

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.24.004

[http://www.crter.org]

卢守明¹, 卢守亮², 孙天威³, 张杭², 王启明². 雌激素干预去势骨质疏松症大鼠血清白细胞介素8、10的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(24): 4394-4400.

雌激素干预去势骨质疏松症大鼠血清白细胞介素8、10的表达*

卢守明¹, 卢守亮², 孙天威³, 张杭², 王启明²

1 献县人民医院, 河北省沧州市 062250

2 天津医科大学, 天津市 300070

3 天津市人民医院骨科, 天津市 300121

文章亮点:

1 检测雌激素干预去势大鼠骨质疏松模型血清白细胞介素8、10的表达水平, 观察血清细胞因子表达水平与骨密度之间的相关性, 以期发现绝经后骨质疏松症发病过程中较重要的骨转换生物学指标。

2 研究结果显示: 去除卵巢后的骨质疏松大鼠, 血清白细胞介素10表达水平明显降低, 血清白细胞介素10表达水平与骨密度呈正相关, 故可认为雌激素能够刺激血清白细胞介素10高表达, 进而抑制破骨细胞分化及骨吸收, 可能成为防治绝经后妇女骨质疏松症的又一作用机制。

关键词:

组织构建; 骨组织构建; 去卵巢大鼠; 雌二醇; 雌激素; 骨质疏松症; 动物模型; 股骨骨密度; 胫骨骨密度; 白细胞介素8; 白细胞介素10; 细胞因子; 省级基金

摘要

背景: 绝经后妇女骨质疏松症患病率高, 雌激素能否通过调控细胞因子表达防治骨质疏松?

目的: 观察雌激素对血清细胞因子白细胞介素8、白细胞介素10表达水平影响, 以及骨密度与细胞因子表达水平的相关性。

方法: 健康雌性SD大鼠30只随机数字表法均分为正常对照组、模型组、雌二醇组。正常对照组行开关术, 其余两组行双侧卵巢切除。造模后第3周正常对照组和模型组大鼠每天灌服生理盐水1.5 mL/只; 雌二醇组给予戊酸雌二醇1 mg/(kg·d), 以1.5 mL生理盐水混悬液形式灌服, 共12周。双能X射线骨密度仪测量股骨和胫骨骨密度; ELISA方法定量测定血清白细胞介素8、白细胞介素10及雌二醇表达水平。

结果与结论: 模型组和雌二醇组两组血清雌二醇表达水平较正常对照组明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 表明大鼠去势手术制作成功。模型组血清白细胞介素8表达水平明显高于正常对照组和雌二醇组($P < 0.01$), 血清白细胞介素10表达水平明显低于两组($P < 0.01$); 正常对照组血清白细胞介素10表达水平与雌二醇组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$)。股骨骨密度和胫骨骨密度与血清白细胞介素8表达水平均呈显著负相关($P < 0.001$), 而与血清白细胞介素10表达水平均呈显著正相关($P < 0.05$)。雌激素能够下调白细胞介素8的表达水平, 上调白细胞介素10的表达水平。提示雌激素通过调节细胞因子表达水平可能成为防治绝经后妇女骨质疏松症的又一作用机制。

卢守明, 男, 1980年生, 河北省献县人, 汉族, 2004年华北煤炭医学院毕业, 主要从事内科疾病的基础与临床研究。

caoerqingqing2009@163.com

通讯作者: 孙天威, 博士, 硕士生导师, 副主任医师, 天津市人民医院骨科, 天津市 300121
billsuntw@163.com

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344
(2013)24-04394-07

收稿日期: 2012-10-05

修回日期: 2012-12-09

(20111005015/D·Y)

Estrogen effects on serum interleukin-8 and interleukin-10 expression in ovariectomized rats with osteoporosis

Lu Shou-ming¹, Lu Shou-liang², Sun Tian-wei³, Zhang Hang², Wang Qi-ming²

1 Xian County People's Hospital, Cangzhou 062250, Hebei Province, China

2 Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

3 Department of Orthopedics, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China

Abstract

BACKGROUND: The prevalence of osteoporosis is high in postmenopausal women, and whether estrogen prevents and treats osteoporosis through regulation of cytokine expression remains unclear.

