

骨質疏松研究與防治

第二卷

第四届全国骨質疏松學術研討會

河南 - 洛陽



主辦單位：中國老年學學會骨質疏松委員會
中國骨質疏松雜誌社

協辦單位：洛陽正骨醫院

一九九六年十月七 ~ 十二日

第四届全国骨质疏松研讨会组委会领导成员

特 邀 嘉 宾	张立平	中国老年学学会副会长 中国骨质疏松杂志社社长 原军委卫生部部长
	查 敏	河南省洛阳市副市长
	任绪光	河南省洛阳市卫生局长
	高子范	河南省洛阳正骨医院院长
组 委 会 主 席	刘忠厚	中国老年学学会骨质疏松委员会主任委员 中国骨质疏松杂志主编
	李景学	中国老年学学会骨质疏松委员会副主任委员 中国骨质疏松杂志副主编
组委会副主席	马述仕	中国老年学学会骨质疏松委员会副主任委员 中国骨质疏松杂志副主编
	王洪复	中国老年学学会骨质疏松委员会副主任委员 中国骨质疏松杂志副主编
	刘福元	中国老年学学会骨质疏松委员会副主任委员 中国骨质疏松杂志编辑委员会副主任委员
	刘建立	刘成林 薛 延 王石麟 沈志鹏 荣国威
	陶天遵	高风桐 刘玉槐 扬定焯 张英志 马景昆
组委会成员	杜靖远	刘培成 王者生 朱汉民 李荫太 王春寅
	沈国强	徐 澄 杨明功
	主 编	刘忠厚
副 主 编	马述仕	刘建立
	刘成林	王石麟
	薛 延	冯世伦
责 任 编 辑	郭亦超	
	刘京萍	

目 录

一 基础 研究

- 白细胞介素 6 在老年女性原发性骨质疏松症发病中的作用 王颜刚 王 伟 王桂兰(1)
- 新钙灵对兔血清中若干骨形成因素相关性的分析 杨家粹 金伟军 陈树元等(4)
- 雄性大鼠去睾后骨量及骨形态学相关性研究 金嘉琳 田成功(6)
- 骨膦抗去势雌鼠骨质疏松研究 郑承杰 李洪祥 谭建三(10)
- 骨质疏松症计算机诊治软件的研制 李 昂 刘心炜(14)
- 绝经前卵巢切除妇女骨代谢变化初探 刘建新 舒家振(16)
- 17 β -雌二醇对人成骨样细胞 OS-732 增殖和分化的影响 薛 延 高秀辉(19)
- 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 对成骨样细胞骨架和基因表达的影响 薛 延 相 东 袁润英(23)
- 体力劳动妇女骨矿含量影响因素探讨 闫丽娅 张 卉 马薇等(26)
- 3965 例股骨颈、粗隆间骨折和胸腰椎压缩性骨折统计分析 王 莉 苏嘉莉 孔德诚(28)
- 双能 X 线吸收法及定量 CT 法诊断骨质疏松症的比较研究 蒋文龙 蔡 明(30)
- 204 名吸毒者骨钙含量调查 周起敬 徐汝昌 凌刚波等(32)
- 尼尔雌醇、钙和维生素 D $_3$ 对去卵巢大鼠骨质疏松的预防作用(姜振) 陶天遵 陶树青 尹文哲等(35)
- 维生素 K $_2$ 对去卵巢大鼠骨质疏松的预防作用 陶天遵 陶树青 吕 蒿等(37)
- 中老年糖尿病患者骨密度与骨代谢变化研究 潘时中 赵淑好 张松菁(40)
- 高软换型骨质疏松模型的生化特点 冯 坤 张灵莉 刘月桂等(42)
- 培养成骨细胞衰老的超微结构改变 全慰芳 朱文菁 王洪复(45)
- 去势兔模型建立的初探 蔡桂英 杨 霞 魏 玲等(46)
- 老年妇女血清激素水平及骨密度的改变 梁君慧 陈丽佳 康 强(46)
- Hologic QDR2000 型骨密度仪的应用 袁志斌 周 琦 马寄晓等(48)
- 图像处理在人体骨密度测定及骨病变信息提取中的应用研究 俞文杰 于宝山(50)
- 青少年期桡尺骨骨矿含量变化的初探 田万里 陶天遵 顾 群(53)
- 慢性阻塞性肺疾病与骨质疏松的探讨 黄文顺 黄玉琴 周孝强等(55)
- 骨矿含量与肾虚肾主骨关系的研究 赵玉堂 刘凯军 李金花等(57)
- 骨质疏松的分类与衰老期骨质疏松 孙友乐 曾红专(60)
- 补肾药对维甲酸致大鼠骨病变和肠钙吸收的影响 刘和娣 李 恩 赵晓林等(62)
- 钙剂与骨质疏松症的电浆医理 姜 征 姜超美 金宏俊等(65)
- 运动对青少年骨密度的影响 何玉香 李 瑾 何黛璇等(67)
- 氟与骨质疏松 林畅荣(69)
- 绝经后骨质疏松症与雌激素疗法 孙友乐 王明柱(70)
- 骨质疏松的机理、X 线表现与治疗 王荣彬 王松峰 李银庄(72)
- 类固醇类药物与骨质疏松 谢 娟(74)
- ✓ 骨质疏松与钙剂 杨子江(76)

探讨老年性骨质疏松症与钙质的关系	马良凤(77)
在 1,25-(OH) ₂ D ₃ 正常代谢浓度下钙剂在人体内的生物利用度测定研究 ...	张能芳 商志敏(79)
尿石症患者骨矿含量变化的研究	应奇峰 徐 岚 孙恪遵等(81)

二 流 行 病 学

上海市区居民 3051 例跟骨骨密度的测量	徐尚志 黄伟民 周 薇等(83)
我院 1990~1996 年骨折流行病学调查	童书云 明庆华 蒋绿芝(87)
新疆中老年人骨质疏松发病率调查	崔明珍 热比亚 盛廷珍等(89)
乌鲁木齐市社区骨密度检测分析	郭 莉 汪学琴 寿 庆等(91)
合肥市郊区骨质疏松症的研究	汤 健 叶冬青 张健湘等(94)
云南昆明地区人体桡尺骨骨密度变化生理规律探讨	明庆华 徐汝昌 林建伟等(97)
沈阳市 1986~1994 年 9 所医院髋部骨折病倒分析	周 波 闫丽娅 侯菊倩等(99)
沈阳地区 537 例正常人双能 X 线骨密度测量结果	郭庆升 张世斌 李 征等(101)

