

辛伐他汀对幼鼠骨发育及骨髓基质干细胞成骨分化的影响*★

刘晓宁, 张柳, 田发明, 张辉, 韩大成, 牛军强, 张磊

Effect of simvastatin on bone formation and osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells in young rats

Liu Xiao-ning, Zhang Liu, Tian Fa-ming, Zhang Hui, Han Da-cheng, Niu Jun-qiang, Zhang Lei

Affiliated Hospital,
North China Coal
Medical University,
Tangshan 063000,
Hebei Province,
China

Liu Xiao-ning★,
Master, Physician,
Affiliated Hospital,
North China Coal
Medical University,
Tangshan 063000,
Hebei Province,
China
Tfm9911316@
163.com

Correspondence to:
Zhang Liu, Doctor,
Chief physician,
Professor, Doctoral
supervisor, Affiliated
Hospital, North China
Coal Medical
University,
Tangshan 063000,
Hebei Province,
China
zhliu130@sohu.com

Supported by: the
Natural Science
Foundation of Hebei
Province, No.
C2006000580*

Received: 2009-08-31
Accepted: 2009-10-12

Abstract

BACKGROUND: Recently simvastatin has been shown to stimulate osteogenic differentiation and bone formation, but there is no report about the effect of simvastatin on the bone development of young rats.

OBJECTIVE: To evaluate the effects of simvastatin on osteogenic relative genes of proximal tibia trabecular bone and osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells (BMSCs).

METHODS: Twenty 1-week-old Sprague-Dawley young rats were randomly and equally divided into simvastatin and control groups. Rats in the simvastatin group were treated with a subcutaneous injection of simvastatin [5 mg/(kg·d)] for 2 weeks, while rats in the control group were treated with placebo for 2 weeks. The expressions of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), matrix metalloproteinase-13 (MMP-13), and vascular endothelial growth factor (VEGF) of trabecular bone in the tibia were analyzed by immunohistochemical staining. BMSCs harvested from the rat femur were osteogenic-differentiation cultured. Alkaline phosphatase (ALP) staining was performed on day 14, real-time PCR analysis was applied to investigate the BMP2, RUNX2, Osterix, MSX2, DLX3, DLX5 mRNA expressions during osteogenic differentiation in vitro on day 21, and von Kossa staining was detected on day 28.

RESULTS AND CONCLUSION: ① There was no significant difference in the expressions of BMP-2, MMP-13, and VEGF between simvastatin and control groups. ② The percentages of ALP positive-stained cells were about 30% and there was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). ③ There was no significant difference in the expressions of BMP-2, RUNX2, Osterix, MSX2, DLX3, DLX5 mRNA in osteogenic differentiation-induced BMSCs. ④ von Kossa staining demonstrated that dark brown calcified spots in various sizes were observed, but there was no significant difference in size and density between simvastatin and control groups. A subcutaneous injection of simvastatin [5 mg/(kg·d)] for 2 weeks could not remarkably affect osteogenic relative genes of bone trabecula and osteogenic differentiation of BMSCs.

Liu XN, Zhang L, Tian FM, Zhang H, Han DC, Niu JQ, Zhang L. Effect of simvastatin on bone formation and osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells in young rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(7):1152-1156. [<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

摘要

背景: 辛伐他汀作为常用降脂类药物, 表现出一定的促成骨分化和骨形成作用, 但目前的研究结果尚有争论, 尤其对幼鼠骨发育的影响并无报道。

目的: 课题创新性设计观察辛伐他汀对幼鼠骨小梁骨形成相关因子表达以及骨髓基质干细胞成骨分化的影响。

方法: 1周龄雄性SD大鼠20只, 随机分为实验组和对照组, 每组10只。实验组皮下注射辛伐他汀[5 mg/(kg·d)]2周, 对照组给与安慰剂2周。采用免疫组织化学方法检测胫骨上端骨小梁成骨相关因子骨形态发生蛋白2、基质金属蛋白酶13、血管内皮生长因子等因子的表达情况; 取双侧股骨骨髓基质干细胞向成骨方向诱导培养。培养14 d分别进行碱性磷酸酶染色, 21 d采用Real-time PCR法检测骨形态发生蛋白2、RUNX2、Osterix、MSX2、DLX3、DLX5等成骨过程中相关因子mRNA的表达, 28 d进行von Kossa染色。

