

## · 基础研究 ·

# 重组核因子 $\kappa$ B 活化因子受体蛋白预防小鼠骨质疏松的研究

张里程, 吕厚辰, 熊琦, 张立海, 唐佩福  
(中国人民解放军总医院骨科, 北京 100853)

**【摘要】 目的:** 探讨一种原核表达的重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白对破骨细胞活性及去卵巢小鼠骨质疏松预防作用, 并与目前临床应用最广泛的抗骨质疏松药物-阿伦磷酸钠进行疗效对比。**方法:** 雌性 KM 小鼠 24 只, 3 月龄, 卵巢切除造模后按体重随机分 3 组: 重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组 (1.5 mg/kg, 2 次/周), 阿伦磷酸钠治疗组 (0.21 mg/kg, 1 次/周), 对照组 (PBS 缓冲液, 0.2 ml, 2 次/周)。给药 12 周后, 通过体重、血清钙、血清磷、血清碱性磷酸酶、骨组织 TRAP 染色破骨细胞计数及 Micro-CT 检查进行疗效评估。**结果:** 给药 12 周后, 对照组骨密度 (BMD) ( $92.600 \pm 14.319$ ) mg/cc, 骨小梁厚度 (Tb.Th) ( $0.094 \pm 0.011$ ) mm, 骨小梁间距 (Tb.Sp) ( $0.455 \pm 0.124$ ) mm, 骨体积分数 (BVF)  $0.192 \pm 0.023$ , 结构模型指数 (SMI)  $1.388 \pm 0.328$ ; 重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组 BMD ( $133.050 \pm 13.022$ ) mg/cc, Tb.Th ( $0.098 \pm 0.009$ ) mm, Tb.Sp ( $0.365 \pm 0.105$ ) mm, BVF ( $0.291 \pm 0.025$ )%, SMI  $0.661 \pm 0.384$ ; 阿伦磷酸钠治疗组 BMD ( $128.013 \pm 16.040$ ) mg/cc, Tb.Th ( $0.097 \pm 0.011$ ) mm, Tb.Sp ( $0.376 \pm 0.104$ ) mm, BVF  $0.281 \pm 0.024$ , SMI  $0.753 \pm 0.307$ 。重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白能有效抑制去卵巢引起的骨质疏松, 具有与阿伦磷酸钠同等效果。与 PBS 对照组相比, 重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白治疗组股骨远端 BMD 增加明显, BVF 增加, 骨小梁结构致密, Tb.Th 明显变宽, Tb.Sp 变窄, SMI 降低, 股骨远端脱钙切片 TRAP 染色破骨细胞几乎完全被抑制。**结论:** 在小鼠骨质疏松模型中, 重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白具有阿伦磷酸钠同等疗效, 能明显抑制破骨细胞的吸收活性, 并预防去卵巢引起的骨量丢失。

**【关键词】** 骨质疏松; 破骨细胞; 卵巢切除术; 小鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2013.05.016

## Inhibitory effect of recombinant receptor activator of nuclear factor $\kappa$ B protein on bone loss in ovariectomized mice

ZHANG Li-cheng, LÜ Hou-chen, XIONG Qi, ZHANG Li-hai, and TANG Pei-fu. Department of Orthopaedics, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