三 临 床 医 学

骨质疏松的成骨疗法:氟加钙联合治疗法	李金祥(104)
慢性精神分裂症患者骨矿物质含量与森田疗法的对照研究	王学义 马文有 孙贺祥(109)
谨防漏诊与原发骨质疏松症重叠存在的继发性骨质疏松症	金世鑫 沈志卫 周迎生(112)
透析性骨病的诊治体会	李国璋(115)
绝经对妇女骨密度的影响	宋淑军 刘春荣 苗劲蔚等(116)
类风湿关节炎骨质疏松临床观察	王 黎 王 轶 夏亚一(117)
101 例老年人血清降钙素、维生素 D ₃ 、甲状旁腺素的变化	牛宝峰 牛桂琛 骆 峰(119)
试谈老年人骨折治疗要点	严永康(121)
老年骨质疏松增生导致膝关节内游离体的原因、临床特点及治疗	沈志鹏 刘晓平 张云昌等(123)
硫酸镁治疗骨质疏松症 7 例报告	汪俊之(124)
门诊中骨质疏松症对老年腰腿病分析	周鼎节(126)
老年人腰背痛的诊治	陆兆琼(127)
固定加药物治疗骨质疏松合并骨折 100 例	王玺印 瓦依提 李 瑞等(128)
药物电离子透入治疗骨质增生	宋惠玲 张志忠(130)
中西医结合治疗骨质疏松症 46 例临床研究	胡希英 彭永春 胡 敏(131)
温肾益精法治疗老年性骨质疏松	杨世勤(133)
老年骨质疏松 226 例临床分析	卢淑梅 宋玉荣 马清秀等(134)
老年性骨质疏松症 89 例临床发病研究	李长文(136)
肺心病继发骨质疏松 20 例临床观察	黄志民 卢淑梅 金淑霞(138)
糖皮质激素致压缩性脊椎骨折 3 例	曾德鸿(139)
类风湿病致骨质疏松一例探讨	张国新(140)
中西医结合治疗老年性骨质疏松 35 例临床体会	傅金云(142)
骨质疏松症与人工种植牙	李克修(143)

四 骨 矿 测 量

绝经后妇女骨矿含量分析.....	张福才 徐瑞英 秦卫斌等(147)
骨密度测定和血清参数在骨质疏松症诊断中的价值.....	汤 健 张建湘 左祥生等(149)
女性骨密度与性激素关系.....	汪延华 贾敬华 赵广碧(151)
孕中晚期妇女骨密度与血清钙磷及碱性磷酸酶代谢分析.....	郎秀全 吴兰荣 曹春兰(156)
160 名妊娠中晚期妇女桡骨骨密度测量报告.....	张雅岚 汪家琦(158)
鞍山市青少年尺、桡骨骨矿含量变化的研究.....	胡 军 刘春志 胡康义(159)
焦作市 447 例 6 岁以下儿童桡骨骨密度测定.....	崔丙生 和占华 狄长春等(161)
女性甲亢患者骨矿含量的变化.....	赵桂云 于建华 高晓梅等(162)
333 例下腰痛骨矿含量的临床分析.....	赵国华 倪乐燕(163)
骨矿含量测定对老年脊椎压缩性骨折的风险预测.....	修先伦 王吉波 张宁亮等(164)
老年骨损伤骨矿测量及临床意义.....	孔 媛 邹 培(166)
绝经后妇女骨密度测量的临床评价.....	刘用华 刘玉珍 陈文新等(167)

五 中 医 中 药

新钙灵胶囊增加骨钙密度效应的研究.....	陈志良 金伟军 陈树元等(170)
原发性骨质疏松症的中医研究近况.....	魏之玉 张 洪 霍 青(172)
中药 BK 浸膏抗去势大鼠骨质疏松研究.....	李洪洋 谭建三 郑承杰等(174)
古汉养生精治疗中老年骨质疏松症 64 例临床疗效观察.....	黄伟兰(178)
治痹补骨丹治疗绝经后骨质疏松 47 例临床观察.....	冯世伦 夏志道 吴文才(179)
速补钙冲剂防治骨质疏松机理.....	潘晓亮 田廷娜(182)
彼阳牦牛骨髓壮骨粉治疗老年性骨质疏松.....	孙德敬(184)
益肾活钙治疗骨质疏松症的临床观察.....	刘立庄 武建华 温晓明(185)
补肾与富钙中药对大鼠卵巢切除所致骨质疏松指标的改善作用.....	王洪复 励杏娣 翁世芳等(187)
黄芪水提液与已烯雌酚对去卵巢大鼠骨代谢的影响.....	李朝阳 吴 铁 黄连芳(188)
蛇床子总香豆素对激素致大鼠骨质疏松的骨密度影响.....	廖进民 吴 铁 黄莲芳等(191)
活性生物钙对 S ₁₈₀ 肉瘤抑瘤作用观察.....	秦淑贞 刘东芹 马晓彤(193)
益钙灵治疗腓骨软化症 40 例临床疗效观察.....	周 静 张能芳(194)
补肾密骨液对体外培养新生大鼠颅骨成骨细胞增殖的影响.....	杜靖远 胡光亮 夏志道等(194)
中医对骨质疏松症的治疗方法.....	陈嘉乃(197)
补肾汤治疗老年退行性病变所致腰腿痛 75 例观察分析报告.....	胡本先(199)
补肾壮骨丸治疗骨质疏松症的临床研究.....	林文君(201)
密骨丸对大鼠实验性骨质疏松症防治作用的研究.....	王鑫国 李澎湃 王际孝等(202)
杞苁冲剂对 60 例绝经期妇女骨质疏松症治疗的临床观察.....	刘俊生 刘德华 王桂丽(204)
骨质疏松的中医药治疗.....	陈明涛(206)
骨密 I 号、骨密 II 号脾肾同补治疗骨质疏松症——32 例临床疗效观察.....	李浩钢 石仰山 石鉴玉(207)

补肾方药治疗骨质疏松的实验研究与临床观察.....	李 恩 陶静华 刘和娣等(208)
补脾方剂对雌性去势大鼠骨代谢影响的实验研究.....	李芳芳 李恩(211)
偏瘫复元药酒对老年病的治疗观察.....	紫红涛 周纪斌(214)
中药治疗对骨质疏松大鼠骨胶原的影响.....	蔡国平 史景熙 李玉华等(216)

六 治疗与预防

骨质疏松的发生及防治.....	鲍善芬 赵 霖(217)
激素替代疗法防治绝经后骨质疏松.....	王瑞欣 曲信滋(219)
骨质疏松症的诊断和治疗.....	陈礼庚(222)
骨质疏松症的发病机理及治疗与预防.....	于庭华(222)
从老年性骨折浅议骨质疏松症及其防治.....	丁 焰 杨炳忠(224)
骨质疏松与颅内钙化的预防.....	时文字(225)
骨质疏松症的病因及防治.....	毕连华 薛志安 李 军(227)
骨质疏松及有关影响因素.....	罗德文(230)
骨质增生的辨治.....	张云庆(233)
骨质疏松的预防与治疗.....	顾美屏(235)
老年人更需要补钙.....	程远超(237)
适时药补对老年骨质疏松的防治.....	杨忠培(237)
骨质疏松的治疗体会.....	羊在高 王金康(238)
骨质疏松症的预防.....	朱巧爱(240)
浅析老年骨质疏松症的防治.....	万泽民 马明松 万立文等(241)
骨质疏松症的治疗及预防.....	安著钢(242)
谈谈老年骨质疏松症的防重于治.....	徐锦岐(243)
骨质疏松的预防.....	孙兴昌 刘丽霞 张晓虹(244)
自我防治骨质疏松.....	徐建芳(246)
骨质疏松症的预防.....	巩利亚 唐惠芝(246)
骨质疏松症的预防.....	宁 平(248)
骨质疏松的防治.....	毛秀平(249)
老年性骨质疏松的预防.....	乔海英(253)
骨质疏松症的预防.....	陈可香 黄芬芬(254)
怎样预防骨质疏松.....	许彦林(256)
骨质疏松预防和治理措施.....	王维世(258)
骨质疏松、骨质增生及异位钙化的发病机理.....	李敬华(259)
假性甲状旁腺功能低下症所致骨质疏松症二例报告.....	黄 薇(262)
中青年闭经—溢乳综合征与骨质疏松.....	胡绥苏 宋维炳(263)
慢性牙周炎与骨质疏松症相关性的研究.....	陈世璋(265)
胃大部切除术对骨密度和生化指标的影响.....	张超巍 袁辉生 范东坡等(267)
空勤人员前臂不同部位骨密度评价.....	于青琳 李江丽 蒋一平等(270)

