

原发性骨质疏松症肾阳虚证骨组织全基因表达谱研究

李生强¹ 冯尔宥² 谢冰颖¹ 谢丽华¹ 陈娟¹ 许惠娟¹ 葛继荣^{1*}

1. 福建省中医药研究院基础医学研究所骨质疏松证候基因组学研究室, 福建 福州 350003

2. 厦门大学附属福州市第二医院关节外科, 福建 福州 350007

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 07-0846-06

摘要: **目的** 通过检测原发性骨质疏松症不同中医证型患者骨组织基因表达谱的差异, 探讨原发性骨质疏松症肾阳虚证相关基因的信息学特征。 **方法** 随机选择原发性骨质疏松症患者, 中医辨证分型为肾阳虚证组 3 例, 肾阴虚证组 3 例, 无肾虚证组 3 例, 并选择正常骨密度人群 3 例设为正常对照组。用人全基因组表达谱芯片检测 4 组人群骨组织基因表达谱, 筛选共同的差异表达基因, 并对这些差异表达基因进行基因通路等相关功能分析。 **结果** 肾阳虚证组与正常对照组、肾阴虚证组、无肾虚证组的差异表达基因分别为 2631 条、3976 条、6184 条; 肾阳虚证组与其他 3 组比较共同的差异表达基因有 1037 条。这些差异基因参与补体与凝血级联反应、Hedgehog、TGF- β 、细胞周期等 22 条信号通路。 **结论** 原发性骨质疏松症肾阳虚证的相关基因主要与免疫调节、TGF- β 、细胞周期等信号通路相关。

关键词: 中医中药; 原发性骨质疏松症; 肾阳虚证; 全基因表达谱

Study on the gene expression profile in the bone tissue in primary osteoporosis with kidney-yang deficiency syndrome

LI Shengqiang¹, FENG Eryou², XIE Bingying¹, XIE Lihua¹, CHEN Juan¹, XU Huijuan¹, GE Jirong^{1*}

1. Key Research Laboratory of Osteoporosis Syndrome Genomics, Institute of Basic Medical Science, Fujian Academy of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003

2. Department of Joint Surgery, The Second Affiliated Hospital of Fuzhou of Xiamen University, Fuzhou 350007, China

Corresponding author: GE Jirong, Email: gjrrjgcy@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the characteristics of genes expression profiles of primary osteoporosis with kidney yang deficiency through analyzing the gene expression difference with gene micro-array. **Methods** Patient with osteoporosis were randomly divided into kidney-yang deficiency group ($n=3$), kidney-yin deficiency group ($n=3$), non-kidney deficiency group ($n=3$), according to the syndrome differentiation of traditional Chinese medicine. Another 3 people with normal BMD were selected as normal control. Expression profiles of the bone tissue from 4 groups were detected to screen differentiated expression genes. Analysis of pathway and other function among these genes was conducted. **Results** The number of differentiated expression genes in kidney-yang deficiency group were 3976, 6184, and 2631, compared to kidney-yin deficiency, non-kidney deficiency, and normal control group, respectively. The number of common differentially expressed genes were 1037. These genes were involved in 22 pathways, including complement and coagulation cascades, Hedgehog signaling pathway, TGF- β signaling pathway, and cell cycle. **Conclusion** Genes related to kidney-yang deficiency syndrome in primary osteoporosis are mainly related to complement and coagulation cascades, Hedgehog signaling pathway, TGF- β signaling pathway, and cell cycle.

Key words: Traditional Chinese medicine; Primary osteoporosis; Kidney yang deficiency; Gene expression profile

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是老年人中的常见病、多发病, 是以骨量减少、骨组织微细结构破坏

导致骨脆性增加和骨折危险性增加为特征的一种系统性、全身性骨骼疾病。中医学把骨质疏松症归为“骨痿”“骨痹”“骨枯”等范畴^[1], 主要是由于肾精不足、骨失滋养导致的全身骨骼的慢性退行性疾病, 肾虚是其核心病机。在临床上以肾阴虚证、肾阳虚证及阴阳两虚证较为常见^[2]。肾阳, 又称命门之

基金项目: 福建省科技厅省属公益类科研院所基本科研专项 (2014R1035-15, 2015R1038-5); 福建省自然科学基金项目 (2016J01376)

