

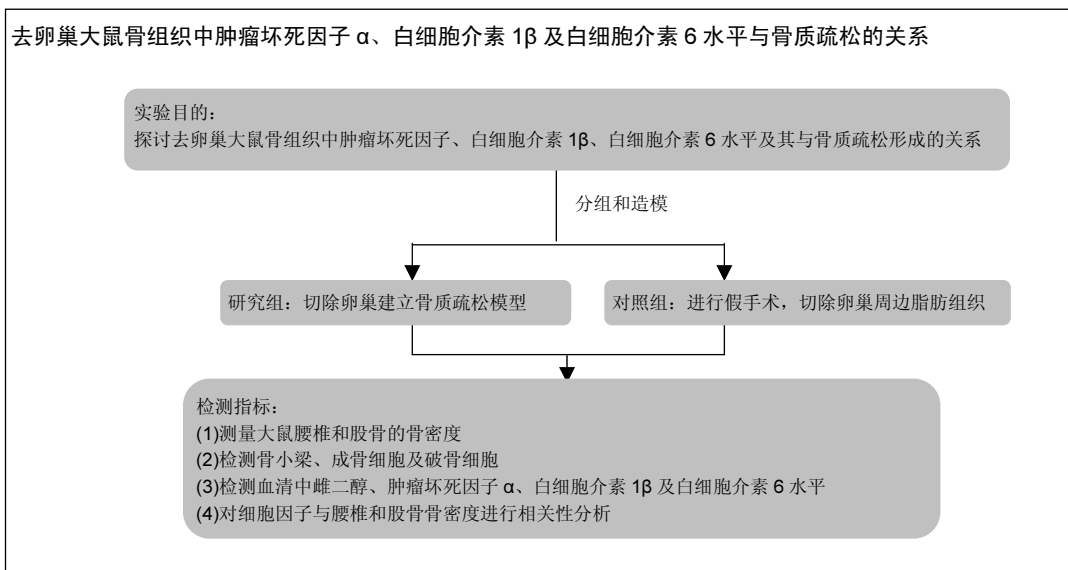
去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 及白细胞介素6水平与骨质疏松的关系

朱书涛, 刘洋, 张明辉, 王晓(河南大学淮河医院骨科, 河南省开封市 475000)

引用本文: 朱书涛, 刘洋, 张明辉, 王晓. 去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 及白细胞介素6水平与骨质疏松的关系[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(15):2206-2211.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.15.011 ORCID: 0000-0002-0305-4587(朱书涛)

文章快速阅读:



朱书涛, 男, 1980年生, 河南省项城市人, 汉族, 2008年南方医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事关节及骨质疏松症研究。

通讯作者: 刘洋, 博士, 副主任医师, 副教授, 河南大学淮河医院骨科, 河南省开封市 475000

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)15-02206-06

稿件接受: 2016-02-05

http://WWW.crter.org

文题释义:

白细胞介素: 是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子。最初是指由白细胞产生又在白细胞间起调节作用的细胞因子。现在是指一类分子结构和生物学功能已基本明确, 具有重要调节作用而统一命名的细胞因子, 它和血细胞生长因子同属细胞因子。两者相互协调, 相互作用, 共同完成造血和免疫调节功能。白细胞介素在传递信息, 激活与调节免疫细胞, 介导 T、B 细胞活化、增殖与分化及在炎症反应中起重要作用。

骨密度: 是骨骼矿物质密度, 是骨质量的重要标志之一, 用于反映骨质疏松程度及预测骨折危险性。单位是 g/cm^2 , 不同的仪器检测方法检测绝对值不同, 采用 T 值判断骨密度, 参考值为 $-1 \sim 1$, 若 $T < -2.5$, 则表示发生骨质疏松。

摘要

背景: 研究发现, 肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 、白细胞介素6分泌量与骨质疏松的形成之间联系紧密。

目的: 进一步分析去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 、白细胞介素6水平及其与骨质疏松形成的关系。

