

• 基础研究 •

培哚普利对兔糖皮质激素性骨质疏松症干预作用的实验研究

周峰¹, 荣春², 王恺³, 王春生⁴, 张永涛¹

(1.青岛大学附属医院骨科, 山东 青岛 266061; 2.青岛大学附属医院手术室, 山东 青岛 266061; 3.青岛市海慈医疗集团, 山东 青岛 266033; 4.西安交通大学第二附属医院骨科, 陕西 西安 710004)

【摘要】 目的:通过兔糖皮质激素性骨质疏松症(glucocorticoid-induced osteoporosis, GIOP)模型,探讨培哚普利对GIOP的干预作用以及其具体机制。方法:10月龄雄性新西兰大白兔(3.0~3.5 kg)45只,采用随机数字表的方法将其随机分成3组:正常对照组(肌肉注射生理盐水, n=15, NC组)、模型组(肌肉注射地塞米松, n=15, GIOP组)和治疗组(肌肉注射地塞米松+口服培哚普利, n=15, GIOP+ACEI组);所有动物于干预后12周处死取材。通过检测骨组织形态计量学、生物力学以及骨代谢相关的血清学指标和mRNA表达来分析各组骨质和骨量的变化。结果:12周时骨形态计量学及生物力学结果显示GIOP组的骨量以及骨强度明显低于NC组(P<0.05);在给予培哚普利干预后,GIOP+ACEI组的骨量及骨强度较GIOP组明显增高(P<0.05)。与NC组比较,GIOP组矿化表面积、矿化沉积率、血清骨钙素均明显下降而破骨细胞数量、破骨细胞表面积、侵蚀表面积以及尿脱氧吡啶啉均明显增高(P<0.05),而给予培哚普利干预后这些指标的变化明显改善(P<0.05)。实时定量PCR结果显示给予地塞米松干预后SOST的mRNA表达以及RANKL/OPG的mRNA水平的比值均较NC组明显增高(P<0.05),而Runx2的mRNA水平明显下降(P<0.05);当给予培哚普利干预后,这些mRNA表达的变化被明显改善(P<0.05)。结论:培哚普利可以促进骨形成和抑制骨吸收,从而有效的干预糖皮质激素性骨质疏松症的发生,这为糖皮质激素性骨质疏松症的预防和治疗提供了新的思路。

【关键词】 糖皮质激素性骨质疏松症; 骨代谢; 培哚普利; 兔

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2016.01.012

Investigation on the role on perindopril for prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis in rabbits ZHOU Feng, RONG Chun, WANG Kai, WANG Chun-sheng, and ZHANG Yong-tao*. *Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266061, Shandong, China

ABSTRACT Objective: To investigate the role of perindopril for prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis (GIOP) in rabbits. **Methods:** A total of 45 male New Zealand white rabbits (10 months old, weight 3.0 to 3.5 kg) were randomly divided into 3 groups involving normal control group (muscle injection of saline solution, n=15, group NC), model group (muscle injection of dexamethasone, n=15, group GIOP), and treatment group (muscle injection of dexamethasone combined with oral perindopril, n=15, group GIOP+ACEI). All rabbits put to death after 12 weeks' treatment. The changes of bone mass and strength were observed and analyzed by bone histomorphology, biomechanics, metabolic bone related serological indexes and mRNA expression. **Results:** At 12 weeks, the analysis of bone histomorphology and biomechanics results showed that the bone mass and bone strength of group GIOP were significantly lower than that of group NC (P<0.05); after perindopril treatment, the bone mass and bone strength of group GIOP+ACEI were higher obviously than that of group GIOP (P<0.05). Mineralizing surface, mineral apposition rate and serum osteocalcin in group GIOP decreased than group NC; however, osteoclast number, osteoclast surface, eroded surface, and urinary deoxypyridinoline in group GIOP increased than group NC (P<0.05); these changes were inhibited after perindopril treatment (P<0.05). Quantitative RT-PCR revealed that after dexamethasone treatment, the ratio of SOST mRNS expression and RANKL/OPG mRNA expression obviously increased than that of group NC (P<0.05); and Runx2 expression decreased significantly (P<0.05); while the changes of mRNA expression were improved by perindopril treatment. **Conclusion:** Perindopril can promote bone formation and inhibit bone resorption to deduce glucocorticoid-induced osteoporosis. This study provides a new method for prevention and treatment of GIOP.

