

# 甲状旁腺激素相关肽与糖尿病性骨质疏松性骨折：你知道哪些？

刘岸龙<sup>1</sup>, 邱勇<sup>2</sup>, 王银河<sup>2</sup>(<sup>1</sup>南京中医药大学中西医结合鼓楼临床医学院, 江苏省南京市 210000; <sup>2</sup>南京市鼓楼医院, 江苏省南京市 210000)

## 文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 糖尿病性骨质疏松性骨折是一种严重的并发症, 其发生率逐年增高; 甲状旁腺激素相关肽对于骨折愈合具有良好的促进作用, 对于骨质疏松具有有效的预防和治疗作用, 同时能促进胰岛细胞的增殖和功能修复, 诱导胰岛素的表达, 改善葡萄糖耐量。
- 2 文章增加的新信息: 对糖尿病性骨质疏松性骨折发病机制, 甲状旁腺激素相关肽促进骨折愈合胰岛细胞增殖效果进行详细分析。对甲状旁腺激素相关肽作为临床用药的可行性进行剖析并比较与其他抗骨质疏松药物的异同以及联合用药的观点, 分析了对于骨生长发育、成骨和破骨代谢及胰岛功能修复的影响。
- 3 临床应用的意义: 糖尿病合并骨质疏松造成的骨折, 致残致死率高, 严重威胁到人们尤其是老年人群的日常生活动; 作用机制和用药效果研究表明, 甲状旁腺激素相关肽有助于此类并发症的治疗, 改善并提高患者的生活质量, 用法用量和联合用药问题将成为新的靶点。

## 关键词:

组织构建; 骨组织工程; 甲状旁腺激素相关肽; 糖尿病; 骨质疏松; 骨折; 国家自然科学基金

## 主题词:

甲状旁腺素; 糖尿病; 骨质疏松; 骨质疏松性骨折

## 基金资助:

国家自然科学基金(81271997); 南京市卫生局重点课题(ZKX10007); 中国博士后基金(20100481130); 江苏省“科教兴卫”医学重点人才(RC2011150)

## 缩略语:

甲状旁腺激素: parathyroid hormone, PTH; 甲状旁腺激素相关肽: parathyroid hormone related peptides, PTHrP

## 摘要

**背景:** 甲状旁腺激素相关肽是在伴有高钙血症的癌症患者中被发现的一种多肽类物质, 作为一种潜在的促进骨折愈合的药物, 具有重要的临床应用价值。

**目的:** 探讨甲状旁腺激素相关肽在糖尿病性骨质疏松骨折中的调控作用。

**方法:** 计算机检索医脉通中文文献数据库以及 PubMed 1990 至 2013 年期间有关甲状旁腺激素相关肽的文章。检索词分别为“甲状旁腺激素相关肽, 糖尿病, 骨质疏松性骨折”和“Parathyroid hormone related peptides, diabetes, osteoporotic fracture”。初检得到 1 279 篇文献, 最终纳入文章 43 篇进入结果分析。

**结果与结论:** 动物实验和临床研究表明: 甲状旁腺激素相关肽对于骨折愈合有明显的促进作用, 同时对于糖尿病相关的胰岛细胞功能缺陷有良好的修复作用; 其类似物甲状旁腺激素已作为治疗骨折的临床用药。但是甲状旁腺激素相关肽的临床用药剂量, 骨折愈合不同分期的具体使用方法包括联合用药还有待进一步研究。

刘岸龙, 邱勇, 王银河. 甲状旁腺激素相关肽与糖尿病性骨质疏松性骨折: 你知道哪些? [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(15):2442-2449.

## Parathyroid hormone related peptides affect diabetic osteoporotic fracture

Liu An-long<sup>1</sup>, Qiu Yong<sup>2</sup>, Wang Yin-he<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** Parathyroid hormone related peptides are accompanied by the syndrome of humoral hypercalcemia of malignancy. As a potential therapeutic drug of promoting the healing of bone fracture, parathyroid hormone related peptides have significant clinical application value.

**OBJECTIVE:** To explore the regulating effects of parathyroid hormone related peptides in diabetic osteoporotic fracture

**METHODS:** A computer-based online research of CNKI and PubMed databases was performed to collect articles published between 1990 and 2013, with the key words “parathyroid hormone related peptides, diabetes, osteoporotic fracture” in Chinese and English. There were 1 279 articles after the initial survey. A total of 43 articles were included according inclusion and exclusion criteria.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Animal and clinical experiments demonstrated that parathyroid hormone related peptides notably accelerate bone fracture healing, and improve the repair process of islet cell function defects

刘岸龙, 男, 1989 年生, 江苏省泰州市人, 汉族, 2014 年南京中医药大学毕业, 硕士, 主要从事代谢性骨病研究。

通讯作者: 王银河, 博士, 副主任医师, 南京市鼓楼医院, 江苏省南京市 210000

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.15.024  
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318  
文献标识码:A  
文章编号:2095-4344  
(2014)15-02442-08  
稿件接受: 2014-03-06

Liu An-long, Master, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Wang Yin-he, M.D., Associate chief physician, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Accepted: 2014-03-06

that are related with diabetes. Meanwhile, as an analogue, parathyroid hormone has been identified as clinical medication in the treatment of fracture. But the appropriate dose, and method of application at the different stages of bone fracture healing and the problem of drug combination need further investigation.

**Subject headings:** parathyroid hormone; diabetes mellitus; osteoporosis; osteoporotic fractures

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81271997; Key Project of Nanjing Municipal Health Bureau, No. ZKX10007; China Postdoctoral Science Foundation, No. 20100481130; Key Program for Medical Talents of Jiangsu Province, No. RC2011150

Liu AL, Qiu Y, Wang YH. Parathyroid hormone related peptides affect diabetic osteoporotic fracture. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2014;18(15):2442-2449.