Lu Shou-ming, Xian County
People's Hospital, Cangzhou
062250, Hebei Province, China
caoerqingqing2009@163.com

Corresponding author: Sun
Tian-wei, M.D., Master's
supervisor, Associate chief
physician, Department of
Orthopedics, Tianjin People's
Hospital, Tianjin 300121,
China
billsuntw@163.com

Supported by: the Natural
Science Foundation of Tianjin,
No. 12JCYBJC16800*

Received: 2012-10-05
Accepted: 2012-12-09

OBJECTIVE: To observe the effect of estrogen on the expression levels of the cytokines, interleukin-8 and interleukin-10, and to explore the correction between bone mineral density and cytokines.

METHODS: Thirty healthy female Sprague-Dawley rats were included in this study and they were randomly divided into three groups: normal control group, model group and estradiol group. The rats of normal control group were subjected to laparotomy, while those of model group and estradiol group were completely ovariectomized. At 3 weeks after modeling, each rat of normal control group and model group was gavaged with 1.5 mL physiological saline every day, while the rats of estradiol group were given 1.5 mL estradiol valerate (1 mg/kg per day), for 12 weeks. The bone mineral density of femur and tibia was measured by dual-energy X-ray absorptiometry, and serum interleukin-8, interleukin-10 and estradiol levels were determined by enzyme linked immunosorbent assay.

RESULTS AND CONCLUSION: The serum expression levels of estradiol in the model group and estradiol group were significantly decreased compared with the normal control group ($P < 0.05$), indicating the success of ovariectomy. The serum interleukin-8 level was significantly higher in the model group than the normal control group and estradiol group ($P < 0.01$), but serum interleukin-10 levels were significantly higher in the latter two groups ($P < 0.01$). There was no significant difference in the interleukin-10 expression level between normal control group and estradiol group ($P > 0.05$). The bone mineral density of femur and tibia was significantly negatively correlated with serum interleukin-8 level ($P < 0.001$), and significantly positively correlated with the serum interleukin-10 level ($P < 0.05$). Estrogen could down-regulate the expression level of interleukin-8, and up-regulate the expression level of interleukin-10. By regulating the cytokine expression levels, estradiol may be another mechanism of action for the prevention and treatment of osteoporosis in postmenopausal women.

Key Words: tissue construction; bone tissue construction; ovariectomized rats; estradiol; estrogen; osteoporosis; animal model; femoral bone mineral density; tibial bone mineral density; interleukin-8; interleukin-10; cytokine; provincial grants-supported paper

Lu SM, Lu SL, Sun TW, Zhang H, Wang QM. Estrogen effects on serum interleukin-8 and interleukin-10 expression in ovariectomized rats with osteoporosis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(24): 4394-4400.

0 引言

骨质疏松症是与年龄增长有关的一种退行性疾病,在中、老年人中十分常见,是造成骨痛、骨折及骨折致残的主要原因之一。绝经后妇女骨质疏松症患病率增加,明显高于同龄男性,有研究证明性激素及相关细胞因子在骨质疏松症发病中起重要作用。但绝经后妇女骨质疏松症的病因非常复杂,其发病机制至今尚未阐明,治疗上也呈现多样性。动物实验是研究骨质疏松症发病机制和观察药物治疗疗效等所必须的手段之一,而一个良好的绝经后骨质疏松症动物模型则是整个动物实验的基础。近年来,多项研究发现白细胞介素家族相关基因是骨质疏松症的标记^[1-3]。已有研究发现雌激素替代治疗绝经后骨质疏松症妇女后白细胞介素6等血清细胞因子水平明显下降^[4-5]。白细胞介素6可能一种与骨吸收有关的细胞因子。最近细胞因子白细胞介素8、10与骨质吸收相关研究也受到人们关注,而血清细胞因子白细胞介素8、10表达水平及其与绝经后骨质疏松症的相关性却少有报道。