**ABSTRACT Objective:** To compare inhibitory effects of recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein with bisphosphonate treatment (ALN) on osteoclasts activity and bone loss in ovariectomized mice. **Methods:** Twenty-four female KM mice were ovariectomized bilaterally and treated with recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein, alendronate, or PBS. Twelve weeks later, body weight, biochemical markers of bone metabolism, Micro CT scan and bone morphology were examined. **Results:** After 12 weeks administration, the Micro CT scan and bone morphology values of each group were as follow. The control group: BMD ( $92.600 \pm 14.319$ ) mg/cc, Tb.Th ( $0.094 \pm 0.011$ ) mm, Tb.Sp ( $0.455 \pm 0.124$ ) mm, BVF  $0.192 \pm 0.023$ , SMI  $1.388 \pm 0.328$ ; the recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein group: BMD ( $133.050 \pm 13.022$ ) mg/cc, Tb.Th ( $0.098 \pm 0.009$ ) mm, Tb.Sp ( $0.365 \pm 0.105$ ) mm, BVF ( $0.291 \pm 0.025$ )%, SMI  $0.661 \pm 0.384$ ; the ALN group: BMD ( $128.013 \pm 16.040$ ) mg/cc, Tb.Th ( $0.097 \pm 0.011$ ) mm, Tb.Sp ( $0.376 \pm 0.104$ ) mm, BVF  $0.281 \pm 0.024$ , SMI  $0.753 \pm 0.307$ . In the ovariectomized mice experiments, both recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein and ALN significantly inhibited ovariectomy-induced bone loss. Compared to the control group (PBS), the recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein group showed increased distal femur BMD and decreased trabecular spacing (Tb.Sp), whereas the control group had significantly decreased distal femur BMD, significantly decreased Tb.Th, and increased Tb.Sp. There was a significant difference in bone volume fraction among the groups. The TRAP-positive osteoclasts in distal femur bone slices were nearly complete inhibited for Recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein group and alendronate group. **Conclusion:** In vivo, recombinant receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B protein effectively inhibits the activity of osteoclasts and the resulting bone loss, which has a similar effect as alendronate.

**KEYWORDS** Osteoporosis; Osteoclasts; Ovariectomy; Mice

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(5):414-418 www.zggszz.com

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81000796, 30973068); 军医进修学院博士研究生创新基金 (编号: 11BCZ02)

Fund program: Provided by the National Natural Science Foundation of China (No. 81000796, 30973068)

通讯作者: 唐佩福 E-mail: pftang301@126.com

核因子- $\kappa$ B 活化因子受体 (receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, RANK) 属于肿瘤坏死因子受体超家族成员, 主要以 I 型跨膜蛋白形式存在于破骨前体细胞或破骨细胞膜上, 通过结合成骨细胞或骨髓基质细胞分泌的核因子- $\kappa$ B 活化因子受体配体 (receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL), 启动破骨细胞的分化、成熟及骨吸收活性<sup>[1-2]</sup>。而最新研究表明, 通过基因工程得到的重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白 (RANK-FC 融合蛋白) 能以外源性受体形式竞争性抑制破骨细胞表面核因子- $\kappa$ B 活化因子受体配体与核因子- $\kappa$ B 活化因子受体结合及信号通路传导, 达到抑制破骨细胞分化及骨吸收效果<sup>[3]</sup>。在前期工作中, 笔者与中科院微生物所合作, 通过一种原核表达体系 (E.coli 菌株 BL21-Gold) 获得一定量高纯度且具有良好生物活性的核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白 (amino acid 26-210), 并在体外实验中验证了其对于破骨细胞特异的抑制能力<sup>[4]</sup>。在本研究中, 拟探讨该重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白在小鼠体内对破骨细胞活性及去卵巢所致骨量丢失的抑制作用, 并与目前临床应用最广泛、公认抑制骨吸收能力最强的双膦酸盐类药物进行对比<sup>[5]</sup>, 为其今后用于临床提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂** 10% 水合氯醛溶液 (解放军总医院药剂科)。重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白 (中国科学院微生物研究所)。阿伦磷酸钠 (美国默沙东公司)。TRAP 染色试剂盒 (美国 Sigma 公司)。