* 通讯作者: 葛继荣, Email: gjrrjgcy@163.com

火,为人体阳气之根本,肾阳虚的程度与疾病的发生发展有紧密的联系,但肾阳虚证的本质仍有待进一步研究。

高通量组学技术的发展为中医证本质的研究提供了新的技术平台。课题组前期已从外周血入手,采用芯片技术分析骨质疏松症肾阳虚证的基因表达谱特征。本实验采用人全基因组表达谱芯片检测骨质疏松症肾阳虚证的骨组织基因表达谱,与骨质疏松症肾阴虚证组、骨质疏松症无肾虚证组和正常骨密度对照组比较,筛选骨质疏松症肾阳虚证与其他 3 组的共同差异基因,探讨肾阳虚证相关基因的信息学特征。

1 材料和方法

1.1 研究对象

从福州市第二医院门诊随机选择即将进行髋关节置换术的患者,检测骨密度,依据中医辨证分型,将原发性骨质疏松症患者分为肾阳虚证组 3 例、肾阴虚证组 3 例、无肾虚证组 3 例,正常骨密度对照组 3 例,共 12 例,年龄 52~68 岁,平均 (62.35 ± 4.64) 岁。

纳入标准:①符合骨质疏松症诊断标准者,参照《中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿)》^[3];②符合中医证候诊断标准者,参照全国中西医结合虚证与老年病研究专业委员会 1986 年制定的《中医虚证辨证参考标准》^[4];③患者均知情同意。排除标准:①不符合西医诊断及中医辨证标准者;②继发性骨质疏松症者;③合并有心脑血管、胃肠道等严重疾病者;④肝、肾功能检查异常者。

1.2 主要仪器和试剂

双能 X 射线骨密度仪(美国 Hologic Discovery WI),Trizol 试剂(Invitrogen 公司),RNEASY Mini Kit(QIAGEN 公司),人 4 × 44K 全基因组表达谱芯片(Agilent 公司),核酸检测仪 Nanodrop ND-1000(美国 Thermo scientific 公司),芯片杂交炉(Agilent 公司),基因芯片扫描仪 Agilent DNA Microarray Scanner(Agilent 公司)。

1.3 骨密度测定

采用美国 Hologic Discovery WI 型双能 X 线骨密度仪(精度: < 1%)检测患者腰椎正位(L₂₋₄)、大转子和 Ward's 区骨密度(g/cm²)。

1.4 RNA 提取及质量验证

从髋关节置换术取下的人股骨头中,取硬质骨 1 g,迅速置于液氮中保存。使用 Trizol 一步法提取

人骨组织中的总 RNA,通过 Nanodrop ND-1000 读取 260 nm 和 280 nm 处的吸光度值(A),测定 RNA 溶液的纯度。经 1% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳,紫外透射光下观察,检测 RNA 的完整性。

1.5 cDNA/aRNA 样品合成和标记

总 RNA 经线性化扩增后,cy3-UTP 标记,荧光标记后的 cRNAs 采用 RNEASY Mini Kit 纯化,用 Ambion 的 RNA Fragmentation Reagents 对标记好的 cRNAs 进行片段化处理。

1.6 基因芯片杂交及扫描

采用美国 Agilent 公司的人全基因组表达谱芯片(4 × 44K 基因),在芯片杂交炉中 65 °C 杂交 17 h,然后洗脱、染色。最后用 Agilent DNA Microarray Scanner 扫描仪扫描。

1.7 芯片数据处理与分析

杂交后的芯片经芯片扫描仪读取数据点后,将数据导入分析软件,对于两组比值的自然对数绝对值大于 2.0 或小于 0.5 的基因作为差异表达基因。共同差异表达基因是在获得多组差异表达基因的基础上,采用 Excel 的函数 vlookup 进行分析获得。最后通过 NCBI、OMIM、DAVID、KEGG 等数据库对差异表达基因进行相关功能分析。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,组间差异比较采用单因素方差分析法, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨质疏松症肾阳虚证差异表达基因的筛选