实验通过检测雌激素对去势大鼠骨质疏松模型血清白细胞介素8、10表达水平影响,通过观察血清细胞因子表达水平与骨密度之间的相关性,探讨血清细胞因子白细胞介素8、10表达水平与骨质疏松症相关性的内在机制,以期发现绝经后骨质疏松症发病过程中较重要的骨转换生物学指标,为临床上绝经后骨质疏松症的防治提出新的思路。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2011年10月至2012年5月在天津市人民医院医学动物实验中心及骨密度室、检验医学试验部完成。

材料:

实验动物: 健康SD雌性大鼠30只, 6月龄, 体质量(280±30) g, 由天津医科大学实验动物中心提供, 许可证号: SYXK(津)2009-0001, 适应性饲养2周, 自然光照, 动物房温度维持在20 ℃左右。实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》。

药品及试剂来源: 戊酸雌二醇由广州先灵制药公司生产。大鼠血清白细胞介素8、10和雌二醇定量测定试剂盒购自上海基尔顿生物科技有限公司。

主要仪器: 双能X线骨密度仪(GE, USA), 全自动生化分析仪(OLYMPUS, Japan)。

实验方法:

去势大鼠骨质疏松模型的制作: 30只SD大鼠随机数字表法分为3组: 正常对照组(Sham)、模型组(OVX)、雌二醇组(OVX+雌二醇)。大鼠处理过程: 模型组和雌二醇组大鼠用10%水合氯醛腹腔注射麻醉(2 mL/kg)后背位固定, 下腹部备皮, 碘伏消毒后沿腹中线剪开腹壁, 做约1 cm切口, 分离组织, 沿一侧子宫向上于子宫角末端可见脂肪团, 将脂肪团拉出腹腔, 分离脂肪组织可见粉红色卵巢, 用止血钳将卵巢于子宫之间夹闭, 手术线结扎后将卵巢切除, 松开止血钳, 将组织还纳入腹腔。同样的方法将对侧卵巢切除。然后分层缝合腹壁, 乙醇棉球消毒伤口。正常对照组同样方法开腹, 但不切除卵巢, 只切除卵巢旁边相同大小脂肪组织。各组大鼠处理后3 d内每日给予 80×10^4 U青霉素肌注预防感染。

实验干预: 各组大鼠从造模后第3周开始灌胃给药。正常对照组和模型组每天给予生理盐水1.5 mL/只; 雌二醇组给戊酸雌二醇1 mg/(kg·d), 以生理盐水1.5 mL混悬液的形式灌服, 共12周, 药物剂量每周按体质量校正1次。

标本收集: 灌药前取血, 离心, 测定血清雌二醇水平, 以判定去势手术是否成功。在服药满12周后处死大鼠, 处死前禁食24 h, 取血、离心, 将血清置于-80 ℃冰箱保存, 待测血清白细胞介素8、白细胞介素10、雌二醇表达。分离大鼠两侧股骨、胫骨, 冰冻保存以待骨密度检测。

主要观察指标: ①骨密度测定: 大鼠两侧股骨、胫骨骨密度(g/cm^2), 使用双能X射线骨密度仪(DEXA)内置小动物软件测定。②血清白细胞介素8、10和雌二醇表达水平。

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 18.0软件完成统计处理。各组骨密度、白细胞介素8和白细胞介素10、雌二醇结果均用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述, 不同组间的比较用单因

素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。白细胞介素8和白细胞介素10与骨密度相关性用Pearson correlation分析。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 模型组和雌二醇组造模后2 d及1周时, 各有1只动物死亡, 发现死亡大鼠立即造模补充, 并相应延长补充大鼠的饲养时间, 每组保持10只进入实验。造模后3-5 d切口愈合, 动物单笼饲养, 自由活动及饮食。

2.2 大鼠血清雌二醇水平结果 与正常对照组相比, 灌药前模型组、雌二醇组血清雌二醇水平明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 表明去势手术成功。灌药12周后, 正常对照组和雌二醇组血清雌二醇水平比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$); 模型组与正常对照组、雌二醇组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表1。

表1 正常对照组、模型组和雌二醇组不同时段血清雌二醇表达水平

Table 1 Serum estradiol expression level in each group at different time points ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	灌药前	灌药 12 周
正常对照组	38.25±11.03	38.06±12.15 ^b
模型组	15.76±8.75 ^a	14.93±9.01
雌二醇组	15.62±8.63 ^a	38.20±10.23 ^b

