

钒酸盐对 I 型糖尿病大鼠骨矿盐代谢及骨显微结构的影响

裴祎 张晓晶 郑珂 王巍 穆帅 薛峰 滕松龄 付勤*

中国医科大学肿瘤医院/辽宁省肿瘤医院骨与软组织肿瘤科, 辽宁 沈阳 110042

中图分类号: R687.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 07-0884-06

摘要: 目的 评价钒酸盐对 I 型糖尿病大鼠骨代谢及骨显微结构的影响。方法 45 只雄性 Wistar 大鼠被分为 3 组: 正常饲养组 ($n=15$)、高血糖组 ($n=15$)、高血糖钒酸盐治疗组 ($n=15$)。对高血糖组和高血糖钒酸盐治疗组大鼠进行 I 型糖尿病造模, 正常饲养组大鼠尾静脉注射生理盐水作为对照。以 8 w 龄 Wistar 雄性大鼠按 45 mg/kg 体重注射佐链尿菌素, 制作糖尿病大鼠模型。造模成功后, 给予高血糖钒酸盐治疗组糖尿病大鼠应用钒酸盐治疗, 每只大鼠按 0.18 mg/(kg·d) 钒剂量喂养, 每只大鼠通过灌胃治疗, 治疗共持续 12 w。正常饲养组和高血糖组则以生理盐水灌胃进行对照。连续喂养 12 w, 期间每周分别对 3 组大鼠进行体重、血糖监测。喂养结束以后, 分别取 3 组大鼠胫骨、股骨进行 Micro-CT 检测、免疫组化和组织形态学检测、生物力学检测、骨矿含量等相关指标检测。结果 经过 12 w 治疗, 结果显示钒酸盐能够明显改善大鼠的高血糖状态, 提高体重指标, 而且治疗组平均骨小梁厚度、最大负荷承载力、骨盐含量指标均明显高于高血糖组 ($P<0.05$)。但钙盐的含量并没有显著提高 ($P>0.05$)。结论 钒酸盐能够降低高血糖大鼠的血糖值, 改善糖尿病大鼠的骨代谢、骨小梁显微结构及骨组织的力学性能, 可为糖尿病性骨质疏松症提供新的治疗方法。

关键词: 钒酸盐; I 型糖尿病; 糖尿病性骨质疏松症; 骨生物力学; 骨形成; 动物实验

The effect of vanadium on bone mineral metabolism and bone microstructure in rats with type I diabetes

PEI Yi, ZHANG Xiaojing, ZHENG Ke, WANG Wei, MU Shuai, XUE Feng, TENG Songling, FU Qin*

Department of Bone and Soft Tissue Surgery, Cancer Hospital of China Medical University, Liaoning Cancer Hospital & Institute, Shenyang 110042, China

Corresponding author: FU Qin, Email: fuqincmu2h@126.com

Abstract: Objective The purpose of this study was to evaluate the effect of vanadium on bone microstructure and formation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Methods** Forty-five male Wistar rats were divided into three groups: normal control group ($n=15$), high blood glucose group, and vanadium treatment group. Rats in high glucose and vanadium treatment groups received 45 mg/Kg of STZ to establish the diabetic model. Rats in control group received normal saline. After modelling, rats in the treatment group received 0.18 mg/kg vanadium intragastrically for 12 weeks. Body weight was examined every week. At sacrifice, the tibia and femur were subjected to micro computed tomography (micro-CT), immunohistology, histomorphometry, mechanical testing, and bone mineral content examination. **Results** After the 12-week treatment, the result showed that vanadium relieved high blood glucose status and increased body weight in diabetic rats. The average trabecular thickness, maximal loading, and bone mineral content in the vanadium-treated rats were higher than those in control rats. However, calcium level did not increase. **Conclusion** Vanadium decreases the blood glucose level in high-glucose rats and improves bone metabolism, trabecular bone microstructure, and bone mechanics. It provides a new method for the treatment of diabetic osteoporosis.

