

rhPTH (1-34) 对大鼠类固醇性骨质疏松治疗作用研究

孙立, 刘芳, 齐卫红, 范玉明, 李波 (中国食品药品检定研究院, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176)

摘要 目的: 观察重组人甲状旁腺激素rhPTH (1-34) 对大鼠类固醇性骨质疏松的治疗作用。方法: 应用皮下注射醋酸泼尼松龙注射液的方法建立类固醇性骨质疏松模型。给予皮下注射5、10、20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ rhPTH (1-34) 治疗12w。观察骨组织形态, 计量骨密度、骨生物力学和骨代谢相关的血尿生化指标, 综合评价rhPTH (1-34) 对大鼠类固醇性骨质疏松的治疗效果。结果: 皮下注射醋酸泼尼松龙注射液, 骨体积和成骨表面显著下降, 骨吸收表面显著升高, 表明形成了类固醇骨质疏松。不同剂量的rhPTH (1-34) 对大鼠股骨骨密度 (BMD) 均有显著增加。在股骨生物力学特征方面, rhPTH (1-34) 中、高剂量组的最大位移 (du) 显著升高, 高剂量组的衰竭功 (U) 升高; 在股骨骨形态计量学方面, 不同剂量的rhPTH (1-34) 对骨体积均显著升高, 矿化沉积率均显著升高, 肋骨宽度 (O.Th) 均显著下降, 骨重建时间 (δ) 均显著缩短等; 在血清和尿生化指标方面, 不同剂量的rhPTH (1-34) 对骨钙素 (BGP) 均显著升高, 尿羟脯氨酸/肌昔均显著下降, 中、高剂量组对尿Ca显著下降。结论: rhPTH (1-34) 对大鼠类固醇性骨质疏松具有显著的治疗作用。

关键词: 重组人甲状旁腺激素 (1-34); 醋酸泼尼松龙; 骨质疏松; 骨密度; 骨生物力学

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2018)03-0354-08

doi:10.16153/j.1002-7777.2018.03.011

Study on Therapeutic Effect of rhPTH(1-34) on Steroid-induced Osteoporosis in Rats

Sun Li, Liu Fang, Qi Weihong, Fan Yuming, Li Bo (National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of Beijing for Nonclinical Safety Evaluation Research of Drugs, Beijing 100176, China)

Abstract Objective: To investigate the therapeutic effect of Recombinant Human Parathyroid Hormone (1-34) on steroid-induced osteoporosis in rats. **Methods:** Steroid osteoporosis model was established by subcutaneous injection of prednisolone acetate, and 5, 10, 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ rhPTH (1-34) was subcutaneously injected once daily for 12 weeks. The morphology of bone, bone mineral density, bone biomechanics and the serum and urine biochemical indexes related to bone metabolism were observed. The therapeutic effect of rhPTH (1-34) on steroid-induced osteoporosis in rats was evaluated comprehensively. **Results:** Bone volume and osteogenic surface decreased significantly and bone resorption surface increased significantly after the subcutaneous injection of prednisolone acetate, indicating the formation of steroid osteoporosis. Bone mineral density (BMD) significantly increased after the injection of different doses of rhPTH (1-34). In the field of bone biomechanics, the maximum displacement (du) in middle or high dose groups increased significantly, work to failure (U) in

high dose group increased. In the field of bone histomorphometry, the bone volume increased significantly, the mineral appositional rate significantly increased, the osteoid width (O.Th) significantly decreased, and the bone reconstruction time significantly decreased in all dose groups. As far as the serum and urine biochemical indexes were concerned, BGP affected by different doses of rhPTH (1-34) significantly increased, urinary hydroxyproline/inosine significantly decreased in all dose groups. Urine Ca significantly decreased in middle and high dose groups. **Conclusion:** rhPTH (1-34) had a remarkable therapeutic effect on steroid-induced osteoporosis in rats.