与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$ 。

注: 与正常对照组相比, 灌药前模型组、雌二醇组血清雌二醇水平明显降低; 灌药 12 周后, 正常对照组和雌二醇组血清雌二醇水平相当, 模型组最低。

2.3 骨密度测量结果 见表2。

表2 正常对照组、模型组和雌二醇组灌药 12 周时股骨、胫骨骨密度水平结果

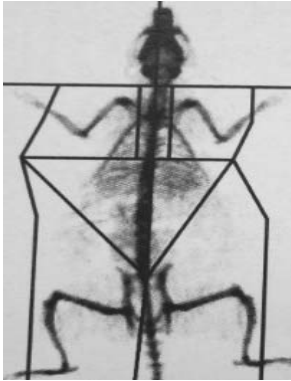
Table 2 Bone mineral density of the femur and tibia in each group at 12 wk after drug intervention ($\bar{x} \pm s$)

组别	体质量(g)	股骨骨密度(g/cm^2)	胫骨骨密度(g/cm^2)
正常对照组	293.5±16.93	0.187±0.011	0.146±0.011
模型组	318.4±18.32	0.126±0.018 ^a	0.115±0.012 ^a
雌二醇组	312.8±17.69	0.182±0.009	0.143±0.008

与正常对照比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 与正常对照组比较, 模型组股骨、胫骨骨密度明显降低; 与模型组比较, 雌二醇组股骨、胫骨骨密度明显增高; 正常对照组和雌二醇组水平相当。

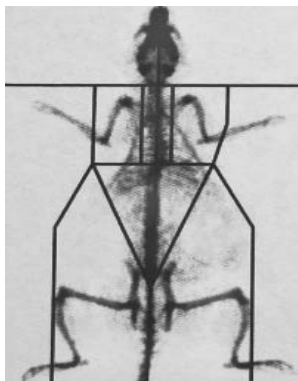
灌药12周后, 与正常对照组相比, 模型组股骨、胫骨骨密度明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。与模型组比较, 雌二醇组股骨、胫骨骨密度明显增高, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。正常对照组和雌二醇组两组之间比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表2。大鼠骨质疏松症发生前后影像资料, 见图1, 2。



注: 不切除卵巢的正常对照组大鼠骨密度值高, 说明正常对照组骨量丢失不明显。

图1 正常对照组双能X射线平片

Figure 1 Dual-energy X-ray film of normal control group



注: 切除双侧卵巢后大鼠骨密度值减低, 说明骨质疏松模型组骨量丢失明显。

图2 模型组双能X射线平片观察

Figure 2 Dual-energy X-ray film of model group

2.4 血清白细胞介素8和血清白细胞介素10水平 血清白细胞介素8水平雌二醇组与正常对照组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 与模型组比较明显降低, 差

异有显著性意义($P < 0.01$)。血清白细胞介素10水平雌二醇组与正常对照组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 与模型组比较明显升高, 差异有显著性意义($P < 0.01$), 见表3。

表3 正常对照组、模型组和雌二醇组白细胞介素8和白细胞介素10的血清水平

Table 3 Serum levels of interleukin-8 and interleukin-10 in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	白细胞介素8 (ng/L)	白细胞介素10 (ng/L)
正常对照组	72.56±8.12	19.16±3.35
模型组	124.42±18.21 ^a	8.25±2.83 ^a
雌二醇组	75.10±9.27	19.02±3.28

与正常对照组和雌二醇组比较, ^a $P < 0.01$ 。

注: 正常对照组和雌二醇组白细胞介素水平相当, 差异无显著性意义。模型组白细胞介素8水平显著高于两组, 而白细胞介素10水平显著低于两组。

2.5 血清白细胞介素8和白细胞介素10水平与骨密度相关性 血清白细胞介素8水平与股骨、胫骨骨密度均成显性负相关($P < 0.001$)。血清白细胞介素10水平与股骨、胫骨骨密度均呈显著正相关($P < 0.05$), 见表4。