## 0 引言 Introduction

骨质疏松症在1885年由Pommer首先提出,是一种以骨量降低和骨组织微结构破坏为特征,导致全身骨痛和脆性增加易于骨折的代谢性骨病。现在对此病的认识不断深入,认为该病是由多种原因引起的,一般分为三类:一为原发性骨质疏松症,它是随着年龄增长而发生的一种生理性退行性病变;二为继发性骨质疏松症,它是由其他疾病或药物等因素诱发的骨质疏松症;三为特发性骨质疏松症,多见于8-14岁的青少年,多数有家族遗传史,女性多于男性。原发性骨质疏松又可分为两型,I型为绝经后骨质疏松症,系高转换型骨质疏松症;II型为老年性骨质疏松症,属低转换型,一般发生在65岁以上的老年人。绝经后骨质疏松的发病机制相对简单,主要与雌激素的缺乏使破骨细胞功能增强,促进骨吸收导致骨丢失加速有关;另外年龄的增长造成骨流失的不断加重,骨量减少从而骨密度远低于峰值,并且长期卧床加速了骨的流失。

糖尿病是一组以慢性血糖水平增高为特征的代谢性疾病,是由于胰岛素分泌和作用缺陷所引起的。Yang等<sup>[1]</sup>研究发现,目前中国20岁以上成人糖尿病患病率为9.7%。

甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)是甲状旁腺主细胞分泌的含有84个氨基酸的直肽链,相对分子质量为9 000,有升高血钙和降低血磷的作用。其升高血钙的机制一为促进肾脏对钙的重吸收;二为促进骨钙入血,使血Ca<sup>2+</sup>升高。现代研究发现甲状旁腺激素有双向调节作用,即既有成骨作用又有破骨作用。

甲状旁腺激素相关肽(parathyroid hormone related peptides, PTHrP)可表达于脑、心血管、甲状腺、甲状旁腺和骨等多种组织。其基因长约15 kb,位于12号染色体短臂,含8个外显子可产生12种不同的转录产物。PTHrP主要通过自分泌或旁分泌方式调节细胞生长和分化,在胚胎发育和生命早期起调节作用,并且在许多生理过程中扮演了一个重要的角色,包括胎儿骨骼发育、细胞生长和分化和上皮间充质细胞的相互作用<sup>[2-3]</sup>。PTHrP前体可被剪接成不同的片段,不同的片段具有不同的功能。目前对PTHrP的研究涉及:N-末端(1-36)、中间段(37-86)、核定位序列(87-107)和C-末端

(108-139)。N-末端通过与I型PTH/PTHrP受体结合,发挥钙调激素的作用<sup>[4]</sup>;中段分子参与调节胎盘钙转运<sup>[5]</sup>;核定位序列能转位进入细胞核,发挥胞内分泌功能,刺激细胞的增殖和抑制细胞的凋亡;C-末端有抑制骨吸收的作用<sup>[6]</sup>。

PTHrP通过旁分泌和自分泌的方式,与靶细胞膜上的PTH/PTHrP受体特异性结合而发挥对机体生长发育的调节作用。在胚胎发育过程中,骨骼以及骨骼外许多组织、器官都有PTHrP以及PTH/PTHrP受体的表达。大量研究发现,PTHrP及其受体对软骨内成骨过程具有重要的调节作用<sup>[7-8]</sup>。它们对软骨细胞的分裂、分化、细胞凋亡以及细胞外基质的矿化等每一个环节均有影响。PTHrP也被发现在对成骨细胞的调控中发挥重要的作用,PTHrP通过下调骨形态发生蛋白信号抑制成骨细胞的分化<sup>[9]</sup>。与PTH不同,PTHrP可能对破骨细胞的凋亡并无影响<sup>[10]</sup>。

骨骼发育是一个复杂的过程,除了PTHrP以外,其他一些因子,如转化生长因子 $\beta$ 、骨形态发生蛋白以及某些癌基因如c-fos和bcl-2等也参与了对骨骼发育的调控。

在骨骼的发育过程中,PTHrP与其他因子间存在着广泛而复杂的调控关系,有不少研究显示,Indian hedgehog(Ihh)对骨骼的生长发育也具有重要作用,而PTHrP与Ihh间存在着复杂的反馈调节机制,由两者间相互作用而形成的反馈调节环在调节骨骼的生长发育过程中起着主导性作用。与PTHrP一样,Ihh也是长骨发育过程中不可缺少的一个调节因子。Ihh可以独立于PTHrP信号发挥成骨作用;Ihh信号也可以在PTHrP的参与下通过增加增殖区软骨细胞数量发挥成骨作用。进一步的研究提出Ihh-PTHrP信号轴模型,Ihh位于信号通路上游,PTHrP位于下游,两者间具有负反馈调节通路。Ihh信号通路的激活可以上调PTHrP的表达;同时Ihh和PTHrP通过负反馈调节机制精确调控长骨生长<sup>[11]</sup>。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 资料来源** 由作者检索医脉通中文文献数据库(<http://paper.medlive.cn/>)和PubMed数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)的相关文献。中文检索词为“甲状旁腺激素相关肽,糖尿病,骨质疏松性骨折”;

英文检索词为“Parathyroid hormone related peptides, diabetes, osteoporotic fracture”。检索时间范围: 1990年1月至2013年12月。文献包括综述、临床研究和基础研究, 共检索到1 279篇文献。

## 1.2 入选标准

**纳入标准:** ①有关PTHrP的具有原创性, 论点论据可靠的文章。②有关PTHrP与糖尿病、骨质疏松、骨折的相关文章。③糖尿病与骨质疏松、骨质疏松与骨折相关的文章。④同一或相似内容选择近期发表或权威期刊发表的文章。

**排除标准:** 重复或类似的同一研究。

**1.3 质量评估** 共检索到相关文献1 279篇, 其中英文1 255篇, 中文24篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除与研究目的不符合的重复性文章; 查阅全文, 判断与纳入标准一致的文章, 最后选择43篇符合标准的文献。

## 2 结果 Results

**2.1 糖尿病和骨质疏松** 流行病学调查显示, 1型糖尿病患者骨量减少和骨质疏松发病率为48%–72%<sup>[12]</sup>, 对于2型糖尿病患者, 骨密度增高降低或没有改变的结果国内外文献均可见报道<sup>[13-14]</sup>。有学者对动物模型的研究表明<sup>[15]</sup>: 糖尿病动物表现为低转换型骨量减少, 这与高血糖引起的钙磷代谢异常和因胰岛素/胰岛素样生长因子1缺乏引起的成骨细胞功能和数量减少有关。近年来研究发现, 2型糖尿病患者代谢性骨病的发病率和骨质疏松性骨折的危险性明显高于普通人群, 其骨质疏松发生率可达20%–60%<sup>[14]</sup>。同时, 临床研究也显示, 2型糖尿病患者较易患骨质疏松, 其骨代谢改变特点是: 骨形成下降、骨吸收增加。糖尿病继发的骨质疏松易导致病理性骨折, 致残致死率高, 可加重糖尿病患者的治疗和康复困难。

糖尿病造成骨质疏松的发病机制较为复杂:

**2.1.1 高葡萄糖毒性** 糖尿病患者以血糖升高为主要特点, 长期处于高血糖状态使机体多系统功能改变。①当血糖超过肾糖阈时过多的葡萄糖从尿中排出, 引起渗透性利尿, 或是过分严格控制饮食, 导致血钙浓度降低, 刺激甲状旁腺激素分泌, 增加骨吸收。②Yoshida等<sup>[16]</sup>报道高血糖可致成骨细胞对甲状旁腺激素及1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>敏感性降低。

**2.1.2 胰岛素** 糖尿病患者均存在胰岛素绝对或相对缺乏。胰岛素与成骨细胞表面的胰岛素受体结合可刺激成骨细胞核酸合成, 促进成骨细胞代谢, 出现骨密度增加; 随着病情增加, 患者胰岛功能逐渐下降, 骨基质合成减少<sup>[17]</sup>, 已有研究证实向动物体内注射胰岛素能使成骨细胞数量增加<sup>[18]</sup>。

**2.1.3 体质量指数** 此项为独立危险因素。糖尿病患者的体质量指数与骨质疏松呈负相关。①高体质量指数时骨骼所承受的机械负荷增加, 刺激骨形成, 延缓骨质疏

松。②也有学者认为, 高体质量指数者具有较高的瘦素水平, 可促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。

**2.1.4 微血管病变** 糖尿病患者存在不同程度的微血管病变。①骨组织的微血管病变影响骨的血流分布, 毛细血管通透性增加, 微血管基膜增厚, 导致骨的营养障碍, 影响骨重建。②肾小管滤过和重吸收功能受损, 血钙降低, 引起甲状旁腺激素分泌, 骨钙入血。③视网膜病变患者的过少活动减少了骨骼负重机会, 加速了骨流失。

对于糖尿病性骨质疏松的药物研究及治疗效果:

①噻唑烷二酮类: 此为过氧化物酶体增殖物激活受体γ激动剂, 而高表达过氧化物酶体增殖物激活受体的间充质干细胞向脂肪细胞分化, 可使骨髓中脂肪细胞增多, 成骨细胞减少, 骨形成率下降; Schwartz等<sup>[19]</sup>研究报道, 噻唑烷二酮类可降低糖尿病患者的骨密度骨量以及骨形成指标, 且骨量下降的程度与噻唑烷二酮类的使用时间有关。②双胍类: 二甲双胍作为双胍类的代表, 其影响表现为减少骨量丢失; 国外研究将不同浓度的二甲双胍干预成骨细胞, 结果发现成骨细胞表现出剂量依赖性的增殖和表达胶原蛋白增加<sup>[20]</sup>, 表明二甲双胍可促进成骨细胞增殖和分化。③1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 持续高血糖、胰岛素分泌不足等导致机体钙、磷代谢紊乱, 打破机体钙调激素的平衡, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>的生成减少。研究显示, 当血液中维生素D水平维持在20 μg/L以上时, 即可发挥调节血钙、骨骼和肌肉的作用, 而当血液中维生素D水平维持在30 μg/L以上时, 才可能发挥降低肿瘤、2型糖尿病、心血管疾病等风险的作用; 而维持这种维生素D水平需要每日补充800–1 000 U维生素D<sup>[21]</sup>。

大多数学者均着重于高血糖、低胰岛素水平、肥胖等常见糖尿病变对骨质疏松的影响, 骨转换的基因组学、分子生物学机制将成为新的研究方向。

越来越多的研究表明糖尿病是造成骨折的一个独立危险因素。随着人口的老龄化和肥胖症的全球流行, 2型糖尿病变得很常见。2型糖尿病患者的骨密度、骨折风险评估(FRAX)和骨折预测(fracture prediction)和正常人相比也存在劣势<sup>[22]</sup>。

而骨质疏松与糖尿病同为代谢疾病, 研究表明, 代谢疾病之间均存在着重要的联系, 不同的学者报道的各种代谢病都存在一个共同点, 即此类疾病的发病率都是正相关的, 包括糖尿病、代谢综合征、肥胖症、骨质疏松、性腺机能减退和慢性阻塞性肺疾病<sup>[23]</sup>。

同时, 一些遗传疾病, 如haemophilia A and B(血友病A和B), 67%–86%表现出骨量减低或骨质疏松, 因而被认为与骨质疏松的发生率有着密切的联系<sup>[24]</sup>。

**2.2 PTHrP与骨发生及骨质疏松** 针对骨质疏松发病中骨吸收相对过度, 而骨形成相对不足的特点, 目前所采用的防治骨质疏松的药物主要有基础性用药如钙剂和维生素D, 骨吸收抑制剂如降钙素和二磷酸盐类, 骨形

成促进剂如甲状旁腺激素, 混合制剂如锶盐类药物和他汀类药物以及中药制剂, 大多数以抗吸收药物为主; 在国外, hPTH(1-34)已被FDA认证为治疗骨质疏松的临床用药; 而PTHrP与PTH有着相同的受体结合端, 所以对于PTHrP在治疗骨质疏松症中的作用和机制研究就显得尤为重要。

有学者研究表明, PTHrP(1-34)对卵巢摘除诱发的大鼠骨质疏松有明显的治疗作用, 剂量为40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 而剂量为20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 则效果不明显, 同时剂量为80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的效果和40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相比无明显差异, 且该两组治疗后骨密度及生物力学各项指标与雌激素替代治疗组相近。因此, 对那些不适宜雌激素治疗的绝经后骨质疏松患者可考虑给予PTH或PTHrP。Plotkin等<sup>[25]</sup>通过对小范围志愿者的研究发现, 对绝经后妇女给予合成的人PTHrP皮下注射后, 反映骨形成的指标骨钙素及碱性磷酸酶升高, 而反映骨吸收的指标N端肽及脱氧吡啶啉却明显下降, 出现了骨形成与骨吸收的解耦联现象, 这与PTH完全不同: 持续性PTH刺激可引起骨质吸收增强, 而小剂量、间歇性应用PTH表现为促进骨形成。而且, 大剂量(超过PTH 10-20倍)用药对内环境矿物质的稳定没有不良影响, 也未出现明显不良反应, 因此提出 PTHrP只选择性地刺激骨形成, 不激活甚至降低骨吸收过程, 是一种优于PTH的纯粹的骨形成促进剂<sup>[26]</sup>。核磁共振光谱显示, PTH和PTHrP序列的前13个氨基酸残基有高度的同源性, 这段序列的存在反映了氨基端残基在受体信号中的功能重要性; 而14-34区域的同源性显著降低, 只有3个氨基酸是相同的, 且超过34以后的区域没有可辨识的相同之处; 对于PTH和PTHrP来说, 15-34区域的功能为PTH1R的主要受体结合端, 很可能和受体的相同部分发生作用<sup>[27]</sup>。但是, 仅仅从分子构象角度并不能解释清楚二者发挥不同生理病理学作用的机制, PTH和PTHrP对于骨代谢的不同作用的原因并未完全了解清楚, 有文献提出可能与二者不同的药代动力学有关: 皮下注射完成后, PTHrP的吸收要比PTH更为迅速<sup>[12]</sup>。