一 基础 研究

白细胞介素 6 在老年女性原发性 骨质疏松症发病中的作用

王颜刚 王 伟 青岛医学院附属医院内分泌科 (266003)

王桂兰 山东医科大学内分泌科

细胞因子在骨质疏松症(osteoporosis OP)发病中的作用倍受关注。目前国外学者对白细胞介素 1(interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子等已有较多研究,对 IL-6 研究较少。本文采用国际上通用的 IL-6 依赖性细胞株 MH60. BSF 增殖反应 MTT 法检测了 30 例发生骨折的老年女性和 24 例正常者外周血单个核细胞培养上清(PBMC)IL-6 水平以及血清雌激素(E₂)、骨钙素(BGP)等水平的变化,探讨 IL-6 在老年女性 OP 发病中的作用,为防治 OP 提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象:30 例 OP 患者均来自我院骨科住院和门诊发生骨折的患者,年龄 61~73 岁,平均年龄 67.2±5.3 岁,其中 14 例股骨颈骨折、9 例前臂骨折和 7 例脊椎骨折,经 X 光片证实脊椎骨、股骨颈和手指骨普遍存在 OP。24 例年龄相当、同地区、同民族的健康者为非疏松组(NOP)(经 X-光片证实未发生 OP),年龄 61~70 岁,平均年龄 65.6±4.4 岁;并选择 14 例绝经前女性与老年女性相对照,年龄 40~47 岁,平均年龄 43.4±3.6 岁。所有受试者通过询问病史和健康查体均排除其它代谢性骨病、慢性肝病、肾病、自身免疫性疾病,影响骨代谢的药物如肝素、阿斯匹林、糖皮质激素等也除外。

1.2 标本收集:所有受试者空腹采血前 3 天钙磷固定饮食(钙 800mg/天、磷 1200mg/天,统一食谱,其中牛奶 500ml),晨 8 点无菌静脉采血 10ml,5ml 注入无菌肝素抗凝管(10u/ml),严格无菌操作,Ficoll 分离液梯度离心,获取单个核细胞(PBMC);其余血分离血清,-20℃保存。

采血完毕,排空尿液,饮蒸馏水 250~300ml,留一次性中段尿 5ml,-20℃保存。

1.3 生化指标测定:血清骨钙素(BGP)(北京东亚生化所,批内和批间差异分别小于 5%和 10%)。雌二醇(E₂)(天津大地公司,批内和批间差异分别小于 5%和 11%)、采用放免法,尿钙、肌酐分别采用磷钼基酚酞结合酮法和苦味酸法,测试仪器为美国 CC II 型生化自动分析仪,仪器重复测量误差 0.59%。所有指标均一次测定。

1.4 骨密度(BMD)测量:SD-1000 型单光子骨密度仪,测定受试者非优势臂桡、尺骨中远端 1/3 交界处 BMD(g/cm²),BMD₁、BMD₂、分别为桡、尺骨骨密,BMD 为其均值,每个受试者测定二次,取其均值。

1.5 IL-6 测定方法:①将分离后的 PBMC,以 Hank's 液洗涤 3 次,以 10%的小牛血清(FCS)的 1640 完全培养液配成 2×10⁵ 个/ml 细胞悬液,吸入 24 孔培养板,加入终浓度 100μg/ml 的 PHA-P(华美公司),置于 37℃、5%CO₂ 孵箱培养 72 小时,收集上清,移入冻存管-20℃保存,集中测定 IL-6。②将传代生长适宜的 IL-6 依赖细胞株 MH60. BSF(山东医学科学院提供)经

Hank's 液洗涤 2 次,离心(1000rpm)10 分钟,3%FCS1640 液调细胞浓度为 $1 \times 10^5/\text{ml}$,取 96 孔培养板,每孔加入 3%FCS1640 培养液 $100\mu\text{l}$,对样品和重组 IL-6 标准品($20\mu\text{g}/\text{ml}$)各 $100\mu\text{l}$ 倍比稀释,每个稀释度设 3 个复孔,同时设阴性对照孔,然后每孔加入 MH60 细胞悬液 $100\mu\text{l}$ (含 5×10^4 ,置培养箱中,培养 48 小时,取出培养板,每孔加入 $5\text{mg}/\text{ml}$ 的 MTT $10\mu\text{l}$ [3-(4,5 二甲基噻唑-2YL)-2,5-二苯基-4 噻唑盐、华美公司],置孵箱中培养 4 小时,甩去上清,滤纸吸净,每孔加入 0.04N 盐酸异丙醇 $200\mu\text{l}$,充分吹打,溶解 Formazan 颗粒,在酶联免疫检测仪上(DG-3022),波长 570nm、630nm 下测定光密度值(OD),两 OD 值相减与稀释倍数作图。(蓝色 Formazan 颗粒的特异吸收波长为 570nm、参考波长 630nm,两者相减,去出非特异吸光度)^[3]。

1.6 IL-6 浓度单位计算:以标准品和待测上清稀释度的 lg 为横坐标,以 OD 值为纵坐标,标准品最大 OD 值 1/2 处划一平行于横轴的直线,此直线与曲线相交所对应的稀释度,即为所需的稀释度^[4]。MTT 法的原理:MTT 为观查活细胞状态较好的染料,以 MTT 为底物,活细胞内的琥珀酸脱氢酶可使黄色的 MTT 还原,产生紫蓝色的 Formazan 颗粒,此颗粒与活细胞成正比,将其溶解,测 OD 值。

1.7 统计分析:所有结果均采用均值 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用方差分析、两两 q 检验,多变量分析采用多元回归法,各项处理采用 SAS 软件,在微机上完成。

2 结果

2.1 绝经前后女性 IL-6 和骨代谢参数的变化见表 1。

表 1 各组 IL-6 和其它指标的变化($\bar{x} \pm s$)

项 目	绝经前 I (n=15)	老年非疏松组 II (n=24)	老年疏松组 III (n=30)
年龄(岁)	43.4±3.6	65.6±4.4*	67.2±5.3*
体重(kg)	57.6±5.1	60.2±6.0	58.4±4.5
BMD(g/cm ²)	0.69±0.08	0.63±0.07	0.49±0.06* ^Δ
BGP(ng/ml)		2.58±0.50	3.12±0.45 ^Δ
尿 Ca/Cr		0.21±0.06	0.38±0.09 ^Δ
E ₂ (pg/ml)		84.6±6.2	71.5±6.4 ^Δ
IL-6	10.2±1.8	13.6±1.4*	16.5±1.2* ^{ΔΔ}

注: I 组、II 组与 III 组比较 * $p < 0.05$; II 组与 III 组比较 $\Delta p < 0.05$ $\Delta\Delta p < 0.01$