KEYWORDS Glucocorticoid-induced osteoporosis; Bone metabolism; Perindopril; Rabbits

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2016, 29(1):52-57 www.zggszz.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81472067)

Fund program: Supported by National Natural Science Foundation (No.81472067)

通讯作者:张永涛 E-mail: drzhang215@163.com

Corresponding author: ZHANG Yong-tao E-mail: drzhang215@163.com

肾素定义了肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS), 全身 RAS 是指存在于内分泌循环系统, 调节体内血压以及水、电解质平衡, 而局部 RAS 是相对于全身而言的。RAS 不仅存在于内分泌循环系统, 它还存在于许多局部组织器官中^[1], RAS 的重要组成部分也存在于骨组织中, 并且对骨代谢有着重要的调节作用^[2]。骨组织局部 RAS 可以通过抑制成骨细胞的骨形成作用和促进破骨细胞的骨吸收作用导致骨量和骨质下降^[3-4]。而利用血管紧张素转化酶抑制剂 (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI) 可有效治疗绝经后骨质疏松^[4]以及促进骨折愈合^[5]。临床中发现患者服用 ACEI 明显增加了骨密度^[6]。但 ACEI 对糖皮质激素性骨质疏松 (glucocorticoid-induced osteoporosis, GIOP) 的干预作用及其机制作用研究罕见。因此, 本实验通过构建免 GIOP 模型, 并选用 ACEI (培哚普利) 进行干预, 来明确 ACEI 对 GIOP 的干预作用以及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

10 月龄新西兰大白兔 45 只, 雄性, 体重 (3.0~3.5) kg, 由西安交通大学医学院实验动物中心提供; 实验动物通过西安交通大学伦理委员会审核通过, 适应性饲养 1 周, 观察无异常者入组。

1.2 主要试剂和仪器

盐酸地塞米松针剂由浙江仙琚制药股份有限公司生产, 规格 5 g/L。培哚普利片 (雅施达) 由施维雅 (天津) 制药有限公司生产 (H20034053); 钙黄绿素 (C0875) 和盐酸四环素 (1651009) 均购买于 Sigma 公司; TRACP 染色试剂盒购于南京建成生物有限公司; 总 RNA 提取试剂盒、PCR 反应试剂盒均购于大连 TaKaRa 公司。骨钙素放射免疫试剂盒购买于北京北方生物技术研究所; 尿脱氧吡啶啉 ELISA 试剂盒购于上海高创化学科技有限公司。检测基因表达所用的引物 (表 1) 均由上海英俊生物工程公司合

成。日立 7170 自动分析仪购于日本日立公司; 骨密度检测仪购于美国 Lunar 公司; ABI7300 实时定量 PCR 分析系统购于美国伯乐公司; 万能试验机购于美国 MTS 公司。

1.3 干预措施

对 45 只实验动物应用随机数字表方法进行随机分组, 分为正常对照组 (NC)、模型组 (GIOP) 及治疗组 (GIOP+ACEI), 每组 15 只。GIOP 组肌肉注射地塞米松, 3 mg/kg, 每周 2 次, 连续 12 周; GIOP+ACEI 组在肌肉注射地塞米松的基础上再给予口服培哚普利 (1 mg/kg·d), 连续 12 周; NC 组给予肌肉注射生理盐水, 连续 12 周。在干预 12 周后, 处死所有实验动物, 进行实验指标检测。

1.4 观测项目与方法

1.4.1 骨组织形态计量学测定 每组动物随机选取 6 只, 于处死前的 13 d 和 3 d 分别肌肉注射钙黄绿素 (8 mg/kg) 和盐酸四环素 (50 mg/kg)。处死动物后选取 L₄ 椎体于 80% 乙醇中, 然后用二甲苯透明, 甲基丙烯酸甲酯包埋; 分别沿着腰椎横切面切成 5 μm 和 10 μm 厚的硬组织切片, 各 6 张。其中薄的切片行 VG 染色, 厚的切片用中性树胶封片直接于荧光显微镜下观察。每组随机选取 6 只动物, 取其 L₂ 椎体置于 10% 甲醛溶液中固定, 13% EDTA 钠脱钙, 石蜡包埋。沿腰椎横切面切成 4 μm 切片, 按照 TRACP 染色试剂盒说明书行破骨细胞染色。然后利用骨组织形态学测量系统进行静态学指标和动态学指标的测量, 测量指标有: 骨体积分数 (%)、骨小梁数量 (/mm)、骨小梁间隙 (μm)、骨小梁厚度 (μm)、破骨细胞数量 (/mm)、破骨细胞表面积 (%)、侵蚀表面积 (%)、矿化表面积 (%)、矿化沉积率 (μm/d)。