近年来, 有大量文献报道了PTH及其相关蛋白对于骨质疏松治疗的作用, 尤其是对合成代谢的作用, 依赖于PTH和PTHrP增加了成骨细胞的形成和存活率, PTHrP的N端肽被认为是一种有前途的骨合成剂<sup>[1,15]</sup>。同时又有学者指出PTHrP的促进骨形成作用不仅仅归因于它的N端域, 即1-34部分, 它的C端域及核定位序列(NLS)部分存在与N端机制截然不同的成骨效应, 并且PTHrP1-141比PTHrP1-86更有效; PTHrP的稳定性较好, 增强了骨矿化作用, 增加了碱性磷酸酶的活性和骨钙素的分泌<sup>[28]</sup>。

目前对于PTHrP骨代谢机制的研究显示<sup>[2]</sup>: PTHrP在人体是通过与PTH1R结合来发挥作用的, 调节软骨细胞的分化率来维持长骨的生长; 生长板由增殖和分化的

软骨细胞柱组成, 往深部渐渐变为肥大软骨细胞前体细胞和肥大的软骨细胞。PTHrP主要由不成熟(未分化和增殖中的)软骨细胞分泌, 在细胞柱的顶端(即长骨的末端), 激活位于增殖细胞和肥大软骨细胞前体细胞位置的PTH1R并与其发生作用, 延缓它们分化成肥大细胞的速率, 维持增殖, 减少IHH(由肥大软骨细胞产生)产生; 反过来, IHH增加了软骨细胞的增殖速率并且刺激了骨末端PTHrP的产生。同时, IHH也作用于骨领部的软骨膜细胞而生成成骨细胞。

以这种方式, IHH和PTHrP通过在局部形成一个负反馈环来调控软骨细胞分化速率。

有2篇报道显示IHH增加了生长板PTHrP的表达<sup>[29-30]</sup>, 通过对转录因子Gli3的抑制作用。PTHrP通过PTH1R作用于软骨细胞, 主要通过刺激G $\alpha$ , cAMP产物和蛋白激酶A的活性, 而这些因子反过来介导一系列下游活动, 包括SOX9的磷酸化, p57表达的抑制, 对Gli3、Bcl-2、细胞周期素D1表达的诱导, 并且最终导致Runx2和Runx3(两种软骨细胞分化的必要转录因子)的磷酸化和降解。

PTHrP也由其他软骨部位产生, 不仅仅是关节部位的软骨, 如肋软骨。同时, 韧带和肌腱附着点部位的表达量显著高于其他部位, 并且有助于生长期这些部位的发育。

PTHrP的成骨作用主要体现为PTHrP knock-out<sup>+/-</sup>老鼠的骨量出生时正常, 但是随着时间推移而减少; 细胞培养的结果显示: 成骨细胞PTHrP基因的选择性缺失导致了成骨细胞存活率的降低。

经典的Hedgehog通路研究表明<sup>[31]</sup>: IHH是软骨内成骨过程中软骨细胞和成骨细胞分化的重要调节因素。IHH直接刺激软骨细胞增殖, 并且通过刺激PTHrP的合成, 决定骨末端的位置, 即软骨细胞停止增殖并向肥大细胞分化的区域。Hedgehog通路由Hh蛋白结合其受体Ptch触发。Hh与Ptch的结合降低了Ptch的抑制作用, 激活了Smo(G蛋白耦联受体, Ptch能抑制Smo), 从而激活了胞浆内的Gli蛋白。人体表达的3种Gli蛋白, Gli1(GliA, Gli activation)为激活因子, Gli2为激活或者抑制因子, Gli3为抑制因子(GliR, Gli repressor)。转运进入细胞核后, GliA与特异的DNA结合元素相互作用, 激活基因目标。而在此级联系统中, GSK3 $\beta$ (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , 糖原合成激酶)是抑制信号必不可少的。有趣的是, GSK3 $\beta$ 也是Wnt通路的重要调控因子<sup>[32]</sup>, 并且Smo受体与Wnt受体Fzd有着高度相似的氨基酸序列; 虽然是否为相同因子调控这两条通路还不清楚, 但GSK3 $\beta$ 的存在给大家一点启示。

此外, PTH和PTHrP信号被G蛋白耦联受体PTH1R介导。PTHrP与其受体的相互作用诱导了腺苷酸环化酶的激活, 产生cAMP, 然后刺激蛋白激酶A和蛋白激酶C

的表达, 蛋白激酶A的一个潜在的主流信号目标是磷酸化环腺苷酸应答元件结合蛋白。IHH和PTHrP不仅仅是肥大软骨细胞必需的, 也是间充质干细胞向成骨细胞谱系分化需要的, 其机制可能为对Runx2的诱导。在骨颌部, 剥除Smo的软骨膜细胞分化为软骨细胞而不是成骨细胞<sup>[33]</sup>。然而, 当IHH异位分泌时, Runx2在软骨膜再次表达, 但不能诱导成骨细胞产生。此发现表明, IHH为Runx2的一个诱导因子, 但是要使软骨膜细胞分化为成骨细胞还需要其他的诱导因子, 如骨形态发生蛋白和Wnt。

那么Hedgehog究竟是促进骨形成还是抑制骨形成的通路? Ohba研究发现<sup>[34]</sup>, Ptch ko<sup>+/-</sup>老鼠出生后出现骨量增加, 通过对GliA和Runx2的激活上调了成骨细胞分化。然而, 另一研究小组的结果表明, Ptch完全敲除的成熟成骨细胞中, Hh信号显著增强, 并产生完全分化的成骨细胞, 反过来刺激了PTHrP的产生<sup>[35]</sup>; 同时破骨细胞所致的骨吸收也增强了(通过PTHrP-AMPC-CREB通路), 并导致了骨量减少。这些矛盾可以用一些假说来解释: 首先, 新生鼠间充质干细胞生成成骨细胞的数量要比老年鼠多很多, 因此骨量是增加的, 相反, 老年鼠生成的成骨细胞数量不能补充IHH诱导的骨吸收; 其次, IHH的作用方式为梯度依赖性的, 取决于GliR和GliA的比值, IHH的存在会增加GliA的数量, 导致特异性转录因子的激活, 但是, 转录因子的类型则依据GliA和GliR的水平来决定<sup>[36]</sup>。