表 1 可见绝经后妇女 IL-6 水平高于绝经前,而 OP 组又高于 NOP 组,说明 PBMC 高水平表达 IL-6 与 OP 发病以及 E₂ 减少有关。血清 BGP 反映骨转换率,OP 组高于 NOP 组,提示 OP 组为高转换型。反映骨吸收的 Ca/Cr 比值 OP 组高于 NOP 组;还发现 OP 组血清 E₂ 低于 NOP 组。

2.2 以 OP 组 IL-6 为因变量的多元回归分析(表 2)发现:IL-6 除与年龄的偏相关系数无意

表 2 OP 组 IL-6 与其它指标的偏向关系数

指 标	年龄	BMD	Ca/Cr	BGP	E ₂
r	0.426	-0.634	0.527	0.602	-0.535
p	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

义外,其余均有相关性,即 IL-6 与 BMD 和 E₂ 呈负相关,与 BGP 和 Ca/Cr 呈正相关。

3 讨论

IL-6 为多功能的细胞因子,由人体内多种细胞分泌,如 PBMC 和血管内皮细胞等。最近有学者利用 Northern 杂交技术证实人成骨细胞(OB)有 IL-6mRNA 的表达^[1]。IL-6 不仅刺激骨吸收,还加强其它因子的作用^[2]。Roodama^[3]在 Paget's 病人血清和骨髓中发现 IL-6 水平增

高。Horowitz^[4]认为 IL-6 介导 E₂ 缺乏鼠的骨丢失,而 IL-6 的中和抗体可阻断卵巢切除鼠破骨样细胞在骨髓内发育和破骨细胞(OC)在骨内形成。Gliulio^[5]对 7 例卵巢切除的女性患者作了前瞻性研究,发现 PBMC 分泌大量的 IL-6。John^[6]报道血清 IL-6 水平随年龄的增长而增高,其原因与 T 细胞免疫功能减退和性激素水平下降,导致 IL-6 基因表达调节失控有关。正常人血清 IL-6 浓度很低,一般测不出。本实验经体外诱生 PBMC 培养上清液,发现 OP 组高于 NOP 组和绝经前组;相关分析发现 IL-6 与 BMD 有明显的相关性,显然 IL-6 水平增高是引起骨丢失的重要原因。PBMC 分泌 IL-6 除刺激血液中单核-巨噬细胞融合成 OC 外,还可能经血液循环到骨组织发挥作用,即远距离-经典内分泌调节。本研究虽未检测 OB 及骨基质细胞分泌的 IL-6,但 PBMC 分泌的 IL-6 水平的变化,反映骨髓微环境紊乱与否。许多实验证实 IL-6 刺激 OC 的发育,使其活性增强、数量增加,进而导致骨吸收^[7]。目前关于 IL-6 基因表达调控机制尚不清楚,蛋白激酶 C(PKC)信号传导通路可能会触发 IL-6 基因表达^[8]。雌激素的减少可能触发 IL-6 的基因表达。

本组资料表明,IL-6 与 E₂ 成负相关,说明雌激素减少是导致老年女性 PBMC 分泌 IL-6 增多的原因之一。本结果与 John 的报导相吻合。

反映骨吸收的尿 Ca/Cr 比值和反映骨转换水平的血清 BGP,OP 组高于 NOP 组并与 IL-6 呈正相关,进一步证实 IL-6 刺激骨吸收这一结论。

以上事实表明,60 岁左右老年女性骨丢失属于高转换型,随增龄引起雌激素水平的改变和其它因素的影响,导致分泌 IL-6 细胞活化,IL-6 分泌增多,从而刺激骨吸收,骨吸收超过骨形成就会导致 OP 的发生。小剂量雌激素替代和 IL-6 的单克隆抗体无疑对延缓骨丢失,预防 OP 起重要作用。

本实验承蒙山东医学科学院分子实验室及山医血液病研究室同仁的大力帮助,在此深表谢意

参 考 文 献

- 1 Thomas A, Linkhart D, et al. IL-6 messenger RNA expression and IL-6 protein secretion in cells isolated from normal human bone. *J Bone Mineral Res*, 1991, 12: 1285.
- 2 Ishimi Y C, Miyaura C H, T Akatsu, et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol*, 1990, 145: 3287.
- 3 Roodman G D, Kurihara N, Ohsaki Y, et al. IL-6: A potential autocrine/paracrine factor in Paget's disease of bone. *J Clin Invest*, 1992, 89: 46.
- 4 Horowitz MC. Cytokine and estrogen in bone; anti-osteoporotic effect. *Science*, 1993, 260: 626~627.
- 5 Gliulio P, Guiseppina B, Mario P, et al. Spontaneous release of IL-1 and IL-6 by peripheral blood mononuclear cells after oophorectomy. *Clin Science*, 1992, 83: 503.
- 6 John CT, Grossman M. Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocrin Rev*, 1984, 5: 435.
- 7 Fujita, Toshimitsu M, Yoshinobu N, et al. Cytokines and osteoporosis. *Annals. New York Academy of Science*, 1993, 5: 371~375.
- 8 Robert L, Gao, Giuseppe, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: Mediation by IL-6. *Science*, 1992, 257: 88~90.

新钙灵对兔血清中若干骨形成 因素相关性的分析

杨家粹 金伟军 陈树元 陈志良 彭湘湘 黄祖汉
第一军医大学南方医院药学部, 同位素科 广州(510515)

本文观察了新钙灵粉与作为对照的活性钙片对兔骨形成中, 有关血钙、降钙素、骨钙素、磷、碱性磷酸酶及血尿素氮的改变, 试图探讨参数间的相互关系。

1 材料与方法

1.1 药物 新钙灵粉由本部研制生产, 批号 941019, 人用剂量 80mg 钙/次, 一日三次。对照组用活性钙片由广州光华药业有限公司生产, 批号 950102, 人用剂量 100mg 钙/次, 一日三次。

1.2 血清样品收集 兔 16 只, 体重 1.6~3.1kg, 雄 6 只, 雌 10 只。设 4 组: 生理盐水组, 活性钙组(给兔灌胃含钙 83.3mg/kg 的活性钙, 是人用单次剂量的 50 倍), 新钙灵小剂量组(给兔灌胃含钙 6.65mg/kg 的新钙灵, 相当于人用单次剂量的 5 倍), 新钙灵大剂量组(给兔灌胃含钙 66.5mg/kg 的新钙灵, 相当于人用单次剂量的 50 倍)。灌胃容积相同, 分别在给药前、给药后 15min、45min、75min 从颈动脉放血, 离心, 血清贮存于 -18℃ 冰箱中, 等血清全部收集完, 立即进行各项实验, 全部操作在一周内完成。

1.3 检测方法 降钙素(CT)测定方法: 按 DPC 生产的双抗体¹²⁵I-标记放射免疫测定降钙素试剂盒(批号 KCLD, 367)说明书进行操作, 样本采用上海核福光仪器有限公司生产 SN-682 型放射免疫 γ 计数器测定。

骨钙素(BGP): 以北方免疫试剂研究所生产的 BGP 放射免疫分析测定盒, 批号 9503, 按说明书进行, 样品用上海市技术监督局实验工厂生产的 FMJ-87 型全自动放射免疫 γ 计数器测定。