结果与结论: ①实验组和对照组胫骨上端骨小梁骨形态发生蛋白2、基质金属蛋白酶13、血管内皮生长因子等因子的表达差异无显著性意义。②两组碱性磷酸酶染色阳性细胞(胞浆蓝黑色)比例均在30%左右, 差异无显著性意义($P > 0.05$)。③骨髓基质干细胞向成骨细胞诱导分化过程中相关因子骨形态发生蛋白2、RUNX2、Osterix、DLX3、DLX5、MSX2 mRNA表达水平差异无显著性意义。④von Kossa染色可见大小不等染为棕黑色的钙化点, 其大小和密度两组比较差异无显著性意义。结果表明, 皮下注射辛伐他汀[5 mg/(kg·d)]2周不能显著影响幼鼠骨小梁骨形成相关因子表达以及骨髓基质干细胞成骨分化。

关键词: 辛伐他汀; 骨形成; 骨髓基质干细胞; 成骨分化; 骨组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.07.003

刘晓宁, 张柳, 田发明, 张辉, 韩大成, 牛军强, 张磊. 辛伐他汀对幼鼠骨发育及骨髓基质干细胞成骨分化的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(7):1152-1156. [<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

0 引言

骨发育过程中有多种细胞因子参与。骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)在骨骼的发育、修复中有重要的作用,能促进骨髓基质干细胞(BMSCs)向成骨细胞分化,从而促进骨形成。基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)家族的成员可以降解细胞外基质参与骨的发育过程。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可以通过自分泌旁分泌途径促进骨形成。RUNX2、Osterix、DLX3、DLX5、MSX2是基质干细胞向成骨分化过程中的重要因子,这些因子表达异常会导致骨发育异常。1999年, Mundy等^[1]从3万多种化合物中筛选发现包括辛伐他汀在内的他汀类药物可以增强BMP-2启动子活性,具有较强的促进骨形成的作用,研究同时发现小鼠头盖骨局部皮下注射辛伐他汀使新骨形成量增加50%。随后辛伐他汀作为潜在的促骨形成药物成为骨组织工程学研究热点^[1-6]。实验给予SD幼鼠颈部皮下注射辛伐他汀,检测辛伐他汀对幼鼠骨小梁骨形成相关因子表达以及骨髓基质干细胞成骨分化的影响。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2007-03/2008-12在华北煤炭医学院骨科实验室完成。

材料: 清洁级1周龄雄性SD大鼠20只(北京维通利华实验动物养殖中心提供,孕14 d SD鼠,7 d后幼鼠出生,母鼠喂养。动物合格证号SCXK(京)2007-0001号),体质量17.5~19.5 g。

实验过程中对动物处置符合2006年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[7]。

主要试剂及仪器:

主要试剂及仪器	来源
辛伐他汀	Merck, 美国
超净工作台	Bioare, 意大利
组织总 RNA 提取 Kit	intrigen, 美国
反转录 Kit	上海生物工程公司
荧光定量 PCR 试剂盒	TOYOBO
荧光定量 PCR 扩增仪	Corbett Research, 澳大利亚
BMP-2、MMP-13、VEGF 多克隆抗体	博士德公司
PV6001 免疫组织化学试剂盒	中杉金桥公司

实验方法:

实验模型的建立: 20只1周龄雄性SD大鼠随机分为实验组、对照周组2组,每组10只。两组体质量经t检验差别无显著性意义。动物用体积分数为10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔麻醉,建立动物模型。

