

新型气体信号分子 H₂S 与骨代谢的研究概况

郝彦明¹ 李翀^{1*} 张盼盼¹ 陆荣柱²

1. 江苏省昆山市第一人民医院, 江苏 昆山 215300

2. 江苏省江苏大学, 江苏 镇江 212000

中图分类号: R362 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016)10-1341-05

摘要: 硫化氢被证明为第三种内源性气体信号分子, 并被发现有许多新型的功能, 通过不断研究发现硫化氢与骨代谢有密切关系, 并对硫化氢对骨代谢的影响及机制逐步研究。在体外细胞研究发现成骨细胞表达 CSE 增强 ALP 活性、成骨分化, H₂S 可促进 RANKL 诱导的破骨细胞分化, 抑制破骨细胞的增殖, 减弱破骨作用; 但其他观点 H₂S 可增加细胞内抗氧化剂谷胱甘肽, 进而增强破骨细胞的分化, 观点有争议。动物模型研究发现 H₂S 可以治疗雌激素缺乏引起的骨量丢失; 高浓度的 H₂S 可加重类风湿性关节炎大鼠的炎症反应, 而低浓度的 H₂S 可以减轻炎症反应。人体方面研究发现多种疾病如股骨头脱臼, 骨质疏松症与 CBS 缺乏症相关, 骨折血浆中 H₂S 含量明显降低, H₂S 在骨折愈合过程中降低局部炎性细胞浸润并抑制成骨细胞中的氧化应激反应, 对成骨细胞起到保护作用。前期研究以体外研究为主, 对人体直接相关研究甚少; 以及体内是否存在内源性 H₂S 及如何改变内源性 H₂S 需要进一步研究, 通过总结分析, 多位学者的结论存在争议, 所以对有关文献进行梳理, 以期揭示硫化氢与骨代谢及调控骨质疏松机制的研究提供新的思路。

关键词: 硫化氢; 骨代谢; 骨质疏松

New gaseous signal molecule H₂S and bone metabolism

HAO Yanming¹, LI Cong^{1*}, ZHANG Panpan¹, LU Rongzhu²

1. Jiangsu Province Kunshan First People's Hospital, Jiangsu Kunshan 215300

2. Jiangsu Province, Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212000

Corresponding author: LI Cong, Email: lichong1705@163.com

Abstract: H₂S has been proved to be the third endogenous signal molecule and was found to have many new features. Many researchers found that there are close relationships between H₂S and bone metabolism, and have studied the influence of H₂S on bone metabolism and the relevant mechanism. In in vitro studies, researchers proved that osteoblasts express CSE and increase the activity of ALP and differentiation. H₂S promotes RANKL-induced osteoclast differentiation; inhibit the proliferation of osteoclasts and decrease bone resorption, but there are other opinions. In animal model studies, H₂S can prevent estrogen deficiency induced bone loss; high concentrations of H₂S can aggravate the inflammation of rheumatoid arthritis in rats, while low concentrations can reduce inflammation. Studies found a variety of human diseases such as femoral head dislocation and osteoporosis associated with CBS deficiency. H₂S can decrease inflammation and inhibit oxidative stress during fracture healing and protect osteoblasts. Previous studies were mainly in vitro not in vivo; and further study should be conducted to confirm if H₂S exist in vivo. In summary of findings of previous research, we found that there are different opinions. So we reviewed the relevant papers, with the aim to provide new ideas on the regulation of bone metabolism and osteoporosis by H₂S and the relevant mechanisms.