Keywords: Recombinant Human Parathyroid Hormone; prednisolone acetate; osteoporosis; bone mineral density; bone biomechanics

作为骨质疏松治疗的骨合成代谢剂rhPTH (1-34), 其与人PTH (1-34) 氨基酸序列相同。rhPTH具有强大的骨合成代谢效应, 已在多种动物实验中被证实。它能刺激骨形成、提高骨密度、增加抗折性而不影响骨质量, 还可改善骨质量^[1-2]。临床上糖皮质激素骨质疏松及不明原因的男性骨质疏松, 普遍存在骨更新量较低的临床表现, 而用抗骨吸收剂会进一步降低本已较低的骨更新量, 因此认为骨合成代谢剂或骨形成剂是一种理想的治疗方法。本文用类固醇激素诱导的雄性大鼠的骨质疏松为模型, 模拟临床类固醇激素及老年男性骨质疏松症病因, 进一步研究了rhPTH (1-34) 的药理学作用。该模型的特征是骨形成和骨吸收呈低转换型、骨形成减少、骨吸收增加、骨量降低。

1 材料和方法

1.1 药品和试剂

rhPTH (1-34): 上海赛金生物医药有限公司生产, 冻干粉, $0.5 \text{ mg} \cdot \text{支}^{-1}$, 保存条件 $2-8^\circ\text{C}$, 批号为20020701B。苯丙酸诺龙注射液: 上海通用药业股份有限公司生产, 规格 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 批号020604, 沪卫药准字(1995)第009005号。醋酸泼尼松龙注射液: 先施制药股份有限公司生产, $25 \text{ mg} \cdot 5\text{mL}^{-1}$, 批号021204, 卫药准字(1996)第185301号。

盐酸四环素: Sigma公司出品。血清骨钙素测定试剂盒: 采用125碘放射分析试剂盒, 东亚免疫技术研究所生产, 批号0307, (95)卫药生证字第07号。尿吡啶酚测定试剂盒: 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定, 美国QUIDEL@Santa Clara产品, 批号2M1017。尿羟脯氨酸测定试剂盒: 采用化学比色法测定, 南京建成生物工程研究所生产, 批号20021112。钙测定试剂盒: 溴甲酚紫法, 罗氏公司

的生化试剂, 批号631377-01。肌昔测定试剂盒: 苦味酸法, 中生公司生产。

1.2 动物

SD雄性大鼠: 4月龄, 体重范围(370 ± 14)克, SPF级, 由中国食品药品检定研究院动物中心提供, 动物合格证号: SCXK11-00-0010。饲养条件: 大鼠实验在SPF级动物室中进行, 温度(22 ± 2) $^\circ\text{C}$, 湿度 $50\% \pm 10\%$, 换气次数 ≥ 14 次 \cdot 小时 $^{-1}$, 人工照明12小时, 每笼饲养4只, 每周换2次笼具, 喂饲商品钴60灭菌处理颗粒饲料, 每天每只大鼠供应饲料量15克; 饮用高压灭菌水。

1.3 仪器

万能材料试验机: 日本岛津公司生产, 型号为AG-5000A, 传感器为25KG, 函数自动记录仪。DPX型双能X线骨密度仪(DEXA): 美国Lunar公司产品。智能效率测量仪SN-695B: 上海核所日环光电仪器有限公司产品。

1.4 类固醇性骨质疏松模型的建立

取上述SD大鼠122只, 22只皮下注射生理盐水 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 作为对照组大鼠, 100只大鼠皮下注射醋酸泼尼松龙注射液, 剂量为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每周注射2次, 共注射16周, 以诱导类固醇性骨质疏松。于16周后, 随机取10只诱导类固醇性骨质疏松大鼠及10只对照组大鼠, 对股骨干骺端进行骨组织形态计量学分析, 确认类固醇性骨质疏松模型建立后, 进行随机实验分组。

1.5 分组和给药方法

共6组, 每组12只大鼠, 采用皮下注射方式。正常对照组: 给予生理盐水, $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每周7d; 模型对照组: 给予生理盐水, $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每周7d; 阳性对照组: 给予苯丙酸诺龙注射液,