Key words: Vanadium; Type 1 diabetes mellitus; Diabetic osteoporosis; Bone biomechanics; Bone formation; Animal experimentation

*通讯作者: 付勤, Email: fuqincmu2h@126.com

糖尿病是一种由于胰岛素分泌不足或机体对胰岛素利用效率低而引发的慢性疾病。糖尿病性骨质疏松^[1]是指糖尿病患者并发单位体积内骨量减少、骨组织微观结构改变、骨强度降低、脆性增加等易发生骨折的一种全身性、代谢性骨病。因此对糖尿病性骨质疏松发病机制及其防治的研究,已成为骨质疏松症基础和临床亟待解决的重大问题。目前普遍认为糖尿病性骨质疏松是一种多病因疾病^[2],糖尿病发生后会引起全身骨痛,易发骨折,致残致死率高,已经证实长期高血糖状态会影响三大物质代谢障碍;同时胰岛素缺乏使成骨细胞的分化和增殖减弱,数目减少、活性降低,抑制骨胶原合成^[3];同时还可抑制成骨细胞合成骨钙素,从而导致骨吸收增多,骨量丢失增大^[4],降低骨转化率等。因此,无论是探讨发病机制还是解决临床防治问题,有效控制血糖、避免胰岛素缺乏是提高骨骼质量和预防糖尿病性骨质疏松发生的关键。

钒是人体必需的微量元素之一,具有降血糖、抗炎、抗癌、等多种生理功^[5]。在体内,钒有四价、五价等多种化合态,1980 年 Schecher 等首先发现钒具有很好的体外胰岛素样活性。近年来许多学者亦通过大量实验研究发现,口服钒酸盐无论对 I 型或 II 型糖尿病动物模型的血糖都能降至或接近正常的水平,这充分显示了钒酸盐的降糖作用^[6]。从以往的研究中发现,钒酸盐可以通过其类胰岛素作用改善大鼠因缺乏胰岛素而导致全升高血糖状态,而这种类胰岛素的降糖作用能否进一步延缓、甚至阻止糖尿病性骨质疏松的发生、发展? 本研究的目的是通过检测金属钒治疗前后糖尿病大鼠骨代谢指标的动态变化,探明金属钒对糖尿病性骨质疏松骨代谢及骨显微结构的作用。旨在为开发和研制有效改善和治疗糖尿病性骨质疏松的药物提供理论支持和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:45 只 2 月龄雄性 Wistar 大鼠,体重(225 ± 25) g,由中国医科大学动物实验中心提供。

1.1.2 饲养环境:动物饲养场地在中国医科大学动物实验中心,其环境符合卫生检疫标准。室温(20 ± 1)℃、湿度为 20%,照明昼夜明暗交替时间为 12/12,大鼠自由饮水、进食。适应性喂养 7 d 后,进入实验状态。

1.1.3 药物:佐链尿菌素,钒酸盐(Betapharma 有限公司。上海,中国)。

1.1.4 主要仪器:Micro-CT(SCANCO Medical AG, Switzerland);高精度数显光栅位移传感器(Instron Corporation, AM);阿波特 300i 化学分析仪(Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA);Microscope(Olympus);Zwick-Z010 生物力学检测仪(Z010, Zwick GmbH, Ulm)。