各组处理: 实验组:大鼠皮下注射辛伐他汀(simvastatin、DMSO、PBS)[5 mg/(kg·d)],分3次给药,连续2周)。对照组:给与空白对照液(PBS、DMSO混合液,3次/d,连续2周)。

标本处理: 所有实验动物于最后一次注射药物或PBS的第2天脱颈处死,取胫骨常规脱钙石蜡包埋,行BMP-2、MMP-13、VEGF免疫组织化学染色。

成骨方向诱导培养指标检测: 取双侧股骨BMSCs向成骨方向诱导培养,在细胞培养14 d分别进行碱性磷酸酶染色;21 d采用Real-time PCR法检测BMP2、RUNX2、Osterix、MSX2、DLX3、DLX5等成骨过程中相关基因mRNA的表达;28 d进行von Kossa染色。

免疫组织化学染色: 将组织蜡块沿骨纵轴连续切片,厚4 μm,按pv6001免疫组织化学试剂盒操作说明将切片经脱蜡入水后,加入BMP-2、MMP-13、VEGF多克隆抗体和其他试剂进行实验。

免疫组织化学染色图像分析: 标本切片至于光镜下输入并显示图像,在同一光强度下检测,每个切片随机选取4个视野,以BMP-2、MMP-13、VEGF表达的平均吸光度值做统计分析。

RNA提取和反转录反应: 骨髓基质干细胞在体外诱导培养21 d后,提取培养瓶中细胞的总RNA,以1 mL/10⁷个细胞加Trizol于培养瓶中,然后按Trizol法的操作规程提取总RNA。取总RNA 11 μL加入反转录反应体系70 °C 10 min,反应成cDNA产物。

引物由上海生工生物有限公司合成:

基因	引物
BMP-2-F	5' -AAGGCACCCTTTGTAGTGTGTGG-3' ;
BMP2-R	5' -CATGCCTTAGGGATTTTGA-3' ;
MSX2-F	5' -TCACCACGTCCAGCTTCTAG-3' ;
MSX2-R	5' -AGCTTTTCCAGTCCGCCTCC-3' ;
RUNX2-F	5' -GCGTCAACACCATCATTCTG-3' ;
RUNX2-R	5' -CAGACCAGCAGCACTCCATC-3' ;
Osterix-F	5' -ACTCGGGACTCGGTTGTAGG-3 ;
Osterix-R	5' -TGGGTGCGCTGATGTTTGTCT-3' ;
DLX3-F	5' -AAGTTCGTAAACCCAGGAC-3' ;
DLX3-R	5' -GGTGGGAATTGATTGAGCT-3' ;
DLX5-F	5' -GCGCTCAACCCATACCAG-3' ;
DLX5-R	5' -ACTCGGGACTCGGTTGTAGG-3 ;
GAPDH-F	5' -GAGTCAACGGATTTGGACGT-3' ;
GAPDH-R	5' -GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3' .

华北煤炭医学院附属医院,河北省唐山市 063000

刘晓宁★, 男, 1983年生, 河北省武安市人, 汉族, 2009年华北煤炭医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事骨质疏松与骨组织工程学研究。Tfm9911316@163.com

通讯作者: 张柳, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 华北煤炭医学院附属医院, 河北省唐山市 063000 zhlou130@sohu.com

中图分类号:R318
文献标识码:A
文章编号:1673-8225
(2010)07-01152-05

收稿日期:2009-08-31
修回日期:2009-10-12
(20090531002W·H)

实时荧光定量聚合酶链反应:

聚合酶链反应体系: 总体积25 μ L, 包括: Real time PCR MasterMix 12.5 μ L, 引物(10 μ mol/L)各1 μ L, cDNA模板2.5 μ L, 去DEPC水8 μ L。