骨质疏松症肾阳虚证组与正常对照组相比,筛选差异表达基因 2631 条,其中表达上调 1118 条,表达下调 1513 条;骨质疏松症肾阳虚证组与肾阴虚证组相比,筛选差异表达基因 3976 条,其中表达上调 1622 条,表达下调 2354 条;骨质疏松症肾阳虚证组与无肾虚证组相比,筛选差异表达基因 6184 条,其中表达上调 2581 条,表达下调 3603 条。骨质疏松症肾阳证组与其他 3 组的差异基因中,1037 条为共同差异表达基因。这些差异表达的基因为肾阳虚证的特异表达基因,其中上调的有 486 条,下调的有 551 条。按功能对其进行大致分类,可分为免疫相关、通道转运蛋白、骨钙代谢相关基因、信号转导、转录调控等几类(见表 1)。

表 1 原发性骨质疏松症肾阳虚证与其他 3 组骨组织比较部分差异基因

Table 1 Differentiated genes in the bone tissue in primary osteoporosis with kidney-yang deficiency syndrome

基因名 Gene symbol	基因系列号 Gene bank accession	表达调节 Regulation	倍数变化 (与正常组比较) Fold change	P 值 (与正常组比较) P value
免疫相关				
C2	NM_000063	下调	2.8	0.0460
C3	NM_000064	下调	3.7	0.0007
C6	NM_000065	下调	4.2	0.0007
IL7	NM_000880	下调	3.4	0.0120
MAI2	NM_052886	下调	8.0	0.0020
LSP1	NM_001013254	下调	2.3	0.0080
VPREB1	NM_007128	上调	8.4	0.0000
CD52	NM_001803	上调	3.3	0.0003
BCL11A	NM_018014	上调	2.4	0.0004
通道、转运相关基因				
TMEM90B	NM_024893	下调	5.1	0.0030
SLC5A6	NM_021095	下调	3.6	0.0030
SLC01C1	NM_017435	下调	2.2	0.0320
SLC04A1	NM_016354	下调	7.4	0.0020
SLC6A16	NM_014037	下调	2.2	0.0008
SLC11A1	NM_000578	上调	2.9	0.0020
SLC22A15	NM_018420	上调	2.6	0.0001
TM7SF4	NM_030788	下调	4.8	0.0170
KCTD15	NM_024076	下调	2.1	0.0200
P4HTM	NM_177938	下调	2.3	0.0120
骨钙代谢相关基因				
ESRRA	NM_004451	下调	2.6	0.0070
PCDHB5	NM_015669	下调	2.7	0.0140
PCDHB6	NM_018939	下调	4.0	0.0090
PCDHB15	NM_018935	下调	2.4	0.0110
MAST4	NM_001164664	下调	3.0	0.0001
BMP4	NM_001202	下调	3.2	0.0210
BMP8A	NM_181809	下调	2.8	0.0150
OGN	NM_033014	下调	5.8	0.0000
POSTN	NM_006475	下调	4.5	0.0001
S100A9	NM_002965	上调	3.4	0.0360
PRG2	NM_002728	上调	8.0	0.0110
MICAL1	NM_022765	上调	3.2	0.0130
信号转导				
TGFBR3	NM_003243	下调	6.1	0.0004
WNT3	NM_030753	下调	2.4	0.0310
WNT4	NM_030761	下调	11.5	0.0001
WNT5A	NM_003392	下调	5.7	0.0010
WISP3	NM_198239	下调	3.6	0.0090
MAPK9	NM_002752	下调	3.2	0.0100
MAP3K5	NM_005923	下调	2.8	0.0300
RASGEF1C	NM_175062	下调	5.2	0.0130
转录调控				
TCEA3	NM_003196	下调	4.7	0.0080
SP6	NM_199262	下调	3.5	0.0050
NCOA1	NM_147233	下调	3.4	0.0040
NR5A2	NM_205860	下调	2.0	0.0004
TFCP2	NM_005653	下调	3.5	0.0020
E2F1	NM_005225	上调	2.5	0.0010
E2F2	NM_004091	上调	3.2	0.0010
E2F4	NM_001950	上调	2.1	0.0300
TFDP2	NM_006286	上调	3.1	0.0050

2.2 骨质疏松症肾阳虚证组与其他 3 组比较的共同差异表达基因 GO 基因信息学分析

对 1087 条差异表达基因进行 GO 基因信息学分析,发现这些差异表达基因参与了 137 个生物学代谢途径,其中主要包括:参与生物过程调节,如发

育过程调节、多细胞机体调节、生物合成过程调节;参与分子功能,如生长因子结合、多糖、激素受体结合等。此外,这些差异基因还是细胞的重要化学组成,如细胞外基质、细胞外区域等。