1.4.2 腰椎生物力学测定 取动物 L₅ 椎体, 利用匀速磨钻将所有腰椎上下终端打磨至平行, 然后利用卡尺精确测量腰椎的长、宽、高。将腰椎纵向置于万能试验机上进行压缩试验, 压缩速度为 1 mm/min,

表 1 实时定量 PCR 引物序列表

Tab. 1 Primer sequences of real-time quantitative PCR

目标因子	前引物 (5' - 3')	反向引物 (5' - 3')
SOST	GCATCCCGACCCGCTAC	CGGGTGAGACGCTTGCAC
Runx2	GGCAGGTGCTTCAGA ACTGG	GTGCTGGCAGCTAGGTATGG
TRACP	CCTGGGGGACAACCTTTTACT	TTGGAGACCTTGGAAATAGGC
RANKL	AGAGCGAAGACACAGAAGCA	CCATCAATGCTGCCAACATC
OPG	ACGGCGGCATAGTTCACAAG	CTTCGCAGCTTGATGGAGAG
β-actin	GTCCGGGACATCAAGGAGA	AGGAAGGAGGGCTGGAAGAG

注: SOST=硬骨素; Runx2=核心结合因子 2; TRACP=抗酒石酸酸性磷酸酶; RANKL=破骨细胞分化因子; OPG=骨保护素

Note: SOST=Sclerostin; Runx2= runt-related transcription factor 2; TRACP=tartrate resistant acid phosphatase; RANKL=receptor activator of nuclear factor-κB ligand; OPG=osteoprotegerin

计算机记录荷载-位移曲线, 然后通过荷载-位移曲线计算腰椎的最大荷载(N), 刚度(N/mm)。

1.4.3 骨代谢生化指标测定 处死动物前取血, 按照骨钙素放免试剂盒的说明书操作测定血清骨钙素水平; 动物处死前取尿, 按照尿脱氧吡啶啉 ELISA 试剂盒说明书操作测定尿脱氧吡啶啉水平, 并利用生化自动分析仪测定尿肌酐浓度, 然后取它们比值来反映破骨细胞的活性。

1.4.4 实时定量 PCR 分析 利用 Trizol 试剂盒提取组织总 RNA, 并及时反转录成 cDNA。用 SYBR Green 1 PCR mix 试剂和 ABI7300 实时定量 PCR 扩增仪进行扩增测定分析。并以组织内 β -actin mRNA 水平作为对照, 利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法进行各组基因表达的分析。

1.5 统计学方法

用 SPSS 17.0 软件做统计分析, 统计数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)来表示。所有资料采用单因素方差分析进行统计分析, 对于组间的两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨组织形态计量学的分析比较

地塞米松干预 12 周后, VG 染色结果显示, 与

NC 组比较, GIOP 组骨小梁明显稀疏; 当给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组的骨小梁较 GIOP 组明显增多(图 1)。利用骨形态计量学分析系统分析后发现, GIOP 组骨体积分数及骨小梁厚度均明显低于 NC 组($P=0.014$ 和 $P=0.026$); 当给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组的骨体积分数及骨小梁厚度较 GIOP 组明显增加($P=0.032$ 和 $P=0.028$); GIOP+ACEI 组与 NC 组比较各静态骨组织形态学指标之间无明显统计学差异(均为 $P>0.05$), 见表 2。

地塞米松干预 12 周后, 钙黄绿素-四环素双标显示 GIOP 组双标间距明显小于 NC 组; 当给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组的双标间距较 GIOP 组明显增加(图 2)。利用骨形态计量学分析系统分析后发现 GIOP 组的矿化沉积率和矿化表面积均明显小于 NC 组($P<0.001$ 和 $P=0.001$); 给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组的矿化沉积率和矿化表面积较 GIOP 组明显增加($P=0.002$ 和 $P=0.019$), 见表 3。