**2.3 PTHrP和糖尿病** 中文文献有关PTHrP和糖尿病直接联系报道较少。外文文献记载的PTHrP和糖尿病的相关性主要体现在以下几个方面。

**2.3.1 PTHrP和胰岛β细胞** 研究发现, 人的胰岛β细胞表达PTH1R(receptor), 而PTHrP的过表达引起了胰岛β细胞近3倍的增殖<sup>[37]</sup>。PTHrP(1-36), 即PTHrP氨基端肽能够增加胰岛细胞中G<sub>1</sub>/S末期细胞周期蛋白cyclinE和细胞周期依赖性激酶2(CDK2)的复制和表达。同时, PTHrP(1-36)也增强了GSIS, 且cyclinE单方面的过表达也能加强人胰岛β细胞的增殖, CDK2和cyclinE对于增殖的影响有一个协同作用。由此, 作者提出PTHrP(1-36)用于老年性糖尿病合并绝经后骨质疏松的观点, 为一种很有前途的老年用药。

2型糖尿病的特点是在胰岛β细胞不足的补偿机制中, 胰岛素抵抗产生的高血糖。早期阶段的β细胞功能和质量的受损是可逆的, 胰岛β细胞通过某些机制, 具有在病生状态下扩张自身功能和质量的很大潜力, 增加胰岛素的产生和分泌, 并由祖细胞形成新的β细胞。其中, PTHrP作为一个调控β细胞分化的重要因子, 成为增加β细胞存活率的强有力的候选因子<sup>[27]</sup>。

动物实验研究表明<sup>[38]</sup>: 3种不同剂量(40, 80, 160 μg/kg)PTHrP(1-36)的给药在第25天时都显著增加小鼠体内胰岛β细胞的增殖, 尤其是大剂量的PTHrP在

第5天时就对胰岛β细胞的增殖产生明显效果; 更重要的是, 80 μg/kg和160 μg/kg给药组导致了胰岛β细胞数量近30%的扩增, 并且在短期内改善了葡萄糖耐量。对于血清钙磷的检测也发现, 此3种剂量的PTHrP(1-36)并未引起高钙血症, 也未改变胰岛细胞的数量、β细胞体积的改变以及β细胞死亡和分化标记物的改变。胰岛G<sub>1</sub>/S细胞周期蛋白的分析表明: 胰岛β细胞PTHrP(1-139)的慢性过量增多导致了细胞周期蛋白D2的增加, 而降低了细胞周期依赖性激酶4(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)抑制剂(p16)的水平, 但是PTHrP(1-36)的急性给药并未造成此类结果。同时, 对PTHrP过表达小鼠的研究表明, 此类转基因鼠对腹腔注射链脲佐菌素产生的细胞毒性作用具有良好的抵抗力。

**2.3.2 PTHrP和胰岛素** PTHrP增加了小鼠β细胞系MIN6, 原代胰岛细胞培养中胰岛素的含量和mRNA的水平。对于PTHrP诱导胰岛素表达的研究机制表明, PTHrP的作用被SB203580(一种促分裂素原活化蛋白激酶抑制剂)显著放大, 而即使在无PTHrP存在的情况下, SB203580本身也广泛地增加胰岛素的表达<sup>[39]</sup>。由于SB203580同时抑制了p38和氨基末端激酶(c-jun NH(2)-terminal kinases, JNKs), 对JNK特异性抑制剂(SP600125)的研究表明: SP600125也增加了胰岛素的含量和mRNA的水平。PTHrP诱导了JNK1/2的脱磷酸化, 并且PTHrP诱导的胰岛素表达被负显性型JNK-APF所阻断。因此怀疑双特异性的MAPK磷酸化酶(MKPs)包含在了PTHrP诱导的胰岛素表达中, 通过使JNK1/2失活的途径。MIN6细胞至少包含了5种MKPs, 然而只有MKP-1是PTHrP能够诱导的。PTHrP诱导的胰岛素的表达被MKP-1表达抑制剂Ro-31-8220所阻断, 表明PTHrP的作用是由MKP-1所介导的。因而, MKP-1控制胰岛素的表达量是通过JNK/c-jun通路的下调作用来实现的。

**2.3.3 PTHrP和葡萄糖** 之前提到PTHrP改善了葡萄糖耐量, 而临床研究表明, 血清中PTHrP的水平和血清葡萄糖、胰岛素、C肽(在胰岛素原分子中, 连接胰岛素A链N端和B链C端的肽段)存在明显的相关性。Legakis等<sup>[40]</sup>选取了28例糖尿病患者(16例男性和12例绝经后女性)作为研究对象, 28名年龄相配的健康成人(15名男性, 13名女性)作为对照。结果表明, 男性各项指标均略高于女性, 有意义的是, 糖尿病患者的PTHrP、葡萄糖水平明显高于健康成人, 而C肽和胰岛素水平的中值虽然略高于对照组, 但是最低值和最高值都无统计学意义。有趣的是, 在健康成人组中, PTHrP和胰岛素有一个显著的正相关性, 即血清PTHrP水平高的成年人, 其胰岛素水平也高, 这归因于高PTHrP伴随的高血糖导致了由于高血糖刺激产生胰岛素分泌的增加。

由此可以看出, 血清PTHrP的水平和葡萄糖、胰岛

素及其C肽的水平是明显正相关的, 可能在糖尿病患者中, 由于胰岛功能的破坏导致了血清葡萄糖的增加, 以一种修复机制刺激机体产生PTHrP来达到降低血糖的作用, 而同时PTHrP水平的增加激活了一些细胞因子从而增加了胰岛素的生成, 但由于某些器质性病变在糖尿病患者组变化不明显, 而会出现在健康成人组中。