2500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每周2 d; 治疗组(分3个剂量组): 分别给予rhPTH(1-34), 5、10、20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每周7 d。各组共试验治疗12周。

1.6 观察指标

在处死各组动物前的倒数11 d和3 d, 分别腹腔注射盐酸四环素(25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各组大鼠在处死之前的倒数7~2 d, 给每只大鼠灌10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 生理盐水, 用代谢笼采集4小时内的尿液。处死大鼠之前, 用40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 腹主动脉采血。分离大鼠的股骨、胫骨、脊椎骨, 放在塑料袋内密封, -80°C 冻存。测定指标: 1) 骨组织形态计量: 取左侧股骨, 去除周围软组织后放入75%酒精中固定, 逐级脱水后, 选择股骨干骺端, 塑料包埋并固化, 以Jung K型分骨机切片, 片厚约7 μm , 连续切4片, 随机取其中2片, 分别进行Gemisa、Von Kossa两种染色, 封片后观察各项指标。组织学观察采用Gemisa染色的切片, 以普通光源观察; 四环素标记观察采用Gemisa染色的切片, 以荧光光源观察; 类骨质观察采用Von Kossa染色的切片, 以普通光源观察。各个股骨标本选择骺板下骨小梁, 分内、中、外三点, 采用OLYMPUS-BHT荧光显微镜, MPLAS-500彩色病理图文仪, 利用同济医科大学清平图像公司软件扫描图像, 进行骨组织形态计量学测定, 以三点的实测值均值作为此骨标本的指标值。骨组织形态计量学指标及意义: ①静态指标: 骨体积(BV/TV, %), 单位体积骨小梁骨量, 即视野中骨小梁面积占视野面积的百分比; 类骨质表面(OV/BV, %): 在视野中骨小梁表面类骨质占全部骨小梁面积的比值; 类骨质宽(O.Th, μm): 每个视野测10个类骨质宽度, 求其平均值; 成骨表面(OB, %): 指存在有成熟、有活性的成骨细胞表面积占骨小梁表面的百分比; 吸收表面(OC, %): 被破骨细胞吸收的矿化骨占骨小梁表面的百分比。②动态指标: 单标表面(STS, %), 反映四环素的摄取率与骨矿化形成的状态, 在保证足够摄取的前提下, 主要反映骨矿化形成状态, 可以提示新骨形成与矿化的速率与形成的量; 双标表面(DTS, %): 除有与单标表面相同意义之外, 还能体现出矿化过程所持续的时间长短, 同样还可体现骨重建过程中, 一个骨重建周期能否持续较长时间; 单双比%(矿化指数): 反映新骨形成与矿化, 矿化的速率与矿化持