**1.2 实验方法** 在本次研究中, 所有动物实验均经过解放军总医院医学伦理委员会批准, 对实验动物处置符合中华人民共和国科技部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

**1.2.1 小鼠骨质疏松造模** 根据参考文献<sup>[6]</sup>, 选择雌性 KM 小鼠 24 只, 3 月龄, SPF 级, 购自解放军总医院实验动物中心。按 0.3 ml/100 g 体重腹腔注射 10% 水合氯醛溶液, 麻醉效果满意后, 俯卧位固定。于腰背部作正中切口, 并向两侧游离皮下组织, 于一侧腰背筋膜的肌肉与筋膜交界处切开, 用手指挤压该侧腹腔使腹膜后脂肪显露于切口内, 在肾脏下约 1 cm 处见到粉红色的子宫 (直径 1~2 mm) 和粉红色的桑葚状卵巢, 结扎输卵管后游离切除卵巢, 缝合筋膜。双侧卵巢切除后切口内放入青霉素 8 万 U, 缝合皮肤。术后 3 d 内每日青霉素 8 万 U 抗感染, 每日碘伏消毒伤口, 7 d 拆线。所有动物都在同等条件下饲养, 给予标准饲料 (含钙 1.66%, 磷 1.24%)。

**1.2.2 实验分组与给药** 术后 1 周拆线, 按体重随机分为 3 组 (每组 8 只) 并开始给药干预, 共 12 周。

重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组简称 RANK 组 (1.5 mg/kg, 2 次/周), 阿伦磷酸钠组简称 ALN 组 (0.21 mg/kg, 1 次/周), 对照组 (PBS 缓冲液, 0.2 ml, 2 次/周)。给药剂量参照先前报道, 以有效增加骨密度且无明显不良反应为准<sup>[5,7]</sup>。

## 1.3 观察项目与方法

**1.3.1 体重测量** 术后每周测量实验小鼠体重。

**1.3.2 血清钙、磷、碱性磷酸酶检测** 给药 12 周后, 使用 0.3 ml/100 g 体重腹腔注射 10% 水合氯醛溶液进行麻醉, 10 min 后麻醉效果满意后, 在眼后取血 1 ml, 室温下 1 500 r/min 离心 10 min, 留血清标本, 送生化科行血钙、磷、碱性磷酸酶浓度测定。

**1.3.3 Micro-CT 检测** 取所有小鼠的右侧股骨, 70% 乙醇后固定后, 对股骨远端行 Micro-CT 扫描检查 (瑞士 Scanco 公司,  $\mu$ CT-40), 并选择股骨髁上骨骺近端 2 mm 进行重建, 最大分辨率为 27  $\mu$ m, 间隔 21  $\mu$ m。检测指标包括: 骨密度 (BMD, mg/cc), 骨小梁厚度 (Tb.Th, mm), 骨小梁间距 (Tb.Sp, mm), 骨体积分数 (BVF, %), 结构模型指数 (SMI)。

**1.3.4 骨形态学参数** 每组取全部鼠的左侧股骨, 10% 中性甲醛 (pH 7.4) 固定 1 周, 标本 PBS 清洗, 10% EDTA (pH 7.4) 脱钙, 10 d; 标本 PBS 清洗 3 次, 三蒸水过夜; 标本脱水、石蜡包埋, 切片 5  $\mu$ m; 二甲苯脱蜡 (3 $\times$ 5 分), 浓度梯度下降酒精水化; 然后常例行 HE 染色及破骨细胞 TRAP 染色 (甲基绿复染) 封片, 观察各组标本骨小梁形态结构并且对 TRAP 染色阳性破骨细胞进行计数。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 15.0 软件分析, 数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 3 组之间体重, 血清钙、磷、碱性磷酸酶, BMD, Tb.Th, Tb.Sp, BVF, SMI 比较采用方差分析, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 以  $\alpha=0.05$  为检验标准。

## 2 结果

术后切口未出现感染, 愈合良好, 术后 7 d 拆线。在观察过程中, 动物活动、进食情况基本正常。

**2.1 体重测量结果** 卵巢切除术后 1 周, 24 只雌性小鼠按体重随机分为 3 组: 对照组, RANK 组和 ALN 组, 3 组小鼠体重差异无统计学意义 (见表 1)。给药 12 周后, 各组体重均较术后 1 周增加, 但 3 组间体重差异仍无统计学意义 (见表 1)。