聚合酶链反应条件: 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 50个循环。

聚合酶链反应产物定量分析的校正: $\Delta\Delta$ Ct法相对定量分析计算方法: Δ Ct=Ct(gene)-Ct(GAPDH); $\Delta\Delta$ Ct=(Ct_{目的基因}-Ct_{管家基因})_{实验组}-(Ct_{目的基因}-Ct_{管家基因})_{对照组}。

各检测基因与内参基因GAPDH作比后与标准组的检测基因与内参基因GAPDH, 以比值作统计学处理。

主要观察指标: ①实验组和对照组胫骨上端骨小梁BMP-2、MMP-13、VEGF等因子的表达。②BMSCs向成骨细胞诱导分化过程中实验组和对照组碱性磷酸酶染色。③BMSCs向成骨细胞诱导分化过程中相关因子BMP-2、RUNX2、Osterix、DLX3、DLX5、MSX2 mRNA表达水平。④BMSCs向成骨细胞诱导分化过程中von Kossa 染色。

设计、实施、评估者: 设计为通讯作者和第一作者, 全体作者负责实施和评估。

统计学分析: 实验数据建立EXCEL数据库, 资料用t 检验来处理。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选择大鼠20只, 分为2组, 全部进入结果分析。

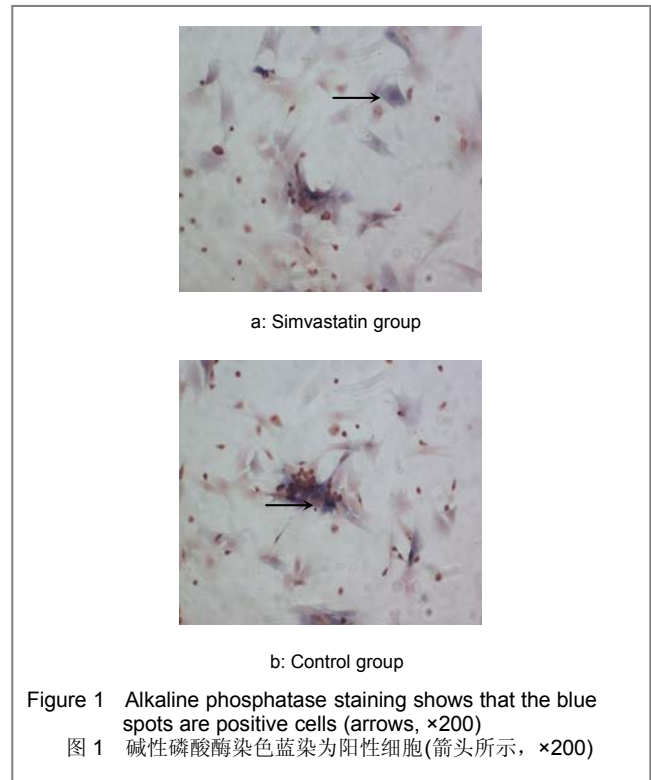
2.2 免疫组织化学染色结果 见表1。

Item	Simvastatin group	Control group
BMP-2	2 128.990 \pm 226.479	2 142.489 \pm 109.507
MMP-13	1 329.444 \pm 113.783	1 385.673 \pm 129.402
VEGF	1 861.276 \pm 184.093	1 798.786 \pm 185.736