Key words: Hydrogen sulfide; Bone metabolism; Osteoporosis

硫化氢(H₂S)被认为是继 NO 和 CO 的第 3 种内源性气体信号分子, 已有研究发现在心血管系统、神经系统、肌肉等组织系统中均有广泛的分布, 参与许多生理和疾病的病理生理过程。近年来, 不断有

研究发现 H₂S 与骨代谢以及骨质疏松、骨关节炎等骨疾病中也有着重要的调控作用, 本文对此进行综述总结, 为将骨代谢和骨疾病研究提供新的靶点。

1 硫化氢及其生理意义

在哺乳动物细胞内, 以 L-半胱氨酸为底物, 主

*通讯作者: 李翀, Email: lichong1705@163.com

要由胱硫醚- γ -裂解酶(CSE)、胱硫醚 β 合成酶(CBS)、半胱氨酸转移酶以及3-巯基丙酮酸转硫酶(3-MST)等催化产生 H_2S ,即内源性 H_2S ,是体内 H_2S 的主要来源。机体内 H_2S 为两种状态,即未解离的 H_2S 以及解离的 HS^- ,其中 HS^- 可与 H^+ 可结合生成 H_2S ,形成 H_2S 和 HS^- 之间的动态平衡。因NaHS比气体 H_2S 更能够保证 H_2S 浓度的精确性和稳定性,所以目前研究均主要以NaHS作为外源性 H_2S 供体^[1]。 H_2S 可通过3条途径降解:①在线粒体内被氧化成硫代硫酸盐,转换为亚硫酸盐和硫酸盐;②在胞浆内甲基化成为二甲硫醚;③与含铁血红素结合而降解^[2]。

2 H_2S 与体外骨细胞的研究

王婧等^[3]通过分离培养大鼠成骨细胞,探讨成骨细胞是否存在CSE/ H_2S 系统及其可能的生理病理功能,发现成骨细胞主要表达CSE蛋白,腺病毒过表达的CSE可增强ALP活性和钙化结节的形成、成骨分化Marker-BMP2、OPG表达增加;CSE抑制剂可抑制ALP活性和钙化结节的形成、Marker的表达,通过EMSA检测RUNX2的DNA结合发现,CSE可增加RUNX2的DNA结合,促进其靶基因转录;敲除CSE则抑制RUNX2的靶基因转录活性;在动物模型中,将大鼠股骨骨折行髓内固定,研究发现在骨折部位过表达CSE,2周后骨梁形成和局部钙化率显著优于对照组。因此,可以初步判断,成骨细胞不仅存在内源性CSE,而且内源性CSE/ H_2S 可通过RUNX2促进成骨细胞分化,加速骨损伤的愈合。张清友等^[4]认为,NO可与CSE蛋白中不稳定的巯基结合,使其活性下降;或者可通过cGMP等信号传导途径影响CSE的转录过程。CSE/ H_2S 和NO/NOS体系的负性调节作用可能是机体维持自稳平衡的一种自我保护形式。

现已研究发现, H_2S 可以通过抑制体外培养的成骨细胞的氧化应激来拮抗骨质疏松,并且 H_2S 还可抑制氧化应激诱导的成骨细胞损伤;维持成骨细胞的功能稳态^[5,6]。在保护机制上,国内学者发现 H_2S 可通过p38和ERK1/2-MAPK信号通路抑制了双氧水诱导的成骨细胞MC3T3-E1的氧化损伤,提高细胞活力,进而增强成骨作用^[6]。同时也有研究表明, H_2S 可直接抑制破骨细胞的增殖,减弱破骨作用^[8];诱导 H_2S 的两个关键调节酶(CBS和CSE)表达可显著抑制骨质疏松以及地塞米松所致的MC3T3-E1细胞损伤,其细胞保护的机制同样是与

激活AMPK信号传导有关。不仅如此,采用 H_2S 供体NaHS直接补充 H_2S 可活化磷酸腺苷(AMP)激活蛋白激酶(AMPK),并抑制地塞米松诱导的MC3T3-E1细胞活力降低、凋亡及其活性氧(ROS)生成和ATP过度消耗。