**2.2 血清钙、磷、碱性磷酸酶检测结果** 给药 12 周后, 各组间血清钙、磷、碱性磷酸酶检测值差异均无统计学意义 (见表 2)。

**2.3 股骨远端 Micro-CT 扫描与重建结果** 取各组小鼠的右侧股骨标本, 对股骨远端进行 Micro-CT 扫描。发现 PBS 对照组骨小梁稀疏, 结构混乱, 连续性

表 1 各组给药前及给药 12 周小鼠体重( $\bar{x}\pm s$ , g)

Tab.1 Mice body weights before administration and administered for 12 weeks ( $\bar{x}\pm s$ , g)

组别	动物数(只)	术后 1 周	给药 12 周后
对照组	8	43.063±3.080	55.413±3.412
RANK 组	8	43.000±2.829	54.500±3.979
ALN 组	8	43.300±3.082	54.788 ±3.631

注:术后 1 周各组小鼠体重比较,  $F=0.020, P>0.05$ ; 术后 12 周各组小鼠体重比较,  $F=0.128, P>0.05$

Note: One week after administration there was no significant difference among control, RANK group and ALN group ( $F=0.020, P>0.05$ ); 12 weeks after administration there was no significant difference among control, RANK group and ALN group ( $F=0.128, P>0.05$ )

破坏, 呈现为不均一的透 X 线结构 (见图 1a); 阿伦磷酸钠治疗组与重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组股骨远端骨小梁结构正常, 骨小梁连续性好, 厚度分布均匀 (见图 1b-1c)。各组之间 BMD 测量结果差异有统计学意义, 以重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组股骨远端 BMD 最高, 但与阿伦磷酸钠组间比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); Tb.Th 和 Tb.Sp 各组间差异均无统计学意义; 各组间 BVF 差异有统计学意义, 但重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组与阿伦磷酸钠治疗组 BVF 差异无统计学意义; SMI 数值越低, 说明骨小梁结构越致密, 重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组及阿伦磷酸钠治疗组数值低于对照组 (见表 3)。

表 2 各组给药 12 周小鼠血清生化检测结果( $\bar{x}\pm s$ , mmol/L)

Tab.2 Results of serum biochemical test in mice after administration for 12 weeks ( $\bar{x}\pm s$ , mmol/L)

组别	动物数(只)	钙	磷	碱性磷酸酶
对照组	8	2.096±0.368	1.935±0.220	89.088±22.192
RANK 组	8	2.194±0.357	1.829±0.234	99.825±17.618
ALN 组	8	2.138±0.297	1.860±0.198	96.750±19.416

注: 给药 12 周后, 各组小鼠血清钙比较,  $F=0.164, P>0.05$ ; 各组小鼠血清磷比较,  $F=0.502, P>0.05$ ; 各组小鼠血清碱性磷酸酶比较,  $F=0.622, P>0.05$

Note: After 12 weeks administration, there was no significant difference in serum calcium values among each group ( $F=0.164, P>0.05$ ); the values of serum phosphorus among each group have no significant difference ( $F=0.164, P>0.05$ ); the values of ALP in each group have no significant difference ( $F=0.622, P>0.05$ )

2.4 股骨远端脱钙切片 HE 染色及 TRAP 染色观察 股骨远端脱钙切片 HE 染色, 骨组织形态学观察: 对照组骨小梁数量减少、变细、间距增宽, 并失去正常网状结构。而阿伦磷酸钠治疗组与重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组骨小梁数目增多、排列密集交织成网状, 小梁厚度增宽, 小梁间距变窄。股骨远端脱钙切片 TRAP 染色, 观察染色阳性破骨细胞, 对照组有较多 TRAP 染色阳性细胞, 而阿伦磷酸钠治疗组与重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白很少能见到 TRAP 染色阳性破骨细胞 (图 2-3)。各组 TRAP 染色阳性破骨细胞计数: 对照组 11.125±3.271, RANK