2.3 骨质疏松症肾阳虚证差异表达基因 Pathway 分析

在 kegg 网站对差异表达基因进行 pathway 分析,发现这些基因参与了 22 条信号通路,补体与凝血级联反应、Hedgehog、TGF-beta、细胞周期、维生素消化与吸收、神经活性的配体-受体相互作用等 22 条信号通路。

3 讨论

“证”是中医对疾病某一阶段机体整体反应状态的病理概括^[5],它是整体病理状态的反映,是复杂交错动态变化的。“证”是辨证论治的起点和核心,证本质的研究是中医现代化研究的热点与难点,如能获得突破性进展,必将使中医理论研究取得质的飞跃。

过去几十年,国内学者从生化指标、基因多态性、单基因表达等方面进行肾阳虚证本质研究,取得了一定成绩。但由于研究手段、规模的限制,至今未能取得实质性进展。基因芯片等组学技术的发展为中医微观整体提供了强大的工具。沈自伊院士^[6]提出,遵循中医学研究本身的内在规律,充分利用功能基因组学的研究成果,建立中医证的表达谱,将是 21 世纪中医药学的主要发展趋势。沈自伊院士采用以药测证的方式对肾虚和肾阳虚大鼠的下丘脑、肾上腺、垂体及淋巴细胞的基因表达谱进行比较研究,认为肾阳虚证的主要物质基础是甲状腺激素促进能量代谢的氧化磷酸化过程^[7]。

与血液分离白细胞相比,从骨组织中直接提取总 RNA 研究骨质疏松症更能整体、客观地反映骨组织内基因表达的情况,更能了解活体中的骨代谢状态。因此,本研究采用病证结合的方式,以全基因表达谱芯片技术对骨质疏松症肾阳虚证进行其分子实质的探索。与前期课题组从血液细胞进行研究的肾阴虚证、肾阳虚证基因芯片结果^[8-9]相比,骨组织基因芯片差异表达的基因数目更多,涉及的信号通路也更多,原发性骨质疏松症肾阳虚证的相关基因与补体与凝血级联反应、Hedgehog、TGF-beta、细胞周期等多种信号通路均相关。

3.1 免疫功能相关基因

差异基因中参与免疫调节、炎症反应的基因有: C2、C3、C6、IL7、MAL2、LSP1、VPREB1、CD52、BCL11A 等。前面 6 条基因表达均呈下调趋势。本实验结果显示肾阳虚证免疫代谢相关基因表达水平下调,提示骨质疏松症肾阴虚证患者免疫水平降低,这一点与笔者前期肾阴虚证的发现是一致的^[8],但

参与免疫功能的基因并不相同。已有许多研究表明,免疫力低下是肾阳虚证的表现之一。谭从娥^[10]从肾阳虚证患者外周血入手,筛选到肾阳虚证显著表达基因 70 条,其中 18 条与免疫相关,认为肾阳虚证患者存在免疫功能异常,免疫功能基因的异常表达是肾阳虚证发生的分子基础之一。后谭从娥又以方测证的思路,采用右归丸治疗,建立右归丸疗效相关的差异表达基因功能网络,认为调节机体的免疫功能是右归丸治疗肾阳虚证的重要疗效机理之一^[11]。本研究免疫相关的 9 条基因中,除 6 条基因表达下调外,另外 3 条基因表达上调,提示肾阳虚患者存在体内免疫功能紊乱。

3.2 通道、转运蛋白相关基因

与通道、转运蛋白相关的基因有: TMEM90B、SLC5A6、SLC01C1、SLC04A1、SLC6A16、SLC11A1、SLC22A15、TM7SF4、KCTD15、P4HTM 等。钠钙交换蛋白是广泛存在于动物细胞膜上的一种离子转运蛋白,通过将细胞内的 Ca^{2+} 泵出以及反向转运将细胞外的 Ca^{2+} 泵入维持细胞内 Ca^{2+} 浓度的稳态,从而满足细胞功能活动对 Ca^{2+} 的需求^[12]。钾离子通道四聚化结构域 KCTD15 基因属于 KCTD 家族成员之一^[13],其基因功能与生物膜和细胞骨架有关,且能够影响细胞能量代谢过程。阶段敲低 KCTD15 基因能抑制 3T3-L1 脂肪前体细胞分化^[14],说明它可能影响间充质干细胞的成骨分化。编码通道、转运蛋白的基因出现下调,表明肾阳虚患者离子交换与运输均出现了紊乱,影响了骨代谢。