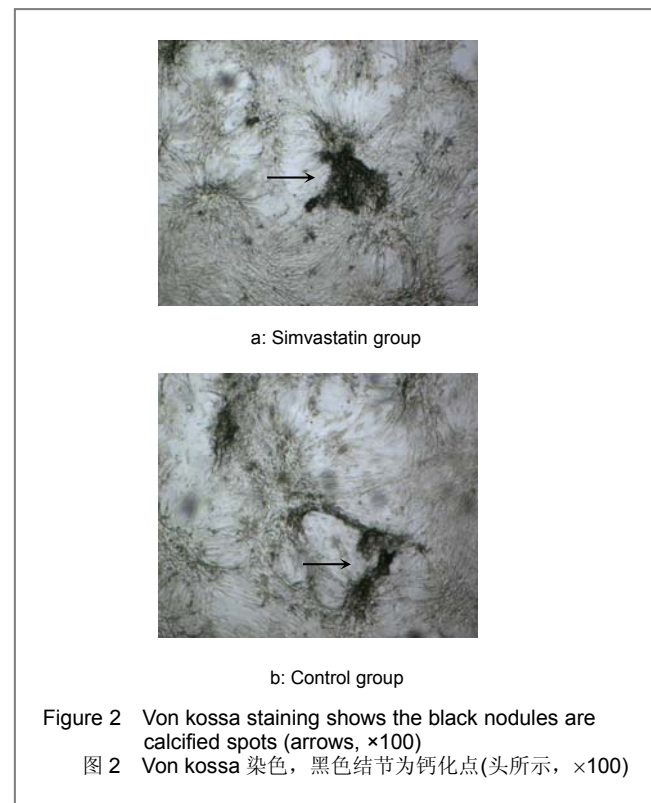
BMP-2: bone morphogenetic protein-2; MMP-13: matrix metalloproteinase-13; VEGF: vascular endothelial growth factor

表1可见, BMP-2、MMP-13、VEGF等因子的表达实验组与对照组间差异无显著性意义($P > 0.05$)。

2.3 碱性磷酸酶染色结果 细胞培养第14天, 实验组碱性磷酸酶(0.30 \pm 0.13)%, 对照组(0.28 \pm 0.15)%, 染色阳性细胞(胞浆蓝黑色)比例均在30%左右, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 见图1。



2.4 von Kossa 染色 成骨组细胞培养至28 d, 经von Kossa 染色可见大小不等染为棕黑色的钙化点, 其大小和密度组间差异无显著性意义, 见图2。



2.5 Real time 反转录-聚合酶链反应结果 BMP2、RUNX2、Osterix、MSX2、DLX3、DLX5 mRNA表达水平实验组与对照组间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见

表2。

Item	Simvastatin group	Control group
BMP-2	0.990±0.021	1.020±0.020
RUNX2	1.000±0.019	1.020±0.035
Osterix	1.000±0.010	1.010±0.017
MSX2	1.000±0.019	1.020±0.020
DLX3	0.990±0.021	0.990±0.010
DLX5	1.010±0.019	1.020±0.020

BMP-2: bone morphogenetic protein-2

3 讨论

自Mundy^[1]发现辛伐他汀具有促骨形成的作用以来,在体外细胞实验研究中^[1-3],基本肯定了辛伐他汀的成骨潜能。目前在体内研究中^[4,8-12],发现辛伐他汀局部注射、包埋或者加入填充物中,可以有效促进骨形成、加速骨折愈合、加速骨缺损修复。但是对口服辛伐他汀是否具有促骨形成作用尚有争议。Oxlund等^[13]以较高剂量(20 mg/kg, 2次/d)辛伐他汀干扰去卵巢大鼠3个月,通过检测骨生物力学、骨组织形态学及骨密度等指标发现辛伐他汀在促进大鼠骨形成增加密质骨骨密度的同时,抑制松质骨骨量的丢失。Edwards等^[14]发现在他汀类药物作用下实验组的骨密度和对照组相比有了显著的提高。Wilkie等^[15]的研究发现较小剂量[10 mg/(kg·d)]的西立伐他汀即可提高去卵巢大鼠密质骨的强度,且显著提高骨密度、骨形成率及骨钙素的水平。然而另有研究采取口服给药方式发现辛伐他汀不能阻止OVX大鼠的骨质疏松^[16-17]。Yao等^[16]在对大鼠行去卵巢术60 d后给予不同剂量辛伐他汀[0, 1, 3, 10 mg/(kg·d)]干扰60 d后发现辛伐他汀不能阻止去卵巢大鼠松质骨骨量的丢失,同时也不能促进松质骨和密质骨的骨形成。Maritz等^[18]的实验细致地分析了口服12周3种他汀类药物及不同剂量的辛伐他汀对正常和去卵巢大鼠骨密度及骨量的影响,结果发现他汀类药物降低鼠的骨密度,高剂量[20 mg/(kg·d)]的辛伐他汀同时刺激骨形成和骨吸收,而在去卵巢大鼠无类似发现,辛伐他汀对骨转换和骨代谢确实有刺激作用,但不能阻止去卵巢大鼠骨量的丢失。Anbinder的研究中也未证实辛伐他汀可以加速修复胫骨骨缺损^[19]。Hsia等^[20]在临床研究中也未发现辛伐他汀对骨代谢具有有益的作用^[21]。Sukiyama等^[22]皮下注射辛伐他汀未发现可以促进rBMP诱导的异位骨形成。作者在实验中也未发现皮下注射辛伐他汀5 mg/kg可以促进骨形成,幼鼠胫骨上端成骨相关因子BMP-2、MMP-13、VEGF的表达并未改变。