Herrmann等^[9,10]研究表明,高半胱氨酸(HCY)水平可刺激破骨细胞的活性,但高HCY水平对成骨细胞的作用仍不明确。伊藤等^[11]在研究RANKL诱导的破骨细胞形成其生理作用中发现,通过运用敲除CSE RNA或用该酶的特异抑制剂DL-炔丙基甘氨酸,发现CSE可加速RANKL诱导RAW264.7细胞分化为TRAP阳性,还可增强组织蛋白酶K阳性多核破骨细胞样细胞的骨吸收活性。此外,它们表现出CSE的CD68阳性巨噬细胞和破骨细胞相关受体阳性的破骨细胞样细胞的强烈表达。

研究表明, H_2S 生成酶CSE在破骨细胞分化时具有显著作用。在体外细胞培养,运用 H_2S 的采用 H_2S 供体GYY4137体外补充 H_2S 也可促进RANKL诱导的破骨细胞分化,并使TRAP阳性的多核细胞活性增加。但是,目前 H_2S 对RANKL诱导的RAW264.7细胞效应机制尚不清楚。

有关 H_2S 对破骨细胞分化的影响,伊藤等认为主要是 H_2S 可增加细胞内抗氧化剂谷胱甘肽,进而增强破骨细胞的分化和骨坑的形成,而应用谷胱甘肽耗竭的L-S, R-酰亚胺(谷胱甘肽合成的抑制剂)则可抑制RANKL诱导的RAW264向破骨细胞分化,应用谷胱甘肽合成的特异性抑制剂又能抑制破骨细胞生成RANKL刺激巨噬细胞的吞噬功能^[11],但对这种观点仍有争议^[12]。因为抗氧化剂完全阻止去势大鼠的骨质流失,巨噬细胞生成的活性氧可影响破骨细胞的分化^[13],这就提示活性氧可能是RANKL诱导的破骨细胞分化所必需的^[14]。但因 H_2S 所致的是促氧化还是抗氧化,还需取决于细胞的氧化还原状态。因此,RANKL诱导的破骨细胞分化也可能取决于前体细胞生成 H_2S 的CSE调节的氧化还原状态,可以解释 H_2S 抑制骨折后、雌激素、地塞米松导致的骨质疏松,过氧化氢导致的成骨细胞损伤的原因。另外, H_2S 显著性抑制破骨细胞以及骨髓间质细胞向成骨细胞、破骨细胞分化也可能是 H_2S 骨保护的细胞原因。

3 H_2S 与骨质疏松动物模型的研究

现有研究提示 H_2S 可以治疗雌激素缺乏引起的骨量丢失,在卵巢切除模拟绝经后(OVX)鼠骨损

失模型中,发现骨损失与血清 H₂S 水平降低以及骨髓(BM)中的 H₂S 的两个关键酶-CBS, CSE 活性降低相关联,但给予 H₂S 供体 GYY4137 的 OVX 鼠的骨形成增加,且完全抑制骨小梁损失。补充 17 β -雌二醇后可上调 CBS 和 CSE 在人骨髓基质细胞(HSC)的表达,而 H₂S-释放药物又可诱导造血干细胞的成骨分化。因而调节 H₂S 水平可能成为调控雌激素刺激的成骨细胞和骨形成一种新的机制,且调控 H₂S 水平也有可能治疗绝经后骨质疏松一种的潜在方法^[15]。

国内学者给去卵巢(OP)模型大鼠补充外源性 H₂S,实验发现,外源性 H₂S 可增加骨密度,且能够降低尿钙、尿脱氧吡啶啉、血清钙、血清磷和 ALP 水平,提示骨代谢的增强,表明了 H₂S 抑制卵巢切除诱导骨质疏松,因此 H₂S 有望成为治疗 OP 骨质疏松的新途径和新策略,虽然其治疗 OP 的机制还不清楚^[16]。