TRACP 染色显示 GIOP 组破骨细胞明显多于 NC 组, 当给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组的破骨细胞较 GIOP 组明显减少(图 3); 利用骨形态计量学分析系统分析后发现 GIOP 组破骨细胞数量、破骨细胞表面积、侵蚀表面积均明显高于 NC 组 ($P=$

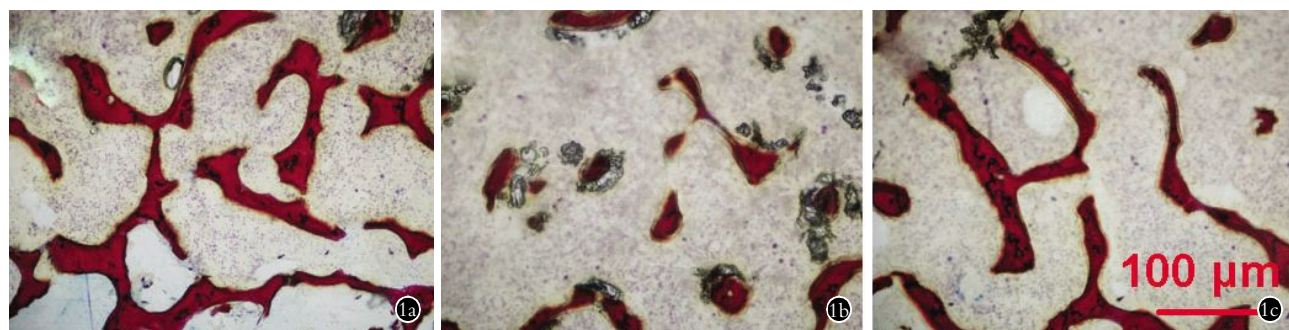


图 1 腰椎骨组织的 Van Gieson 染色 ($\times 100$) 1a. NC 组为正常骨小梁形态 1b. GIOP 组骨小梁较 NC 组明显稀疏 1c. GIOP+ACEI 组骨小梁较 GIOP 组明显增多

Fig.1 Van Gieson staining of lumbar vertebral sections ($\times 100$) 1a. The normal bone trabecular in group NC 1b. The bone trabecular in group GIOP was sparser than these in group NC 1c. The bone trabecular in group GIOP+ACEI increased compared with group GIOP

表 2 各组糖皮质激素性骨质疏松兔模型骨量指标测量结果比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Comparison of bone mass parameters of glucocorticoid-induced osteoporosis models among three groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	骨体积分数(%)	骨小梁数量(/mm)	骨小梁间隙(μ m)	骨小梁厚度(μ m)
NC 组	6	34.04 \pm 8.77	6.57 \pm 1.99	111.43 \pm 44.33	56.53 \pm 10.65
GIOP 组	6	21.59 \pm 6.22*	5.48 \pm 1.92	153.62 \pm 65.51	40.54 \pm 9.36*
GIOP+ACEI 组	6	32.11 \pm 7.93#	5.83 \pm 1.33	122.91 \pm 44.93	56.22 \pm 13.26#
F 值	-	4.531	0.595	1.034	3.995
P 值	-	0.029	0.564	0.379	0.041