**2.3.4 PTHrP和糖尿病肾病** 足细胞肥大是糖尿病肾病的主要特点。在对高葡萄糖诱导的足细胞肥大机制的研究中发现<sup>[41]</sup>, 在PTHrP中和抗体或者是PTHrP siRNA存在的情况下, 高葡萄糖诱导的肥大作用被终止了, 此影响和转化生长因子 $\beta 1$ 以及p27(Kip1)的上调被抑制有关。JB4250(PTH1R antagonist, PTH1R拮抗剂)也抑制了高葡萄糖诱导的p27(Kip1)的上调。有趣的是, 与此同时高葡萄糖和血管紧张素II并不能刺激PTHrP siRNA转染的足细胞的p27(Kip1)表达, 并且在这些细胞中, 转化生长因子 $\beta 1$ 仍不能上调p27(Kip1)。此外, 在转化生长因子 $\beta 1$  siRNA转染的足细胞中, 高葡萄糖和PTHrP诱导的肥大作用以及p27(Kip1)的上调产生了终止现象。更进一步的研究表明, PTHrP过表达的转基因鼠的肾小球表现出高葡萄糖 $\beta 1$ 和p27(Kip1)同时过表达, 表达量接近于糖尿病模型鼠。

由此可以看出, PTHrP参与了由高葡萄糖触发的细胞肥大样变, 血管紧张素II诱导PTHrP的上调, 从而可能诱导转化生长因子 $\beta 1$ 和p27(Kip1)的表达, 即PTHrP的存在是足细胞的肥大样变不可或缺的因素之一, 从而可以考虑以抑制PTHrP表达的途径来避免足细胞肥大, 为糖尿病肾病的治疗提供新的思路。

**2.3.5 PTHrP和糖尿病骨病** PTHrP对于骨质疏松的治疗作用在大量的临床、实验研究中均有明确说明, 认为此蛋白序列是有负责生理活性的N端和负责受体结合的C端以及结构随环境而改变的连接区组成的。后来又有学者提出C端肽具有抑制骨吸收的功能; Lozano等<sup>[42]</sup>对链脲佐菌素诱导的糖尿病鼠进行PTHrP(107-139)药物注射实验表明, PTHrP(107-139)逆转了糖尿病鼠骨架结构的改变和成骨细胞功能的退化, 促进骨髓消融后的骨愈合而不影响小鼠体内破骨细胞样细胞的数量, 此肽段也逆转了高葡萄糖诱导的骨髓基质细胞向成骨细胞的分化, 尤其是高度分化的MC3T3-E1(小鼠胚胎成纤维细胞)。此研究结果说明PTHrP(107-139)不仅仅具有抑制破骨细胞功能的作用, 同时也促进了糖尿病鼠的骨形成。

成骨减少是糖尿病性骨量减少的主要原因。在对有成骨细胞表型相关改变的糖尿病模型鼠的研究中, 有学者怀疑这些改变是否是由于PTHrP的减少造成的, 采用PTHrP(1-36)对骨髓消融的小鼠进行治疗。结果发现, 未治疗组出现股骨和胫骨明显的骨量丢失, 骨形成细胞和血管减少, 并且骨髓细胞出现了一定程度的脂肪化<sup>[43]</sup>。此外, 对于胫骨骨髓细胞的体外培养实验发现, 骨基质的

矿化明显减少。同时, Real-time PCR的结果显示, Runx2、Ox、OCN、PTHrP、PTH1R、VEGF及其受体、OPG、RANKL的mRNA表达水平均有降低, 而PPARs- $\gamma 2$ 的mRNA水平有所增加。同样的改变发生在高葡萄糖培养基诱导的MC3T3-E1, 类似于在此类细胞中加入了抗PTHrP中和抗体或者是PTH1R拮抗剂, 而给药组, PTHrP(1-36)逆转了这些改变, 这些发现都说明PTHrP在糖尿病模型的成骨细胞功能的改变中担任至关重要的角色。

**2.4 骨质疏松与骨折及骨折愈合** 成年人的骨是由1/3的有机质(主要是骨胶原蛋白)和2/3的无机质(主要是磷酸钙、碳酸钙和氯化钙等)组成。有机质使骨具有韧性和弹性, 无机质使骨具有硬度和脆性。骨质疏松的骨量减少即有机质和无机质均减少, 从而骨的弹性、韧性和硬度降低, 动物模型长骨骨干的骨生物力学数据显著低于正常骨质, 导致骨折发生的概率增加。

骨质疏松造成的骨折一般部位比较固定, 从比较常见的老年性骨质疏松骨折来看, 一般为桡骨远端骨折、椎体压缩性骨折、髌部骨折及一些其他部位, 统计数据中的老年人是有并发糖尿病的, 所以糖尿病引起的该类骨折部位可以以此为参照。此类骨折的治疗应该强调个体化, 可采用非手术或手术治疗。具体方法应根据骨折部位、骨折类型、骨质疏松程度和患者全身状况而定, 权衡非手术和手术治疗的利弊, 作出合理选择。手术治疗在此就不赘述, 切开复位内固定以及关节置换用于常规手术治疗; 但是无论手术或非手术治疗, 抗骨质疏松的药物疗法是必不可少的。

骨折愈合的过程就是“瘀去、新生、骨合”的过程, 一般分为血肿机化期、原始骨痂形成期和骨痂改造塑形期。机化期主要体现为纤维连接的过程, 为骨痂形成起到桥梁作用; 骨痂形成主要有2种方式: 膜内化骨和软骨内成骨, 这是一个极其复杂的生物学过程, 它是在细胞的增殖与分化、细胞外基质的合成与钙化等一系列精密的过程组合下进行的。

骨质疏松性骨折的西药治疗主要分为抑制骨吸收的药物: 雌激素类、孕激素类、依普黄酮、二膦酸盐类、降钙素类。促进骨形成药物: 氟化物类、雄激素类、甲状旁腺激素片段、维生素K、生长因子类。促进矿化类药物: 阿法骨化醇、骨化三醇、维生素D与钙剂或维生素D与PTH的联合用药。

治疗的思路简单概括为ADFR, 其中activation为增加、激活骨细胞单位; depress为抑制吸收期破骨细胞活性; free为自由期, 解除骨吸收, 使骨原细胞形成, 骨矿化作用增强; repeat为重复骨的重建过程。

促进骨折愈合的因素分为物理因素和生物因素两种。其中, 物理因素包括: 低强度超声、直流电刺激、脉冲电磁场、冲击震动波和间断纵压; 生物因素包括:

转化生长因子 $\beta$ 、骨形态发生蛋白、神经生长因子、成纤维细胞生长因子、血小板衍生生长因子和血管内皮生长因子。同时,自体骨髓移植和转基因治疗已取得良好效果,成为骨折愈合治疗的新方向。

