

· 论 著 ·

虾青素对去卵巢糖尿病大鼠骨质流失的防治作用

张丽媛^{1*} 纳青青¹ 周丽敏² 刘钰瑜²

1. 广东医科大学解剖教研室, 广东 湛江 524023

2. 广东医科大学药理教研室, 广东 湛江 524023

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 04-0508-07

摘要: **目的** 探讨虾青素能否防治去卵巢糖尿病大鼠的骨质流失以及可能的机制。**方法** 3 月龄雌性 SD 大鼠分为 3 组(每组 6 只): 对照组 CON(假手术), 模型组 OVX/T1DM(去卵巢糖尿病大鼠), 药物组 OVX/T1DM-ASX(去卵巢糖尿病大鼠, 给予虾青素 100 mg/(kg·d))。 **结果** 连续治疗 60 d 后, 与 OVX/T1DM 组相比, OVX/T1DM-ASX 组骨密度(BMD)明显升高($P < 0.01$), 血清 I 型胶原蛋白(CTX-1)、骨钙素、I 型前胶原蛋白 n 端前肽(PINP)、抗酒石酸磷酸酶 5b(TRACP 5b)水平均显著升高($P < 0.01$)。虾青素治疗能抑制去卵巢糖尿病大鼠骨组织形态学的改变, 减少骨髓脂肪细胞增加, 提高 OPG/RANKL 的比值。 **结论** 虾青素对绝经后糖尿病骨质流失有保护作用, 这种作用与调控 OPG/RANKL 轴有关。

关键词: 虾青素; 骨质疏松; 糖尿病; 骨保护蛋白; 受体活化因子; 骨转化标志物

Prevention and treatment of astaxanthin on bone loss in ovariectomized diabetic rats

ZHANG Liyuan^{1*}, NA Qingqing¹, ZHOU Limin², LIU Yuyu²

1. Department of Anatomy, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China

2. Department of Pharmacology, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023 China

* Corresponding author: ZHANG Liyuan, Email: zmdjzly@126.com

Abstract: **Objective** To investigate whether astaxanthin can prevent and treat bone loss in ovariectomized diabetic rats and its possible mechanism. **Methods** Three months old female SD rats were divided into three groups (6 rats in each group): control group CON (sham operation), model group OVX/T1DM (ovariectomized diabetic rats), and drug group OVX/T1DM-ASX (ovariectomized diabetic rats, given astaxanthin 100 mg/kg/day). **Results** After 60 days of continuous treatment, BMD of OVX/T1DM-ASX group was significantly increased ($P < 0.01$), serum levels of type I collagen (CTX-1), osteocalcin, Type I procollagen n-terminal propeptide (PINP) and tartrate phosphatase 5b (TRACP5b) were significantly increased ($P < 0.01$). Astaxanthin therapy could inhibit the morphological changes of bone tissue, reduce the increase of bone marrow fat cells, and increase the ratio of OPG/RANKL in ovariectomized diabetic rats. **Conclusion** Astaxanthin has a protective effect on postmenopausal diabetic bone loss, which is related to the regulation of OPG/RANKL axis.

Key words: Astaxanthin; osteoporosis; diabetes; OPG; RANKL; Bone turnover markers

绝经后骨质疏松症是一种与衰老有关的代谢性骨病,其特征是骨量的减少和骨微结构的改变。它会导致髋部和脊柱骨折,严重地影响老年人的生活质量^[1-2]。1 型糖尿病(T1DM)是一种胰岛素绝对不足导致的高血糖代谢性疾病。T1DM 伴有多种并发症,其中包括骨代谢紊乱^[3]。绝经后的糖尿病妇女由于雌激素和胰岛素不足导致的骨折风险急剧升

高^[4]。尽管雌激素和胰岛素在骨转换中起重要作用,但临床上使用激素替代疗法有导致乳腺癌等其他疾病增加的风险^[5]。因此,加紧研究其他治疗绝经后糖尿病性骨质流失的方法是必要的。

虾青素(astaxanthin, ASX)是一种含有酮基的类胡萝卜素,主要形成于真菌和微藻,并可富集于动物甲壳和毛发中的天然叶黄素类胡萝卜素。它具有多种药理作用,包括了抗炎、抗癌和抗氧化^[6]。研究表明虾青素对雌激素缺乏导致骨质疏松的大鼠有保护作用。对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠也有降糖作用^[7]。但是否对雌激素不足合并糖尿病导致的

基金项目: Orexin-2 受体激动剂对糖尿病性骨质疏松动物模型防治作用的研究;湛江市财政基金科技专项竞争性分配项目(2015A01030)