注:与 NC 组比较, * $P<0.05$; 与 GIOP 组比较, # $P<0.05$

Note: Compared with group NC, * $P<0.05$; compared with group GIOP, # $P<0.05$

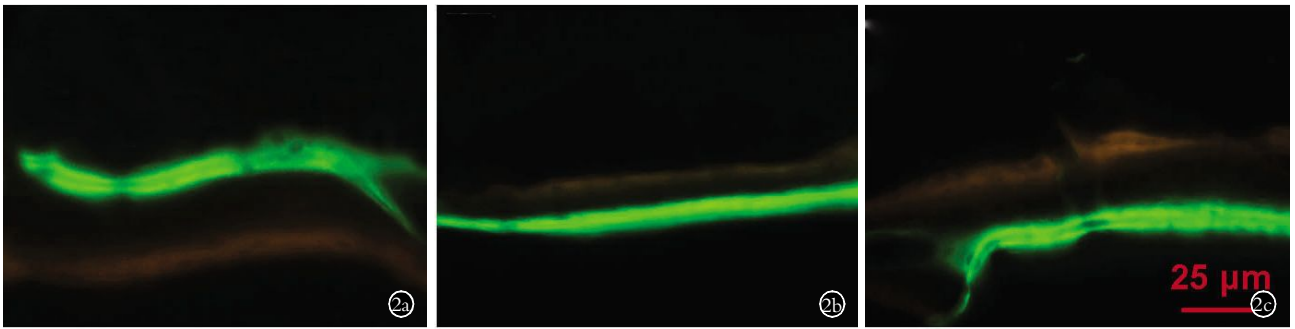


图 2 腰椎骨组织钙黄绿素-四环素双标染色($\times 400$) 2a. NC 组褐色荧光和绿色荧光之间的间距代表骨组织的正常生长速度 2b. GIOP 组褐色荧光和绿色荧光之间的间距较 NC 组变窄, 代表骨组织的生长速度减慢 2c. GIOP+ACEI 组褐色荧光和绿色荧光之间的间距较 GIOP 组增宽, 代表骨组织的生长速度增快

Fig.2 Double labels of Calcein-tetracycline stain of lumbar vertebral sections ($\times 400$) 2a. The distance between brown fluorescence and green fluorescence in group NC represents the normal growth speed of bone 2b. The distance between brown fluorescence and green fluorescence in group GIOP narrowed compared with group NC, which represents the decreased growth speed of bone in group GIOP 2c. The distance between brown fluorescence and green fluorescence in group GIOP+ACEI widened compared with group GIOP, which represents the increased growth speed of bone in group GIOP+ACEI

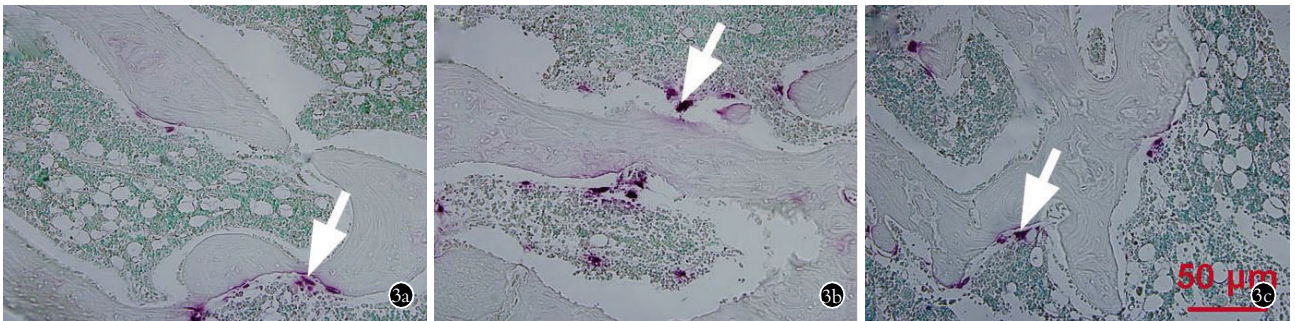


图 3 腰椎骨组织 TRACP 染色($\times 200$) 3a. NC 组代表着正常数量的破骨细胞(箭头) 3b. GIOP 组破骨细胞(箭头)的数量较 NC 组明显增多 3c. GIOP+ACEI 组破骨细胞(箭头)的数量较 GIOP 组明显减少

Fig.3 TRACP staining in lumbar vertebral sections($\times 200$) 3a. The quantity of osteoclast (arrow) in group NC was normal 3b. The osteoclast (arrow) increased in group GIOP compared with group NC 3c. The osteoclast (arrow) decreased in group GIOP+ACEI compared with group GIOP

表 3 各组糖皮质激素性骨质疏松兔模型骨组织形态计量学动态指标的比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of bone histomorphology parameters of glucocorticoid-induced osteoporosis models among three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	矿化表面积(%)	矿化沉积率($\mu\text{m}/\text{d}$)	破骨细胞数量(/mm)	破骨细胞表面积(%)	侵蚀表面积(%)
NC 组	6	27.67 \pm 4.23	1.88 \pm 0.34	2.57 \pm 0.91	7.78 \pm 2.05	10.28 \pm 2.45
GIOP 组	6	18.33 \pm 2.66*	0.88 \pm 0.31*	5.63 \pm 1.91*	16.70 \pm 2.56*	18.93 \pm 2.47*
GIOP+ACEI 组	6	24.17 \pm 4.45 [#]	1.58 \pm 0.33 [#]	3.63 \pm 1.09 [#]	10.20 \pm 1.66 [#]	12.73 \pm 2.84 [#]
F 值	-	8.952	14.407	7.713	28.326	17.745
P 值	-	0.003	0.000	0.005	0.000	0.000