续时间, 骨重建周期的持续时间与骨转化率的变化等多种因素之间的关系; 骨矿化沉积率(MAR, $\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$): 计算骨重建速率的指标, 指两条四环素标记线之间的平均距离除以两次四环素标记间隔的天数; 纠正矿化沉积速率(Aj.AR%): 也叫骨小梁矿化缘长度%, 为四环素标记线长度与骨小梁边缘长度的比值; 矿化延迟时间(MLT, d): 从骨基质的沉积到被矿化的时间称为矿化延迟时间; 骨重建时间(δ , d): 骨重建完成一个周期的时间, 体现骨转换及骨修复的快慢。2) 股骨骨密度(BMD): 大鼠处死后, 取出右侧股骨, 剔除骨骼表面附着的软组织, 放入生理盐水小瓶中, -80°C 低温冰箱保存, 测定前一天放回 4°C 冰箱。应用美国Lunar公司DPX型双能X线骨密度仪(DEXA)测定大鼠右侧股骨骨密度。测定前应用标准模块进行仪器性能的自动检测, 以保证仪器的精确度, 测定单位为: 对大鼠股骨扫描区域每平方厘米所含的骨矿物质的量即为 $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。3) 股骨生物力学特征: 测定BMD的股骨, 待测定后迅速放回生理盐水小瓶中, 全部测完后 -80°C 冰箱保存, 供生物力学特征测定; 应用岛津G-5000A型万能材料试验机, 对股骨进行三点弯曲试验, 两个支点跨距23 mm, 受力点在股骨上部中央, 传感器为25 kg, 扫描速度为250 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$, 试验模式为单压, 检测加压速度为5 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$, 应用自动函数记录仪。在记录股骨生物学测定中, 将股骨给予力学负荷直到股骨发生断裂, 所描记的力学位移曲线, 曲线的最高点即最大负荷(F_u), 被定义为骨强度, 反映的是骨密度和骨质量; 曲线的最大斜率为刚度(S , stiffness)曲线上的宽度即为最终位移(du)代表骨骼的脆性(brittleness), 位移越小脆性越大。4) 血清及尿生化指标测定: 血清中骨钙素、钙、磷含量。在测定尿中尿吡啶酚、羟脯氨酸及尿钙时, 为了排除尿的浓缩与稀释对指标的影响, 同时测定尿肌苷, 这些尿中指标均除以肌苷值, 以校正这些指标。

1.7 数据的统计学处理

所有数据均表示为 $X \pm SD$, 两组小样本均数的比较, 首先进行 F 检验, 如差异不显著, 应用 t 检验比较, t 检验如差异显著, p 值小于0.05被认为具有显著性意义, p 值小于0.01被认为具有非常显著性差异。

2 结果

2.1 类固醇激素诱导大鼠骨质疏松模型的确认

从表1的试验结果可以看出, 骨体积及成骨表面显著低于对照组 ($P < 0.05$), 而骨吸收表面显著高于对照组 ($P < 0.01$), 泼尼松龙使大鼠股骨

的成骨表面下降49.5%, 吸收表面增加38.4%, 而骨体积下降18.8%。表明每周皮下注射2次泼尼松龙注射液, 共注射16周, 确认已形成了类固醇性骨质疏松模型。

表 1 类固醇性骨质疏松的确认

分组	动物数	骨体积 /%	成骨表面 /%	吸收表面 /%
对照组	10	64.5 ± 1.46	9.92 ± 2.06	5.49 ± 1.63
泼尼松龙组	10	52.4 ± 5.06*	5.01 ± 0.96*	7.60 ± 0.78**

注: 与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 rhPTH (1-34) 对大鼠股骨BMD的影响

从表2的试验结果可以看出, 模型组大鼠的BMD显著低于对照组, 与对照组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$); 而应用苯丙酸诺龙治疗的大

鼠, 其股骨BMD显著高于模型组 ($P < 0.05$)。用rhPTH (1-34) 高、中、低剂量试验治疗的大鼠, 其BMD出现剂量反应性增加, 与模型组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

表 2 rhPTH(1-34) 对类固醇性大鼠骨质疏松 BMD 的影响

分组	剂量 / [ng · (kg · d) ⁻¹]	动物数 / 只	BMD / (g · cm ⁻²)
正常对照组	N.S	11	0.309 ± 0.012*
模型组	N.S	11	0.296 ± 0.017
苯丙酸诺龙组	2500	10	0.311 ± 0.014*
rhPTH 高	20	12	0.352 ± 0.018**
rhPTH 中	10	12	0.328 ± 0.016**
rhPTH 低	5	11	0.318 ± 0.016*

注: 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.3 rhPTH (1-34) 对大鼠股骨生物力学特征的影响

从表3的试验结果可以看出, 模型组与对照组比较, 骨强度 (Fu)、骨脆性 (du) 及衰竭功 (U) 均显著低于对照组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$); 经苯丙酸诺龙及rhPTH (1-34) 试验治疗12周后,