* 通信作者: 张丽媛, Email: zmdjzly@126.com

骨质流失有保护作用仍是未知。

切除大鼠双侧卵巢是雌激素不足引起骨质疏松症的经典动物模型,链脲佐菌素主要作用是诱导建立 T1DM。在本实验中,我们建立一个链脲佐菌素诱导去卵巢大鼠的骨质疏松模型来研究虾青素对卵巢切除联合糖尿病所致骨质疏松的保护作用以及可能的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

虾青素购置山东青岛宏宇公司,链脲佐菌素购自美国 Sigma 公司;所有其他化学药品和试剂都是标准的商用生物用途。

1.2 动物和分组治疗

健康雌性 SD 大鼠,体重(200±20)g。实验经广东医科大学实验动物管理委员会批准。

随机分为 3 组,每组 6 只大鼠,分别为 CON:对照组($n=6$);OVX/T1DM:去卵巢合并糖尿病组($n=6$);OVX/T1DM-ASX 用虾青素[100 mg/(kg·d)]治疗去卵巢糖尿病大鼠($n=6$)。OVX/T1DM、OVX/T1DM-ASX 组切除双侧卵巢,对照组大鼠切除卵巢周围一块脂肪。术后 15 d,OVX/T1DM、OVX/T1DM-ASX 接种链脲佐菌素 65 mg/kg,对照组注射同体积柠檬酸盐缓冲液。72 h 后,采集尾静脉的血样测血糖,血糖浓度大于 16.7 mmol/L 的大鼠被认为造模成功。OVX/T1DM-ASX 组大鼠造模成功后开始灌胃虾青素(100 mg/kg)60 d,其他两组大鼠给予等体积生理盐水。

1.3 检测血清中钙、磷、OPG、RANKL 和骨代谢标志物

实验结束后,称重大鼠,采用心脏穿刺法采集血液。2 000 r/min 离心 15 min。血清中的钙磷用原子吸收光谱仪(AAS-900T, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)分析。使用酶联免疫吸附法测定 ALP、CTX-1、骨钙素、PINP、TRACP5b、OPG 和 RANKL 的水平。试剂盒购自北京北方生物科技有限公司。

1.4 检测骨密度(BMD)

采用双能 X 射线吸收测定法(DXA)进行测量。

1.5 骨组织病理学及组织形态学分析

取大鼠右股骨,先用 pH 7.4 的多聚甲醛固定 24 h,再用 10 % EDTA 溶液脱钙 28 d。用苏木精和伊红染色后被纵向切割成 5 μ m 进行检查。

1.6 骨髓脂肪细胞分析

显微镜下观察股骨的苏木精、伊红染色切片,用

计算机程序(Image-Pro Plus Version 5.0)对每一组切片都进行测量,计算股骨骨髓脂肪细胞数(数量/ mm^2)及平均脂肪细胞直径(μm)。

1.7 免疫组化检测 OPG 和 RANKL

将厚度为 5 μ m 的股骨载玻片浸泡在柠檬酸缓冲液(pH 6.0)中,用 3 % BSA 阻滞,放于 14 kW 微波 15 min 用于抗原提取。OPG 和 RANKL 的主要抗体(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)以 1:200 进行稀释,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的潮湿室中孵育 1 h。免疫染色阴性对照采用兔 IgG 代替原抗体。用辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下孵育 1.5 h,然后用 DAB 底物溶液进行孵育,苏木精复染。

1.8 骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 表达的 RT-PCR 分析

按 Gibco 公司 Trizol Total Isolation Reagent 说明书进行提取总 RNA,在扩增仪上进行 RT-PCR。引物如下:OPG(635 bp):5'-TGA CTG TGA GGA AGG GCG TTAC-3';相反:5'-TTC CTC GTT CTC TCA ATC TC-3' (60 $^{\circ}\text{C}$)。RANKL (750BP):5'-ATC AGA AGA CAG CAC TCA CT-3';相反:5'-ATC TAG GAC ATC CAT GCT AAT GTT C-3' (55 $^{\circ}\text{C}$)。 β -actin(240 bp)5'-GGG CAC AGT GTG GGT GAC-3',相反 5'-CTG GCA CCA CAC CTT CTA C-3' (55 $^{\circ}\text{C}$)。反应条件如下:95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,57 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,35 次循环,最终 70 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min。所有实验至少重复 3 次。

1.9 统计学处理

数据采用均数±标准差表示。采用单因素方差分析(ANOVA)进行组间比较,采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。 $P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 体重