其它检测: 钙(Ca)以澳大利亚 Trace 科学仪器生产钙试剂盒, 批号 16727。磷(P)以上海长征医学科学有限公司生产无机磷试剂盒, 批号 40651。碱性磷酸酶(AKP)以碱性磷酸酶试剂盒批号 951130; 血尿素氮(BUN)试剂盒批号 951130, 均由 Biosea 生物高技术公司生产。以上四种试剂盒均分别用意大利 Arco 生化自动分析仪上进行测定。

2 结果

2.1 兔血清中正常 Ca、P、CT、BGP、AKP、BUN 值, 见表 1。实验兔血清钙比人正常值高。

表 1 兔血清中正常 Ca、P、CT、BGP、BUN、AKP 值($\bar{x} \pm s$)

指 标	n	$\bar{x} \pm s$	范 围
Ca(mg/dl)	16	13.94 $\pm$ 1.33	11.8~16.1
P(mg/dl)	16	5.94 $\pm$ 2.2	3.1~10.9
CT(pg/ml)	16	151.14 $\pm$ 102.71	40.1~336.6
BGP(ng/ml)	16	27.68 $\pm$ 19.75	0~61.59
BUN(mg/dl)	16	24.94 $\pm$ 7.8	14.6~40.3
AKP(U/L)	15	75.75 $\pm$ 35.49	18.6~170

注: BGP 在 20ng/ml 以上时, $\bar{x} \pm s$ 为 39.92 $\pm$ 13.52ng/ml(n=12); BGP 在 0~2ng/ml 时, $\bar{x} \pm s$ 为 0.87 $\pm$ 1.01ng/ml(n=4)

2.2 从表 2、3 结果观察:

BGP 与 Ca、CT、AKP 均有程度不等的相关性;

BGP 与兔体重有密切关系,体重大于 2.5kg,给药前 BGP $0\sim 2\text{ng/ml}$,占 60%;体重小于 2.5kg,BGP $0\sim 2\text{ng/ml}$,占 9%;

按 BGP 数量不同分组观察到血清中各成分相关系数差异很大,尤其在 BGP $0\sim 2\text{ng/ml}$ 时,BGP:Ca 有非常明显的负相关,BGP:P 有明显正相关。提示补钙应同时补磷。

表 2 65 个兔血清中观察 Ca、P、CT、BGP、BUN、AKP 之间相关性及相关系数

相关比	A	B	r	n	P	结果分析
Ca:CT	182.91	-4.489	-0.0783	65	>0.05	
Ca:BGP	90.549	-4.549	-0.320	65	<0.01	非常明显负相关
Ca:AKP	75.508	-0.0177	-6.187×10^{-4}	61	>0.05	
Ca:P	3.309	0.1113	0.0813	64	>0.05	
Ca:BUN	27.905	-0.3076	-0.0633	65	>0.05	
CT:BGP	17.0545	0.1083	0.4425	64	<0.001	非常明显正相关
CT:P	4.796	-3.089×10^{-5}	-1.33×10^{-3}	64	>0.05	
CT:AKP	124.922	-0.103	-0.2136	61	>0.05	
CT:BUN	123.308	-0.0170	-0.2217	65	>0.05	
BGP:AKP	93.1885	-0.5594	-0.2705	61	<0.05	明显负相关
BGP:P	4.1189	0.022	0.2309	64	>0.05	
BGP:BUN	29.97	-0.048	-0.139	65	>0.05	
P:BUN	16.1737	1.5829	0.4305	64	<0.001	非常明显正相关
P:AKP	74.6117	0.1364	6.549×10^{-3}	61	>0.05	
AKP:BUN	19.1295	0.0592	0.3351	61	<0.01	非常明显正相关

表 3 根据给药前兔血清 BGP 含量不同其相关因子的比值分析

相关比	BGP($0\sim 2\text{ng/ml}$)			BGP($>20\text{ng/ml}$)		
	r	n	P 值	r	n	P 值
BGP:Ca	-0.6288	16	<0.01	-0.26	49	
BGP:CT	8.202×10^{-3}	16		0.5853	49	<0.001
CT:BUN	0.1646	16		-0.3297	49	<0.05
BGP:P	0.6292	15	<0.05	0.0495	49	
BGP:AKP	0.2418	12		-0.2939	49	<0.05
P:AKP	0.7452	12	<0.01	-0.1933	49	
P:BUN	0.8458	15	<0.001	0.2274	49	
AKP:BUN	0.9280	12	<0.001	0.1815	49	

注:P>0.05 者略;有些相关比与两组都无关系者省略

2.3 表 4 提示不同钙剂或同一钙剂给剂量不同,引起兔血清比例显然不同,小剂量新钙灵适合 BGP 形成低下的兔能使 BGP:Ca 成负相关,BGP:P 成正相关;活性钙可使 BGP:CT 明显正相关;由于引起 BGP 和 CT 与其它成分多次负相关,即体内存留 BGP 及 CT 短暂可能会影响其结果。

3 讨论

家兔笼养,活动少,生活时间长,体重增加超过 2.5kg 的兔趋向于老态或老兔,大多血清 BGP 低,BGP 是在成骨细胞内合成并释放到血中,直接代表成骨细胞功能的一个指标^(4,5),本次实验见 BGP 与 Ca、CT、AKP 均有程度不等的相关性,又见 BGP 给药前含量不同,引起体内其它因素的相关性改变,分析 BGP 是骨形成中的主要因素,也意味着成骨细胞功能是主要的。

表4 服用新钙灵或活性钙后兔血清六成分比例变化

相关比	对照组		活性钙组		新钙灵小剂量组		新钙灵大剂量组	
	r	n	r	n	r	n	r	n
BGP:Ca	-0.2465	16	-0.5089	13	-0.6097*	12	-0.1037	12
Ca:AKP	-0.8940**	12	0.0386	13	0.0601	12	0.3127	12
Ca:BUN	-0.7888**	16	0.0435	13	-0.2887	12	0.3661	12
BGP:CT	-0.2355	16	0.6213*	13	-0.2390	12	0.7311**	12
CT:P	0.0354	15	-0.5894*	13	-0.1591	12	0.3181	12
CT:AKP	0.2253	12	-0.7156**	13	-0.0999	12	-0.6387*	12
CT:BUN	0.3938	16	-0.5609*	13	-0.1371	12	-0.5947*	12
BGP:P	0.8658**	15	-0.3714	13	0.5778*	12	0.4274	12
BGP:AKP	0.4087	12	-0.8279**	13	0.0436	12	-0.7835**	12
BGP:BUN	0.1663	16	-0.6275*	13	0.3555	12	-0.5820*	12
P:AKP	0.4468	12	0.6734*	13	-0.5469	12	-0.2659	12
P:BUN	0.4830	15	0.7646**	13	0.5003	12	-0.4406	12
AKP:BUN	0.8881**	12	0.6756*	13	-0.0261	12	0.3349	12

相关显著性: * $P < 0.05$; ** $P < 0.001$

骨质疏松症目前认为其病因是成骨细胞功能低下,另是破骨细胞活跃;补钙剂究竟是BGP合成原料增加,还是使其细胞功能提高尚待研究,但阻止破骨细胞活跃作用尚不清楚,只能补加小量尼尔雌醇协助,当前研究钙剂的重点应是诱导BGP增多的补钙剂。即当补钙后,血钙增加而骨钙低下患者,加尼尔雌醇,可延缓激素应用,减少其不良反应。

参 考 文 献

- 1 刘忠厚主编. 骨质疏松研究与防治文集. 北京:化学工业出版社,1994:164.
- 2 冷炜. 口服钙剂现状. 中国药事,1995,9(1):13.
- 3 孟迅吾. 原发性骨质疏松症. 中华内分泌代谢杂志,1992,8(1):48.
- 4 Christophe Maillard, et al. Pritein S, A Vitamin K-dependent protein is a bone matrix component synthesized and secreted by osteoblasts. Endocrinology, 1992, 130(3):1599.
- 5 王大中,等. 血清骨钙素放射免疫分析的临床初步应用. 中华内分泌代谢杂志,1992,8(1):5.

