和最低 BV/TV、Tb. Th、Tb. N、Conn. D。和 OVX 组比较,CA 组、PTH 组、PTH + CA 组骨微观参数有明显的统计学意义,这些表明联合使用 PTH 和 CA 可以明显增加骨小梁的量。

### 3.4 硬组织切片观察结果

大鼠左侧胫骨切片经过 Masson 染色结果如图 1. B 所示,我们可以清楚发现各治疗组胫骨近端的骨小梁的量远远大于 OVX 组,且以 PTH + CA 组有

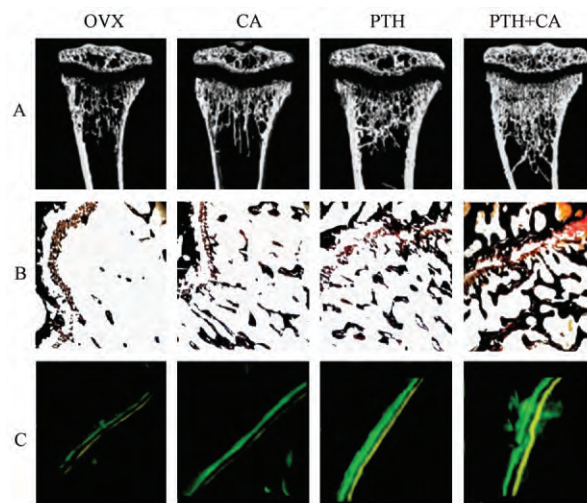


图 1 A. 左胫骨近端感兴趣区域通过 Micro-CT 扫描的结果; B. 胫骨近端 Masson 染色切片; C. 荧光显微镜观察结果。

Fig. 1 A. Results of the interested area of the left tibia in micro-CT scan; B. Masson stained slices of the proximal tibia; C. Observation under the fluoresce microscopy

着最大量的骨小梁,且骨小梁之间联系紧密,且骨小梁排列有规律,切片的观察结果进一步证实 Micro-CT 的结果。荧光共聚焦显微镜的观察的结果如图 1. C 所示,通过 Image-Pro Plus 6.0 计算 OVX 组、CA 组、PTH 组、PTH + CA 组骨矿化沉积率(MAR)结果如下:  $0.70 \pm 0.09$ 、 $1.01 \pm 0.23$ 、 $1.18 \pm 0.28$ 、 $1.89 \pm 0.10$ ;通过 SPSS 软件统计表明各组之间有统计学意义( $P < 0.05$ ),这表明联合使用 PTH 及钙剂可以加速骨组织的矿化。

## 4 讨论

骨是一种具有独特结构的高密度结缔组织,在结构上主要分为皮质骨和松质骨。成人的骨骼主要由皮质骨组成,约占 80%,构成骨的外层;而松质骨仅占 20%,主要位于骨的中心部分。松质骨由分枝的骨小梁构成一个间隙互相连通的错综复杂的立体

表 2 术后 12 周时,各组大鼠左胫骨近端感兴趣区域骨微观参数

Table 1 Indexes of microstructure of the interested area of left tibia after 12 weeks of the operation

| Parameter | PTH + CA                               | PTH                              | CA                                   | OVX                |
|-----------|----------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--------------------|
| Tb. N     | 3.121 $\pm$ 0.114 <sup>*#&amp;</sup>   | 2.769 $\pm$ 0.112 <sup>*#</sup>  | 2.234 $\pm$ 0.113 <sup>*&amp;</sup>  | 2.197 $\pm$ 0.091  |
| Tb. Th    | 0.180 $\pm$ 0.015 <sup>*#&amp;</sup>   | 0.173 $\pm$ 0.010 <sup>*#</sup>  | 0.140 $\pm$ 0.011 <sup>*&amp;</sup>  | 0.119 $\pm$ 0.010  |
| BV/TV     | 0.421 $\pm$ 0.015 <sup>*#&amp;</sup>   | 0.385 $\pm$ 0.028 <sup>*#</sup>  | 0.269 $\pm$ 0.015 <sup>*&amp;</sup>  | 0.199 $\pm$ 0.018  |
| Tb. Sp    | 0.301 $\pm$ 0.035 <sup>*#&amp;</sup>   | 0.396 $\pm$ 0.051 <sup>*#</sup>  | 0.488 $\pm$ 0.098 <sup>*&amp;</sup>  | 0.623 $\pm$ 0.131  |
| Conn. D   | 95.441 $\pm$ 13.321 <sup>*#&amp;</sup> | 65.312 $\pm$ 6.572 <sup>*#</sup> | 60.456 $\pm$ 5.671 <sup>*&amp;</sup> | 41.130 $\pm$ 8.981 |

\* : 与 OVX 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ); #: 与 CA 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ); & : 与 PTH 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )

网格,其周围包绕骨髓。皮质骨结构致密,为坚硬致密的连续体。与松质骨比较,它的血管和软组织少。其主要功能起机械支持和抗张力。胫骨由于血供和营养丰富,代谢功能活跃,骨的再生能力强,骨转化率比较高,是各种骨质疏松模型和防治药物研究的较理想部位。所以本研究选取胫骨作为研究部位。