表 3 各组股骨远端 Micro-CT 扫描与重建结果( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.3 Micro-CT scanning and reconstruction of distal femur ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	动物数(只)	BMD(mg/cc)	Tb.Th(mm)	Tb.Sp(mm)	BVF(%)	SMI
对照组	8	92.600±14.319	0.094±0.011	0.455±0.124	0.192±0.023	1.388±0.328
RANK 组	8	133.050±13.022	0.098±0.009	0.365±0.105	0.291±0.025	0.661±0.384
ALN 组	8	128.013±16.040	0.097±0.011	0.376±0.104	0.281±0.024	0.753±0.307

注: 各组间骨密度(BMD)值比较,  $F=18.457, P<0.05$ ; 骨小梁厚度(Tb.Th)比较,  $F=0.218, P>0.05$ ; 骨小梁间距(Tb.Sp)比较,  $F=1.542, P>0.05$ ; 骨体积积分数(BVF)比较,  $F=40.912, P<0.05$ ; 结构模型指数(SMI)比较,  $F=10.742, P<0.05$ 。RANK 组与 ALN 组 BVF 比较,  $P>0.05$

Note: Comparison of BMD among three groups,  $F=18.457, P<0.05$ ; comparison of Tb.Th among three groups,  $F=0.218, P>0.05$ ; comparison of Tb.Sp among three group,  $F=1.542, P>0.05$ ; comparison of BVF among three groups,  $F=40.912, P<0.05$ ; comparison of SMI among three groups,  $F=10.742, P<0.05$ . Comparison of BVF between RANK and ALN groups,  $P>0.05$

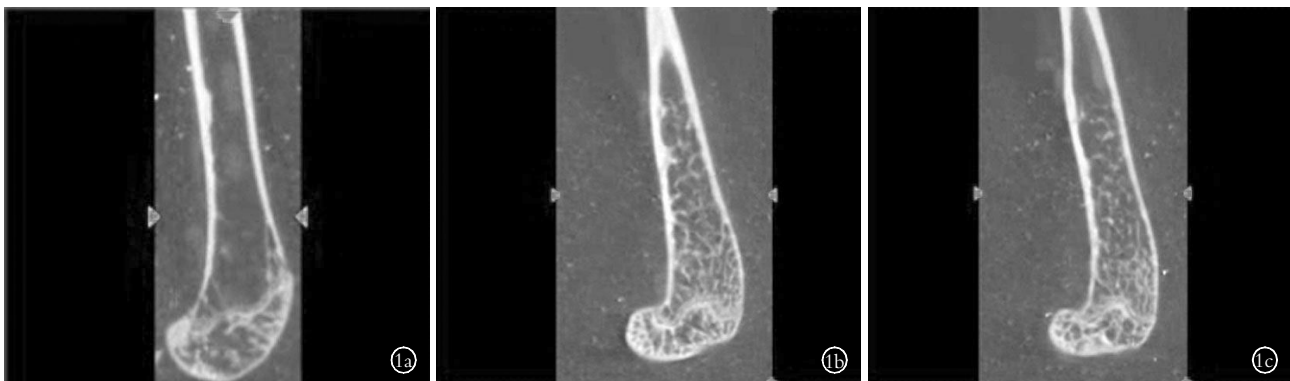


图 1 股骨远端 Micro-CT 扫描结果 1a. 对照组 1b. 重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组 1c. 阿伦磷酸钠组

Fig.1 Micro-CT scanning of distal femur 1a. Control group 1b. RANK group 1c. ALN group