雄性大鼠去睾后骨量及骨形态学相关性研究

金嘉琳 南京大学医学院 (210093)

田成功 南京大学医学院附属鼓楼医院内分泌科

随社会老龄化进展,过去常常为人们所忽视的男性骨质疏松由于其发病的绝对数量的增多,日益引起重视。据统计,1990年全世界骨折病人中男性约为50万,预测至2025年将达116万例^[1,2]。雄激素缺乏为男性原发性骨质疏松的一个重要原因。本文选用去势后雄性大鼠作为动物模型,从生化、骨形态学方面观察降钙素及雄激素治疗对去睾大鼠的骨矿代谢及骨组织结构的影响,以探讨男性骨质疏松的发病机制及特点,为临床治疗提供一些理论依据。

1 材料及方法

1.1 动物选择及分组:4月龄雄性Sprague-Dawley大鼠47只,体重180~220g。随机分成4组:青年正常对照组11只,模型组14只,降钙素治疗组14只,雄激素治疗组8只。另取16月龄雄性SD大鼠14只,体重490~510g,相同条件下饲养,作为对照。动物由南京大学生物系实

验动物中心提供。实验中动物自由饮水、摄食。饲料含钙 0.9~1.0%, 磷 0.6~0.8%, 每日光照 12 小时。

1.2 动物模型的建立: 常规麻醉消毒下, 模型组、降钙素治疗组及雄激素治疗组动物均行双侧睾丸切除术。除雄激素治疗组于手术后 30 周, 余各组于术后 20 周测定骨量。

1.3 治疗药物及方法: 降钙素选用鳗鱼降钙素, 商品名益钙宁, 日本旭化成工业株式会社产品, 雄激素选用甲基睾丸素, 中国倍谊药厂, 批号 940301。降钙素治疗组大鼠自术后第 2 周开始用益钙宁治疗, 0.104u/100g/次 (相当于 60kg 体重人剂量 10u/次), 肌注, 每周 2 次, 共 19 周。雄激素治疗组大鼠自造模术后第 17 周开始用甲基睾丸素治疗, 约 0.83mg/只/天 (相当于 60kg 体重人剂量 27mg), 灌胃, 每天 1 次, 共 12 周。

1.4 实验方法:

1.4.1 骨量测定: 应用 SD-200 型骨矿物测定仪, 采用单光子吸收法, 测大鼠股骨中点皮质骨骨密度。应用 9800Quick 型单能量 CT 机, 电压 120kV, 电流 100mA, 层厚 1.5mm 以下单能量定量计算机断层扫描法测第一、二腰椎椎体松质骨骨密度。

1.4.2 生化测定: 雄激素治疗组大鼠自造模术后第 30 周, 余各组大鼠于造模术后第 21 周腹主动脉取血后处死。取血清测定以下项目: 钙、磷及碱性磷酸酶活性测定分别采用实验室常规检测法、邻甲酚酞比色法、直接紫外法及对硝基酚终止测定法。血清睾酮及雌二醇测定用放免法, 采用天津九鼎医学生物工程有限公司生产的放免分析试剂盒, 生产日期 9601。血清降钙素及骨钙素测定用放免法, 采用中国原子能科学研究院生产的放免分析试剂盒, 生产日期: 9603。动物处死前收集 24 小时尿液测定羟脯氨酸含量, 参照郑少雄等的方法^[3]。

1.4.3 形态学: 取右侧股骨投入 4% 福尔马林固定 24 小时后取近端 1/3 锯下, 经 10% 硝酸脱钙后常规脱水, 按骨长轴包埋, 片厚 5μm, HE 染色及 0.1% 甲苯胺兰染色后观察。HE 染色切片在光镜低倍 (10×4) 视野下 C540 图象分析仪上测量并计算以下参数, 参照 Parfitt 等^[4]的方法, 公式如下:

$TBV(\% \text{ 骨小梁体积}) = \text{二维小梁面积} / \text{单位面积} \times 100$

$S_v(\text{mm}^2/\text{mm}^3 \text{ 骨表面密度}) = \text{二维小梁周长} / \text{单位面积} \times 1.199$

$S/V(\text{mm}^2/\text{mm}^3 \text{ 骨表面面积/体积比}) = (S_v/TBV) \times 100$

$MTPT(\mu\text{m} \text{ 平均骨小梁板厚度}) = 2000/(S/V)$

$MTPD(1/\text{mm} \text{ 平均骨小梁板密度}) = TBV(\%) \times 10/MTPT$

$MTPS(\mu\text{m} \text{ 平均骨小梁板间隙}) = 1000/MTPD - MTPT = MTPT(100/TBV^{-1})$

测量时避开骨皮质部位的骨小梁, 只测量切片的中心部。甲苯胺兰切片上, 高倍 (10×40) 视野下靠近骨皮质髓腔内行破骨细胞计数。另取左股骨颈骨片行透射电镜观察。

1.5 统计学处理: 数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。于微机上行数据处理。若方差齐性, 行方差分析及 Student-Newman-keuls 检验; 若方差不齐, 行非参数的 Kruskal-Wallis 及 Dunn's 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠股骨皮质骨密度无显著差异。模型组及老年组大鼠腰椎松质骨密度显著下降 ($P < 0.01$), 经雄激素及降钙素治疗后显著升高 ($P < 0.01$, 表 1)。

表1 各组大鼠骨密度

项 目	青年正常对照	模 型 组	降钙素治疗组	雄激素治疗组	老年对照组
实验结束前体重(g)	321.36±59.96	335.00±44.29	325.36±50.21	395.00±39.50 ^{*△}	417.50±65.97 ^{***△△△}
股骨干皮质骨骨矿密度(g/cm ²)	0.389±0.011	0.379±0.002	0.384±0.013	0.372±0.011	0.387±0.010
腰椎松质骨骨矿密度(mg/cm ³)	548.82±79.48	358.17±80.23 ^{***}	490.71±67.59 ^{△△}	528.00±86.96 ^{△△}	413.71±104.72 [*]

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$,与青年正常对照比较;

$\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$,与模型组比较;下表同

2.2 生化测定(表2):各组间钙、磷及碱性磷酸酶测定未见显著差异。模型组及降钙素治疗组大鼠血清睾酮水平低下,多数无法测出,说明双侧睾丸切除术有效,经雄激素治疗后睾酮水平升高,老年组大鼠血清睾酮水平无明显低下。模型组大鼠血清骨钙素水平及24小时尿羟脯氨酸含量均显著升高($P < 0.05$),经降钙素治疗后骨钙素及尿羟脯氨酸排量均较模型组显著降低($P < 0.05$)。雄激素治疗组大鼠骨钙素及尿羟脯氨酸水平均与正常对照无显著差异。老年组大鼠尿羟脯氨酸水平显著升高($P < 0.01$)。