方法: 3个月龄雌性 SD 大鼠 60只, 根据随机数表法, 将大鼠分为对照组和研究组, 每组 30只。研究组大鼠通过手术去除卵巢, 并建立骨质疏松模型, 而对照组大鼠保留卵巢, 腹腔注射等量生理盐水, 实验周期 12周。造模后 1周检测大鼠血清中雌二醇水平, 采用骨密度仪测量大鼠骨密度, 并检测骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 及白细胞介素6水平, 分析细胞因子和骨密度之间的相关性。

结果与结论: 研究组血清中雌二醇水平明显低于对照组($P=0.007$); 研究组大鼠腰椎和股骨骨密度显著低于对照组($P=0.006, 0.004$); 研究组骨小梁和成骨细胞占视野面积比例明显低于对照组, 而破骨细胞占视野面积比例显著高于对照组($P=0.037, 0.029, 0.044$); 与对照组相比, 研究组骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 及白细胞介素6水平明显升高($P=0.032, 0.031, 0.025$); 研究组大鼠骨组织中

Zhu Shu-tao, Master,
Attending physician,
Department of
Orthopedics, Huaihe
Hospital, Henan
University, Kaifeng
475000, Henan Province,
China

Corresponding author: Liu
Yang, M.D., Associate
chief physician, Associate
professor, Department of
Orthopedics, Huaihe
Hospital, Henan University,
Kaifeng 475000, Henan
Province, China

肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 水平与腰椎和股骨骨密度均呈负相关($P < 0.05$)。结果说明, 去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 水平升高, 破骨细胞占视野面积比例升高, 增强破骨活动, 骨小梁和成骨细胞占视野面积比例下降, 加速骨吸收进程, 导致形成骨质疏松。

关键词:

组织构建; 骨组织工程; 卵巢; 骨组织; 细胞因子; 骨质疏松

主题词:

卵巢; 细胞因子; 骨质疏松; 组织工程

Relationship between the levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta and interleukin 6 of bone tissue and osteoporosis in ovariectomized rats

Zhu Shu-tao, Liu Yang, Zhang Ming-hui, Wang Xiao (Department of Orthopedics, Huaihe Hospital, Henan University, Kaifeng 475000, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: It has found that secretions of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 1β (IL- 1β) and interleukin 6 (IL-6) are closely related to osteoporosis

OBJECTIVE: To further investigate the levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6 of bone tissue in ovariectomized rats and their relationship with osteoporosis.

METHODS: Sixty 3-month-old female Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group and test group ($n=30$ per group). In the test group osteoporosis model was induced by ovariectomy followed by intraperitoneal injection of aluminum nitride solution; while rats in the control group were given intraperitoneal injection of normal saline without ovariectomy. The experiment cycle was 12 weeks. One week after modeling, serum level of estradiol was tested, and the bone mineral density of rats measured with bone densitometry. In the meanwhile, the levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6 in bone tissue were detected to analyze the correlation between cytokines and bone mineral density.

RESULTS AND CONCLUSION: The level of serum estradiol in the test group was significantly lower than that in the control group ($P=0.007$); the bone mineral density of the lumbar spine and femur in the test group was significantly lower than that in the control group ($P=0.006, 0.004$). Compared with the control group, the percentages of trabecular bone and osteoblast area within the visual field in the test group were significantly lower, while the osteoclast area within the visual field was significantly higher ($P=0.037, 0.029, 0.044$). Compared with the control group, the levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6 in the test group significantly increased ($P=0.032, 0.031, 0.025$). And the bone mineral density of the lumbar spine and femur was negatively correlated with the levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6 in the test group ($P < 0.05$). In conclusion, the osteoclast activity is enhanced by elevating the levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6 of bone tissue of ovariectomized rats, and increasing the percentage of osteoclast area within the visual field. Moreover, the percentages of trabecular bone and osteoblast area within the visual field have a decline, which accelerates the process of bone resorption and leads to the formation of osteoporosis.