图 1 所示,OVX/T1DM 组大鼠体重在实验期间呈现明显的下降趋势,使用虾青素药物组大鼠的体重的下降趋势能被抑制。经过 60 d 的治疗,OVX/T1DM-ASX 的大鼠最终体重明显高于 OVX/T1DM 组大鼠($P<0.05$)。

2.2 腰椎、股骨骨密度的测定

图 2 所示,与对照组大鼠相比,OVX/T1DM 组大鼠的腰椎和股骨的 BMD 均明显降低($P<0.01$),但是 OVX/T1DM-ASX 组未观察到骨密度明显下降。此外,OVX/T1DM-ASX 组大鼠的腰椎和股骨

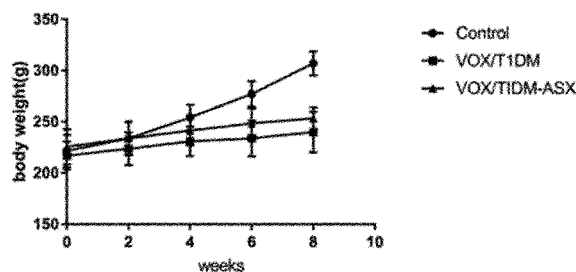


图 1 虾青素对各实验组(A)体重的影响

Fig.1 Effects of Astaxanthin (ASX) on body weight in each experimental group

BMD 与对照组相比差异并无统计学意义,提示虾青素的治疗对 BMD 有保护作用。

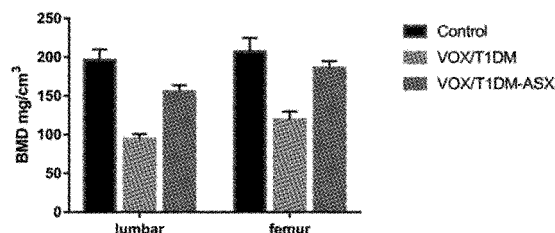


图 2 虾青素对各实验组骨密度(BMD)的影响

Fig.2 Effects of Astaxanthin on bone mineral density (BMD) in each experimental group

2.3 血清中血糖、钙、磷、OPG、RANKL、骨代谢标志物

如表 1 所示,OVX/T1DM 组大鼠的血糖相比对照组和 OVX/T1DM-ASX 组大鼠明显升高。在 OVX/T1DM 组中,ALP、CTX-1、骨钙素、TRACP 5b、PINP 和 RANKL 显著升高 ($P < 0.01$)。血清 Ca、P、OPG 和 OPG/RANKL 比值 OVX/T1DM 组相对于 OVX/T1DM-ASX 组明显降低 ($P < 0.01$)。

2.4 股骨的组织形态学分析

如图 3 所示,与对照组相比,观察到 OVX/T1DM 组股骨小梁断裂,骨小梁间距增大。OVX/T1DM 组皮质厚度也较对照组下降。在 OVX/T1DM-ASX 组

中股骨的组织形态学结构无明显变化。

表 1 各实验组的血糖及骨代谢指标 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 The Serum glucose and serum bone turnover markers in each experimental group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

项目	对照组	OVX/T1DM	OVX/T1DM-ASX
Ca/(mg/dL)	9.04±0.87	5.53±0.55	8.31±0.69 ^a
P/(mg/dL)	6.17±0.62	3.71±0.20	5.51±0.41
CTX-1/(ng/mL)	22.11±0.89	100.51±7.02	30.82±2.89
ALP/(U/dL)	102.07±8.55	191.60±20.05	118.71±14.96
Osteocalcin/(ng/mL)	20.40±2.04	37.38±3.38	29.23±1.66
TRACP5b/(U/L)	1.74±0.75	3.21±0.27	1.98±0.11
PINP/(μg/L)	41.71±3.21	51.83±4.13	43.18±4.18
OPG/(ng/mL)	6.75±0.45	2.56±0.33	5.92±0.15
RANKL/(ng/mL)	1.86±0.97	4.57±0.35	2.01±0.74
OPG/RANKL ratio	3.44±0.42	0.56±0.07	2.95±0.10

骨组织形态学参数如骨体积百分比 (BV/TV)、骨小梁厚度 (Tb.Th)、骨小梁分离 (Tb.Sp)、皮质厚度 (CT) 在 OVX/T1DM 大鼠应用虾青素治疗 60 d 后,对比模型组无明显变化。

