

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research唑来膦酸调节 MEK/ERK 通路对低氧环境下
骨质疏松大鼠骨代谢的影响Effects of zoledronic acid regulating MEK/ERK pathway on bone metabolism in
hypoxic osteoporosis rats

许海琦, 杨历新, 李金娟,
张 娟, 朱千君, 朱沁芳,
米 娜, 王 叶

(青海省人民医院 内分泌科, 青海 西宁 810200)

XU Hai - qi, YANG Li - xin,
LI Jin - juan, ZHANG Juan,
ZHU Qian - jun, ZHU Qin - fang,
MI Na, WANG Ye

(*Department of Endocrinology and
Metabolism, Qinghai Provincial Peoples' s
Hospital, Xining 810200, Qinghai
Province, China*)

基金项目: 青海省自然科学基金资助项目(2020 -
ZJ - 930); 青海省卫生健康委员会指导
性计划课题基金资助项目(2021 - wjzdx
- 20); 青海省“昆仑英才· 高端创业创
新人才”资助项目(QHKLYC - GDCXC
Y - 2022 - 048)

作者简介: 许海琦(1987 -), 女, 副主任医师, 主
要从事内分泌代谢病学相关的临床
诊疗工作与研究

通信作者: 杨历新, 教授, 硕士生导师

MP: 13519773077

E - mail: zhaiq29315@163. com

摘要:目的 探索唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠骨代谢的影响, 及其作用
机制。方法 用双侧卵巢摘除法联合低压氧舱饲养构建低氧环境骨质疏松大鼠
模型, 并随机分为模型组、对照组和低、中、高剂量实验组, 每组 10 只; 另取 10 只
正常大鼠作为正常组。低、中、高剂量实验组分别皮下注射 2.5、5.0、
10.0 mg · kg⁻¹ 唑来膦酸, 每周 1 次; 对照组灌胃给予 0.105 mg · kg⁻¹ 戊酸雌二
醇, 每天 1 次; 正常组和模型组均皮下注射等量 0.9% NaCl。6 组大鼠均连续给
药 4 周。用酶联免疫吸附试验法检测血清抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP)、碱性
磷酸酶 (ALP) 和骨钙素 (BGP) 水平, 用双能 X 线小动物骨密度测定仪测定大鼠
骨密度 (BMD), 用蛋白质印迹法检测股骨中丝裂原活化蛋白激酶 (MEK)/细胞
外调节蛋白激酶 (ERK) 的表达水平。**结果** 中、高剂量实验组和对照组、模型
组、正常组的 TRAP 水平分别为 (78.06 ± 1.16)、(69.39 ± 1.44)、
(70.19 ± 1.24)、(94.39 ± 1.04) 和 (64.95 ± 1.19) U · L⁻¹, ALP 水平分别为
(61.72 ± 3.10)、(45.40 ± 0.82)、(43.53 ± 1.52)、(88.69 ± 2.29) 和
(42.01 ± 1.56) U · L⁻¹, BGP 水平分别为 (14.82 ± 0.28)、(12.29 ± 0.28)、
(12.92 ± 0.29)、(19.96 ± 0.46) 和 (11.79 ± 0.59) ng · mL⁻¹, BMD 分别为
(0.28 ± 0.02)、(0.35 ± 0.04)、(0.38 ± 0.03)、(0.16 ± 0.02) 和 (0.41 ± 0.06)
g · cm⁻², 磷酸化 MEK 蛋白相对表达水平分别为 0.64 ± 0.06、0.84 ± 0.05、
0.78 ± 0.01、0.15 ± 0.06 和 0.88 ± 0.04, 磷酸化 ERK 蛋白相对表达水平分别为
0.70 ± 0.03、0.95 ± 0.02、0.84 ± 0.07、0.29 ± 0.03 和 0.97 ± 0.06。中、高剂量实
验组和对照组的上述指标与模型组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均
P < 0.05)。**结论** 唑来膦酸能够提高低氧环境下骨质疏松大鼠的骨密度, 改善
骨代谢水平, 其机制可能与调节 MEK/ERK 通路有关。

关键词: 唑来膦酸; 骨质疏松; 丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶通路;
骨代谢

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.07.017

中图分类号: R97

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)07-0989-06

Abstract: Objective To explore the effects and mechanism of
zoledronic acid on bone metabolism in osteoporosis rats under hypoxic
environment. **Methods** The rat model of osteoporosis in hypoxia
environment was established by bilateral ovary extraction combined with
low - pressure oxygen chamber feeding, and was randomly divided into
model group, control group and experimental - L, - M, - H groups, with
10 rats per group; another 10 normal rats were selected as the normal
group. Experimental - L, - M, - H groups were given 2.5, 5.0 and
10.0 mg · kg⁻¹ zoledronic acid by subcutaneous injection, once a week.