在苯丙酸诺龙组及rhPTH (1-34) 高剂量组, 显著增加骨强度 (Fu) ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 苯丙酸诺龙组显著增加骨刚度 (S) ($P < 0.05$), 在rhPTH (1-34) 高及中剂量组, 显著增加骨脆性 (du) ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 在rhPTH (1-34) 高剂量组显著增加衰竭功 (U) ($P < 0.05$)。

表3 rhPTH(1-34)对类固醇性大鼠骨质疏松股骨生物力学的影响

分组	Fu/kg	S	du/cm	U/cm ²
对照组	14.36 ± 1.44*	1.70 ± 0.31	5.77 ± 0.79*	13.40 ± 2.10**
模型组	12.44 ± 1.16	1.70 ± 0.32	4.65 ± 1.24	9.16 ± 2.91
苯丙酸诺龙组	14.19 ± 1.49**	2.04 ± 0.30*	5.04 ± 1.36	10.65 ± 3.53
rhPTH 高	13.43 ± 0.83*	1.79 ± 0.27	5.63 ± 0.86*	12.15 ± 2.29*
rhPTH 中	13.06 ± 2.03	1.47 ± 0.38	6.89 ± 2.14**	12.66 ± 5.57
rhPTH 低	11.84 ± 2.66	1.66 ± 0.44	5.62 ± 1.80	9.96 ± 4.22

注：与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.4 rhPTH (1-34) 对大鼠股骨骨形态计量学的影响

骨体积 (BV/TV, %): 从表4的实验结果可以看出, 模型组显著低于对照组 ($P < 0.01$), BV/TV下降34.7%, 用苯丙酸诺龙试验治疗后, 其BV/TV值显著高于模型组 ($P < 0.01$), 比模型组增加30.9%; rhPTH (1-34) 试验治疗的高、中、低剂量与模型组比较, BV/TV分别增加了95.3%、58.7%及30.1%, 与模型组比较均有非常显著性差异 ($P < 0.01$), BV/TV的增加与rhPTH (1-34) 剂量存在明显的剂量反应关系, 并且rhPTH (1-34) 高及中剂量组的这种作用均显著高于阳性对照苯丙酸诺龙组。成骨表面 (OB, %) 及吸收表面 (OC, %): 从表5模型组比对照组成骨表面增加11.8%, 而吸收表面 (OC, %) 增加117.4%, 与对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。苯丙酸诺龙组与模型组比较, 成骨表面的降低 (-32.9%) 小于吸收面的下降 (53.3%); 苯丙酸诺龙组成骨表面的下降及吸收面的下降与模型组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。rhPTH (1-34) 试验治疗组, 成骨表面及吸收表面均显著低于模型组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。单标表面 (STS, %)、双标表面 (DTS, %)、矿化指数: 单标表面 (STS, %)、双标表面 (DTS, %)、矿化指数为骨形成的动态指标。从表4及表5的试验结果可以看出STS、DTS及矿化指数, 在模型组均显著高于对照组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 用苯丙酸诺龙试验治疗12周后, STS、DTS及矿化指数均低于

模型组, DTS的降低与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。在rhPTH (1-34) 高、中、低剂量组, STS、DTS及矿化指数与模型组比较均显著增加, 与模型组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。类骨质表面 (OV/BV, %) 及类骨质宽度 (O.Th, μm): 从表4的结果可以看出, 模型组与对照组比较, OV/BV稍低于对照组, 下降4.4%; O.Th也稍低于对照组, 下降14.4%; 苯丙酸诺龙与模型组相比, OV/BV及O.Th均显著低于模型组 ($P < 0.01$), OV/BV及O.Th分别下降23.3%及25.7%。rhPTH (1-34) 高、中、低剂量试验治疗组, 其O.Th值均显著低于模型组 ($P < 0.01$), 分别下降23.5%、22.8%及30.7%; 在rhPTH (1-34) 的中和低剂量组, OV/BV比模型组下降分别为7.3%及10.9%, 在rhPTH (1-34) 高剂量组, OV/BV比模型组增加7.6%。骨矿化沉积率 MRA、纠正矿化沉积率AjAR、矿化延迟时间MLT、骨重建时间 δ : 从表5的结果可以看出, 模型组与对照组比较, MRA下降25.9%, AjAR下降24.1%, MLT增加13.25, δ 增加29.4%, 与模型组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。苯丙酸诺龙组与模型组比较, MRA增加42.0%, AjAR增加66.7%, MLT下降47.4%, δ 下降36.9%。rhPTH (1-34) 高、中及低剂量组与模型组比较, MRA分别增加86.4%、14.8%及21.6%, AjAR分别增加209.8%、61.7%及98.4%; MLT分别下降58.9%、32.7%及43.65, δ 周期分别下降60.5%、36.9%及45.5%。