2.5 股骨骨髓脂肪细胞密度和骨髓脂肪细胞直径

组织学切片显示,OVX/T1DM 组股骨骨髓脂肪细胞数量和脂肪细胞直径较对照组增加,OVX/T1DM-ASX 组股骨骨髓脂肪细胞数量和脂肪细胞直径恢复。与对照组相比,OVX/T1DM 组骨髓脂肪细胞密度和平均脂肪细胞直径显著增加 ($P < 0.01$),且所有这些参数在虾青素治疗 60 d 的 OVX/T1DM 大鼠中均有所改善。

2.6 骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 表达及骨组织中 OPG/RANKL mRNA 比值

图 6 所示,在 OVX/T1DM 中,OPG mRNA 降低, RANKL mRNA 上调,OPG/RANKL mRNA 比值与对照组比较降低有统计学意义 ($P < 0.01$),虾青素治疗 60 d (OVX/T1DM-ASX 组)后 OPG/RANKL 比值恢复到对照组水平。

2.7 各组大鼠骨组织中 OPG、RANKL 蛋白表达情况

免疫组织化学染色显示,与对照组相比,OVX/

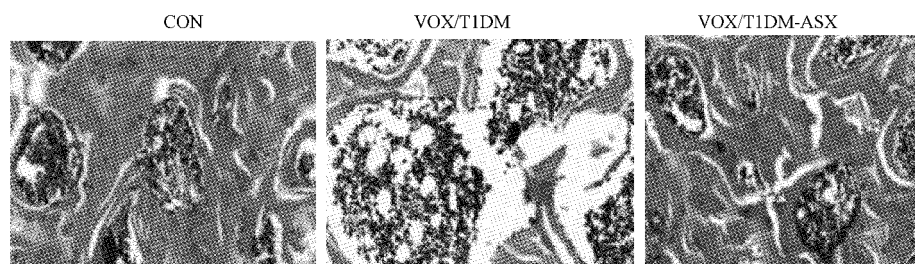
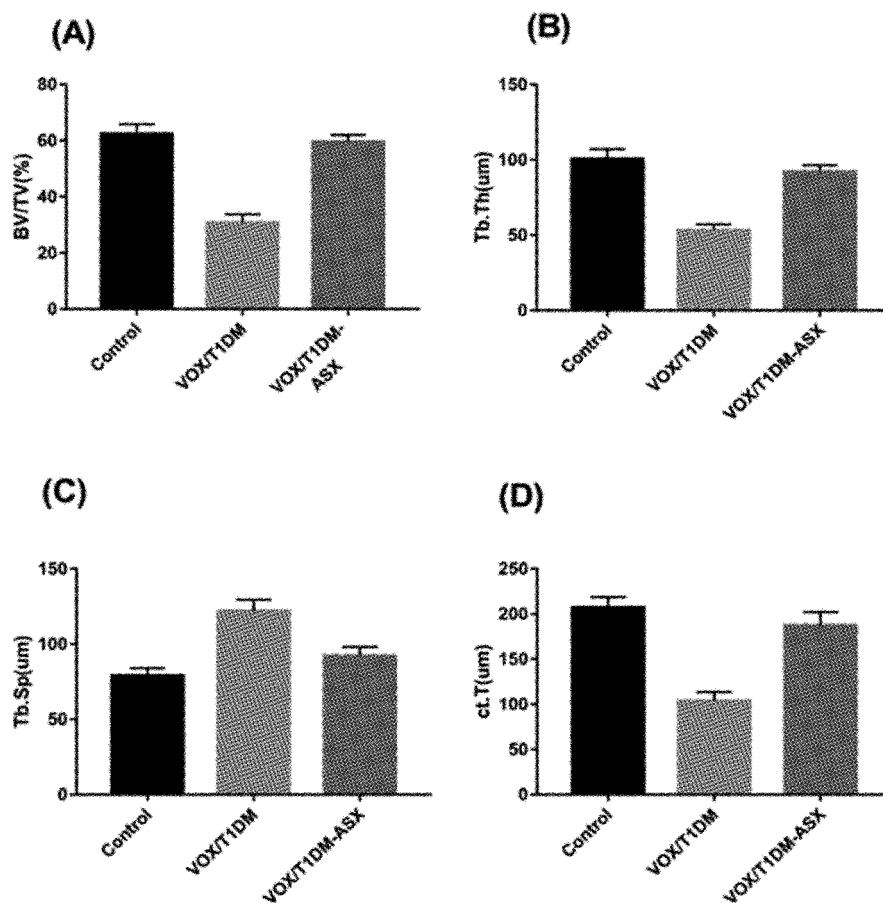