3.3 骨钙代谢相关基因

与骨代谢相关的基因有: ESRRA、PCDHB5、PCDHB6、PCDHB15、MAST4、BMP4、BMP8A、OGN、POSTN、S100A9、PRG2、MICAL1 等。PCDHB5、6、15 是原黏粘蛋白 beta 家族簇成员,这些神经类细胞黏粘蛋白是膜蛋白,其具体功能未知,但是它们有可能在特定的细胞与细胞间的神经连接的建立上发挥关键作用。BMP4、8A 是 BMP 家族成员,属于 TGF-beta 超家族,与骨的代谢具有十分密切的关系^[15],在卵巢切除骨质疏松症大鼠模型中,BMP4 蛋白水平降低。它们在人类软骨内成骨形成的发病中起着重要的作用,还参与肌肉发育、骨矿化等过程。POSTN 在许多组织中都存在,作为成骨细胞及其前体细胞分泌产生的一种黏附分子,POSTN 可促进成骨细胞及其前体细胞在骨膜聚集、分化^[16]。此外,它还被认为是机械应力相关基因^[17],肾阳虚证组 PCDHB5、6、BMP4 以及 POSTN 表达水平均降低,影

响了成骨细胞的分化,加速骨的流失。

总之,本研究在骨质疏松症与中医证型相结合的基础上,应用基因芯片技术研究绝经后骨质疏松症肾阳虚证的基因表达谱。结果表明,绝经后骨质疏松症肾阳虚证与免疫、骨钙代谢、细胞信号转导等相关,与其他疾病的肾阳虚证有相似之处,但也有自己的特点,这可能与笔者取材来自骨组织有关。肾阳虚证患者多免疫力低下的分子实质可能与免疫功能相关基因表达下降相关;而在其他骨钙代谢、离子通道、转运蛋白等相关基因方面,也表现出基因表达的紊乱。本研究只是对原发性骨质疏松症肾阳虚证关联基因的初步探讨,今后笔者将以“异病同证”为思路,同时从其他疾病的肾阳虚证入手,进一步探讨肾阳虚证的分子内涵。