研究表明,骨髓间充质干细胞产生 H₂S 可调节自身的自我更新和成骨分化,H₂S 缺乏可导致骨髓间充质干细胞分化缺陷。H₂S 缺乏可使半胱氨酸残基上的多个钙通道巯基化减少,从而导致细胞内 Ca²⁺ 内流异常, Ca²⁺ 内流减少可下调 PKC/ERK 介导的 Wnt/ β -catenin 信号通路调控的骨髓间充质干细胞向成骨分化。但是,在 H₂S 缺陷导致骨质疏松的小鼠模型中,给予少量的 H₂S 可以改善小鼠的骨质疏松^[17]。因而学者提出 H₂S 可通过调控钙通道巯基化保持间充质干细胞的功能和骨骼平衡,H₂S 供体可以用于治疗由 H₂S 不足引起的骨质疏松。

另有研究发现 H₂S 对炎症反应也有调节作用,高浓度的 H₂S 可加重类风湿性关节炎大鼠的炎症反应,而低浓度的 H₂S 可以减轻炎症反应,进而有研究发现长期给予低浓度的 H₂S 有保护软骨、减轻其被降解和破坏^[18],这可能还是与 H₂S 调节体内骨髓间充质干细胞功能有关,Guo 等^[19]通过 CBS 敲除小鼠的骨髓间充质干细胞功能发现,CBS 基因敲除小鼠的血清 H₂S 水平减少 50%,并都伴有软骨缺陷及其他严重的全身发育迟缓和发育缺陷,所有的 CBS^{-/-}小鼠和 66.6% 的 CBS^{+/-}小鼠出现骨质减少的表型,进一步的组织学分析提示股骨骨小梁体积降低,显微分析表明股骨的骨矿物质密度和骨体积/组织体积显著降低。

为探索 H₂S 的骨保护机制,去卵巢 OP 大鼠股骨组织中 OPG 的表达明显降低,而 RANKL 表达增加;外源性 H₂S 供体 NaHS(50、100 nmol/kg)可上调

大鼠股骨组织中 OPG 的表达,降低 RANKL 的表达。结果表明给予外源性 H₂S 可通过调节 OPG/RANKL 通路抑制去卵巢大鼠的骨吸收,促进骨形成。因 OPG 是成骨细胞分泌的一种属于肿瘤坏死因子受体超家族的成员的蛋白质,RANKL 为其配体^[19],在成骨细胞刺激破骨细胞成熟的过程中 OPG/RANKL 起着重要的作用。RANKL 与破骨细胞表面的 RANK 结合,然后激活 NF- κ B 和 c-Fos、钙调磷酸酶等途径,促使破骨细胞成熟并促进骨吸收。而 OPG 可竞争性抑制 RANKL 与破骨细胞膜上的 RANK 结合,抑制破骨细胞前体的分化,诱导破骨细胞凋亡而抑制骨的吸收^[20]。因而调控 OPG/RANKL 可能是 H₂S 抑制破骨细胞介导的骨质吸收重要机制^[21]。

4 H₂S 与人体骨代谢的临床研究

CBS 缺乏症是一种常染色体隐性遗传疾病,是临床同型半胱氨酸血症和高胱氨酸尿症的最常见原因,此类患者常伴有多系统疾病,如股骨头脱臼,智力缺陷,动脉硬化,血栓和骨质疏松症。流行病学和临床研究表明,同型半胱氨酸血症患者有骨折的风险增加^[11],但是这些患者骨质疏松发病病因仍不清楚,虽然体内血清半胱氨酸(HCY)水平过高被认为是导致这些患者骨质疏松症的因素之一,但高水平 HCY 对破骨细胞和成骨细胞的作用仍存在争议,并且无精确的调控机制,CBS 缺陷患者不仅 HCY 升高,H₂S 水平也较正常人显著降低。因此,推测 H₂S 在人体内稳定的、低的水平状态下维持骨/骨髓系统的稳态中发挥重要作用。

据报道在体新鲜骨折过程血浆中的 H₂S 变化,新鲜长骨骨折组、短骨骨折组与健康组相比,血浆硫化氢含量均明显降低,提示 H₂S 参与骨折创伤及骨折愈合过程,研究显示骨折中氧化应激水平明显升高,可使成骨细胞的增殖受到抑制,而 H₂S 在骨折愈合过程中可能通过降低局部炎性细胞浸润并通过抑制成骨细胞中的氧化应激反应,对成骨细胞起到保护作用^[6],具体机制需进一步研究明确。