图 3 各实验大鼠骨形态学观察

Fig.3 Observation of bone morphology in each experimental rats



注:A 骨体积百分比;B 骨小梁厚度;C 骨小梁分离度;D 皮质骨厚度。

图 4 所有实验组的骨组织形态学参数

Fig.4 Bone histomorphometric parameters in all experimental groups

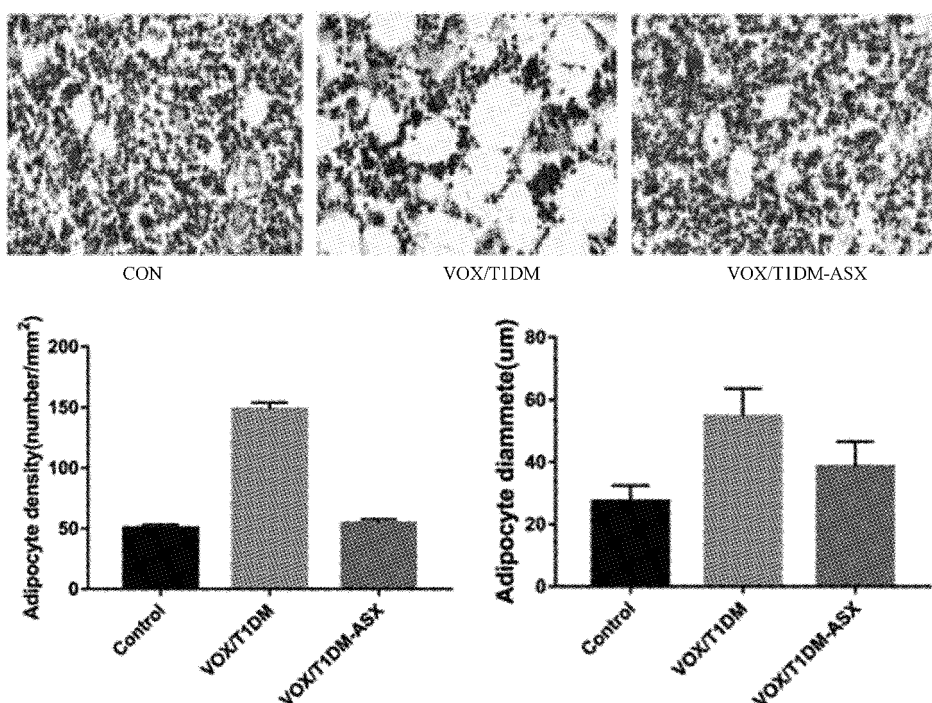


图 5 所有实验组骨髓脂肪细胞参数

Fig.5 Bone marrow adipocyte parameters in all experimental groups

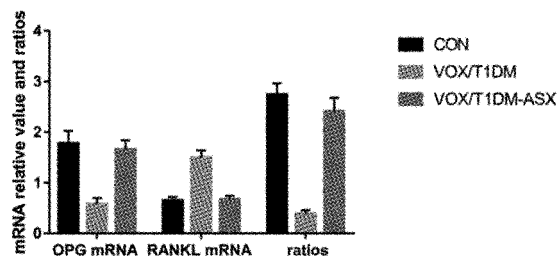


图6 所有实验组骨组织中 OPG 和 RANKL mRNA 表达的情况

Fig.6 The expression of OPG and RANKL mRNA in bone tissue, and OPG/RANKL mRNA ratio in bone tissues of all experimental groups

T1DM 组 OPG 蛋白表达量降低, RANKL 表达增加。虾青素补充有效增加了 OPG 的表达, 降低了 RANKL 的表达 (图 7、8), 如图 8 所示 OPG 阳性染色区与 RANKL 阳性染色区百分比 (%), OVX/T1DM-

ASX 和对照组相比差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

雌激素缺乏和高血糖都能影响骨转换^[8-9]。在绝经后糖尿病患者体内, 这两种因素同时发生, 会导致骨转换速度加快, 同时发生累加性的骨量丢失。羟酮结构的虾青素, 是从深海藻体、海洋动物中提取的胡萝卜素, 具有很高的医学价值。虾青素及其提取物在欧美、日本、东南亚等发达国家已经得到广泛应用, 并且迄今为止未见报道其不良影响, 包括对母体或胚胎的毒性和致畸效应^[10], 药用价值具有非常广阔的开发前景。研究表明, 虾青素能降低链脲佐菌素诱导血糖水平升高和改善雌激素不足引起的骨量丢失^[11-12]。然而, 还没有证据表明虾青素补充对合并雌激素和胰岛素不足导致的骨质流失是有益的。