1.2 实验方法

45 只雄性 Wistar 大鼠被随机分为 3 组:对照组($n = 15$)、高血糖组($n = 15$)、高血糖 + 钒治疗组($n = 15$)。首先对高血糖组、高血糖 + 钒治疗组大鼠进行 I 型糖尿病造模,对照组大鼠尾静脉注射生理盐水作为对照组。以 8 w 龄 Wistar 雄性大鼠按 45 mg/kg 体重注射佐链尿菌素,制作糖尿病大鼠模型。造模后第 3 天、5 天、7 天尾静脉采血测血糖,以 3 次血糖均值大于 13 mmol/L 为糖尿病造模成功鼠。对照组仅注射生理盐水,不影响胰岛细胞功能。若 3 次血糖值 < 13 mmol/L,则认定造模失败。造模成功后,给予高血糖 + 钒治疗组糖尿病大鼠应用钒治疗,每只大鼠按 0.18 mg/(kg·d) 钒计量喂养,每只大鼠通过灌胃治疗,治疗共持续 12 w。对照组、高血糖组则以生理盐水灌胃进行对照。连续喂养 12 w,每周分别对 3 组大鼠进行体重、血糖监测。喂养第 12 周结束以后,分别取 3 组大鼠胫骨、股骨进行 micro-CT 检测、组织形态学检测、生物力学检测、骨矿含量检测、评价钙盐含量等相关指标。

1.3 检测项目

1.3.1 Micro-CT:利用台式 micro-CT 对所有实验动物的胫骨进行检测分析(SCANCO Medical AG, Switzerland)。沿着整个胫骨的长轴,扫描 600 层,层厚 40 μ m,已通过胫骨近端部分的区域作为选定区域^[7-8],包括在内的上下各 100 层进行数据统计。三维骨小梁结构参数可以直接测量出来:骨小梁体积(bone volume, BV)、被测样品总体积(tissue volume, TV)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb. Th)、骨小梁间距(trabecular separation, Tb. Sp)、骨小梁数目(trabecular number, Tb. N)。

1.3.2 骨组织形态计量学观察参数:利用 10% 乙二胺四乙酸(EDTA)将股骨脱钙,石蜡包埋后,纵切。利用显微镜上的投影描绘器和分析软件(Image-Pro 4.0 analysis software)对组织形态测定结果进行分析。每个切片厚度为 5 μ m,均选择 10 个

松质骨区域,放大 200 倍进行检测。每个区域中选择组织 3~5 处切片位置,使实验更具有-致性,并减少误差。

1.3.3 大鼠离体股骨生物力学测试:应用三点应力载荷测量股骨机械强度。Zwick-Z010 testing systems (Z010,Zwick GmbH,Ulm)室温条件下,股骨缓慢融化后,除去附着在骨上的软组织,并将股骨远端浸润水泥,以防止发生旋转,产生旋转方向应力,影响测量结果。将样本放置在三点应力测试器上,跨距为 40 mm,2 mm/min 的速度匀速运动,直至样本发生骨折。记录骨折时,骨折载荷的最高值(牛顿,N)。

1.3.4 骨矿物质含量测定:为了测定骨矿含量,将股骨 620°C,48 h 条件下矿化并称重。矿化骨溶解于 6 M 盐酸溶液中,比色法测定骨矿含量中钙的含量(Pointe Scientific 标准试剂盒)。

1.4 数据分析

数据收集在 Excel (Microsoft) 文件里。Micro-CT 检测所得骨小梁结构数据,组织形态测定所得数据,骨机械性能检测所得数据以及骨矿物质含量均进行均数和标准差统计。组间差异统计利用 ANOVA 和 Post hoc Tukey's test 检验用于组间差异统计。利用统计软件 SPSS 17.0 进行统计分析, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 大鼠体重变化

喂养 12 w 期间,每周末对 3 组大鼠体重的测量值,见图 1。与对照组相比,高血糖组和高血糖 + 钆治疗组的大鼠体重明显下降。前 4 w,高血糖组、高血糖 + 钆治疗组的体重差异没有统计学意义($P < 0.05$),然而在第 4 周时,高血糖 + 钆治疗组大鼠的体重开始明显增加,但与对照组比较,体重增加并没有达到标准值,这些结果说明,钆酸盐能够改善高血糖大鼠的体重指标,但不足以使之达到正常喂养值。