表2 各项生化测定结果

项 目	青年正常对照	模 型 组	降钙素治疗组	雄激素治疗组	老年对照组
钙(mmol/L)	2.36±0.24	2.26±0.46	2.25±0.46	1.89±0.62	2.66±0.46
磷(mmol/L)	2.43±0.45	2.46±0.27	2.77±0.64	1.79±0.38 [△]	2.16±1.03
碱性磷酸酶(u/L)	170.27±55.91	154.00±35.25	163.21±58.89	149.33±25.81	141.30±26.96
睾酮(nmol/L)	0.158±0.116	0±0	0.002±0.005	0.130±0.121	1.259±2.304
雌二醇(pmol/L)	591.52±165.95	428.81±92.30	515.14±142.46	28.3±11.64 ^{***}	412.12±73.27 [*]
降钙素(ng/ml)	61.967±65.045	104.140±99.241	135.275±65.826	139.850±37.799	133.560±51.430
骨钙素(ng/L)	5.493±1.807	8.175±1.146 ^{**}	6.368±2.050 [△]	5.489±0.886 [△]	5.953±2.074 ^{△△}
24小时尿羟脯氨酸含量(mg)	0.175±0.089	0.373±0.082 [*]	0.193±0.090 [△]	0.366±0.214	0.429±0.175 ^{**}

2.3 形态学观察:因股骨颈是小梁骨重建最活跃的部位之一,故取股骨颈为骨组织形态学观察的主要部位。从形态学参数看,模型组大鼠TBV有下降趋势,经降钙素及雄激素治疗后均有上升,但尚未达到统计学差异显著程度。老年组大鼠TBV显著下降($P < 0.05$)。其中模型组大鼠TBV下降以MTPT显著下降为主($P < 0.05$),MTPD及MTPS无显著变化。经降钙素治疗后MTPT呈增加趋势,雄激素治疗后MTPT亦显著增加($P < 0.05$),但伴有MTPD显著下降($P < 0.05$)及MTPS的增加。老年组大鼠TBV显著低下,主要表现为MTPT低下及MTPS较大。另观察到模型组大鼠破骨细胞数量显著增加($P < 0.01$),经降钙素治疗后破骨细胞数量显著减少($P < 0.001$),老年组大鼠破骨细胞数量较模型组显著减少($P < 0.01$)。透射电镜观察到模型组大鼠破骨细胞吸收功能活跃,成骨细胞数量少且蛋白质合成及分泌功能不活跃。降钙素治疗组中破骨细胞功能不活跃,明显受到抑制。老年组大鼠破骨细胞的吸收功能很活跃,可见大量丰富“微绒毛”。雄激素治疗组大鼠破骨及成骨细胞功能无明显改变(表3)。

表3 股骨颈形态计量学测定结果

项 目	青年正常对照组	模型组	降钙素治疗组	雄激素治疗组	老年对照组
TBV(%)	40.6±6.1	32.0±6.7	40.3±5.7	37.3±7.9	29.9±3.6*
Sv(mm ² /mm ³)	12.7±1.6	16.2±2.2	15.0±3.3	11.8±1.1 ^a	12.7±2.9
S/V(mm ² /mm ³)	31.5±3.7	52.5±13.5	38.7±13.8	33.0±8.9	43.1±12.1
MTPT(μm)	65.0±7.9	39.9±8.4*	56.5±17.1	64.4±16.7 ^a	49.2±12.0
MTPD(1/mm)	6.4±0.8	8.1±1.1	7.5±1.7	5.9±0.6 ^a	6.4±1.5
MTPS(μm)	95.5±19.9	85.9±16.7	81.7±14.1	106.7±12.3	115.1±27.1
破骨细胞计数(个/HP)	1.6±1.3	3.6±1.8**	1.2±1.1 ^{ΔΔΔ}	2.8±2.1	1.0±1.1 ^{ΔΔΔ}

3 讨论

雄性大鼠因睾酮缺乏而致的骨质疏松症的产生比去卵巢雌性大鼠的骨质疏松症慢得多^[5,6]。本文观察到雄性大鼠去睾后20周分别以单光子吸收及单能定量计算机断层扫描测定股骨皮质骨及腰椎松质骨的骨矿含量(BMC),发现去睾后大鼠松质骨BMC显著下降,而皮质骨BMC各组间未见显著差异。经降钙素及雄激素治疗后,松质骨BMC均有显著升高。由于松质骨的骨转化率远高于皮质骨,因此骨质疏松首先发生在松质骨。

骨钙素(BGP)是由成骨细胞产生和分泌的一种非胶原蛋白,表示成骨细胞的活性,是骨形成的指标^[7]。羟脯氨酸(HYP)是胶原蛋白的一种较主要氨基酸,约占其组成的10~13%,尿中排出的HYP是体内胶原代谢的终产物之一,其中有一半来自骨胶原的破坏,因此尿中HYP含量的变化可反映胶原代谢即骨转化率的情况,尿HYP含量增高,骨吸收增加^[8]。本研究观察到大鼠去睾后20周血中BGP及HYP均显著增高,提示本骨质疏松模型为高转换型的。由于骨吸收相对大于骨形成,骨量不能维持平衡而逐渐丢失。降钙素治疗组大鼠BGP及HYP均显著下降。降钙素治疗后破骨细胞数量减少,透射电镜示破骨细胞吸收功能不活跃。有报道降钙素能够间接作用于单核细胞,抑制其向破骨细胞的转化,同时还可以直接作用于破骨细胞,使其活性大大降低^[9],与本实验结果吻合。破骨细胞数量的减少及活性的降低改善了骨吸收大于骨形成的失平衡状态,维持并增加了骨量。

因骨密度测定仅反映骨矿物盐的含量,而不能反映形态学的差异。众所周知,骨小梁呈立体网状结构。TBV相等的松质骨相比,骨小梁三维结构合理的骨承受压力的能力更大,而小梁三维结构则是以骨小梁间相互关系来表示的。因此本研究中以间接指标MTPT、MTPD、MTPS来说明骨小梁的结构。其中MTPD的意义不是指单位长度内骨小梁数目的多少,而是指测量线与骨小梁相交的可能性的多少,因此MTPD是反应骨小梁连续性的指标。模型组TBV下降以MTPT下降显著,揭示该骨质疏松模型骨量减少主要由骨小梁普遍变薄引起。随病程延长,虽经雄激素治疗,骨量有所增加,但MTPD显著下降,MTPS有增加趋势。提示骨小梁的局部穿孔、断裂增多,而MTPT仍能维持正常可能是局部小梁增厚的结果。传统的观点认为,男性与女性骨质疏松的差别在骨丢失方式上的区别在于:男性骨质疏松中骨小梁普遍变薄多见,而女性骨质疏松中以骨小梁穿孔更为常见^[10,11],与本文结果有所区别。我们推理在男性骨质疏松形成早期以小梁变薄改变为主,发展到晚期,小梁的穿孔、断裂等不可逆性改变也不可避免。尽管给予雄性激素的补充治疗,但治疗时间在骨代谢已发生异常后,仅通过其他小梁的代偿性增厚使骨量维持在正常范围,未能阻止部分小梁结构破坏的病理进展。由此提示骨质疏松的防治宜尽早开始。