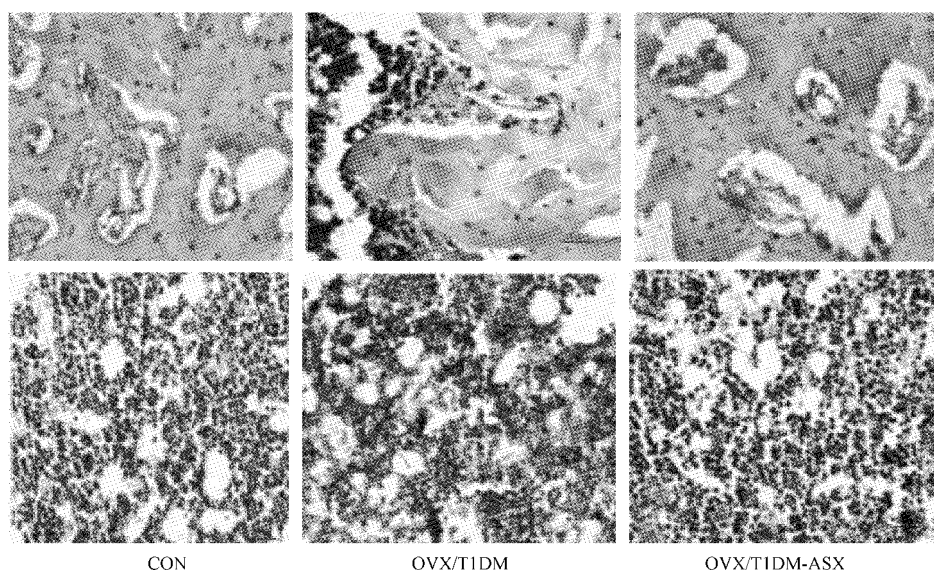


图7 各实验组 OPG 和 RANKL 骨组织中 OPG、RANKL 蛋白表达情况

Fig.7 The expression of OPG and RANKL protein in the femoral bone tissues of each group

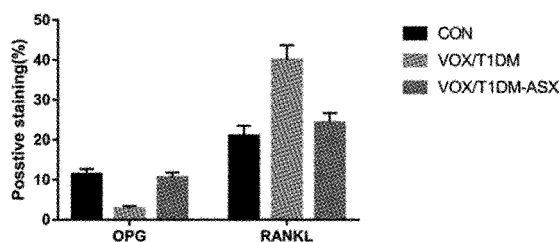


图8 各实验组股骨组织 OPG 和 RANKL 阳性染色面积百分比

Fig.8 Percentage (%) of the positive staining area of OPG and RANKL in the femoral bone tissues of each group

在本研究中, 我们建立了去卵巢糖尿病性骨质疏松的大鼠模型。在切除卵巢的糖尿病大鼠中我们观察到骨组织形态学的改变、骨密度下降、骨转换加快, 提示实验动物造模的有效性。虾青素治疗 60 d 后, 骨密度、血清骨转换标记物、骨微结构均有改善, 实验结果表明, 虾青素能成为改善绝经后糖尿病患者骨质流失的有开发前景的药物。

骨转生物标志物 (bone turnover biomarkers, BTMs) 能够反映骨形成和骨吸收的情况, 并提供骨重塑的状态^[13]。BTMs 包括骨形成和吸收标志物。

骨形成生物标志物是由成骨细胞合成的,因此可以反映了特定的成骨细胞功能,包括 ALP、骨钙素和 PINP^[14]。在本研究中,骨形成生物标志物(ALP、osteocalcin、PINP)在 OVX/T1DM 大鼠血清中比对照组增加了,可能是由于活跃的成骨细胞试图弥补由于雌激素和胰岛素消耗而造成的骨质流失。骨吸收标志物包括 CTX-I 和 TRACP 5b,这两者水平的升高与女性骨密度呈负相关^[15]。在本研究中,去卵巢糖尿病组大鼠体内两种骨形成标志物(ALP、osteocalcin、PINP)和骨吸收标志物(CTX-I、tracp5b)标志物均增加,表明骨转化速度加快;在 OVX/T1DM-ASX 组中,这些 BTMs 数据都比 OVX/T1DM 组大鼠的数据有了明显的改善。综上所述,本研究获得的数据表明虾青素能通过抑制骨转换的增加,改善了结合雌激素缺乏和糖尿病引起的骨质量下降。