注:与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 GIOP 组比较, [#] $P < 0.05$

Note: Compared with group NC, * $P < 0.05$; compared with group GIOP, [#] $P < 0.05$

0.002, $P < 0.001$ 和 $P < 0.001$); 给予培哌普利干预后, GIOP+ACEI 组骨吸收率动态指标较 GIOP 组明显降低($P = 0.023$, $P < 0.001$ 和 $P = 0.001$), 见表 3。

2.2 生物力学测量结果

生物力学结果显示, GIOP 组腰椎最大荷载和刚度均明显低于 NC 组($P = 0.003$ 和 $P = 0.001$), 给予培

哌普利干预后, GIOP+ACEI 组腰椎最大荷载和刚度较 GIOP 组明显增加($P = 0.006$ 和 $P = 0.016$), 见表 4。

2.3 骨代谢生化指标的分析比较

地塞米松干预 12 周后, GIOP 组与 NC 组相比较发现血清骨钙素水平明显下降而尿脱氧吡啶啉水平明显增高(均为 $P < 0.001$), 当给予培哌普利干预

表 4 各组糖皮质激素性骨质疏松兔模型骨强度指标测量结果比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Comparison of bone strength parameters of glucocorticoid-induced osteoporosis models among three groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	最大荷载(N)	刚度(N/mm)
NC 组	6	1094.33±163.48	1273.50±208.08
GIOP 组	6	676.66±204.48*	783.67±242.15*
GIOP+ACEI 组	6	1056.17±246.25 [#]	1123.33±195.13 [#]
F 值	-	7.43	8.09
P 值	-	0.006	0.004

注:与 NC 组比较, *P<0.05;与 GIOP 组比较, [#]P<0.05
Note: Compared with group NC, *P<0.05; compared with group GIOP, [#]P<0.05

后,GIOP+ACEI 组与 GIOP 相比较时发现血清骨钙素水平明显增高而尿脱氧吡啶啉水平明显下降 ($P=0.001$ 和 $P<0.001$),见表 5。

2.4 骨代谢相关 mRNA 水平分析比较

地塞米松干预 12 周后,GIOP 组与 NC 组相比较发现 SOST、TRACP、RANKL 的 mRNA 表达以及 RANKL/OPG 的 mRNA 水平的比值均明显增高,而 Runx2 的 mRNA 表达明显下降(均为 $P<0.05$);当给予培哌普利干预后,GIOP+ACEI 组与 GIOP 相比较时发现 SOST 的 mRNA 的表达以及 RANKL/OPG 的 mRNA 水平的比值明显下降 (均为 $P<0.001$),而 Runx2 的 mRNA 表达明显增高($P=0.004$),见表 6。

3 讨论

3.1 培哌普利可改善 GIOP 的骨量和骨强度下降

骨质疏松症模型因新西兰大白兔具有生长周期短、骨转化率高等优点而被广为采用^[7-8]。本研究应用新西兰大白兔(肌肉注射 DXM,3 mg/kg,每周 2 次,连续 12 周)作为 GIOP 的模型来研究 GIOP 新

表 5 三组糖皮质激素性骨质疏松兔模型骨代谢的生化指标比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Comparison of biochemical parameters of glucocorticoid-induced osteoporosis models among three groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	血清骨钙素 (ng/ml)	尿脱氧吡啶啉 (nmol/mmol·Cr)
NC 组	6	17.58±5.07	22.07±4.00
GIOP 组	6	7.61±2.15*	38.68±8.05*
GIOP+ACEI 组	6	15.55±3.38 [#]	25.52±6.29 [#]
F 值	-	11.96	11.51
P 值	-	0.001	0.001

注:与 NC 组比较, *P<0.05;与 GIOP 组比较, [#]P<0.05
Note: Compared with group NC, *P<0.05; compared with group GIOP, [#]P<0.05