本实验中设老年对照组,其骨量与青年组比较有明显下降。经激素水平测定发现老年组大鼠睾酮水平无显著降低,而雌激素水平明显下降,前者可能是肾上腺网状带代偿性分泌雄激素增多或由除睾丸、肾上腺外的外周组织转换而来的睾酮增多的缘故,至于降低的雌激素与骨质疏松的关系尚难确定。老年组大鼠中 HYP 明显升高,破骨细胞计数增加,透射电镜亦示破骨细胞功能十分活跃,而 BGP 水平下降,可能和退行性骨形成功能减退有关,而骨吸收仍活跃,骨吸收超过骨形成使骨量减少。

致谢:感谢鼓楼医院内分泌科全体医师、CT 室王志宏主任、病理科张少峰、周祀桥、周强、戴晓波医师、核医学科施鸣、张扬医师、八一医院电镜室乐美兆主任等在工作中的热情支持

参 考 文 献

- 1 Ego Seeman. Osteoporosis in men; Epidemiology, pathophysiology, and treatment possibilities. *Am J Med*, 1993, 95(suppl 5A): 225.
- 2 Nevitt MC. Epidemiology of osteoporosis. *Rheum Dis Clin Nor Am*, 1994, 20(3): 535.
- 3 郑少雄, 蔡文仪, 邱明才, 等. 血尿羟脯氨酸测定的方法改进. *中华医学检验杂志*, 1983, 6(3): 133.
- 4 Parfitt AM, Mathews CHE, Villanueva AR, et al. Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J Clin Invest*, 1983, 72: 1396.
- 5 Wronski. Skeletal alterations in ovariectomized rat. *Calcif Tissue Int*, 1985, 37: 324.
- 6 李育南, 黄连芳, 谢华等. 雄性大鼠去势后骨代谢的研究. *湛江医学院学报*, 1993, 11(1~2): 60.
- 7 孟昭亨. 骨钙素及其临床意义. *中华内分泌代谢杂志*, 1992, 8(1): 41.
- 8 郭世绂. 骨代谢病的检查. 见: 朱宪彝. 代谢性骨病学. 天津: 科学技术出版社, 1989, 567.
- 9 Austin LA, Heath H II. Calcitonin. Physiology and pathophysiology. *N Engl J Med*, 1981, 304(5): 269.
- 10 Aaron JE, Makins NB, Sagrei K. The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging men and women. *Clin Orthop*, 1987, 215: 260—271.
- 11 Mellish RWE, Garrahan NJ, Compston JE. Age-related changes in trabecular and spacing in human iliac crest biopsies. *Bone Miner*, 1989, 6: 331.

骨麟抗去势雌鼠骨质疏松的研究

郑承杰 李洪洋 谭建三

华西医科大学职防院病理科 成都(610041)

骨麟(clodronate)是骨吸收的有效抑制物,国外已有动物实验表明它对肿瘤性骨质溶解具有较强的抑制活性^[1],且能有效抑制因雌激素缺乏所致的大鼠失骨^[2]。因此,有可能成为预防和治疗绝经后骨质疏松的有效药物。为进一步明确其抗失骨的作用,为临床用药提供依据,进行了本次实验。

1 材料与方法

1.1 实验用药

尼尔雌醇(E₂),上海第十二制药厂出品,批号 940112, 5mg/片;骨麟针剂,芬兰 Leirasor 公司生产,批号 410502—0397, 60mg/ml。

1.2 动物分组及处理

8月龄雌性 Wistar 大鼠 44 只,随机分为 4 组,每组 11 只:卵巢切除组(简称 OVX 组,开

腹后切除双侧卵巢)、假手术组(简称 sham 组,开腹后关腹)、尼尔雌醇组(简称 E_3 组)和骨膦组。 E_3 组去势术后次日起给予 E_3 灌胃,剂量 1mg/kg ,每周 1 次,共 12 周;骨膦组去势术后次日起给予骨膦皮下注射,剂量 5mg/kg ,每周 2 次,共 12 周。各组均饲以常规饲料,自由饮水。术后 12 周行股动脉放血处死。

1.3 观察指标

1.3.1 动物体重及其子宫湿重

实验过程中每周称动物体重。处死后从子宫与阴道交界处剪断,仔细分离出子宫,用 TN-100B 型托盘式扭力天平称湿重。

1.3.2 血及尿生化检测

处死前 24 小时用代谢笼收集动物尿液。处死时由动物股动脉取血。用美国 Beckman 700 型自动生化仪、台湾标佳试剂测定血钙、血磷、血碱性磷酸酶(ΔKP)和尿钙、尿磷。用李立群等介绍的方法测定尿羟脯氨酸^[3]。

1.3.3 骨干重、灰重及骨灰钙、磷含量测定

分离右胫骨,剥净软组织,放入坩锅中,烘干后称干重($1/10$ 万天平)。在电炉上炭化后置马福炉中 700°C 6 小时,充分灰化后在 $1/10$ 万天平上称灰重。用钙电极法测量骨灰中钙元素含量;采用美国 Beckman 700 型自动生化仪、台湾标佳试剂测定骨灰中磷元素含量。

1.3.4 骨生物力学测量

每组随机取 5 只动物,分离左股骨,除去软组织,置 -20°C 冰箱中。次日进行股骨三点弯曲试验即将股骨两端分别置于组合试验台(福州华侨机电厂生产,精度 $\pm 0.5\%$)两侧支架上,压头放在骨中点,向下加压,于显示器上记录骨抗弯力的最大负荷牛顿(N)值。

1.3.5 骨密度测量

每组随机取 5 只动物,完整取出附有肌肉的右后肢,采用美国 Lunar 公司生产的 DPX-L 双能 X 线骨密度仪测定其骨密度(g/cm^2)。测定条件为:扫描模式 slow;扫描区大小 $60 \times 39\text{mm}$;电压 76kV ;电流 150VA 。

1.3.6 病理组织学检查及骨形态计量学测定

取各组大鼠左胫骨固定于 20% 福尔马林液中 3~5 天后,用牙科电锯从矢状面剖开,暴露骨髓腔并取左胫骨近端制备常规脱钙骨组织蜡块,用日本产滑动式切片机切 $3\mu\text{m}$ 厚骨组织切片,HE 染色。镜下观察骨组织形态改变,并随机每组取 5 只动物骨切片,采用方格测试系统测量骨小梁体积密度($V_v\%$)、骨小梁平均宽度(MTH, μm)、成骨细胞指数(OBI, 个/mm)、破骨细胞指数(OCI, 个/mm)。

1.4 统计分析

所有参数均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,采用完全随机设计的方差分析比较其差异。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 动物体重及子宫湿重的变化

表 1 示,各组动物给药后与给药前比较,体重均明显增加($P < 0.05$),但其增长率在各组间无显著性差异。OVX 组与 sham 组比较,子宫湿重显著减轻($P < 0.01$)。骨膦组子宫湿重接近 OVX 组;而 E_3 组子宫与 OVX 组比较已显著增重,但还未恢复到 sham 组水平。