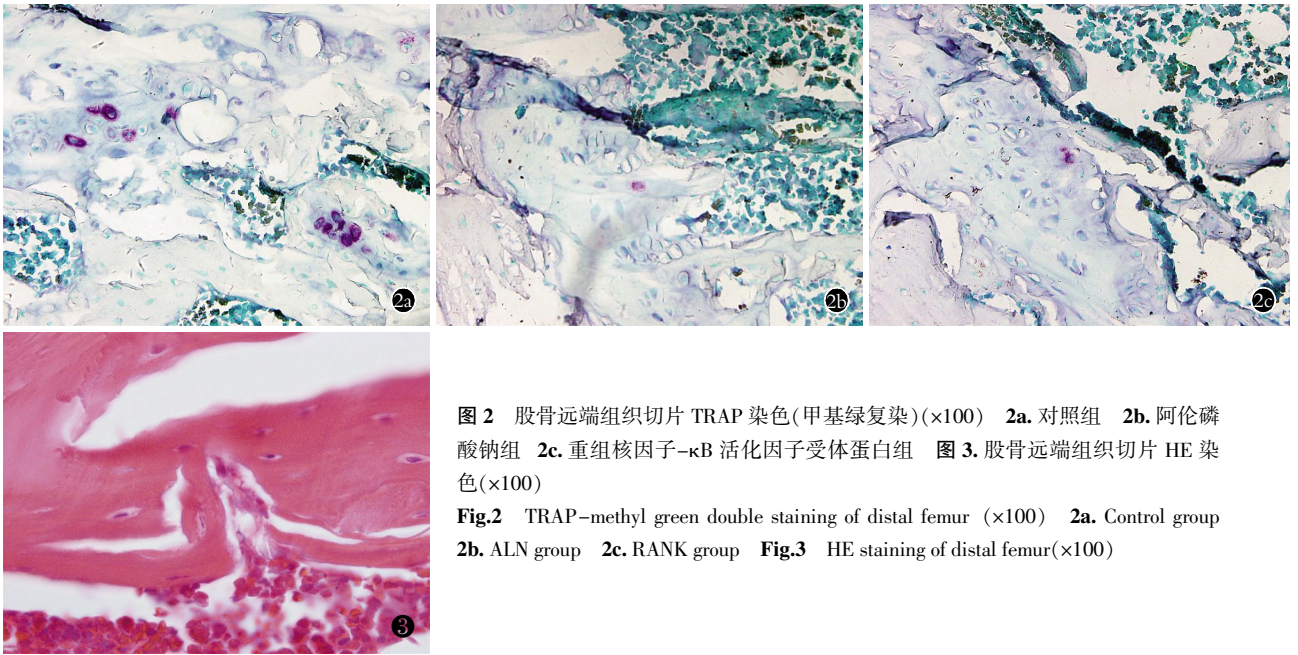


图 2 股骨远端组织切片 TRAP 染色(甲基绿复染)( $\times 100$ ) 2a. 对照组 2b. 阿伦磷酸钠组 2c. 重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组 图 3. 股骨远端组织切片 HE 染色( $\times 100$ )

Fig.2 TRAP-methyl green double staining of distal femur ( $\times 100$ ) 2a. Control group 2b. ALN group 2c. RANK group Fig.3 HE staining of distal femur( $\times 100$ )

组  $1.625 \pm 1.061$ , ALN 组  $1.750 \pm 0.707$ , 各组间 TRAP 染色阳性破骨细胞数差异有统计学意义,  $F=57.836$ ,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

骨骼正常形态维持依赖于骨吸收和骨形成之间的动态平衡, 而破骨细胞活性增强、骨吸收过度, 骨质疏松就会发生。因此, 抑制破骨细胞分化和骨吸收活性是防治骨质疏松关键。体外细胞实验证实, 一种结合了人类免疫球蛋白 IgG Fc 片段的重组人核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白, 能有效抑制破骨细胞分化及吸收活性<sup>[8]</sup>。动物实验结果显示<sup>[9]</sup>, 每日予 200  $\mu$ g 重组人核因子  $\kappa$ B 活化因子受体-Fc 蛋白皮下注射, 6 d 就能显著提升小鼠后肢长骨骨密度。此外, 研究还发现重组人核因子  $\kappa$ B 活化因子受体-Fc 蛋白可以通过抑制破骨细胞活性, 阻断多发性骨髓瘤、肺癌、前列腺癌骨转移造成的骨质破坏<sup>[10-12]</sup>。然而, 未见重组人核因子  $\kappa$ B 活化因子受体-Fc 蛋白应用于骨质疏松预防及治疗方面的研究报道。主要原因在于通过真核表达体系制备大批量、高纯度重组人核因子  $\kappa$ B 活化因子受体-Fc 蛋白工艺仍不成熟, 价格昂贵, 而骨质疏松给药周期又长, 因此限制了其研究应用。而在前期工作中, 笔者与中科院微生物所合作, 通过原核表达体系获得一定量高纯度且具有良好的生物活性的核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白, 为本实验完成提供了良好物质基础。