BMP-2是转化生长因子(TGF- β)超家族中BMPs的一员,能促进基质干细胞向成骨细胞分化,Mundy等^[1]研究发现辛伐他汀可以促进成骨细胞BMP-2的表达促进骨形成。MMP-13可导致OVX大鼠的骨量丢失,与骨小梁数目、骨小梁体积占全部骨组织体积比负相关^[23]。Stein等^[24]发现下颚局部应用辛伐他汀包埋物促进骨形成的同时可以抑制炎症,可以提高MMP-13的基因水平,推断新骨形成或许与COX所介导的炎症反应有关。VEGF可以直接作用于成骨细胞的功能从而影响骨形成。有研究发现辛伐他汀可以促进成骨细胞VEGF的表达^[25]。本实验中未发现几个成骨相关因子的改变或许与实验设计与给药剂量有关,因此相关研究有待进一步完善和深入。

BMSCs具有多向分化潜能,有效刺激BMSCs向成骨细胞分化,在骨组织工程学和骨质疏松治疗学方面具有重要的临床意义和医学价值。BMP-2、RUNX2、Osterix、MSX2、DLX3、DLX5是基质干细胞向成骨分化过程中的重要因子^[26-28]。目前体内、体外实验已证明辛伐他汀可以影响BMP-2表达而影响成骨细胞分化^[1,4]。也有研究证实辛伐他汀可以促进RUNX2等成骨相关因子的表达^[29]。在实验中通过Real-time PCR方法分析,未能发现BMP-2、RUNX2、Osterix、DLX3、DLX5、MSX2基因表达水平的变化,碱性磷酸酶、von Kossa染色亦未发现与对照组之间存在差异。

经过分析发现,在肯定辛伐他汀具有成骨潜能的实验中,多是局部给药(局部注射、包埋、填充等),而且实验动物多为骨质疏松模型或者骨折模型,因此作者考虑本次实验未能证实辛伐他汀的成骨潜能可能与以下因素有关:①给药方式:颈部皮下注射药物代谢后作用于局部的浓度有限,未能显著影响幼鼠骨代谢。②给药时间和剂量单一。③幼鼠自身骨代谢旺盛,从而掩盖了辛伐他汀的作用。