研究表明连续给予 PTH 刺激机体会增强破骨细胞活性,导致骨量丢失,如最常见的原发性甲状旁腺功能亢进就是这种表现,而间歇性小剂量使用 PTH 具有促进骨合成代谢作用,并导致改善骨微结构,增加骨量。大量的研究已经表明间歇性小剂量使用 PTH 确实具有提高骨质疏松状态下骨密度,增加骨量,降低骨折的发生率<sup>[7,8]</sup>,这可能和 PTH 的作用机制有关,PTH 可以抑制成骨细胞凋亡,加速骨衬细胞对新分化成骨细胞的招募及破骨细胞的增殖,这些作用主要通过 Wnt 信号通路来进行<sup>[9]</sup>。我们的实验再一次证实了间歇性小剂量使用 PTH 确实可以对骨质疏松的防治效果显著,不仅可以保持骨密度,阻止骨小梁的减少,且能加速骨组织的矿化。

现研究已经表明钙剂确实可以治疗骨质疏松,我们的实验结果很好的证明了这点,去卵巢 12 周后,相对 OVX 组大鼠,CA 组大鼠的骨密度以及骨量较高,且骨矿化速度明显加速。最近的研究表明高钙环境会调节各种骨细胞的功能状态包括成骨细胞、间质细胞、破骨细胞和软骨细胞<sup>[10]</sup>。早期研究高钙环境对成骨细胞的影响发现,高钙环境不仅可以促进成骨细胞增殖及分化,明显加速矿化及细胞活性;通过检测培养基中碱性磷酸酶、I 型胶原、和骨钙素和矿化结节时明显发现经过高钙处理的大鼠颅骨成骨细胞显著增加。大量的证据表明,充分摄入钙可以增强生长期间骨增益,延缓与年龄有关的骨损失,并且降低骨质疏松性骨折的风险<sup>[11]</sup>。我们在实验中发现 CA 组相对于 PTH 组的抗骨质疏松效果较差,这可能和我们实验中使用的剂量有关,我们 PTH 所使用的剂量明显大于日常预防骨质疏松常用的剂量,同时 CA 组的给药方式也会影响疗效,但是和 OVX 组对比有统计学意义,这表明使用钙剂来防治骨质疏松是有效的。

在实验中我们发现 PTH 联合钙剂使用的效果明显好于它们任何一种药物单独使用的效果,这说明它们同时使用有互相促进作用。具体的机制尚不清楚,以前的研究表明 PTH 可以加速骨组织的骨转换来提高成骨细胞活性,高钙环境可以进一步增强

成骨细胞活性且能抑制破骨细胞介导的骨吸收,同时两者都可以通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路来促进骨组织的形成<sup>[12]</sup>。同时我们发现钙剂和 PTH 联合使用明显加速骨量的增加,提高骨密度以及加速骨矿化,这些结果表明两者联合使用是一种有效治疗骨质疏松的方法。

本次试验也有其局限性,首先我们实验使用的大鼠数量有限,且时间较短,12 周之后动物骨质疏松的具体情况不知。我们没有进一步从生化角度进一步观察骨骼的具体改变,同时也没有进一步探索机制。最后我们实验使用的药物剂量明显高于临床上这类药物使用的剂量,同时 PTH 和钙剂联合使用效果最好的剂量组合也不得而知,进一步确定联合使用 PTH 和钙剂最佳剂量也是下一步要考虑的事。

综上所述,本次试验虽然没有从机制、生化方面进一步研究 PTH 联合钙剂可以协同防治骨质疏松,但是这次试验从体外很好的证实 PTH 联合钙剂可以协同促进骨量的增加、加速骨组织的矿化及提高骨密度防治骨质疏松,为其在临床两者的联合提供了理论基础。

## 【参 考 文 献】

- [1] Kawate H, Takayanagi R. Efficacy and safety of bazedoxifene for postmenopausal osteoporosis [J]. Clin Interv Aging, 2011, 6: 151-160.
- [2] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025 [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(3): 465-475.
- [3] Cooper C, Campion G, Melton LJ, 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection [J]. Osteoporos Int, 1992, 2(6): 285-289.
- [4] Skripitz R, Aspenberg P. Parathyroid hormone—a drug for orthopedic surgery? [J]. Acta Orthop Scand, 2004, 75(6): 654-662.
- [5] Tao ZS, Tu KK, Huang ZL, et al. Combined treatment with parathyroid hormone (1-34) and beta-tricalcium phosphate had an additive effect on local bone formation in a rat defect model [J]. Med Biol Eng Comput, 2015, 210-215.
- [6] 何丽, 薛安娜, 付萍, 等. 多种钙剂不同钙含量对大鼠钙吸收及骨密度的影响 [J]. 卫生研究, 2002, 31(4): 258-260. He Li, Xue Anna, Fu Ping, et al. Effect of variety of different calcium content calcium absorption and bone mineral density in rats [J]. Health Research, 2002, 31(4): 258-60.
- [7] Kneissel M, Boyde A, Gasser JA. Bone tissue and its mineralization in aged estrogen-depleted rats after long-term intermittent treatment with parathyroid hormone (PTH) analog SDZ PTS 893 or human PTH(1-34) [J]. Bone, 2001, 28(3):