表4 rhPTH(1-34)对类固醇性大鼠骨质疏松骨计量学的影响(I)

分组	骨体积 / %	单标表面 / %	双标表面 / %	单双比 / %	类骨表面 / %	类骨宽度 / μm
对照组	61.89 ± 4.54**	20.07 ± 2.79	10.18 ± 2.26*	50.61 ± 7.20*	9.91 ± 1.82	7.01 ± 0.33
模型组	40.36 ± 2.53 (-34.7%)	22.25 ± 5.80 (+10.9%)	13.57 ± 5.27 (+33.3%)	59.66 ± 12.50 (+17.9%)	9.47 ± 1.17 (-4.4%)	6.00 ± 0.39 (-14.4%)
苯丙酸诺龙组	52.84 ± 5.02** (+30.9%)	18.72 ± 5.45 (-15.9%)	9.63 ± 2.86* (-29.0%)	51.75 ± 9.22 (-13.3%)	7.26 ± 1.62** (-23.3%)	4.46 ± 0.32** (-25.7%)
rhPTH 高	78.81 ± 3.93** (+95.3%)	35.66 ± 7.96** (+60.3%)	24.59 ± 5.33** (+81.2%)	70.59 ± 14.32* (+18.3%)	10.19 ± 2.46 (+7.6%)	4.59 ± 0.38** (-23.5%)
rhPTH 中	64.05 ± 4.56** (+58.7%)	27.85 ± 6.54* (+25.2%)	18.32 ± 6.10* (+35%)	65.52 ± 12.78 (+9.8%)	8.78 ± 1.83 (-7.3%)	4.63 ± 0.19** (-22.8%)
rhPTH 低	52.51 ± 3.13** (+30.1%)	28.44 ± 5.45** (+27.8%)	16.00 ± 3.47 (+17.9%)	56.91 ± 10.56 (-4.6%)	8.44 ± 1.22* (-10.9%)	4.16 ± 0.17** (-30.7%)

注:与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表5 rhPTH(1-34)对类固醇性大鼠骨质疏松骨计量学的影响(II)

分组	成骨表面 / %	吸收表面 / %	骨矿化沉积率 / ($\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$)	纠正矿化沉积率 / ($\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$)	矿化延长时间 / d	骨重建时间 / d
对照组	8.73 ± 1.52	2.87 ± 0.76**	1.16 ± 0.05**	2.41 ± 0.52**	6.08 ± 0.27*	8.91 ± 1.10**
模型组	9.78 ± 1.15 (+11.8%)	7.79 ± 1.40 (+117.4%)	0.88 ± 0.07 (-25.9%)	1.83 ± 0.37 (-24.1%)	6.88 ± 0.50 (+13.2%)	11.53 ± 1.28 (+29.4%)
苯丙酸诺龙组	6.51 ± 2.41** (-32.9%)	3.64 ± 1.34** (-53.3%)	1.25 ± 0.13** (+42.0%)	3.05 ± 0.69** (+66.7%)	3.62 ± 0.49** (-47.4%)	7.27 ± 1.46** (-36.9%)
rhPTH 高	5.38 ± 1.36** (-45.0%)	6.50 ± 1.30* (-16.6%)	1.64 ± 0.20** (+86.4%)	5.67 ± 0.89** (+209.8%)	2.83 ± 0.38** (-58.9%)	4.55 ± 0.88** (60.5%)
rhPTH 中	6.31 ± 1.86** (-35.5%)	5.95 ± 0.67** (-23.6%)	1.01 ± 0.10** (+14.8%)	2.96 ± 0.84** (+61.7%)	4.63 ± 0.63** (-32.7%)	7.28 ± 1.78** (-36.9%)
rhPTH 低	8.45 ± 1.09* (-13.6%)	6.96 ± 1.08 (-10.7%)	1.07 ± 0.05** (+21.6%)	3.63 ± 0.60** (+98.4%)	3.88 ± 0.15** (-43.6%)	6.28 ± 1.06** (-45.5%)