【参 考 文 献】

- [1] 葛继荣,郑洪新,万小明,等. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015). 中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1023-1028.
Ge JR, Zheng HX, Wang XM, et al. Expert consensus on the prevention and treatment for primary osteoporosis with traditional Chinese medicine. Chin J Osteopor, 2015, 21(9):1023-1028. (in Chinese)
- [2] 葛继荣,陈可,王和鸣. 原发性骨质疏松症的中医辨证分型研究. 福建中医药大学学报,2005,15(1):9-11.
Ge JR, Chen K, Wang HM. Study on syndrome differentiation type of TCM in primary osteoporosis. Journal of Fujian College of Traditional Chinese Medicine, 2005, 15(1):9-11. (in Chinese)
- [3] 中国老年学学会骨质疏松委员会“骨质疏松诊断标准”学科组. 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿). 中国骨质疏松杂志,2000,6(1):1-3.
Subject group for diagnostic criteria of osteoporosis, Osteoporosis committee of China elderly society. Chinese osteoporosis recommended diagnostic criteria (Second Draft). Chin J Osteopor, 2000, 6(1):1-3. (in Chinese)
- [4] 沈自尹,王文健. 中医虚证辨证参考标准. 中国中西医结合杂志,1986,6(10):598.
Shen ZY, Wang WJ. Deficiency syndrome of TCM syndrome differentiation reference standard. Chin J Integr Trad West Med, 1986, 6(10):598. (in Chinese)
- [5] 李灿东,甘慧娟,鲁玉辉,等. 基于证素辨证原理的健康状态辨识研究. 中华中医药杂志,2011,26(4):754-757.
Li CD, Gan HJ, Lu YH, et al. Study on differentiation of health state based on the principle of differentiation of syndrome elements. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2011, 26(4):754-757. (in Chinese)
- [6] 沈自尹. 21 世纪-中西医结合走向后基因组时代. 中国中西医结合杂志,2000,20(11):808-810.
Shen ZY. 21st century - Combine traditional Chinese and western medicine to the genome era. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2000, 20(11):808-810. (in Chinese)
- [7] 沈自尹,黄建华,陈伟华. 以药测证对肾虚和肾阳虚大鼠基因表达谱的比较研究. 中国中西医结合杂志,2007,27(2):135-137.
Shen ZY, Huang JH, Chen WH, et al. Comparison of gene expression profiles between rats of Shen deficiency syndrome and Shen-yang deficiency syndrome differentiated according to therapeutic efficacy of drugs. Chin J Integr Trad West Med, 2007, 27(2):135-137. (in Chinese)
- [8] 谢丽华,赵毅鹏,陈可,等. 绝经后骨质疏松肾阴虚证相关基因的信息学分析. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(15):2833-2837.
Xie LH, Zhao YP, Chen K, et al. Bioinformatics analysis of genes expression profiles of postmenopausal osteoporosis with kidney yin deficiency. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2011, 15(15):2833-2837. (in Chinese)
- [9] 葛继荣,谢丽华,陈可,等. 绝经后骨质疏松症肾阳虚证差异表达基因分析. 中国骨质疏松杂志,2012,18(2):134-138.
Ge JR, Xie LH, Chen K, et al. Analysis of differential expression genes in postmenopausal osteoporosis patients with Kidney Yang deficiency. Chin J Osteopor, 2012, 18(2):134-138. (in Chinese)
- [10] 谭从娥,王米渠. 肾阳虚证免疫功能相关基因筛选及其表达分析. 现代中西医结合杂志,2011,20(22):2731-2732,2813.
Tan CE, Wang MQ. Screening of genes associated with immunity and its expression analysis in kidney Yang deficiency patients. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2011, 20(22):2731-2732, 2813. (in Chinese)
- [11] 谭从娥,王米渠. 右归丸对肾阳虚证患者干预效应的差异表达基因功能网络分析. 中成药,2013,35(9):1875-1879.
Tan CE, Wang MQ. Gene functional network analyses on kidney-yang deficiency after regulation by Yougui Pills. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(9):1875-1879. (in Chinese)
- [12] 徐景,赵旭,杨莹,等. KCTD15 基因调控 3T3-L1 脂肪前体细胞分化的研究. 第三军医大学学报,2013,35(11):1115-1118.
Xu J, Zhao X, Yang Y, et al. Potassium channel tetramerisation domain containing 15 regulates preadipocyte differentiation. J Third Mil Med Univ, 2013, 35(11):1115-1118. (in Chinese)
- [13] 张鹏,金康宣,陈宇晟,等. 表达谱芯片分析 KCTD15 对 3T3-L1 前体脂肪细胞的影响. 第三军医大学学报,2014,36(9):937-940.
Zhang P, Jin KX, Chen YS, et al. Effect of KCTD15 gene on 3T3-L1 preadipocyte by global expression profile microarray. J Third Mil Med Univ, 2014, 36(9):937-940. (in Chinese)
- [14] 祖源,万丽娟,龚燕平,等. 钙交换蛋白特异调控与相关临床疾病研究进展. 解放军医学院学报,2015,36(4):393-395.
Zu Y, Wan LJ, Gong YP, et al. Advances in specific regulation of sodium-calcium exchanger and its related clinical disease. Acad J Chin PLA Med Sch, 2015, 36(4):393-395. (in Chinese)

(下转第 863 页)