综上,辛伐他汀体内给药的成骨作用潜能尚有待进一步研究,如果不能研发新的剂型或改善药物代谢特性,今后对其成骨作用潜能的研究应以体外或局部给药为主。

4 参考文献

- [1] Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*. 1999;286: 1946-1949.
- [2] Song C, Guo Z, Ma Q, et al. Simvastatin induces osteoblastic differentiation and inhibits adipocytic differentiation in mouse bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308: 458-462.
- [3] Baek KH, Lee WY, Oh KW, et al. The effect of simvastatin on the proliferation and differentiation of human bone marrow stromal cells. *J Korean Med Sci*. 2005; 20: 438-444.
- [4] Wang JW, Xu SW, Yang DS, et al. Locally applied simvastatin promotes fracture healing in ovariectomized rat. *Osteoporos Int*. 2007;18:1641-1650.
- [5] Bradley JD, Cleverly DG, Burns AM, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor reduces simvastatin-induced bone morphogenetic protein-2 and bone formation in vivo. *J Periodontol Res*. 2007;42: 267-273.
- [6] Serin-Kilicoglu S, Erdemli E. New Addition to the Statin's Effect. *J Trauma*. 2007;63:187-191.

[7] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[8] Nyan M, Sato D, Oda M, et al. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. J Pharmacol Sci. 2007;104:384-386.

[9] Pişkin E, Işoğlu IA, Bölgen N, et al. In vivo performance of simvastatin-loaded electrospun spiral-wound polycaprolactone scaffolds in reconstruction of cranial bone defects in the rat model. J Biomed Mater Res A. 2008 Jul 31. [Epub ahead of print]

[10] Wu Z, Liu C, Zang G, et al. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008;37:170-176.

[11] Seto H, Ohba H, Tokunaga K, et al. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. J Periodontol Res. 2008;43:261-267.

[12] Ozeç I, Kiliç E, Gümüş C, et al. Effect of local simvastatin application on mandibular defects. J Craniofac Surg. 2007;18:546-550.

[13] Oxlund H, Dalstra M, Andreassen TT, et al. Statin given perorally to adult rats increases cancellous bone mass and compressive strength. Calcif Tissue Int. 2001;69: 299-304

[14] Edwards CJ, Hart DJ, Spector TD. Oral statins and increased bone mineral density in postmenopausal women. Lancet. 2000; 355:2218-2219.

[15] Wilkie D, Bowman B, Lyga A, et al. Cerivastatin increases cortical bone formation in OVX rats. J Bone Miner Res. 2000;15:S549.

[16] Yao W, Li CY, Farmer RW, et al. Simvastatin did not prevent bone loss in ovariectomized rats. J Bone Miner Res. 2001;16:S294.

[17] Von Stechow D, Fish S, Yahalom D, et al. Does simvastatin stimulate bone formation in vivo? BMC Musculoskelet Disord. 2003;4:8.

[18] Maritz FJ, Conradi MM, Hulley PA, et al. Effect of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:1636-1641.

[19] Anbinder AL, Prado Fde A, Prado Mde A, et al. The influence of ovariectomy, simvastatin and sodium alendronate on alveolar bone in rats. Braz Oral Res. 2007;21:247-252.

[20] Hsia J, Morse M, Levin V. Effect of simvastatin on bone markers in osteopenic women: a placebo-controlled, dose-ranging trial [SRCTN85429598]. BMC Musculoskelet Disord. 2002;3:7.

[21] Sondergaard T, Pedersen P, Andersen T, et al. A phase II clinical trial does not show that high dose simvastatin has beneficial effect on markers of bone turnover in multiple myeloma. Hematol Oncol. 2009;27:17-22.

[22] Sugiyama T, Nakagawa T, Sato C, et al. Subcutaneous administration of lactone form of simvastatin stimulates ectopic osteoinduction by rhBMP22. Oral Dis. 2007;13 : 228-233.

[23] Li J, Liao EY, Dai RC, et al. Effects of 17 β -estradiol on the expression of interstitial collagenases-8 and -13 (MMP-8 and MMP-13) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in ovariectomized rat osteoblastic cells. J Mol Histol. 2004;35: 723-731.

[24] Stein D, Lee Y, Schmid MJ, et al. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. J Periodontol. 2005; 76:1861-1870.

[25] Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. Endocrinology. 2003;144: 681-692.