以往的研究表明,骨髓脂肪细胞数量是一种替代指标,可以估计骨质疏松症的严重程度^[16]。更多的骨髓脂肪细胞与骨骼脆性的增加^[17]是密切相关的。在本研究中,我们发现去卵巢糖尿病大鼠骨髓脂肪细胞增多,平均脂肪细胞直径(μm)增加。这种改变没有出现在 OVX/T1DM-ASX 组。成骨细胞和脂肪细胞在骨髓^[18]中有共同的起源,OVX/T1DM 大鼠体内 BMD 的降低可能是由于骨髓间充质干细胞优先分化为脂肪细胞(而不是成骨细胞)。虾青素治疗可逆转 OVX/T1DM 大鼠骨髓的脂肪生成,成骨细胞增多,这有助于降低骨质流失。

越来越多的研究^[19]表明 OPG/RANKL 轴在骨重建中发挥重要的作用。低比例的 OPG/RANKL 标志着骨吸收过程的增加。绝经后,雌激素缺乏会使骨微环境中 RANKL 水平增加,而卵泡促激素(FSH)增加会导致 T 细胞活化增强,活化的 T 细胞促进 RANKL 诱导的破骨细胞的激活和骨流失的增加。实验证明,去势大鼠雌激素水平降低,OPG 基因表达减少,RANKL 基因表达增加,破骨细胞数量增加,骨密度减少^[20]。因此,OPG/RANKL 的比值对于保持绝经后糖尿病病人的骨量是非常重要的。在本研究中,虾青素治疗 60 d 后,与 OVX/T1DM 大鼠相比,用药组大鼠血清 OPG 升高、RANKL 降低。骨组织中 OPG 和 RANKL 的 mRNA 和蛋白表达与血清中有相似的变化规律。这些结果表明虾青素可以预防卵巢切除和糖尿病上调 OPG/RANKL 比值诱导骨量丢失。我们的研究支持虾青素的骨保护作用,并为虾青素在预防绝经后糖尿病妇女骨质流失

方面的潜在治疗用途提供了初步证据。

【参 考 文 献】

- [1] Black DM, Rosen CJ. Clinical practice postmenopausal osteoporosis[J]. N Engl J Med, 2016,374,254-262.
- [2] Diab DL, Watts NB. Postmenopausal osteoporosis[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2013,20,501-509.
- [3] Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and bone disease. Endocrinol [J]. Metab Clin N Am, 2017,46,63-85.
- [4] JBijelic R, Milicevic S, Balaban J. Risk factors for osteoporosis in postmenopausal women[J]. Med Arch, 2017,71,25-28.
- [5] Fuhrman BJ, Schairer C, Gail MH. Estrogen metabolism and risk of breast cancer in postmenopausal women[J]. J Natl Cancer Inst, 2012,104,326-339.
- [6] Visioli F, Artaria C. Astaxanthin in cardiovascular health and disease: mechanisms of action, therapeutic merits, and knowledge gaps[J]. Food Funct, 2017, 25,39-63.
- [7] Hwang YH, Kim KJ, Kim SJ, et al. Suppression effect of astaxanthin on osteoclast formation in vitro and bone loss in vivo [J]. Int J Mol Sci,2018,19:912.
- [8] Qi S, He J, Han H, et al. Anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L.Japonica) ameliorates diabetic osteoporosis in rats[J]. Food Funct, 2019,8:1039.
- [9] Khan TS, Fraser LA. Type 1 diabetes and osteoporosis: From molecular pathways to bone phenotype[J]. J Osteoporos,2015, 2015,174186.
- [10] Ambati RR, Phang SM, Ravi S, et al. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications-a review[J]. Mar Drugs, 2014,12,128-152.
- [11] El-Baz FK, Saleh DO, Abdel Jaleel CA, et al. Hematococcus pluvialis ameliorates bone loss in experimentally-induced osteoporosis in rats via the regulation of OPG/RANKL pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2019,116:109017.
- [12] Zhou XY, Zhang F, Hu XT, et al. Depression can be prevented by astaxanthin through inhibition of hippocampal inflammation in diabetic mice[J]. Brain Res,2017,1657:262-268.
- [13] Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone turnover markers in the diagnosis and monitoring of metabolic bone disease [J]. Clin Chem,2017,63:464-474.
- [14] Chiang C. The use of bone turnover markers in chronic kidney disease-mineral and bone disorders[J]. Nephrology,2017, suppl 2:11-13.
- [15] Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, et al. Use of CTX-1 and PINP as bone turnover markers: National bone health alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability [J]. Osteoporos Int,2017,28:2541-2556.
- [16] Hepler C, Vishvanath L, Gupta RK. Sorting out adipocyte precursors and their role in physiology and disease [J]. Genes Dev,2017,31:27-140.