Subject headings: Ovary; Cytokines; Osteoporosis; Tissue Engineering

Cite this article: Zhu ST, Liu Y, Zhang MH, Wang X. Relationship between the levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta and interleukin 6 of bone tissue and osteoporosis in ovariectomized rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(15):2206-2211.

0 引言 Introduction

骨组织随时处于代谢状态中, 重复进行吸收和形成的过程, 通过骨骼的基本多细胞单位, 即破骨细胞和成骨细胞之间相互偶联及制约, 促进骨骼的新陈代谢, 各种因素通过影响破骨细胞和成骨细胞数量进而导致骨骼发生病变, 常发生骨质疏松^[1-2]。骨质疏松是临床上常见的一种全身骨代谢疾病, 临床症状为骨量减少及骨组织微结构退变, 同时伴随骨折和脆性增加^[3-4]。

骨质疏松多发于老年人, 尤其是绝经后妇女, 即绝经后骨质疏松症, 属于 I 型骨质疏松症, 绝经后的妇女卵巢功能下降, 雌激素分泌量下降, 造成骨偶联过程失衡, 净骨量下降, 骨脆性增加, 最终导致出现骨质疏松^[5]。

骨质疏松的致病机制尚未明确, 近年来随着骨质疏松发病机制的深入研究, 人们发现细胞因子如肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 、白介素 6 分泌量与骨质疏松

的形成之间联系紧密,因此众多学者将骨质疏松的研究重点转移到细胞因子方面上^[6-7]。

实验通过建立骨质疏松大鼠模型,检测其相关骨密度及骨组织中细胞因子的表达,探讨去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介素1 β 、白介素6水平对骨质疏松形成的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年10月至2015年3月在河南大学淮河医院中心实验室完成。

1.3 材料

实验动物: 无特定病原体(specific pathogen free, SPF)的3月龄雌性SD大鼠60只,由北京中国医学科学院实验动物研究所提供(动物合格批号: SCXK-00-0006),体质量220-260 g,平均(242.85 \pm 10.58) g,排除患有疾病或体质量超标的大鼠。实验过程中对大鼠的处理过程符合中华人民共和国技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》要求。

根据随机数表法,将大鼠分为对照组和研究组,每组30只。其中对照组中大鼠体质量220-258 g,平均(241.03 \pm 11.43) g;研究组中大鼠体质量222-260 g,平均(243.94 \pm 10.32) g。自然光照,动物房温度20-23 $^{\circ}$ C,湿度35%-40%,自由饮食和进水。

试剂与仪器: 戊巴比妥钠,由山东新华制药股份有限公司提供,国药准字H37020271,规格为0.1 g/支;氯化铝,由齐鲁制药有限公司提供,国药准字H10950060,规格为50 mg/支。大鼠肿瘤坏死因子 α 、白介素1 β 、白介素6和雌二醇试剂盒均购自联科生物技术有限公司。美国GE公司的DEXA骨密度仪(Lunar Prodigy型)、MetaMor-ph DP10图像分析仪和美国BIO-RAD公司的NovapathTM型酶联免疫检测仪。

1.4 方法

1.4.1 骨质疏松造模

研究组: 进行造模前,使用戊巴比妥钠40mg/kg腹腔注射麻醉大鼠,固定四肢,腹部进行常规消毒,取下腹部正中切口,打开腹腔,逐层分离组织,摘除大鼠双侧卵巢,分层缝合切口,并对切口进行消毒,术后使用青霉素做抗感染治疗。造模后1周后,将氯化铝溶解于100 mL生理盐水中,配制成0.05 g/L溶液,过滤并杀菌,以0.25 mg/kg腹腔注射,建立大鼠骨质疏松模型。