注:与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.5 rhPTH (1-34)对血清及尿液生化指标的影响

从表6及表7试验结果可以看出,模型组骨钙素(BGP)显著低于对照组($P < 0.01$),苯丙酸诺龙及rhPTH试验治疗组,其骨钙素(BGP)值均显著高于模型组,与模型组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。模型组血清钙水平显著低于对照组($P < 0.05$),苯丙酸诺龙组血磷显著低于模型组

($P < 0.05$)。模型组尿吡啶酚/肌昔及尿羟脯氨酸/肌昔排泄,均显著高于对照组,与对照组比较有显著性差异,用rhPTH(1-34)试验治疗的高、中、低剂量组,尿羟脯氨酸/肌昔排泄均显著低于模型组,与模型组比较有显著性差异($P < 0.01$)。rhPTH(1-34)高及中剂量组能显著增加尿钙排泄,与模型组比较有显著性差异。

表6 rhPTH(1-34)对类固醇性大鼠骨质疏松血清生化指标的影响

分组	BGP	Ca	P
对照组	0.84 ± 0.26**	2.37 ± 0.13*	2.00 ± 0.22
模型组	0.50 ± 0.11	2.07 ± 0.43	2.15 ± 0.49
苯丙酸诺龙组	0.64 ± 0.20*	1.84 ± 0.30	1.76 ± 0.30*
rhPTH 高	0.66 ± 0.21*	2.34 ± 0.23	2.15 ± 0.35
rhPTH 中	0.71 ± 0.25*	2.04 ± 0.29	1.83 ± 0.37
rhPTH 低	0.79 ± 0.17**	2.27 ± 0.23	1.99 ± 0.26

注：与模型组比较 * $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

表7 rhPTH(1-34)对类固醇性大鼠骨质疏松尿生化指标的影响

分组	尿钙 / 肌苷	尿吡啶酚 / 肌苷	尿羟脯氨酸 / 肌苷
对照组	4.07 ± 2.32	382.2 ± 185.7*	5.76 ± 7.51**
模型组	5.83 ± 3.54	569.8 ± 252.4	72.93 ± 49.39
苯丙酸诺龙组	6.77 ± 2.99	545.3 ± 299.8	47.82 ± 48.60
rhPTH 高	11.46 ± 7.82*	493.5 ± 203.8	10.56 ± 9.66**
rhPTH 中	8.96 ± 2.68*	611.9 ± 193.1	5.86 ± 6.02**
rhPTH 低	4.39 ± 3.36	604.2 ± 356.1	7.59 ± 7.36**

注：与模型组比较 * $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3 讨论

文献报道糖皮质激素诱导骨质疏松的机制有两方面。一方面，糖皮质激素对整体骨骼产生两方面的影响，即降低卵巢、睾丸、肾上腺性激素的合成与分泌，减少胃肠钙吸收，增加肾脏钙排泄，引起继发性甲亢；另一方面，其直接抑制成骨细胞的功能，降低其更新转换率，缩短其寿命，并可直接刺激破骨细胞活动，增加骨组织对PTH和1、25-(OH)₂-D₃的敏感性，总体上造成成骨作用减弱及破骨作用加强^[3-5]。从本试验结果可以看到类固醇性大鼠骨质疏松与对照组比较具有如下特点：骨量显著减少，骨吸收显著增加，骨成熟下降及骨重建周期延长。这些特点说明类固醇性大鼠骨质疏松是一种低转换型的骨质疏松，这与临床上糖皮质激素性骨质疏松及不明病因的男性骨质疏松的特征一