5 小结及展望

综上所述,现有研究表明骨细胞中存在内源性 H₂S 合成体系,H₂S 代谢酶也在不同骨细胞中表达。H₂S 也与骨细胞的氧化性应激有关,并能抑制去卵巢、激素等因素所致的骨质疏松和骨关节炎,其机制与调控也与抗氧化、OPG/RANKL 通路和促进骨髓

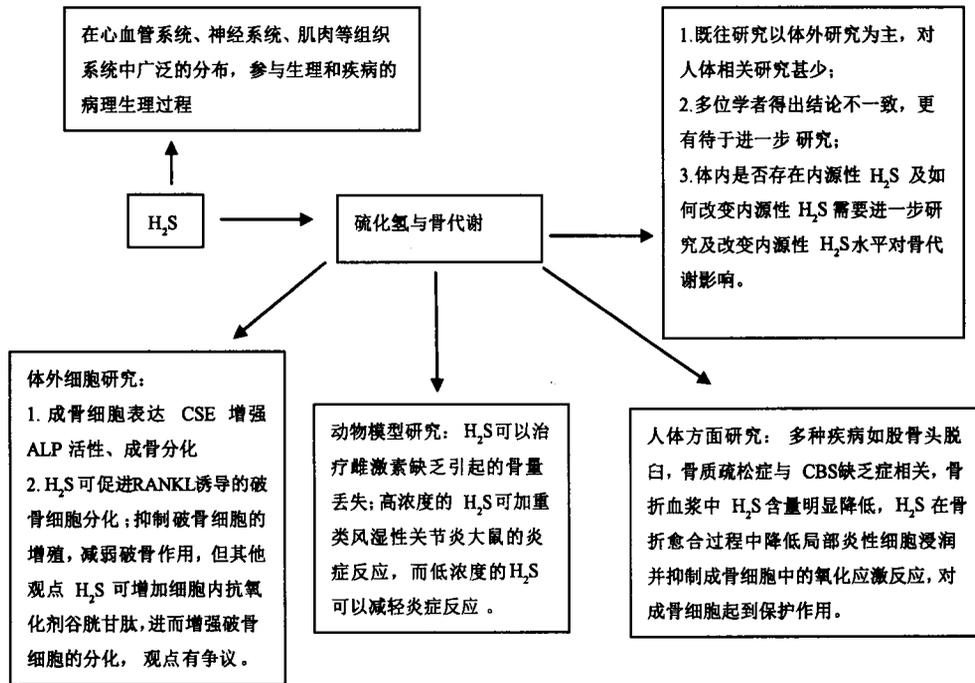


图1 硫化氢与骨代谢

Fig. 1 Relationship between hydrogen sulfide and bone metabolism

间充质干细胞分化有关,但仍有以下不足:①现在关于硫化氢与骨质疏松的研究以体外研究为主,对人体直接相关研究甚少;②通过上述综合分析,多位学者得出的结论不一致,更有待于进一步研究;③临床研究较少,有待于进一步开展相关机制及临床研究。为此需要开展下列研究,各种关于硫化氢在体内生成与调节、生理与病理生理作用、信号转导机制,所采用的外源性硫化氢对不同病因的骨质疏松采取浓度是否一致,硫化氢对于细胞功能的调节可能存在双重性,验证体内是否存在内源性 H_2S 及如何改变内源性 H_2S 需要进一步研究。

在成骨细胞、破骨细胞或动物骨骼模型中检测确定是否存在内源性 H_2S ,并通过改变内源性 H_2S 水平对骨质疏松、骨细胞分化及其他相关骨代谢疾病产生影响具有新的、重要研究前景。

【参 考 文 献】

[1] Xu DQ, Gao C, Niu W, et al. Sodium hydrosulfide alleviates lung inflammation and cell apoptosis following resuscitated hemorrhagic shock in rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34 (12): 1515-1525.