2.2 大鼠血糖变化

喂养 12 w 期间,每周末对 3 组大鼠血糖值进行分析,见图 2。在治疗 1 w 后,高血糖 + 钆治疗组血糖值与高血糖组比较明显降低($P < 0.05$),但是血糖值并未达到正常值。实验结果说明钆酸盐能够显著降低糖尿病大鼠的血糖值(图 2)。

2.3 Micro-CT 检测

钆酸盐对大鼠胫骨显微结构的影响见图 3。高血糖组大鼠骨的骨小梁总量明显降低,而高血糖 + 钆治疗组明显增加了小梁骨的比率。同时,高血

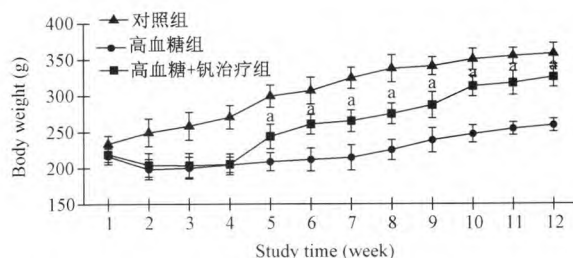


图 1 大鼠 12 w 内体重变化(a:与高血糖组比较, $P < 0.05$)

Fig. 1 Body weight changes of rats in 12 weeks (a: $P < 0.05$, compared to the diabetic group)

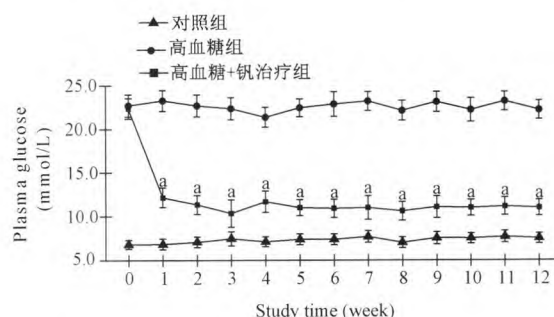


图 2 大鼠 12 w 内血糖值变化(a:与高血糖组比较, $P < 0.05$)

Fig. 2 Blood glucose changes in 12 weeks (a: $P < 0.05$, compared to the diabetic group)

糖 + 钆治疗组对骨小梁显微结构也具有一定的改善作用,其骨小梁宽度与糖尿病组相比明显增加($P < 0.05$)。然而,在骨小梁数量和骨小梁间隙方面,高血糖 + 钆治疗组与高血糖组相比并未有明显的改善($P > 0.05$)。

2.4 骨组织形态计量学观察参数

钆酸盐治疗组骨组织的组织形态学检测结果见图 4。图 4A 实验结果说明高血糖组大鼠的破骨细胞数量明显减少,说明高血糖状态能够抑制骨吸收,图 4B 显示,高血糖组成骨细胞表面与对照组相比明显减少,这说明高血糖在抑制骨吸收的同时,也抑制了骨形成。通过钆酸盐治疗,破骨细胞数量并没有提高,但成骨细胞表面明显提高,结果说明,钆酸盐治疗不能改善骨吸收,但能够促进骨形成。

2.5 大鼠离体股骨生物力学测试

12 w 后对 3 组大鼠股骨进行生物力学测试见表 1。结果发现,糖尿病鼠的骨骼质量比较差,抗压力、结构强度、质量强度都明显下降,而钆酸盐治疗组最大负荷载力明显比高血糖组提高。然而,结构强度、质量强度与高血糖组相比,差异并无统计学意义($P > 0.05$)。