对照组: 麻醉及手术方式同研究组,不切除卵巢,仅切除卵巢周围同等大小的脂肪组织,造模后的缝合及处理方法同研究组。造模后1周后,腹腔注射等量的生理盐水。

实验周期为12周,之后处死所有大鼠,进行检测。

1.4.2 骨密度及相关细胞检测 使用1%戊巴比妥钠40 mg/kg腹腔注射麻醉大鼠,使大鼠头部、身体与尾部在一条直线上,采用美国GE公司的DEXA骨密度仪测量大鼠腰椎和股骨的骨密度。实验结束后从两组大鼠组织切片中,采用MetaMor-ph DP10图像分析仪在30个低倍镜视野下观察骨小梁占视野面积比,30个高倍镜视野下计数成骨细胞及破骨细胞占视野面积比。

1.4.3 细胞因子检测 造模后1周,大鼠眼内眦取血,静置半小时,4 000 r/min,离心10 min,取上清测定雌二醇水平。实验结束后,于无菌条件下取大鼠右侧股骨及胫骨,使用骨钳将Hank's液反复冲洗的骨组织分离成1 mm \times 1 mm \times 1 mm碎块,将2 g骨碎块置于3 mL含体积分数5%胎牛血清的RPMI1640培养液,温度为37 $^{\circ}$ C,湿度为100%,体积分数5%CO₂的培养箱中培养48 h,离心培养液,采用美国BIO-RAD公司的NovapathTM型酶联免疫检测仪和酶联免疫吸附测定法检测大鼠骨组织中细胞因子肿瘤坏死因子 α 、白介素1 β 、白介素6的水平,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5 主要观察指标 ①两组大鼠雌二醇水平和骨密度比较。②两组大鼠骨小梁及成骨细胞、破骨细胞比较。③两组大鼠骨小梁及成骨细胞、破骨细胞比较。④两组大鼠细胞因子水平比较。⑤细胞因子与腰椎和股骨骨密度的相关性分析。

1.6 统计学分析 应用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;细胞因子和大鼠骨密度的相关性采用Pearson correlation分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠60只,分为2组,实验过程无脱失,全部进入结果分析。

2.2 两组大鼠雌二醇水平和骨密度比较 研究组大鼠血清中雌二醇水平明显低于对照组,且差异有显著性意义($t=33.29$, $P=0.007$);研究组大鼠腰椎和股骨骨密度显著低于对照组,且差异均有显著性意义($t=38.84$, 58.26 , $P=0.006$, 0.004),见表1。

表1 两组大鼠雌二醇水平和骨密度比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=30$)
Table 1 Comparisons of levels of estradiol and bone mineral density between two groups

组别	雌二醇(pg/L)	骨密度(g/cm ²)	
		腰椎	股骨
对照组	37.47±6.93	0.192±0.021	0.181±0.012
研究组	14.28±3.21	0.117±0.014	0.106±0.026
<i>t</i>	33.29	38.84	58.26
<i>P</i>	0.007	0.006	0.004

2.3 两组大鼠骨小梁及成骨细胞、破骨细胞比较 研究组骨小梁和成骨细胞占视野面积比例明显低于对照组, 而破骨细胞占视野面积比例显著高于对照组, 且差异有显著性意义($t=6.30, 8.04, 5.30, P=0.037, 0.029, 0.044$), 见表2。

表2 两组大鼠骨小梁及成骨细胞、破骨细胞占视野面积比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=30, \%$)
Table 2 Comparison of the percentages of trabecular bone, osteoblast and osteoclast area within the visual field between two groups

组别	骨小梁	成骨细胞	破骨细胞
对照组	11.85±2.43	96.84±9.25	8.03±0.57
研究组	5.26±0.39	80.43±6.18	15.32±2.04
<i>t</i>	6.30	8.04	5.30
<i>P</i>	0.037	0.029	0.044

2.4 两组大鼠细胞因子水平比较 与对照组相比, 研究组骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介细胞素 1β 及白介细胞素 6 水平明显升高, 且差异均有显著性意义($t=7.28, 7.52, 9.32, P=0.032, 0.031, 0.025$), 见表3。