[26] Hassan MQ, Tare RS, Lee SH, et al. BMP2 commitment to the osteogenic lineage involves activation of Runx2 by DLX3 and a homeodomain transcriptional network. J Biol Chem. 2006;281: 40515-40526.

[27] Kato S, Kawabata N, Suzuki N, et al. Bone morphogenetic protein-2 induces the differentiation of a mesenchymal progenitor cell line, ROB-C26, into mature osteoblasts and adipocytes. Life Sci. 2009;84:302-310.

[28] Matsubara T, Kida K, Yamaguchi A, et al. BMP2 regulates Osterix through Msx2 and Runx2 during osteoblast differentiation. J Biol Chem. 2008;283:29119-29125.

[29] Yamashita M, Otsuka F, Mukai T, et al. Simvastatin antagonizes tumor necrosis factor-alpha inhibition of bone morphogenetic proteins-2-induced osteoblast differentiation by regulating Smad signaling and Ras/Rho-mitogen-activated protein kinase pathway. J Endocrinol. 2008;196: 601-613.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 河北省自然科学基金资助项目 (C2006000580)。

利益冲突: 本文实验过程及结果与任何团体、组织没有任何利益冲突。

课题设计: 研究表明辛伐他汀在体外实验中具有促进成骨细胞分化、增殖和促进新骨形成的作用; 他汀类药物可作为预防、治疗骨质疏松症的有价值的候选药物。实验通过检测辛伐他汀对幼鼠骨小梁骨形成相关因子表达以及骨髓基质干细胞成骨分化的影响, 从细胞学角度进一步验证辛伐他汀对骨形成的作用, 为开发具有促进骨形成、治疗骨质疏松相关疾病的药物提供实验依据。

同行评价: 辛伐他汀对骨髓间充质干细胞成骨活动具有较大影响, 作者选择此问题研究, 并根据实验情况, 得出和很多文献报道不一致的阴性结果, 对比国内实验结果普遍为阳性结果的现状, 具有较大的意义。

偏倚或不足: 实验仅设计 1, 2, 3 周 3 个时间点, 没有更长的作用时间, 因此, 得出阴性实验结果可能与此有关; 另外实验中仅一个药物剂量, 说服力略显不足, 有待今后的实验中进一步补充。

关于中国再生医学研究实验规范的学术争鸣: 本刊学术部

内 容 简 介	更多内容网站点击
加拿大 McLaughlin-Rotman 全球卫生中心 2010-01-08 发表在英国《Regenerative Medicine》杂志上的一项研究, 中国政府向再生医学研究领域大量投资, 而且积极地招募在海外受过训练的高水平科学家, 从而寻求实现其成为该领域世界领先者的雄心, 中国将是再生医学研究的后起之秀!	www.crter.org/Html/2010_01_17/2_6544_2010_01_17_90975.html
卫生部已经推行《医疗技术临床应用管理办法》, 对再生医学研究提出明确的标准和规定, 然而这一法规并没有阻挡研究的商业化, 面对如火如荼的市场, 专家表示: 中国再生医学研究机遇与隐惠并存!	www.crter.org/Html/2010_01_17/2_6544_2010_01_17_90976.html
细胞体外实验操作中应执行的规范有哪些? 培养基的应用, 抗生素的选择, 生产过程的标准操作程序, 收获时应保留细胞及培养基的样品, 所有成份分离、培养及处理细胞所用器具的质量控制等。	www.crter.org/Html/2009_11_20/2_6544_2009_11_20_83270.html
组织工程研究中体细胞采集、分离和鉴定有何规定原则? 体细胞类型和供体的情况; 体细胞采集的安全性、可行性、稳定性, 采集技术的标准操作程序; 体细胞分离的方法、材料及设备, 应用单克隆抗体操作时参照的规定; 体细胞的收率、存活率、纯度、均一性等质控鉴定。	www.crter.org/Html/2009_11_20/2_6544_2009_11_20_83269.html