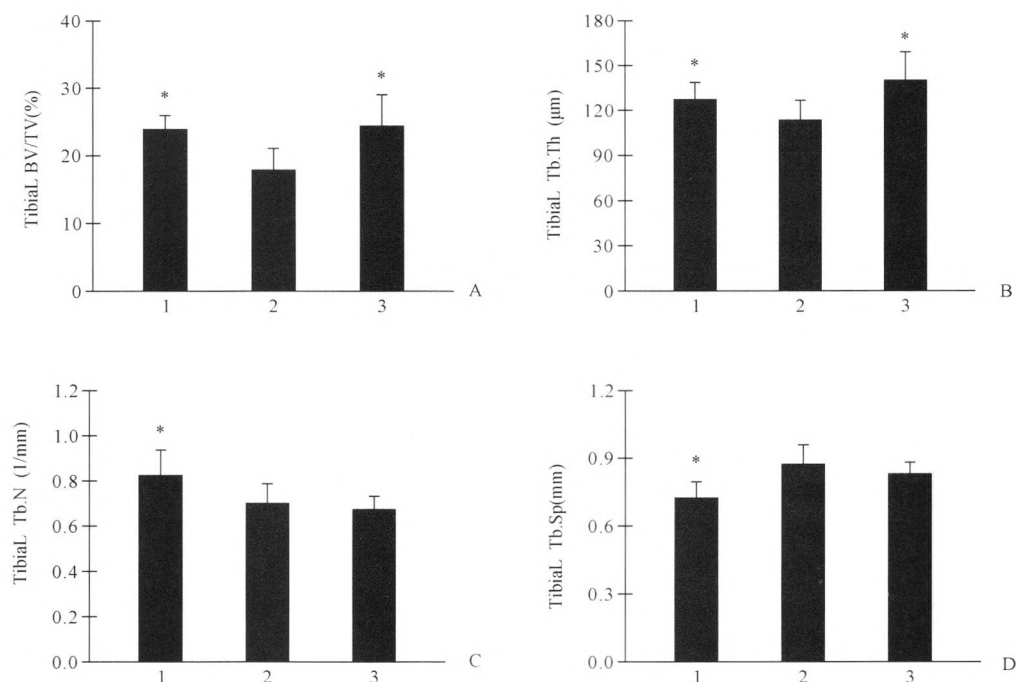


图3 钒酸盐对高血糖大鼠胫骨显微结构的影响。A:骨体积分数(BV/TV);B:平均骨小梁宽度(Tb.Th);C:平均骨小梁数量(Tb.N);D:平均骨小梁间隙(Tb.Sp)。1:对照组,2:高血糖组,3:高血糖+钒治疗组。与高血糖组比较,* $P < 0.05$

Fig. 3 Effect of vanadium treatment on trabecular microarchitectural parameters. A: Percentage of total bone volume occupied by trabecular bone (BV/TV); B: Mean trabecular thickness (Tb.Th); C: Mean trabecular number (Tb.N); D: Mean trabecular separation (Tb.Sp). Data are expressed as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$, significant difference from diabetic rats. 1: Control group, 2: Diabetic group, 3: Vanadium group

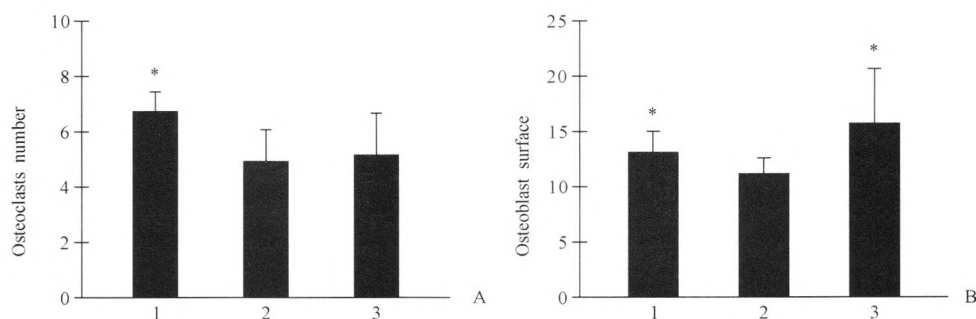


图4 钒酸盐对高血糖大鼠组织形态学的影响。A:破骨细胞数量;B:成骨细胞表面。1:对照组,2:高血糖组,3:高血糖+钒治疗组。与高血糖组比较,* $P < 0.05$