去卵巢小鼠发生的骨量丢失与绝经后骨质疏松引起的骨丢失有许多共同之处, 因此选用该模型评估原核表达重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白对破骨细胞活性及去卵巢小鼠骨质疏松预防作用。而本

研究在设置对照组同时, 选用目前应用与研究最为广泛的最新一代双磷酸盐-阿伦磷酸钠(ALN 组)作为阳性药物对照。而双磷酸盐具有强大的抗骨吸收及增加骨量能力, 是目前治疗骨质疏松症最重要的药物, 并广泛用于预防和治疗各种骨病。在本实验中, 对照组小鼠卵巢切除后 12 周, 骨小梁数量明显减少, 宽度变窄, 出现纽扣样变, 骨髓腔扩大, 呈典型的骨量减少改变, 充分说明卵巢切除骨质疏松造模是成功的, 而且 12 周时, 各组小鼠体重均增加明显, 也符合雌激素缺乏导致代偿性的体重增加现象。给药 12 周后, 发现各组间血清钙、磷值差异均无统计学意义。各组血清碱性磷酸酶值差异无统计学意义 ( $F=0.622$ ,  $P > 0.05$ ), 但阿伦磷酸钠治疗组与重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白组数值明显较高, 提示预防骨质疏松治疗可以使骨形成增加。股骨远端进行 Micro-CT 扫描结果显示, 发现重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白治疗组及阿伦磷酸钠组股骨远端骨小梁结构正常, 骨小梁连续、致密, 厚度分布均匀, 而对照组骨小梁稀疏, 结构混乱, 并且连续性破坏。重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白治疗组股骨远端 BMD 明显增加, Tb.Th 明显增厚, Tb.Sp 变窄, 与阿伦磷酸钠组比较差异无统计学意义。而对照组 BMD 明显减少, Tb.Th 明显变窄, Tb.Sp 变宽。另外, 在骨体积分数及结构模型指数(SMI)等指标, 两治疗组数据均优于对照组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而股骨远端切片 TRAP 染色显示, 与对照组相比, 重组核因子  $\kappa$ B 活化因子受体蛋白治疗组及阿伦磷酸钠组 TRAP 染色阳性的破骨细胞几乎完全消失 ( $P < 0.05$ )。

总之, 重组核因子- $\kappa$ B 活化因子受体蛋白是一

个有效的核因子-κB 活化因子受体配体拮抗剂,能有效预防小鼠去卵巢引起的骨量丢失,具有与目前临床应用最广泛、公认抑制骨吸收能力最强的阿伦磷酸钠同等效果,因此为预防及治疗骨质疏松带来了新的希望。

参考文献

[1] Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(7):3540-3545.

[2] 朱亮亮,包倪荣,周利武,等. 正常健康人群外周血液中 OPG 和 sRANKL 浓度测定[J]. 中国骨伤, 2010, 20(2):87-89. Zhu LL, Bao NR, Zhou LW, et al. Concentraion measurement of the OPG and sRANKL of peripheral blood among normal healthy people [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2010, 23 (2): 87-89. Chinese with abstract in English.

[3] Anderson MA, Maraskovsky E, Billingsley WL, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function[J]. Nature, 1997, 390(6656): 175-179.

[4] 熊琦,张里程,张立海,等. 重组人骨保护素与重组核因子 κb 活化因子受体蛋白对破骨前体细胞分化的影响比较 [J]. 中国骨伤, 2013, 26(4):324-327. Xiong Q, Zhang LC, Zhang LH, et al. Comparison the effect of recombinant OPG-Fc and recombinant RANK protein on the differentiation of osteoclast precursors[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(4):324-327. Chinese with abstract in English.