表4 血清白细胞介素8和白细胞介素10水平与骨密度相关性

Table 4 Correlation between serum interleukin-8 and interleukin-10 levels and bone mineral density

指标	股骨骨密度		胫骨骨密度	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
白细胞介素8	-0.658	0.001	-0.612	0.001
白细胞介素10	0.369	0.023	0.354	0.032

注: 血清白细胞介素8水平与股骨、胫骨骨密度均成显性负相关($P < 0.001$)。血清白细胞介素10水平与股骨、胫骨骨密度均呈显著正相关($P < 0.05$)。

3 讨论

骨质疏松症是高发生率、世界性、易于引发骨折为特征的代谢性疾病, 是破骨细胞行使骨吸收与成骨细胞行使骨形成作用失衡的结果^[6]。骨质疏松症是与年龄增长有关的一种退行性疾患, 发病有明显的年龄和性别差异, 女性发病率自月经初潮后稳步增长, 至绝经达到高

峰, 绝经后骨质疏松症发病率呈明显上升趋势, 近期的一些研究发现绝经后性激素、部分细胞因子与绝经后骨质疏松症发病关系较为密切^[7-9]。研究表明, 骨髓基质细胞和成骨细胞可大量产生细胞因子, 这些细胞因子相互作用形成信号网络, 刺激破骨细胞增殖与分化、激活破骨细胞成熟并抑制其凋亡, 使骨吸收明显增强, 从而导致骨质疏松症的发生^[10-11]。

细胞因子白细胞介素8在绝经后骨质疏松症的发病机制中起着重要作用, 白细胞介素8是强有力的骨吸收因子, 促进破骨细胞形成, 其表达水平随年龄增加而增加, 是骨量丢失的重要原因^[12]。有研究发现绝经后骨质疏松症妇女血清细胞因子不仅白细胞介素1、白细胞介素6、转化生长因子 α 表达水平升高且发现白细胞介素8表达水平升高, 应用降钙素和阿仑膦酸钠治疗后白细胞介素8表达水平下降, 因此细胞因子白细胞介素8在骨质疏松症的发生和发展过程中起着十分重要的作用^[13-15]。研究发现雌激素治疗绝经后妇女运动导致的骨骼肌损伤是通过减少白细胞介素6、白细胞介素8等细胞因子分泌途径实现^[4]。雌激素可能作为抑制剂减少成骨细胞对白细胞介素8等细胞因子的分泌, 控制破骨细胞的产生和激活; 在雌激素缺乏时, 这种抑制作用减弱, 细胞因子白细胞介素8表达水平增加, 解除对破骨细胞的抑制作用, 导致骨吸收增加^[16-17]。Cvoro等^[18]进行了雌激素受体抗体基因对血清白细胞介素8 mRNA表达影响的研究, 表明雌激素受体抗体可以促进细胞因子白细胞介素8的产生。课题实验结果表明, 去除卵巢后的骨质疏松大鼠, 血清白细胞介素8的表达水平明显升高, 应用雌激素12周后血清白细胞介素8表达水平明显降低, 差异有非常显著性意义($P < 0.001$), 血清白细胞介素8表达水平与骨密度呈负相关。因此认为雌激素能够降低血清细胞因子白细胞介素8的表达水平, 抑制破骨细胞行使骨吸收, 可能成为防治绝经后妇女骨质疏松症的又一作用机制。

白细胞介素10具有抑制破骨细胞分化的作用, 研究表明细胞因子白细胞介素10对破骨细胞分化的抑制作用是通过直接作用于破骨细胞前体细胞实现的^[19-21]。Percegoni等^[22]在去势大鼠的模型中, 发现血清白细胞介素10表达水平在卵巢切除术后第9天升高且持续的时间较短, 随后血清白细胞介素10低水平表达, 提示卵巢切除后血清中细胞因子表达水平与骨质疏松症、肥胖之间存在密切的内在联系。