[2] Szabóza B. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential [J]. Nat Rev Drug Discov. 2007, 6: 917-935.

[3] 王婧, 耿彬. 内源性 CSE/H₂S 促进成骨细胞分化和骨修复. 中国生理学会第 24 届全国会员代表大会暨生理学学术大会论文汇编, 上海 2014: 4-47.

Wang J, Geng B. The research of endogenous CSE/H₂S promote osteoblast differentiation and bone repair. The conference of the 24th national member congress and physiology of the Chinese physical Society, Shanghai 2014: 4-47.

[4] 张清友, 杜军保, 石琳. 内源性一氧化氮与硫化氢在大鼠低氧性肺动脉高压中的相互作用 [J]. 北京大学学报 (医学版), 2004, 36 (1): 52.

Zhang QY, Du JB, Shi L. The interaction of endogenous nitric oxide and hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary hypertension [J]. Journal of Beijing University (Medical Science), 2004, 36 (1): 52 (1): 52.

[5] Elrod JW, Calvert JW, Morrison J, et al. Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 15560-15565.

[6] Xu ZS, Wang XY, Xiao DM, et al. Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H₂O₂-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis [J]. Free Radic Biol Med, 2011, 50 (10): 1314 - 1323

[7] Vacek TP, Qipshidze N, Tyagi SC. Hydrogen sulfide and sodium nitroprusside compete to activate/deactivate MMPs in bone tissue homogenates [J]. Vasc Health Risk Manag, 2013, 9 (1): 117-123.

[8] Kurabayashi M. Hydrogen sulfide: a new regulator of osteoclastogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34: 471-473.

[9] Herrmann M, Umanskaya N, Wildemann B, et al. Accumulation of homocysteine by decreasing concentrations of folate, vitamin B12 and B6 does not influence the activity of human osteoblasts in vitro. Clin Chim Acta. 2007, 384: 129-134.

(下转第 1360 页)

- 1739-1748.
- [20] Lyu Y, Feng X. Fructus Ligustri Lucidi (FLL) ethanol extract increases bone mineral density and improves bone properties in growing female rats [J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2014, 32(6): 616-626.
- [21] Bai SB, Zhong JJ. RAW264.7 cell induced differentiation and identification [J]. *Science and Technology Review*, 2010, 28(1): 44-47. (in Chinese)
- [22] Li BB, Yu SF. Comparison of two methods of isolation and culture of osteoclasts and the dynamic observation of bone resorption [J]. *Journal of Peking University (Health Sciences)*, 2005, (05): 536-541. (in Chinese)
- [23] Chen GX, Wang GR. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand-induced mature osteoclasts [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2013, (24): 4380-4385. (in Chinese)
- [24] Pan Y, Zhang W. Comparison of stability of RAW264.7 cells at different passages to osteoclast in vitro [J]. *Acta University Medicinalis Nanjing (Natural Science)*, 2011(05): 616-619. (in Chinese)
- [25] Koseki T, Gao Y. Role of TGF-beta family in osteoclastogenesis induced by RANKL [J]. *Cell Signal*, 2002, 14(1): 31-36.
- [26] Chen X, Zhu G. Cadmium Stimulates the Osteoclastic Differentiation of RAW264.7 Cells in Presence of Osteoblasts [J]. *Biological Trace Element Research*, 2012, 146(3): 349-353.
- [27] Lee EJ, Kim JL. Inhibition of osteoclast activation by phloretin through disturbing alphavbeta3 integrin-c-Src pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 680145.
- [28] Satu é M, Arriero MDM. Quercitrin and Taxifolin stimulate osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells and inhibit osteoclastogenesis in RAW 264.7 cells [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2013, 86(10): 1476-1486.
- [29] Zhu WP, Shi W. Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand induces osteoclast precursor culture and differentiation [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2013(46): 7981-7987. (in Chinese)
- [30] Chon JW, Kim H. Silk fibroin hydrolysate inhibits osteoclastogenesis and induces apoptosis of osteoclasts derived from RAW 264.7 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(5): 1203-1210.
- [31] Kim HS, Suh KS. The inhibitory effect and the molecular mechanism of glabridin on RANKL-induced osteoclastogenesis in RAW264.7 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(2): 169-177.
- [32] Recchia I, Rucci N. Reduction of c-Src activity by substituted 5, 7-diphenyl-pyrrolo [2, 3-d]-pyrimidines induces osteoclast apoptosis in vivo and in vitro. Involvement of ERK1/2 pathway [J]. *Bone*, 2004, 34(1): 65-79.
- (收稿日期: 2016-04-18, 修回日期: 2016-05-30)