但是值得注意的是,对骨质疏松有治疗意义的药物对于骨质疏松骨折的愈合是否无负面影响,还有待研究。有学者指出骨折愈合是成骨细胞和破骨细胞共同作用的结果,早期破骨细胞起到清除死骨的作用,中晚期破骨细胞先在骨痂上形成陷窝,以后成骨细胞附着,随之成骨细胞便形成新的骨单位,如此相互耦联作用完成骨痂塑形过程。FDA认证的人甲状旁腺素作为促进骨形成药物用于临床也有剂量和使用方法的严格要求,说明甲状旁腺素并不是单方面的促骨形成,因此,如何调控骨折愈合过程中成骨细胞和破骨细胞的分别作用及分子生物学中各类生长因子对骨折愈合机制的研究将成为新的方向。

### 3 讨论 Discussion

近年来,糖尿病合并骨质疏松骨折的发病率越来越高,研究者们致力于寻求一种积极有效的药物来对此类合并症进行预防和治疗。上述的药物研究表明,抗高血糖药物噻唑烷二酮类、双胍类及 $1,25-(OH)_2D_3$ 等,除噻唑烷二酮类会造成骨髓细胞中脂肪细胞增多和骨密度降低外,双胍类和 $1,25-(OH)_2D_3$ 均于骨质疏松有一定的治疗作用,主要体现在对成骨细胞增殖、分化并且抑制其凋亡从而促进骨形成。但是,骨折愈合是一个成骨和破骨耦联的过程,对于骨吸收的抑制及过度增加都会导致骨折不愈合或愈合缓慢。因此,此类药物在糖尿病性骨质疏松性骨折愈合过程中起到的具体调控作用及效果还有待进一步研究。

动物研究表明,PTHrP具有明显的促进骨折愈合的作用,包括野生型及野生型去势鼠,同时临床研究表明2型糖尿病引起的骨质疏松属低转换型,可能是由于2型糖尿病患者多为老年人,无特殊意义;但其总体机制为既有骨形成的下降,又有骨吸收的增加。与大多数抗骨质疏松药物(抑制骨吸收)不同的是,PTHrP作为一种可能的纯粹的骨形成促进剂,其异于PTH的药代动力学又使得PTHrP的用药不需要像PTH那样复杂;同时,PTHrP对糖尿病影响的研究表明:PTHrP(1-36)能促进胰岛 $\beta$ 细胞的增殖,增加 $\beta$ 细胞的存活率,诱导胰岛素的表达,改善葡萄糖耐量,且对腹腔注射链脲佐菌素产生的细胞毒性具有良好的抵抗力。由此可以看出,PTHrP可以作为糖尿病合并骨质疏松的一种老年性用药,同时对此类疾病造成的糖尿病性骨质疏松性骨折有良好的预防和治疗作用。

对于PTHrP在糖尿病性骨质疏松性造成的骨折中所起作用的研究很少,并且糖尿病起因和分型复杂,动物造模和基因缺失模型鼠发病机制不同,PTHrP在此

类骨折愈合中的影响仍需进一步细致、深入的研究。

但是,针对最根本的问题,即糖尿病合并骨质疏松造成的骨折,导致糖尿病的致残致死率高,治疗和康复困难。PTHrP破骨作用的研究、其核定位序列和C端肽的作用机制,以及在骨折愈合不同分期的过程中,如何控制用量以达到对成骨和破骨作用的灵活调控,与其他药物的联合用药效果问题,将成为新的靶点。

**作者贡献:** 作者构思并设计本综述,同时收集和分析相关材料,经过4次修改,作者对本文负责。

**利益冲突:** 文章及内容不涉及相关利益冲突。

**伦理批准:** 没有与相关伦理道德冲突的内容。

**学术术语:** 甲状旁腺激素相关肽-是在伴有高钙血症的癌症患者中被发现的一种多肽类物质,因其氨基末端结构和功能与甲状旁腺激素十分相似而得名。它在许多生理过程中扮演了一个重要的角色,包括胎儿骨骼发育、细胞生长和分化和上皮间充质细胞的相互作用。

**作者声明:** 文章为原创作品,无抄袭剽窃,无泄密及署名和专利争议,内容及数据真实,文责自负。

### 4 参考文献 References

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med*. 2010;362(12): 1090-1101.
- [2] Esbrit P, Alcaraz MJ. Current perspectives on parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein (PTHrP) as bone anabolic therapies. *Biochem Pharmacol*. 2013;85(10): 1417-1423.
- [3] Wysolmerski JJ. Parathyroid hormone-related protein: an update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(9):2947-2956.
- [4] Plawner LL, Philbrick WM, Burtis WJ, et al. Cell type-specific secretion of parathyroid hormone-related protein via the regulated versus the constitutive secretory pathway. *J Biol Chem*. 1995;270(23):14078-14084.
- [5] Wu TL, Vasavada RC, Yang K, et al. Structural and physiologic characterization of the mid-region secretory species of parathyroid hormone-related protein. *J Biol Chem*. 1996; 271(40):24371-24381.
- [6] Fenton AJ, Martin TJ, Nicholson GC. Long-term culture of disaggregated rat osteoclasts: inhibition of bone resorption and reduction of osteoclast-like cell number by calcitonin and PTHrP[107-139]. *J Cell Physiol*. 1993;155(1):1-7.
- [7] Karaplis AC, Luz A, Glowacki J, et al. Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene. *Genes Dev*. 1994;8(3):277-289.
- [8] Amizuka N, Henderson JE, Hoshi K, et al. Programmed cell death of chondrocytes and aberrant chondrogenesis in mice homozygous for parathyroid hormone-related peptide gene deletion. *Endocrinology*. 1996;137(11):5055-5067.
- [9] Vortkamp A, Lee K, Lanske B, et al. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. *Science*. 1996;273(5275):613-622.
- [10] Lanske B, Karaplis AC, Lee K, et al. PTH/PTHrP receptor in early development and Indian hedgehog-regulated bone growth. *Science*. 1996;273(5275):663-666.