Aqqarwal等^[23]通过从人类脐带血获得的CD34(+)细胞治疗骨质疏松的小鼠试验中发现, 在骨组织微结构中骨钙素、白细胞介素10及巨噬细胞集落刺激因子表达水平升高。白细胞介素10影响骨代谢的机制可能与抑制破骨细胞激活和分化, 影响成骨细胞的增殖活性有关, 有研究表明绝经后发生骨质疏松的妇女其血液中白细胞介素10表达水平明显低于绝经后的正常女性^[24]。Chen等^[25]研究发现白细胞介素10启动子基因的多态性与骨密度减少和使妇女罹患腰椎骨质疏松的风险相关。雌激素是女性体内的一种重要激素, 具有调节成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收作用, 雌激素缺乏将破坏骨吸收与骨形成之间的平衡, 导致骨质疏松症的发生^[26-28]。有研究表明, 雌激素抑制破骨细胞分化和成熟, 是通过刺激T细胞高表达白细胞介素10和转化生长因子 $\beta 1$ 实现的^[29-30]。另有研究发现白细胞介素10可直接下调NF- κ B受体活化因子配体(The receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的表达来上调骨保护素的表达, 从而抑制骨吸收^[31-34]。作者实验结果显示: 去除卵巢后的骨质疏松大鼠, 血清白细胞介素10表达水平明显降低, 应用雌激素12周后与去卵巢组相比差异有显著性意义($P < 0.05$), 血清白细胞介素10表达水平与骨密度呈正相关, 故认为雌激素能够刺激血清白细胞介素10高表达, 进而抑制破骨细胞分化及骨吸收, 可能成为防治绝经后妇女骨质疏松症的又一作用机制。

实验结果表明血清白细胞介素8表达水平与骨密度成负相关, 血清白细胞介素10表达水平与骨密度成正相关, 且血清白细胞介素8和白细胞介素10表达水平与雌激素有关。进一步阐明了雌激素通过影响白细胞介素8和白细胞介素10等细胞因子表达在绝经后女性骨质疏松症发生机制中起重要作用。血清细胞因子白细胞介素8、白细胞介素10表达水平有可能成为诊断骨质疏松症的指标之一, 血清细胞因子白细胞介素10表达水平有可能成为评价治疗骨质疏松症疗效的指标之一^[35-36]。通过调节血清白介素表达水平有可能成为治疗绝经后妇女骨质疏松症的新方法。由于性激素与细胞因子的关系以及两者对骨质代谢的影响十分复杂, 尚需进一步的实验室及临床研究。

基金资助: 天津市自然科学基金资助项目(12JCYBJC16800)。

作者贡献: 实验设计及资料收集为第一作者, 实施为第一、二、四作者, 评估为第二作者, 第一作者成文, 第二、三、五

作者审校, 第一、二作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章概要:

文章要点: 绝经后女性骨质疏松症发生率明显高于同龄男性, 有研究证明性激素及相关细胞因子在骨质疏松症发病中起重要作用, 细胞因子白介素家族成员与骨质吸收受到人们关注, 故本实验假设雌激素能够通过影响细胞因子表达来防治绝经后骨质疏松症发生。

关键信息: 血清白细胞介素 8 表达水平与骨密度成负相关, 血清白细胞介素 10 表达水平与骨密度成正相关, 雌激素能够降低细胞因子白介素 8 的表达水平, 雌激素能够提高细胞因子白介素 10 的表达水平。雌激素通过影响白介素 8 和白介素 10 等细胞因子表达在绝经后骨质疏松症发生机制中起重要作用。