的治疗方法^[9]。由实验结果可知,地塞米松干预 12 周后,GIOP 组与 NC 组比较骨密度明显下降,而且骨形态计量学和生物力学结果同骨密度结果一致,都提示地塞米松干预后骨量和骨强度均已明显下降。所以,本研究应用新西兰大白兔建立的兔 GIOP 模型是成功的。为了验证 ACEI 对 GIOP 的治疗作用,本研究选用培哌普利作为干预剂,剂量为 1 mg/kg·d,因为有研究表明这个剂量的培哌普利可以有效降低兔体内 ACE 的活性^[10]。当给予培哌普利干预后发现,GIOP&ACEI 组的骨密度、骨量及骨强度均较 GIOP 组明显增高,这表明培哌普利可以很好的改善糖皮质激素引起的骨量和骨强度的下降。

3.2 培哌普利可改善 GIOP 骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用

目前实验研究表明 ACEI 与骨代谢密切相关。体外实验表明 ACEI 可以促进成骨细胞分泌碱性磷酸酶和 I 胶原蛋白从而促进骨形成^[4];体内试验表

表 6 各组糖皮质激素性骨质疏松兔模型腰椎成骨相关基因和破骨相关基因表达分析($\bar{x}\pm s$)

Tab.6 Comparison of gene expressions in lumbar vertebrae of glucocorticoid-induced osteoporosis models among three groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	SOST	Runx2	TRACP	RANKL	OPG	RANKL/OPG
NC 组	6	0.96±0.25	1.11±0.21	1.21±0.42	1.13±0.25	1.18±0.29	0.97±0.19
GIOP 组	6	2.37±0.41*	0.43±0.27*	2.20±0.65*	1.68±0.42*	0.92±0.16	1.95±0.35*
GIOP+ACEI 组	6	1.23±0.34 [#]	0.93±0.26 [#]	1.76±0.22	1.33±0.41	1.09±0.19	1.18±0.52 [#]
F 值	-	28.88	11.68	6.69	3.39	2.09	11.01
P 值	-	0.000	0.001	0.008	0.061	0.158	0.001

注:SOST=硬骨素;Runx2=核心结合因子 2;TRACP=抗酒石酸酸性磷酸酶;RANKL=破骨细胞分化因子;OPG=骨保护素;与 NC 组比较, *P<0.05;与 GIOP 组比较, [#]P<0.05

Note:SOST=Sclerostin;Runx2=Runx-related transcription factor 2;TRACP=tartrate resistant acid phosphatase;RANKL=receptor activator of nuclear factor-κB ligand;OPG=osteoprotegerin;compared with group NC, *P<0.05; compared with group GIOP, [#]P<0.05

明 ACEI 可以通过促进骨形成和抑制骨吸收从而改善切卵巢大鼠的骨量和骨质^[4], 并且 ACEI 可以明显促进骨折的愈合^[5]。总之, ACEI 可以有效地促进骨形成以及抑制骨吸收。而目前对 GIOP 发病机制研究表明其主要的生理病理机制为骨代谢紊乱, 即表现为对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用。所以笔者认为培哌普利对 GIOP 的治疗作用可能由于它改善了糖皮质激素对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用。

本研究进行了钙黄绿素-四环素双标实验和 TRACP 染色, 以观察骨形成和骨吸收的情况。研究结果表明骨形成组织学指标 MS/BS、MAR、BFR/BS 在糖皮质激素干预后明显下降, 而骨吸收组织学指标 N/Oc/BS、Oc/S/BS、ES/BS 在糖皮质激素的干预下明显增高, 这个实验结果也再次证明了 GIOP 发病机制包括糖皮质激素对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用^[11]。当给予培哌普利干预后, 所有的这些改变都被抑制了, 这说明培哌普利抑制了糖皮质激素对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用。为了进一步明确这个机制, 本研究同时还测定了骨代谢的生化指标, 结果显示反应成骨细胞活性的生化指标血清骨钙素在糖皮质激素作用下明显下降, 而反应破骨细胞活性的生化指标尿脱氧吡啶啉在糖皮质激素的作用明显增高。当予培哌普利干预后, 所有的这些改变同样被抑制了。所以笔者认为培哌普利对 GIOP 的治疗作用是由于它改善了糖皮质激素对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用。