Fig. 4 Effect of vanadium treatment on bone histomorphometry. A: Mean number of osteoclasts per square millimeter section; B: Percentage of trabecular bone perimeter occupied by osteoblasts. Data are expressed as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$, significant difference from diabetic rats. 1: Control group, 2: Diabetic group, 3: Vanadium group

2.6 骨矿物质含量测定

与高血糖组相比,钒治疗组显著提高骨组织的骨矿含量。糖尿病平均骨钙、磷含量分别为 (94.53 ± 6.18) mg/g 和 (44.37 ± 3.16) mg/g,然而

钒治疗组钙磷含量为 (91.56 ± 8.94) mg/g 和 (55.65 ± 4.35) mg/g。结果说明,钒主要增加骨骼中磷的含量,然而对钙含量的增加无显著作用。

表1 各组生物力学检测

Table 1 Biomechanical properties in each group

Group	Ultimate load (N)	Stiffness (N/mm)	Energy absorption (mJ)
Control	79.36 ± 7.58	135.28 ± 14.39	31.18 ± 4.06
Diabetic	50.67 ± 8.36 *	113.66 ± 18.18 *	26.73 ± 3.41 *
Diab + vanadium	67.42 ± 10.33 **	116.18 ± 21.58 *	26.59 ± 4.63 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$,与高血糖组比较, # $P < 0.05$ 。

表2 各组骨矿含量检测

Table 2 Bone mineral content in each group

Group	Total bone mineral content (mg)	Phosphorus content (mg/g)	Calcium content (mg/g)
Control	223.60 ± 7.20	56.90 ± 6.54	112.59 ± 7.61
Diabetic	185.12 ± 9.67 *	44.37 ± 3.16 *	94.53 ± 6.18 *
Diab + vanadium	186.79 ± 10.34 *	55.65 ± 4.35 #	91.56 ± 8.94 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$,与高血糖组比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨论

通过实验发现,钒酸盐确实能够降低 I 型糖尿病大鼠的高血糖状态,并且随着大鼠的血糖下降,体重逐渐升高。进一步观察发现,体重的增加滞后于血糖的下降,滞后时间约 2 w,而且随着血糖值的稳定,体重值稳步上升,这些结果说明,降低大鼠血糖值对于改善体重有重要意义。

评价骨骼强度的高低,最直接的方法就是测量骨的生物力学强度。之前的研究已经证明,无论体内、体外实验,钒的许多复合物都有类胰岛素作用^[9-11],而且随着血糖值的升高,影响骨骼强度的相关指标会明显降低^[12-13]。从实验中发现,高血糖组大鼠的最大负荷能力、结构强度、能量吸收值均明显降低。通过钒酸盐 12 w 的喂养,最大负荷能力明显提高,但是结构强度、能量吸收值的变化并没有统计学意义。这说明钒酸盐治疗可使受损的最大负荷能力得到改善。

另一项评价骨骼强度指标是对骨显微结构的评价。Bauer 等^[14]发现了骨的显微参数能够用来评价骨的生物力学强度。Link 等^[15]发现了骨的显微结构与骨的生物力学有关。进一步的示例中证明,骨的显微结构能够揭示骨的强度,以及骨折的危险度^[16-18]。从骨小梁厚度 (Tb. Th)、骨小梁数量 (Tb. N)、骨小梁间隙 (Tb. Sp) 的结果来看,高血糖组和高血糖 + 钒治疗组骨小梁数量明显减少,骨小梁间隙明显增大,骨质疏松程度更加严重。骨小梁主要由细胞外基质(矿物和胶原)组成,糖尿病会影响胶原合成及矿化。长期高葡萄糖浓度会增加糖基化终末