[5] Coxon FP, Thompson K, Rogers MJ. Recent advances in understanding the mechanism of action of bisphosphonates[J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(3):307-312.

[6] 孔焕宇,陈燕平,杨淑芹,等. 去卵巢大鼠骨质疏松监测指标的实验分析[J]. 中国骨伤, 2004, 17(4):204-206. Kong HY, Chen YP, Yang SQ, et al. Experimental analysis of osteoporotic detection marker of ovariectomized rats[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2004, 17(4):204-206. Chinese with abstract in English.

[7] Bargman R, Posham R, Boskey AL, et al. Comparable outcomes in fracture reduction and bone properties with RANKL inhibition and alendronate treatment in a mouse model of osteogenesis imperfecta [J]. Osteoporos Int, 2012, 23(3):1141-1150.

[8] Delos D, Yang X, Ricciardi BF, et al. The effects of RANKL inhibition on fracture healing and bone strength in a mouse model of osteogenesis imperfecta[J]. J Orthop Res, 2008, 26(2):153-164.

[9] Oyajobi BO, Anderson DM, Traianedes K, et al. Therapeutic efficacy of a soluble receptor activator of nuclear factor kappaB-IgG Fc fusion protein in suppressing bone resorption and hypercalcemia in a model of humoral hypercalcemia of malignancy[J]. Cancer Res, 2001, 61(6):2572-2578.

[10] Sondillo EM, Pearse RN. RANK-Fc: a therapeutic antagonist for RANK-L in myeloma[J]. Cancer, 2003, 97(3 Suppl):802-812.

[11] Feeley BT, Liu NQ, Conduah AH, et al. Mixed metastatic lung cancer lesions in bone are inhibited by noggin overexpression and RANK-Fc administration[J]. J Bone Miner Res, 2007, 21(10):1571-1580.

[12] Li J, Sarosi I, Yan XQ, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(4):1566-1571.

(收稿日期:2012-08-13 本文编辑:王玉蔓)

《中国骨伤》杂志 2013 年重点专题征稿通知

《中国骨伤》杂志在广大读者、作者和编者的参与和努力下,已相继被美国《医学索引》(IM/MEDLINE), 荷兰《医学文摘》(EMBASE)、WHO 西太区《医学索引》(WPRIM)、美国《化学文摘》(CA)等国际著名医学数据库收录。据 2012 年中国科学技术信息所承担的中国科学技术部发展计划司委托项目《中国科技论文统计与分析》的年度报告中发布了最新的美国 MEDLINE 收录中国论文最多的 20 种期刊中,《中国骨伤》杂志名列其中,说明我刊在促进国际间学术交流的道路上不断的探索前行,得到了国内外广大读者的好评和关注。以下是《中国骨伤》杂志 2013 年拟刊出的重点专题征稿通知,欢迎广大读者和作者有针对性的踊跃投稿。

1. 脊柱微创手术的选择
2. 脊柱动力化固定与非动力化固定的选择
3. 颈椎疾病的前后路手术选择原则
4. 保守治疗在脊柱疾患中的疗效及评价
5. 胸椎管狭窄症手术适应证及方法选择
6. 退变性脊柱侧凸的治疗策略
7. 异体韧带与人工韧带的临床应用
8. 关节不稳的镜下治疗
9. 严重畸形膝骨关节炎人工关节置换的手术问题
10. 踝关节骨折畸形愈合的手术治疗
11. 人工关节翻修术常见问题的处理
12. 人工关节置换术后的功能康复
13. 假体周围骨折的分型及处理
14. 复杂性骨折不愈合骨缺损的治疗策略
15. 四肢软组织缺损的修复
16. 老年股骨颈骨折治疗方法的选择及手术失败原因分析
17. 脊柱转移性肿瘤的诊断与治疗
18. 大块异体骨和肿瘤假体在骨肿瘤保技术中的应用
19. 手法治疗在脊柱、关节和创伤疾病中的应用和探讨
20. 中医药在脊柱、关节、创伤疾病中的应用和探讨

《中国骨伤》杂志社