表3 两组大鼠骨组织中细胞因子水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=30, \text{pg/L}$)
Table 3 Comparisons of levels of cytokines in bone tissue between two groups

组别	肿瘤坏死因子 α	白介细胞素 1β	白介细胞素 6
对照组	137.48±12.94	102.25±9.04	85.34±8.32
研究组	159.21±11.02	115.73±10.82	99.43±8.17
<i>t</i>	7.28	7.52	9.32
<i>P</i>	0.032	0.031	0.025

2.5 研究组大鼠细胞因子与腰椎和股骨骨密度的相关性分析 研究组大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介

细胞素 1β 及白介细胞素 6 水平与腰椎和股骨骨密度均呈负相关, 且差异均有显著性意义($P < 0.05$), 见表4。

表4 研究组大鼠细胞因子与腰椎和股骨骨密度的相关性分析
Table 4 Correlation analysis of cytokines and bone mineral density of the lumbar spine and femur in the test group

细胞因子	腰椎骨密度		股骨骨密度	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
肿瘤坏死因子 α	-0.069	0.037	-0.106	0.024
白介细胞素 1β	-0.088	0.029	-0.056	0.046
白介细胞素 6	-0.142	0.018	-0.073	0.035

表注: 研究组大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介细胞素 1β 及白介细胞素 6 水平与腰椎和股骨骨密度均呈负相关。

3 讨论 Discussion

正常机体骨骼中破骨细胞和成骨细胞的活性和数量趋于平衡^[8], 骨质疏松的致病过程是破骨细胞增多导致骨吸收不平衡的过程, 骨质的丢失与破骨细胞的数量紧密相关^[9]。细胞因子是一类糖蛋白分子, 生物学功能具有多样性, 多种细胞因子可以影响破骨细胞的活性, 同时破骨细胞可以通过分泌大量的酸和水解酶来溶解骨质, 使得骨小梁变薄, 甚至出现断裂的现象, 最终形成骨质疏松^[10-11]。在骨质疏松形成的过程中, 微环境中的分子机制具有重要作用, 随着分子生物学的研究不断深入, 逐渐认识到细胞因子在调节骨形成和骨吸收的过程中形成的相互作用及影响^[12]。目前研究最多的细胞因子是肿瘤坏死因子 α 、白介细胞素 1β 及白介细胞素 6 , 是最强的骨吸收刺激因子, 这3种因子可以直接或间接作用于破骨细胞前体细胞, 增强骨吸收重建^[13]。绝经后雌激素的分泌量下降, 导致机体对于肿瘤坏死因子 α 及白介细胞素 1β 启动子的拮抗作用低下, 同时不能抑制白介细胞素 6 的转录^[14]。

临床上骨质疏松大鼠造模方法主要有灌胃维甲酸、切除双侧卵巢及灌胃糖皮质激素, 其中最经典的是切除雌性大鼠双侧卵巢^[9], 本研究中在切除雌性大鼠双侧卵巢的基础上, 腹腔注射氯化铝, 加速骨质疏松大鼠模型的建立^[13], 结果显示研究组大鼠血清中雌二醇水平明显低于对照组($P < 0.01$), 提示卵巢摘除干净, 未有残留; 且研究组大鼠腰椎和股骨骨密度显著低于对照组, 且差异均有显著性意义($P < 0.01$), 表明造模骨质疏松大鼠造模成功。另外, 研究组骨小梁和成骨细胞占视野面积比例明显低于对照组, 而破骨细胞占视野面积比例显著