产物的量,大量的终末产物在骨胶原蛋白上堆积,影响了胶原上钙盐的沉积及矿化。因此,骨小梁数量减少和缺乏更紧凑的骨小梁间隙的原因可能是没有足够的胶原蛋白补充。然而,在钒酸盐治疗组中,骨小梁厚度明显增加 ($P < 0.05$)。这说明钒酸盐主要是通过增加骨小梁厚度,改善骨骼强度。钒酸盐通过降低高血糖状态,减少糖基化终末产物在胶原蛋白上堆积,进一步增加了成骨细胞在胶原蛋白上的黏附作用,因而改变了成骨细胞的功能及其分化和增殖作用,促进骨形成并进一步提高骨矿盐含量。实验研究表明,钒酸盐治疗组的骨矿含量和磷含量的增加,但是组织的矿物质钙含量的差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。

shyng 等^[19]研究者发现,在 I 型糖尿病模型中,成骨细胞的数量和骨形成大大降低了,糖尿病大鼠破骨细胞的数量也在减少^[20]。在糖尿病骨质疏松的发病机制中,已经被证实的是骨转换的降低,而不是过度的骨吸收^[21]。在本研究中,钒酸盐对糖尿病大鼠股骨组织中的成骨细胞数量增加,而破骨细胞数量值没有明显改变。体外研究已经发现,金属元素钒可以增加成骨细胞数量^[22-23]。钒可以提高成骨细胞对胰岛素的反应,以增加其活性,并可以促进骨形成增加^[24-25]。破骨细胞已证实有胰岛素受体,但不受胰岛素响应,所以破骨细胞对钒的类胰岛素作用无反应。因此,钒酸盐治疗可以改善糖尿病大鼠的促成骨细胞骨形成作用。然而,仅仅对观察性研究和动物模型得出的结论仍然是不够充分的。Facchini 等^[26]研究证实,钒化合物可能会增加破骨细胞的活性。因此,不能排除钒对破骨细胞作用的可能性、钒还可能直接作用于破骨细胞并促进破骨细胞的活性、加快糖尿病大鼠骨的快速重构。

总之,本实验证实高血糖状态对骨的生物力学、骨形成、骨显微结构都产生消极的影响,给予钒酸盐治疗后,可以纠正糖尿病骨代谢状态,可促进骨形成,进一步提高骨代谢率,并能改善骨显微结构。糖尿病性骨质疏松是一个复杂的骨代谢疾病,在疾病发生、发展过程中有多种因素参与,各个因素之间的相互关系以及它们在代谢过程中所起的作用还没完全了解,因此还需要在以后的工作中更加系统、深入的研究。

【参考文献】

- [1] Anonymous. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am J Med, 1993, 94