- 237-250.
- [ 8 ] Pettway GJ , Meganck JA , Koh AJ , et al. Parathyroid hormone mediates bone growth through the regulation of osteoblast proliferation and differentiation [J]. *Bone* , 2008 , 42( 4 ) : 806-818.
- [ 9 ] Baron R , Hesse E. Update on Bone Anabolics in Osteoporosis Treatment: Rationale , Current Status , and Perspectives [J]. *Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism* , 2012 , 97( 2 ) : 311-325.
- [10] Shu L , Ji J , Zhu Q , et al. The calcium-sensing receptor mediates bone turnover induced by dietary calcium and parathyroid hormone in neonates [J]. *J Bone Miner Res* , 2011 , 26( 5 ) : 1057-1071.
- [11] Prince RL , Amanda D , Dhaliwal SS , et al. Effects of calcium supplementation on clinical fracture and bone structure: results of a 5-year , double-blind , placebo-controlled trial in elderly women [J]. *Archives of Internal Medicine* , 2006 , 166( 8 ) : 869-875.
- [12] Kulkarni NH , Halladay DL , Miles RR , et al. Effects of parathyroid hormone on Wnt signaling pathway in bone [J]. *Journal of Cellular Biochemistry* , 2005 , 95( 6 ) : 1178-1190.
- ( 收稿日期: 2016-04-02; 修回日期: 2016-06-11)

## ( 上接第 1135 页)

- [ 3 ] Kherad M , Mellström D , Rosengren BE , et al. The number and characteristics of prevalent vertebral fractures in elderly men are associated with low bone mass and osteoporosis [J]. *Bone Joint J* 2015 97-B( 8 ) : 1106-1110.
- [ 4 ] Ebeling PR. Osteoporosis in men. *Curr Opin Rheumatol* [J]. 2013 25 ( 4 ) : 542-552.
- [ 5 ] Bleicher K , Cumming RG , Naganathan V , et al. Lifestyle factors , medications , and disease influence bone mineral density in older men: findings from the CHAMP study [J]. *Osteoporos Int* 2011 22 ( 9 ) : 2421-2437.
- [ 6 ] Salamat MR , Salamat AH , Abedi I , et al. Relationship between Weight , Body Mass Index , and Bone Mineral Density in Men Referred for Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Scan in Isfahan , Iran [J]. *J Osteoporos* , 2013 2013 : 205963.
- [ 7 ] Ong T , Sahota O , Tan W , et al. A United Kingdom perspective on the relationship between body mass index ( BMI ) and bone health: a cross sectional analysis of data from the Nottingham Fracture Liaison Service [J]. *Bone* , 2014 59 : 207-210.
- [ 8 ] 李生强 , 谢冰颖 , 谢丽华 , 等. 年龄、身高、体重、体重指数对福州地区中老年男性骨密度的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志* , 2012 18( 11 ) : 1021-1024.
- Li Shengqiang , Xie Bingying , Xie Lihua , et al. Effects of age , height , weight , and body mass index on bone mineral density in middle-aged males in Fuzhou [J]. *Chin J Osteoporos* , 2012 , 18( 11 ) : 1021-1024. ( in Chinese )
- [ 9 ] 于爱红 , 陈祥述 , 孙伟杰 , 等. 体重、身高及体重指数与双能 X 线骨密度仪和定量 CT 测量腰椎骨密度的关系 [J]. *中国医学影像学杂志* 2011 19( 12 ) : 909-911.
- Yu Aihong , Chen Xiangshu , Sun Weijie , et al. Effects of Height , Weight and Body Mass Index on Bone Mineral Density Measurements Using DXA and QCT [J]. *Chinese Journal of Medical Imaging* , 2011 19( 12 ) : 909-911. ( in Chinese )
- [10] Chin KY , Ima-Nirwana S. Sex steroids and bone health status in men [J]. *Int J Endocrinol* 2012 2012 : 208-219.
- [11] Ohlsson C , Börjesson AE , Vandenput L. Sex steroids and bone health in men [J]. *Bonekey Rep* , 2012 1 : 2.
- [12] Maggio AB , Belli DC , Puigdefabregas JW , et al. High bone density in adolescents with obesity is related to fat mass and serum leptin concentrations [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* , 2014 58( 6 ) : 723-728.
- [13] Zhang J , Li T , Xu L , et al. Leptin promotes ossification through multiple ways of bone metabolism in osteoblast: a pilot study [J]. *Gynecol Endocrinol* 2013 29( 8 ) : 758-762.
- [14] Rosen CJ , Ackert-Bicknell C , Beamer WG , et al. Allelic differences in a quantitative trait locus affecting insulin-like growth factor-I impact skeletal acquisition and body composition [J]. *Pediatr Nephrol* 2005 20( 3 ) : 255-260.
- ( 收稿日期: 2016-01-13; 修回日期: 2016-02-15)