- osteoporosis. Chinese General Practice, 2009, 12(98):1744-1746. (in Chinese)
- [2] Brumsen C, Papapoulos SE, Lentjes EG, et al. A potential role for the mast cell in the pathogenesis of idiopathic osteoporosis in men. Bone, 2002, 31(5): 556-561.
- [3] Chiappetta N, Gruber B. The role of mast cells in osteoporosis. Seminars in arthritis and rheumatism, 2006, 36(1): 32-36.
- [4] 王桂芝, 张北川, 刘季和. 肥大细胞与肥大细胞增生症研究进展. 国外医学皮肤病学分册, 1992, 18(4): 198-202.
Wang GZ, Zhang BC, Liu JH. Research progress of mast cells and mast cell hyperplasia. Foreign Medical Dermatology, 1992, 18(4): 198-202. (in Chinese)
- [5] Sperr WR, Valent P. Diagnosis, progression patterns and prognostication in mastocytosis. Expert review of hematology, 2012, 5(7): 261-274.
- [6] Abramowitz JD, Weinerman SA. Osteoporosis as the sole manifestation of systemic mastocytosis in a young man. Endocrine Practice, 2012, 18(6): 158-161.
- [7] 祁珊珊, 杨玮琦, 庞田田, 等. 去卵巢法构建绝经后骨质疏松模型手术探讨. 中国兽医杂志, 2014, 50(2): 27-29.
Qi SS, Yang YQ, Pang TT, et al. A successful surgical procedure of rat ovariectomy for establishing an animal model of women's postmenopausal osteoporosis. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2014, 50(2): 27-29. (in Chinese)
- [8] Frame B, Nixon RK. Bone marrow mast cells in osteoporosis of aging. N Engl J Med, 1968, 279(12): 626-630.
- [9] Fallon MD, Whyte MP, Teitelbaum SL. Systemic mastocytosis associated with generalized osteopenia: histopathological characterization of the skeletal lesion using undecalcified bone from two patients. Human Pathol, 1981, 12(9): 813-820.
- [10] 祁珊珊, 王永吉, 辛薇. SD 大鼠绝经后骨质疏松疾病动物模型的构建. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(1): 49-52.
Qi SS, Wang YJ, Xin W. An animal model establishment of SD rat with women postmenopausal osteoporosis. J Clin Exp Pathol, 2016, 32(1): 49-52. (in Chinese)
- [11] 祁珊珊, 王永吉. 苯甲酸雌二醇对绝经后骨质疏松模型大鼠子宫内膜及子宫肥大细胞数量的影响. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(2): 150-153.
Qi SS, Wang YJ. Effect of estradiol benzoate on endometrial morphology and the number of uterine mast cells in the rat model of postmenopausal osteoporosis. Chin J Osteopor, 2016, 22(2): 150-153. (in Chinese)
- [12] Narita S, Goldblum RM, Watson CS, et al. Environmental estrogens induce mast cell degranulation and enhance IgE mediated release of allergic mediators. Environ Health Perspect, 2007, 115(1): 48-52.
- [13] Urist MR, McLean FC. Accumulation of mast cells in endosteum of bone of calcium-deficient rats. AMA Arch Pathol, 1957, 63(3): 239-251.
- [14] Tesar R, Notelovitz M. Bone and vaginal mast cell population changes associated with calcium deficiency. Calcified Tissue International, 1983, 35(4): 221-226.
- [15] Goldhaber P. Heparin enhancement of factors stimulating bone resorption in tissue culture. Science, 1965, 147(3656): 407-408.
- [16] Relea P, Revilla M, Ripoll E, et al. Zinc Biochemical markers of nutrition, and type I osteoporosis. Age Aging, 1995, 24(4): 303-307.

(收稿日期: 2016-12-13; 修回日期: 2017-01-11)

(上接第 850 页)

- [15] 胡静, 郑洪新. 骨质疏松大鼠的骨形成蛋白-4 诱导成骨信号转导机制变化. 中国老年学杂志, 2009, 29(19): 2462-2464.
Hu J, Zheng HX. Signal transduction mechanism change of bone morphogenetic protein-4 (BMP-4) in osteoporosis. Chinese Journal of Gerontology, 2009, 29(19): 2462-2464. (in Chinese)
- [16] Litvin J, Selim AH, Montgomery MO, et al. Expression and function of Periostin-isoforms in bone. J Cell Biochem, 2004, 92(5): 1044-1061.
- [17] 方航, 张荣凯, 陈郁鲜, 等. 机械应力相关基因在骨关节炎软骨下骨的表达. 中国组织工程研究, 2013, 17(22): 4084-4090.
Fang H, Zhang RK, Chen YX, et al. Expression of mechanical stress related genes in subchondral bone of rat osteoarthritis model. J Clin Rehabil Tis Eng Res, 2013, 17(22): 4084-4090. (in Chinese)

(收稿日期: 2016-04-05; 修回日期: 2016-05-01)