致，即具有较低的骨更新代谢率。

从本试验的结果可以得到rhPTH(1-34)能显著增加大鼠股骨骨密度，这与文献报道的rhPTH(1-34)能增加人、猴、兔及大鼠骨密度的结果一致^[6-10]。对大鼠股骨生物力学特征的影响方面的结果与文献报道的rhPTH(1-34)促进骨合成代谢，显著增加股骨皮质骨骨量及强度，显著增加骨密度有关^[10]。因为骨质量是维持骨生物力学稳定性的基础，需要骨的强度与韧性的完美结合。骨质量主要取决于材料和结构特性，骨骼构造的几何学特点也影响骨的抗骨折能力，上述结果提示rhPTH(1-34)具有提高骨的抗骨折能力。对大鼠股骨骨形态计量学的影响方面，可以得到rhPTH(1-34)能使骨体积增加为骨形成大于吸收的最终结果，也是BMD及骨生物力学增加的物质和结

构基础,抑制骨吸收的同时,也抑制了骨形成表面指标,能加速骨形成代谢,也能够加速骨的成熟。提示rhPTH(1-34)对这种低转换型骨质疏松的试验治疗能加速类骨质的矿化速率、缩短矿化时间、加速骨形成与吸收的周转、提高骨量更新。rhPTH(1-34)对血清及尿液生化指标结果的影响,提示rhPTH(1-34)能加速骨形成、抑制骨吸收。另外模型组血清钙水平显著低于对照组($P<0.05$),而苯丙酸诺龙组血磷显著低于模型组($P<0.05$),这种改变的意义有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Rubin Mr, Cosman F, Lindsay R, et al. The Anabolic Effects of Parathyroid Hormone[J]. Osteoporos Int, 2002, 13: 267-277.
- [2] Ejerster C, Andeassen TT, Hauge EM, et al. Parathyroid Hormone (1-34) in Creases Vertebral Bone Mass, Compressive Strength, and Quality in Old Rats[J]. Bone, 1995, 17: 507-511.
- [3] 蒋盛,戴力扬.糖皮质激素诱导的骨质疏松发生机制[J].中国矫形外科杂志,2004,(6):459-460.
- [4] 张凤丽,邢小平.糖皮质激素所致骨质疏松症的临床研究进展[J].国际内分泌代谢杂志,2007,(1):62-64.
- [5] 李青南.骨质疏松实验动物研究[M].成都:四川大学出版社,2001,25-30.
- [6] Orwollles, Scheele WH, Paul S, et al. The Effect of Teriparatide [Human Parathyroid Hormone(1-34)] Therapy on Bone Density in Men with Osteoporosis[J]. J Bone and Mine Res, 2003, 18(1):9-13.
- [7] Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of Parathyroid Hormone(1-34) on Fractures and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women with Osteoporosis[J]. N Engl J Med, 2001, 344(19):1434-1441.
- [8] 王毅,于顺禄,郭若霖,等.重组人甲状旁腺激素(1-34)片段促进动物骨折愈合的研究[J].天津医药,2006,(12):880-883.
- [9] Sato M, Weatmore M, Clendenon J, et al. Three-dimensional Modeling of the Effects of Parathyroid Hormone on Bone Distribution in Iumber Vertebrate of Ovariectomized Cynomolgus Macaques[J]. Osteoporos Int, 2000, 11(10):871-880.
- [10] Baumann BD, Wronski TJ. Response of Cortical Bone to Antiresorptive Agents and Parathyroid Hormone in Aged Ovariectomized Rats[J]. Bone, 1995, 16: 247-253.

(收稿日期 2017年2月8日 编辑 邹宇玲)