(下转第 525 页)

- [11] 宋敏,刘涛,巩彦龙,等. 基于中医传承辅助平台系统的骨质疏松症组方用药规律分析[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(4):519-523.
- [12] 万亚宁,李双菁,蒋云霞,等. 淫羊藿及其复方制剂治疗糖皮质激素性骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(5):713-716.
- [13] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform,2014,6:13.
- [14] Rebhan M, Chalifa-Caspi V, Prilusky J, et al. GeneCards: integrating information about genes, proteins and diseases[J]. Trends Genet,1997,13(4):163.
- [15] Js A, A H. Searching online mendelian inheritance in man (OMIM): a knowledgebase of human genes and genetic phenotypes [J]. Curr Protoc Bioinformatics, 2017, 58: 1.2.1-1.2.12.
- [16] 李建国,谢兴文,李鼎鹏,等. 淫羊藿提取物淫羊藿甙在细胞水平防治骨质疏松症的研究概况[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(1):132-135.
- [17] 吴海洋,索欢,王平. 绝经后骨质疏松症的临床中药治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(2):241-244.
- [18] 胡元一,张启栋,王卫国. 淫羊藿甙在激素性股骨头坏死中的应用[J]. 中日友好医院学报,2018,32(2):115-117.
- [19] 文斌,张金娟,陈雪梅,等. 淫羊藿甙对骨质疏松模型小鼠骨组织中 IL-6 表达的影响[J]. 贵州医药,2010,34(9):781-783.
- [20] 谢兴文,李建国,黄晋,等. 血管内皮生长因子防治骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(7):1030-1033.
- [21] 游利. miR-378 对高糖作用下成骨细胞分化的调控作用及机制探讨[D]. 上海:上海交通大学,2015.
- [22] Chen GH, Le Zhang X, Chen H, et al. miR-22 represses osteoblast viability with ESR1 presenting a direct target and indirectly inactivating p38 MAPK/JNK signaling [J]. J Gene Med,2020,22(6):e3174.
- [23] Windahl SH, Börjesson AE, Farman HH, et al. Estrogen receptor- α in osteocytes is important for trabecular bone formation in male mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2013,110(6):2294-2299.
- [24] Kato S, Kawase M, Kato D, et al. Decrease of bone mineral density in Japanese patients with non-metastatic prostate cancer treated with androgen deprivation therapy [J]. J Bone Miner Metab,2019,37(1):72-80.
- [25] Sato AY, Gregor M, Mcandrews K, et al. Glucocorticoid-induced bone fragility is prevented in female mice by blocking Pyk2/anoikis signaling[J]. Endocrinology,2019,60(7):1659-1673.
- [26] 许赫,刘长山,窦建新. 骨保护素与动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2017,25(9):968-972.
- [27] 张萌萌,张秀珍,邓伟民,等. 骨代谢生化指标临床应用专家共识(2020)[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(6):781-796.
- [28] 王寓平. AGEs/RAGE 通过 MAPK 信号通路促进大鼠内皮祖细胞向成骨细胞分化[D]. 泸州:西南医科大学,2017.
- [29] 王三杏,谢雍,董矜,等. 成人骨密度与慢性炎症的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2016,23(7):717-721.

(收稿日期: 2020-05-27;修回日期: 2020-06-16)

(上接第 513 页)

- [17] Paccou J, Hardouin P, Cotton A, et al. The role of bone marrow fat in skeletal health: Usefulness and perspectives for clinicians [J]. J Clin Endocrinol Metab,2015,100:3613-3621.
- [18] Cornish JL, Wang T, Lin JM. Role of marrow adipocytes in regulation of energy metabolism and bone homeostasis[J]. Curr Osteoporos Rep,2018,16:116-122.
- [19] Wolski H, Drews K, Bogacz A, et al. The RANKL/RANK/OPG signal trail: Significance of genetic polymorphisms in the etiology of postmenopausal osteoporosis[J]. Ginekol Pol,2016,87(5):347-352.
- [20] Chen C, Zheng H, Qi S. Genistein and silicon synergistically protects against ovariectomy-induced bone loss through upregulating OPG/RANKL ratio[J]. Biol Trace Elem Res,2019,188(2):441-450.

(收稿日期: 2020-04-19;修回日期: 2020-07-01)