- [11] Deschaseaux F, Sensébé L, Heymann D. Mechanisms of bone repair and regeneration. *Trends Mol Med*. 2009;15(9):417-429.
- [12] 张在慧. 糖尿病骨质疏松发病机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(21):3644-3646.
- [13] Dennison EM, Syddall HE, Aihie Sayer A, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with increased axial bone density in men and women from the Hertfordshire Cohort Study: evidence for an indirect effect of insulin resistance. *Diabetologia*. 2004;47(11):1963-1968.
- [14] Schwartz AV, Sellmeyer DE, Strotmeyer ES, et al. Diabetes and bone loss at the hip in older black and white adults. *J Bone Miner Res*. 2005;20(4):596-603.
- [15] Toulis KA, Anastasilakis AD, Polyzos SA, et al. Targeting the osteoblast: approved and experimental anabolic agents for the treatment of osteoporosis. *Hormones (Athens)*. 2011; 10(3):174-195.
- [16] Yoshida O, Inaba M, Terada M, et al. Impaired response of human osteosarcoma (MG-63) cells to human parathyroid hormone induced by sustained exposure to high glucose. *Miner Electrolyte Metab*. 1995;21(1-3):201-204.
- [17] Dennison EM, Syddall HE, Aihie Sayer A, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with increased axial bone density in men and women from the Hertfordshire Cohort Study: evidence for an indirect effect of insulin resistance. *Diabetologia*. 2004;47(11):1963-1968.
- [18] Inzerillo AM, Epstein S. Osteoporosis and diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord*. 2004;5(3):261-268.
- [19] Schwartz AV, Sellmeyer DE, Vittinghoff E, et al. Thiazolidinedione use and bone loss in older diabetic adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(9):3349-3354.
- [20] Cortizo AM, Sedlinsky C, McCarthy AD, et al. Osteogenic actions of the anti-diabetic drug metformin on osteoblasts in culture. *Eur J Pharmacol*. 2006;536(1-2):38-46.
- [21] Dawson-Hughes B, National Osteoporosis Foundation Guide Committee. A revised clinician's guide to the prevention and treatment of osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(7):2463-2465.
- [22] Leslie WD, Rubin MR, Schwartz AV, et al. Type 2 diabetes and bone. *J Bone Miner Res*. 2012;27(11):2231-2237.
- [23] Torres-Sánchez I, Valenza MC, Carrasco F, et al. Endocrinometabolic disorders in chronic obstructive pulmonary disease. *Nutr Hosp*. 2013;28(4):1022-1030.
- [24] Katsarou O, Terpos E, Chatzismalis P, et al. Increased bone resorption is implicated in the pathogenesis of bone loss in hemophiliacs: correlations with hemophilic arthropathy and HIV infection. *Ann Hematol*. 2010;89(1):67-74.
- [25] Plotkin H, Gundberg C, Mitnick M, et al. Dissociation of bone formation from resorption during 2-week treatment with human parathyroid hormone-related peptide-(1-36) in humans: potential as an anabolic therapy for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2786-2791.
- [26] Horwitz MJ, Tedesco MB, Gundberg C, et al. Short-term, high-dose parathyroid hormone-related protein as a skeletal anabolic agent for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(2):569-575.
- [27] Legakis I. The role of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Mini Rev Med Chem*. 2009;9(6):717-723.
- [28] Hildreth BE 3rd, Werbeck JL, Thudi NK, et al. PTHrP 1-141 and 1-86 increase in vitro bone formation. *J Surg Res*. 2010; 162(2):e9-17.
- [29] Hilton MJ, Tu X, Cook J, et al. Ihh controls cartilage development by antagonizing Gli3, but requires additional effectors to regulate osteoblast and vascular development. *Development*. 2005;132(19):4339-4351.
- [30] Koziel L, Wuelling M, Schneider S, et al. Gli3 acts as a repressor downstream of Ihh in regulating two distinct steps of chondrocyte differentiation. *Development*. 2005;132(23): 5249-5260.
- [31] Deschaseaux F, Sensébé L, Heymann D. Mechanisms of bone repair and regeneration. *Trends Mol Med*. 2009;15(9): 417-429.
- [32] Lum L, Beachy PA. The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers. *Science*. 2004;304(5678):1755-1759.
- [33] Long F, Chung UI, Ohba S, et al. Ihh signaling is directly required for the osteoblast lineage in the endochondral skeleton. *Development*. 2004;131(6):1309-1318.
- [34] Ohba S, Kawaguchi H, Kugimiya F, et al. Patched1 haploinsufficiency increases adult bone mass and modulates Gli3 repressor activity. *Dev Cell*. 2008;14(5):689-699.
- [35] Mak KK, Bi Y, Wan C, et al. Hedgehog signaling in mature osteoblasts regulates bone formation and resorption by controlling PTHrP and RANKL expression. *Dev Cell*. 2008; 14(5):674-688.
- [36] Ruizi Altaba A, Mas C, Stecca B. The Gli code: an information nexus regulating cell fate, stemness and cancer. *Trends Cell Biol*. 2007;17(9):438-447.
- [37] Guthalu Kondegowda N, Joshi-Gokhale S, Harb G, et al. Parathyroid hormone-related protein enhances human  $\beta$ -cell proliferation and function with associated induction of cyclin-dependent kinase 2 and cyclin E expression. *Diabetes*. 2010;59(12):3131-3138.
- [38] Williams K, Abanquah D, Joshi-Gokhale S, et al. Systemic and acute administration of parathyroid hormone-related peptide(1-36) stimulates endogenous beta cell proliferation while preserving function in adult mice. *Diabetologia*. 2011; 54(11):2867-2877.
- [39] Zhang B, Hosaka M, Sawada Y, et al. Parathyroid hormone-related protein induces insulin expression through activation of MAP kinase-specific phosphatase-1 that dephosphorylates c-Jun NH2-terminal kinase in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2003;52(11):2720-2730.
- [40] Legakis I, Mantouridis T. Positive correlation of PTH-related peptide with glucose in type 2 diabetes. *Exp Diabetes Res*. 2009;2009:291027.
- [41] Romero M, Ortega A, Izquierdo A, et al. Parathyroid hormone-related protein induces hypertrophy in podocytes via TGF- $\beta$ (1) and p27(Kip1): implications for diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(8):2447-2457.
- [42] Lozano D, Fernández-de-Castro L, Portal-Núñez S, et al. The C-terminal fragment of parathyroid hormone-related peptide promotes bone formation in diabetic mice with low-turnover osteopaenia. *Br J Pharmacol*. 2011;162(6):1424-1438.
- [43] Lozano D, de Castro LF, Dapia S, et al. Role of parathyroid hormone-related protein in the decreased osteoblast function in diabetes-related osteopenia. *Endocrinology*. 2009;150(5): 2027-2035.