高于对照组, 且差异有显著性意义($P < 0.05$), 再次证明研究组骨质疏松大鼠造模成功。

肿瘤坏死因子 α 是由单核-巨噬细胞、内皮细胞及淋巴细胞等产生的细胞因子, 具有广泛的生物活性, 可以加速骨吸收, 促进骨相关细胞凋亡, 同时还可以增强破骨细胞的增殖和分化^[15]。白介素 1 是一类影响各种细胞因子的低分子蛋白, 主要由中性粒细胞、单核-巨噬细胞分泌, 可以分为白介素 1α 和白介素 1β 两种, 两者均具有促进骨吸收的作用^[16], 其中白介素 1β 是其中较强的刺激骨吸收的因子之一^[17]。此外, 白介素 6 也是骨质疏松的重要预测因子之一, 具有多种生物活性, 主要是由免疫细胞、内皮细胞及纤维母细胞等产生, 具有激活破骨细胞的性质, 促进髓内基质细胞转化为成熟骨细胞^[18]。

研究发现研究组大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 水平明显高于对照组, 且差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 表明骨质疏松大鼠骨组织中细胞因子水平升高, 提示细胞因子水平可能与骨质疏松的发生具有联系。进一步通过 Pearson 相关性分析, 得出骨质疏松大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 水平与腰椎和股骨骨密度均呈负相关的结论。3 种细胞因子相互影响和相互促进, 三者诱导骨质疏松的机制分别为: 肿瘤坏死因子 α 可以通过刺激巨噬细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、白介素 1β 及白介素 6 的释放, 从而促进破骨祖细胞的增殖, 另外还可以促进前列腺素 E2 的释放, 诱导破骨细胞分化因子的表达, 并下调骨保护素的表达^[19-20]。白介素 1β 作为“上游因子”可以刺激“下游因子”, 如巨噬细胞集落刺激因子、肿瘤坏死因子 α 、白介素 6 及促进前列腺素 E2, 间接激活破骨细胞, 并抑制其凋亡, 加速骨吸收进程^[21], 白介素 1β 还可以促进破骨细胞黏附于钙化的骨小梁的表面, 从而加速骨吸收^[22]。白介素 6 提高破骨细胞的活性, 并抑制其凋亡, 并通过骨保护素/破骨细胞分化因子系统增强破骨细胞能力, 提高骨丢失量, 最终导致骨质疏松^[23]; 白介素 6 以自分泌或旁分泌的形式作用于成骨细胞, 同时通过调节 $bax/bcl-2$ 比值, 促进成骨细胞凋亡^[24]。肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 共同提高破骨细胞的活性, 加速骨吸收进程, 抑制破骨细胞的凋亡, 促进成骨细胞的凋亡^[19-21]。

综上所述, 去卵巢大鼠骨组织中细胞因子肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 及白介素 6 水平升高, 对

骨骼具有调节作用, 增强骨吸收, 增加破骨细胞的活性和数量, 出现骨吸收强于骨形成的局面, 最终导致骨质疏松的产生, 这对临床上治疗绝经后骨质疏松提供了理论基础。

作者贡献: 实验设计为刘洋、王晓, 实验实施和评估为朱书涛和张明辉。

利益冲突: 所有作者共同认可文章有无相关利益冲突。

伦理问题: 实验动物在戊巴妥钠麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 郑清华, 秦尔奇, 赵中亭, 等. 雌激素与免疫在绝经后骨质疏松发病机理中的研究进展[J]. 中国医学创新, 2014, (13): 147-149, 150.
- [2] Jones DR. A potential osteoporosis target in the FAS ligand/FAS pathway of osteoblast to osteoclast signaling. *Ann Transl Med.* 2015;3(14):189.
- [3] 王袖和, 王长庆, 朱玉平, 等. 雌激素干预骨质疏松大鼠牙槽骨改建过程中白细胞介素1的表达. *中国组织工程研究*, 2013, 17(46):8012-8017.
- [4] Okazaki R. Pharmacological treatment of other types of secondary osteoporosis. *Nihon Rinsho.* 2015;73(10): 1740-1745.
- [5] 卢守亮. 绝经后骨质疏松症妇女血清IL-8、10水平及雌激素对去势大鼠血清IL-8、10水平影响[D]. 天津医科大学, 2013.
- [6] Ostrowska Z, Ziara K, Oświęcimiska J, et al. Selected pro-inflammatory cytokines, bone metabolism, osteoprotegerin, and receptor activator of nuclear factor- κ B ligand in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol.* 2015;66(4):313-21.
- [7] Al-Daghri NM, Yakout S, Al-Shehri E, et al. Inflammatory and bone turnover markers in relation to PTH and vitamin D status among Saudi postmenopausal women with and without osteoporosis. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7(10):3528-3535.