研究的创新之处: 去势大鼠补充雌激素能预防骨质疏松症的发生, 血清白细胞介素 8 表达水平与骨密度成负相关, 血清白细胞介素 10 表达水平与骨密度成正相关, 雌激素及细胞因子白介素 8、10 表达水平及其与绝经后骨质疏松症的相关性国内外罕有报道。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Ding C, Parameswaran V, Udayan R, et al. Circulating levels of inflammatory markers predict change in bone mineral density and resorption in older adults: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1952-1958.
- [2] Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, et al. Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women. *Arch Med Res.* 2008;39(6): 618-624.
- [3] Pino AM, Ríos S, Astudillo P, et al. Concentration of adipogenic and proinflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J Bone Miner Res.* 2010;25(3):492-498.
- [4] Dieli-Conwright CM, Spektor TM, Rice JC, et al. Hormone therapy attenuates exercise-induced skeletal muscle damage in postmenopausal women. *J Appl Physiol.* 2009;107(3): 853-858.
- [5] Wang Y, Li LZ, Zhang YL, et al. LC, a novel estrone-rhein hybrid compound, concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) and interleukin-6 production by human osteoblastic cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;337(1-2):43-51.
- [6] Iacovino JR. Mortality outcomes after osteoporotic fractures in men and women. *J Insur Med.* 2001;33(4):316-320.
- [7] Niu T, Rosen CJ. The insulin-like growth factor-I gene and osteoporosis: a critical appraisal. *Gene.* 2005;361:38-56.
- [8] Ali Gur, Aziz denli, Demzi Cexik, et al. The effects of Alendronate and calcitonin on cytokines in postmenopausal osteoporosis: A 6-month randomized and controlled study. *Yonsei Medical Journal.* 2003;44(1): 99-109.
- [9] Williams LM, Sarma U, Willets K, et al. Expression of constitutively active STAT3 can replicate the cytokine suppressive activity of interleukin-10 in human primary macrophages. *J Biol Chem.* 2007;282:6965-6975.
- [10] Zupan J, Komadina R, Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *J Biomed Sci.* 2012;19(1):28.
- [11] Inada M, Miyaura C. Cytokines in bone diseases. Cytokine and postmenopausal osteoporosis. *Clin Calcium.* 2010;20(10):1467-1472.
- [12] Ralston SH. Analysis of gene expression in bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994;9:883-885.
- [13] Gür A, Denli A, Cevik R, et al. The effects of alendronate and calcitonin on cytokines in postmenopausal osteoporosis: a 6-month randomized and controlled study. *Yonsei Med J.* 2003; 44:99-109.
- [14] Liang JX, Chen G, Lin LX, et al. *Zhonghua Guzhi Shusong he Gukuangyan Jibing Zazhi.* 2011;4(1):32-35. 梁继兴, 陈刚, 林丽香, 等. 绝经前、后女性骨代谢指标与白介素-1 β 受体拮抗剂的关系[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2011, 4(1):32-35.
- [15] Li CG, Liu LH, Tang WD, et al. *Zhongguo Laonianxue Zazhi.* 2011;31(8):1320-1322. 李彩格, 刘丽华, 唐蔚东, 等. 血清瘦素和白介素-6水平与绝经期妇女骨代谢的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(8):1320-1322.
- [16] Sunyer T, Lewis J, Collin P, et al. Estrogen's bone-protective effects may involve differential IL-1 receptor regulation in human osteoclast-like cells. *J Clin Invest.* 1999;103(10): 1409-1418.
- [17] Ajay K Malik, Sophia Khaldoyanidi, Dominick L Auci, et al. 5-Androstene-3 β , 7 β , 17 β -triol (β -AET) Slows Thermal Injury Induced Osteopenia in Mice: Relation to Aging and Osteoporosis. *Plos One.* 2010;5(10):e13566.
- [18] Cvorc A, Yuan C, Paruthiyil S, et al. Cross talk between glucocorticoid and estrogen receptors occurs at a subset of proinflammatory genes. *J Immunol.* 2011;186(7): 4354-4360.
- [19] Lovibond AC, Haque SJ, Chambers TJ, et al. TGF- β -induced SOCS3 expression augments TNF- α -induced osteoclast formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(4):762-767.
- [20] Hong MH, Williams H, Jin CH, et al. The inhibitory effect of interleukin-10 on mouse osteoclast formation involves novel tyrosine-phosphorylated proteins. *J Bone Miner Res.* 2000; 15(5):911-918.
- [21] Owens JM, Gallagher AC, Chambers TJ. IL-10 modulates formation of osteoclasts in murine hemopoietic cultures. *J Immunol.* 1996;157(2):936-940.