- (6):646-650.
- [2] Larson SM, Grunbaum Z, Rasey JS. The role of transferrins in gallium uptake. *Int. J Nucl Med Biol*, 1981, 8(4):257-266.
 - [3] Foster BJ, Clagett-Carr K, Hoth D, et al. Gallium nitrate: the second metal with clinical activity. *Cancer Treat Rep*, 1986, 70(11):1311-1323.
 - [4] Yunxia L. Organic gallium improves tretinoin-induced osteoporosis in rats. *J First Milit Med Univ*, 2007, 27(9):1361-1364.
 - [5] Rehder D, Costa Pessoa J, Gerales CF, et al. Invitro study of the insulin-mimetic behavior of vanadium (IV, V) coordination compounds. *J Biol Inorg Chem*, 2002, 7(4-5):384-396.
 - [6] Scior T, Guevara-García A, Bernard P, et al. Are vanadium compounds drugable? Structures and effects of antidiabetic vanadium compounds: a critical review. *Mini-Rev Med Chem*, 2005, 5(11):995-1008.
 - [7] Herrmann M, Umanskaya N, Wildemann B, et al. Stimulation of osteoblast activity by homocysteine. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(4):1205-1210.
 - [8] Herrmann M, Widmann T, Colaïanni G, et al. Increased osteoclast activity in the presence of increased homocysteine concentrations. *Clin Chem*, 2005, 51(12):2348-2353.
 - [9] Srivastava AK. Anti-diabetic and toxic effects of vanadium compounds. *Mol Cell Biochem*, 2000, 206(1):177-182.
 - [10] Tsiani E, Fantus IG. Vanadium compounds biological actions and potential as pharmacological agents. *Trends Endocrinol Metabol*, 1997, 8(2):51-58.
 - [11] Shechter Y. Insulin-mimetic effects of vanadate. Possible implications for future treatment of diabetes. *Diabetes*, 1990, 39(1):1-5.
 - [12] Verhaeghe J, van Herck E, Visser WJ, et al. Bone and mineral metabolism in BB rats with longterm diabetes. Decreased bone turnover and osteoporosis. *Diabetes*, 1990, 39(4):477-482.
 - [13] Einhorn TA, Boskey AL, Gundberg CM, et al. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes. *J Orthop Res*, 1988, 6(3):317-323.
 - [14] Bauer JS, Kohlmann S, Eckstein F, et al. Structural analysis of trabecular bone of the proximal femur using multislice computed tomography: a comparison with dual X-ray absorptiometry for predicting biomechanical strength in vitro. *Calcif Tissue Int*, 2006, 78(2):78-89.
 - [15] Link TM, Vieth V, Langenberg R, et al. Structure analysis of high resolution magnetic resonance imaging of the proximal femur: in vitro correlation with biomechanical strength and BMD. *Calcif Tissue Int*, 2003, 72(2):156-165.
 - [16] Link TM. Changes in trabecular bone structure assessed by high-resolution MRI in patients after transplantation. *Adv Exp Med Biol*, 2001, 496:31-36.
 - [17] Link T, Majumdar S, Augat P, et al. In vivo high resolution MRI of the calcaneus: differences in trabecular structure in osteoporosis patients. *J Bone Miner Res*, 1998, 13(7):1175-1182.
 - [18] Link T, Saborowski S, Kisters K, et al. Changes in calcaneal trabecular bone structure assessed with high resolution MRI in patients with kidney transplantation. *Osteoporos Int*, 2002, 13(2):119-129.
 - [19] Shyng YC, Devlin H, Sloan P. The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2001, 30(1):70-74.
 - [20] Shires R, Teitelbaum SL, Bergfeld MA, et al. The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone mineral homeostasis in the rat. *J Lab Clin Med*, 1981, 97(2):231-240.
 - [21] Bain S, Ramamurthy NS, Impeduglia T, et al. Tetracycline prevents cancellous bone loss and maintains near-normal rates of bone formation in streptozotocin diabetic rats. *Bone*, 1997, 21(2):147-153.
 - [22] Barrio DA, Braziunas MD, Etcheverry SB, et al. Maltol complexes of vanadium (IV) and (V) regulate in vitro alkaline phosphatase activity and osteoblast-like cell growth. *J Trace Elem Med Biol*, 1997, 11(2):110-115.
 - [23] Etcheverry SB, Crans DC, Keramidas AD, et al. Insulin-mimetic action of vanadium compounds on osteoblast-like cells in culture. *Arch Biochem Biophys*, 1997, 338(1):7-14.
 - [24] Thomas DM, Hards DK, Rogers SD, et al. Insulin receptor expression in bone. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(9):1312-1320.
 - [25] Cornish J, Callon KE, Reid IR. Insulin increases histomorphometric indices of bone formation in vivo. *Calcif Tissue Int*, 1996, 59(6):492-495.
 - [26] Facchini DM, Yuen VG, Battell ML, et al. The effects of vanadium treatment on bone in diabetic and non-diabetic rats. *Bone*, 2006, 38(3):368-377.

(收稿日期: 2017-01-08; 修回日期: 2017-02-06)