- [8] He LH, Xiao E, Duan DH, et al. Osteoclast Deficiency Contributes to Temporomandibular Joint Ankylosed Bone Mass Formation. *J Dent Res*. 2015;94(10): 1392-1400.
- [9] 毛海琴, 杜义斌, 徐莹, 等. 骨疏颗粒对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度及血清细胞因子的影响[J]. *环球中医药*, 2015, (9): 1081-1084.
- [10] Ardawi MM, Badawoud MH, Hassan SM, et al. Lycopene treatment against loss of bone mass, microarchitecture and strength in relation to regulatory mechanisms in a postmenopausal osteoporosis model. *Bone*. 2015;83: 127-140.
- [11] Taylan A, Sari I, Akinci B, et al. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012;13: 191.
- [12] 邵泓达, 汤光宇. 去势骨质疏松的发病机制研究进展[J]. *上海医学*, 2014, 37(1): 94-96.
- [13] 张国如, 陈柏龄, 吴兴源, 等. 细胞因子在大鼠骨质疏松及疼痛中作用机制[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(2): 162-163.
- [14] Pineda B, Hermenegildo C, Tarín JJ, et al. Effects of administration of hormone therapy or raloxifene on the immune system and on biochemical markers of bone remodeling. *Menopause*. 2012;19(3): 319-327.
- [15] Qian H, Yuan H, Wang J, et al. A monoclonal antibody ameliorates local inflammation and osteoporosis by targeting TNF- α and RANKL. *Int Immunopharmacol*. 2014;20(2): 370-376.
- [16] Rahnama M, Jastrzębska I, Jamrogiewicz R, et al. IL-1 α and IL-1 β levels in blood serum and saliva of menopausal women. *Endocr Res*. 2013;38(2): 69-76.
- [17] 吴迎爽. 吡格列酮对去卵巢大鼠IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的影响及与骨代谢关系的实验研究[D]. 山西医科大学, 2012.
- [18] Mozzati M, Martinasso G, Maggiora M, et al. Oral mucosa produces cytokines and factors influencing osteoclast activity and endothelial cell proliferation, in patients with osteonecrosis of jaw after treatment with zoledronic acid. *Clin Oral Investig*. 2013;17(4): 1259-1266.
- [19] Vijayan V, Khandelwal M, Manglani K, et al. Homocysteine alters the osteoprotegerin/RANKL system in the osteoblast to promote bone loss: pivotal role of the redox regulator forkhead O1. *Free Radic Biol Med*. 2013;61: 72-84.
- [20] Martínez-Calatrava MJ, Prieto-Potín I, Roman-Blas JA, et al. RANKL synthesized by articular chondrocytes contributes to juxta-articular bone loss in chronic arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(3): R149.
- [21] Yu H, Herbert BA, Valerio M, et al. FTY720 inhibited proinflammatory cytokine release and osteoclastogenesis induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Lipids Health Dis*. 2015;14: 66.
- [22] Thongchote K, Svasti S, Teerapornpuntakit J, et al. Running exercise alleviates trabecular bone loss and osteopenia in hemizygous β -globin knockout thalassemic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;306(12): E1406-17.
- [23] Wang Y, Yang C, Xie WL, et al. Puerarin concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) and interleukin-6 production in human osteoblastic MG-63 cells. *Phytomedicine*. 2014;21(8-9): 1032-1036.
- [24] Chipoy C, Brounais B, Trichet V, et al. Sensitization of osteosarcoma cells to apoptosis by oncostatin M depends on STAT5 and p53. *Oncogene*. 2007;26(46): 6653-6664.