- [22] Percegoni N, Ferreira AC, Rodrigues CF, et al. Profile of serum IL-1 β and IL-10 shortly after ovariectomy and estradiol replacement in rats. *Horm Metab Res*. 2009; 41(1):50-54.
- [23] Aggarwal R, Lu J, Kanji S, et al. Human umbilical cord blood-derived CD34⁺ cells reverse osteoporosis in NOD/SCID mice by altering osteoblastic and osteoclastic activities. *PLoS One*. 2012;7(6):e39365.
- [24] Gür A, Denli A, Nas K, et al. Possible pathogenetic role of new cytokines in postmenopausal osteoporosis and changes during calcitonin plus calcium therapy. *Rheumatol Int*. 2002; 22(5):194-198.
- [25] Chen HY, Chen WC, Hsu CM, et al. Tumor necrosis factor alpha, CYP 17, urokinase, and interleukin 10 gene polymorphisms in postmenopausal women: correlation to bone mineral density and susceptibility to osteoporosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;122(1):73-78.
- [26] Fan L, Lin H. *Zhongguo Guzhi Susong Zazhi*. 2011;17(5): 435-439.
范璐,林华.不同生理时期雌激素对骨量的影响[J].中国骨质疏松杂志,2011,17(5):435-439.
- [27] Shao BY, Yu Y, Fu X, et al. *Zhongguo Bingli Shengli Zazhi*. 2013;29(3):515-520.
邵秉一,于洋,付欣,等. 雌激素缺乏导致的骨质疏松发病过程中骨髓间充质干细胞FasL表达降低对CD4⁺ T淋巴细胞凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志,2013,29(3):515-520.
- [28] Song JJ, Luo ZJ, Liu J, et al. *Zhongguo Gu yu Guanjie Zazhi*. 2013;11(2):84-89.
宋佳峻,罗卓荆,刘建, 等. 糖皮质激素与卵巢摘除后对大鼠骨量及骨代谢影响的对比研究[J]. 中国骨与关节杂志,2013, 11(2): 84-89.
- [29] Luo CY, Wang L, Sun C, et al. Estrogen enhances the functions of CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells that suppress osteoclast differentiation and bone resorption in vitro. *Cell Mol Immunol*. 2011;8(1):50-58.
- [30] Reich MS, Jarvis JP, Silva MJ, et al. Genetic relationships between obesity and osteoporosis in LGXSM recombinant inbred mice. *Genet Res*. 2008;90(4):433-434.
- [31] Liu D, Yao S, Wise GE. Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci*. 2006;114(1):42-49.
- [32] Zheng Q, Liang N. *Zhongguo Laonianxue Zazhi*. 2012;32(17): 3651-3653.
郑青,梁宁. 老年性骨质疏松患者血清细胞因子水平与OPG/RANKL/RANK轴的相关性[J]. 中国老年学杂志,2012, 32(17): 3651-3653.
- [33] Sun Y, Yang L, Lv ZP, et al. *Zhongguo Bingli Shengli Zazhi*. 2011;27(4):755-758.
孙影,杨丽,吕辰鹏,等. 骨碎补总黄酮对去卵巢骨质疏松模型大鼠血清中瘦素、白细胞介素6、前列腺素E₂及骨组织中 β -2-肾上腺素受体的影响[J]. 中国病理生理杂志,2011,27(4): 755-758.
- [34] Liu XH, Kinchenbaum A, Yao S, et al. Cross-talk between the interleukin-6 and prostaglandin E(2) signaling system results in enhancement of osteoclastogenesis through effects on the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) ligand RANK system. *Endocrinology*. 2005;146(8):1991-1998.
- [35] Wang XL, Zhang Y, Yu WH. *Linchuang Huicui*. 2007;22(4): 286-287.
王秀玲,张颖,于文浩. 糖骨康对糖尿病骨质疏松患者血清骨钙素、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素6含量的影响[J]. 临床荟萃, 2007,22(4):286-287.
- [36] Li ZW, Zhang MF, Zhao FY. *Zhongguo Guzhi Shusong Zazhi*. 2005;11(4):418-422.
李忠武,章明放,赵凤云. 白细胞介素-1、-6 mRNA在去势大鼠骨组织中的表达及其意义[J]. 中国骨质疏松杂志,2005,11(4): 418-422.