为进一步明确培哌普利改善糖皮质激素对骨形成的抑制作用和对骨吸收的促进作用的分子机制, 本研究利用实时定量 PCR 测定骨代谢相关基因的 mRNA 的表达。研究结果发现, 抑制骨形成的基因 SOST mRNA 的表达在糖皮质激素干预后增高, 这一点与以前的研究相似^[12], 当给予培哌普利干预后其 mRNA 的表达下降; 同样成骨细胞分化的关键因子 Runx2 的 mRNA 表达在糖皮质激素干预后下降, 当给予培哌普利干预后增高, 这很可能是培哌普利改善糖皮质激素对骨形成的抑制作用的分子机制。RANKL/OPG 的 mRNA 表达的比值在糖皮质激素干预后增高, 当给予培哌普利干预后其 mRNA 表达的比值下降; 因为 RANKL/OPG 的比值决定这破骨细胞的分化, 如果 RANKL/OPG 的比值增高, 破骨细胞的分化则增多, 反之亦然^[13], 所以 RANKL/OPG 的 mRNA 表达的比值变化很可能是培哌普利改善糖皮质激素对骨吸收的促进作用的分子机制。

总之, 本研究表明培哌普利可以有效治疗 GIOP, 其机制很可能与培哌普利改善了糖皮质激素

对骨形成的抑制和对骨吸收的促进作用。这很可能为 GIOP 提供新的治疗方法, 特别对于合并心血管疾病的 GIOP 患者。

参考文献

- [1] Lam SY, Liu Y, Ng KM, et al. Upregulation of a local renin-angiotensin system in the rat carotid body during chronic intermittent hypoxia[J]. *Exp Physiol*, 2014, 99(1): 220-231.
- [2] Izu Y, Mizoguchi F, Kawamata A, et al. Angiotensin II type 2 receptor blockade increases bone mass[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(8): 4857-4864.
- [3] Asaba Y, Ito M, Fumoto T, et al. Activation of renin-angiotensin system induces osteoporosis independently of hypertension[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(2): 241-250.
- [4] Liu YY, Yao WM, Wu T, et al. Captopril improves osteopenia in ovariectomized rats and promotes bone formation in osteoblasts[J]. *J Bone Miner Metab*, 2011, 29(2): 149-158.
- [5] Garcia P, Schwenzer S, Slotta JE, et al. Inhibition of angiotensin-converting enzyme stimulates fracture healing and periosteal callus formation-role of a local renin-angiotensin system[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(8): 1672-1680.
- [6] Nakagami H, Kiomy Osako M, Shimizu H, et al. Potential contribution of action of renin angiotensin system to bone metabolism[J]. *Current Hypertension Reviews*, 2007, 3(2): 129-132.
- [7] 李军, 王云, 鲍小明, 等. rhBMP-2 体外诱导骨髓疏松大鼠 BMSCs 成骨及 VEGF 表达的研究[J]. *中国骨伤*, 2015, 28(5): 446-449.
Li J, Wang Y, Bao XM, et al. Study on RhBMP-2 induced osteoporosis rat BMSCs in vitro osteogenesis and VEGF expression[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2015, 28(5): 446-449. Chinese.
- [8] 罗明, 黄宏兴, 黄红, 等. Hedgehog 信号通路与骨质疏松症[J]. *中国骨伤*, 2014, 27(2): 169-172.
Luo M, Huang HX, Huang H, et al. Hedgehog signaling pathway and osteoporosis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2014, 27(2): 169-172. Chinese.
- [9] 张剑, 张坤娟, 薛小梅, 等. 伊班膦酸钠预防与治疗糖皮质激素诱导的骨质疏松症[J]. *解剖学报*, 2012, 43(1): 98-102.
Zhang J, Zhang KJ, Xue XM, et al. Ibandronate preventing and treating glucocorticoid-induced osteoporosis in rabbits[J]. *Jie Pou Xue Bao*, 2012, 43(1): 98-102. Chinese.
- [10] Wiel E, Pu Q, Leclerc J, et al. Effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitor perindopril on endothelial injury and hemostasis in rabbit endotoxic shock[J]. *Intensive Care Med*, 2004, 30(8): 1652-1659.
- [11] Venuturupalli SR, Sacks W. Review of new guidelines for the management of glucocorticoid induced osteoporosis[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2013, 11(4): 357-364.
- [12] Gunañabens N, Gifre L, Peris P. The role of Wnt signaling and sclerostin in the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2014, 12(1): 90-97.
- [13] Fernandes Mda S, Yanai MM, Martins GM, et al. Effects of fluoride in bone repair: an evaluation of RANKL, OPG and TRAP expression[J]. *Odontology*, 2014, 102(1): 22-30.

(收稿日期: 2015-08-20 本文编辑: 王玉蔓)