(上接第 1344 页)

- [10] Herrmann M, Umanskaya N, Wildemann B, et al. Stimulation of osteoblast activity by homocysteine. *J Cell Mol Med*. 2008, 12: 1205-1210.
- [11] Dhonukshe-Rutten RA, Pluijm SM, de Groot LC, et al. Homocysteine and vitamin B12 status relate to bone turnover markers, broadband ultrasound attenuation, and fractures in healthy elderly people. *J Bone Miner Res*, 2005, 20: 921-929.
- [12] Huh YJ, Kim JM, Kim H, et al. Regulation of osteoclast differentiation by the redox-dependent modulation of nuclear import of transcription factors. *Cell Death Differ*, 2006, 13: 1138-1146.
- [13] Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO, et al. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 1990, 85: 632-639.
- [14] Lean JM, Davies JT, Fuller K, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen deficiency bone loss. *J Clin Invest*, 2003, 112: 915-923.
- [15] Grassi F, Malik Tyagi A, Calvert JW, et al. Hydrogen Sulfide Is a Novel Regulator of Bone Formation Implicated in the Bone Loss Induced by Estrogen Deficiency. *J Bone Miner Res*, 2015, 28(10): 1002-1007.
- [16] 欧琼, 黄余良, 张群峰. 外源性硫化氢对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢及护骨素/细胞核因子κB受体活化因子配体表达的影响 [J]. *中国医药导报*, 2014, 11(27): 26-30.
- Ou Q, Huang YL, Zhang QF. Exogenous hydrogen sulfide on ovariectomized rats with osteoporosis and bone metabolism osteoprotegerin / receptor activator of nuclear factor-κB ligand expression of Factor [J]. *Chinese Medicine Herald*, 2014, 11(27): 26-30.
- [17] Liu Y, Yang RL, Liu XB, et al. Hydrogen sulfide maintains mesenchymal stem cell function and bone homeostasis via regulation of Ca²⁺ channel sulphydration. *J NIH Public Access*, 2014, 15(1): 66-78.
- [18] 周智, 刘开祥, 谢跃. 低浓度硫化氢对类风湿性关节炎的软骨保护 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(11): 1659-1664.
- Zhou Z, Liu KX, Xie Y. Low concentrations of hydrogen sulfide on rheumatoid joint disease cartilage protection [J]. *Journal of Chinese Tissue Engineering Research*, 2014, 18(11): 1659-1664.
- [19] Guo L, Tang K, Quan Z, et al. Association between seven common OPG genetic polymorphisms and osteoporosis risk: a meta-analysis [J]. *DNA Cell Biol*, 2014, 33(1): 29-39.
- [20] Yasuda H. RANKL, a necessary chance for clinical application to osteoporosis and cancer-related bone diseases [J]. *World J Orthop*, 2013, 4(4): 207-217.
- [21] Stuss M, Rieseke P, Cegowska A, et al. Assessment of OPG/RANK/RANKL gene expression levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) after treatment with strontium ranelate and ibandronate in patients with postmenopausal osteoporosis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(5): 1007-1011.
- (收稿日期: 2016-03-19, 修回日期: 2016-05-05)