Control group was given $0.105 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ estradiol valerate by intragastric administration, once a day. Normal and model groups were injected with equivalent 0.9% NaCl by subcutaneous injection. Six groups were treated for 4 weeks. The serum levels of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), alkaline phosphatase (ALP) and bone gla protein (BGP) were detected by enzyme-related immunosorbent assay. The bone mineral density (BMD) was measured by dual-energy X-ray. The expression levels of mitogen extracellular signal-regulated kinase (MEK)/extracellular regulated protein kinases (ERK) in femur were detected by Western blot. **Results** The TRAP levels of experimental-M, experimental-H, control, model and normal groups were (78.06 ± 1.16) , (69.39 ± 1.44) , (70.19 ± 1.24) , (94.39 ± 1.04) and $(64.95 \pm 1.19) \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$; the ALP levels were (61.72 ± 3.10) , (45.40 ± 0.82) , (43.53 ± 1.52) , (88.69 ± 2.29) and $(42.01 \pm 1.56) \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$; the BGP levels were (14.82 ± 0.28) , (12.29 ± 0.28) , (12.92 ± 0.29) , (19.96 ± 0.46) and $(11.79 \pm 0.59) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; the BMD levels were (0.28 ± 0.02) , (0.35 ± 0.04) , (0.38 ± 0.03) , (0.16 ± 0.02) and $(0.41 \pm 0.06) \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$; the relative expression levels of p-MEK protein were 0.64 ± 0.06 , 0.84 ± 0.05 , 0.78 ± 0.01 , 0.15 ± 0.06 and 0.88 ± 0.04 ; the relative expression levels of p-ERK protein were 0.70 ± 0.03 , 0.95 ± 0.02 , 0.84 ± 0.07 , 0.29 ± 0.03 and 0.97 ± 0.06 , respectively. Compared with the model group, the above indexes in the experimental-M, -H groups and control group were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Zoledronic acid can improve bone mineral density and bone metabolism in hypoxic osteoporosis rats, the mechanism may be related to the regulation of MEK/ERK pathway.

Key words: zoledronic acid; osteoporosis; mitogen extracellular signal-regulated kinase/extracellular regulated protein kinases pathway; bone metabolism

骨质疏松临床表现为骨痛、脊柱变形及脆性增加,严重影响患者的生活质量^[1-2]。低氧环境导致机体炎症反应水平升高及骨代谢紊乱可能是骨质疏松发生的原因之一^[3-4]。目前,骨质疏松的治疗药物存在有效率低、药物不良反应大等缺点^[5-6],因此对于低氧环境骨质疏松治疗药物的研发仍是当前研究工作的重点之一。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulatory protein kinase, ERK)通路与低氧环境骨质疏松的发生密切相关^[7]。CHEN等^[8]研究表明,MEK/ERK通路参与调节骨脂平衡,减少骨丢失,抑制骨质疏松的进展。唑来膦酸作为新型双膦酸盐类药物,其具有显著的抑制骨吸收作用^[9-10]。本研究旨在探索唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠的改善作用及其作用机制,为唑来膦酸药理作用研究提供参考。

材料与方法

1 材料

动物 无特定病原体级别雌性SD大鼠,鼠龄6~8周,体质量200~220 g,购自山西康宝生物制品股份有限公司。动物许可证号:SCXK(晋)2019-0006。本实验经青海省人民医院伦理委员会批准(伦理批号:2021-92)。

药品与试剂 唑来膦酸,规格:每瓶100 mg,纯度: $\geq 98\%$,批号:210926,戊酸雌二醇,规格:每瓶50 mg,纯度: $\geq 98\%$,批号:211213,均由北京索莱宝科技有限公司生产。蛋白定量试剂盒,上海联祖生物科技有限公司生产;抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法试剂盒,深圳瑞清生物信息科技有限公司生产;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)试剂盒,上海轩泽康生物有限公司生产;骨钙素(bone gla protein, BGP)试剂盒,上海卡凯希生物科技有限公司生产;总I型胶原氨基端延长肽(total N-terminal propeptide of type I procollagen, t-PINP)试剂盒,江西联博科生物科技有限公司生产;I型胶原交联C端肽(type-I collagen carboxy-terminal peptide, CTX1)试剂盒,上海康朗生物科技有限公司生产;磷酸化(phosphorylated-, p-)MEK、p-ERK抗体,均由美国MedChemExpress公司生产;MEK、ERK抗体,艾博抗上海贸易有限公司生产;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔抗体,翌圣生物科技(上海)股份有限公司生产。

仪器 ibright FL1500凝胶成像仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司产品;ProOx-810L低压氧舱,上海塔望智能科技有限公司产品;PDXA LS-100双能X线小动物骨密度测定仪,西安乐思医疗科技有限公

司产品;IX73 倒置显微镜,日本奥林巴斯公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[11-12]

将大鼠随机分为正常组(10只)及造模组。造模组大鼠经异氟烷麻醉后,摘除双侧卵巢,随后将大鼠置于低压氧舱饲养8周。低压氧舱模拟海拔6 000 m,低压缺氧 $20\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$,明暗交替光照12 h。正常组大鼠仅打开腹腔并切除卵巢周围部分脂肪组织,不进行卵巢摘除,于动物房正常环境喂养8周。造模结束后,用双能X线小动物骨密度测定仪测定大鼠骨密度,以造模组大鼠骨密度显著低于正常组视为造模成功。

2.2 动物分组与给药方法

造模完成后,将模型大鼠随机分为模型组、对照组和低、中、高剂量实验组,每组10只。低、中、高剂量实验组分别皮下注射 2.5 、 5.0 、 $10.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 唑来膦酸,每周1次^[13];对照组灌胃给予 $0.105\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 戊酸雌二醇,每天1次^[14];正常组和模型组均皮下注射等量 0.9% NaCl。6组大鼠均连续给药4周。末次给药后12 h,进行后续实验。

2.3 ELISA 法检测血清中 TRAP、ALP、BGP、t-PINP 和 CTX1 水平^[15-16]

大鼠眼眶取血至离心管,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下静置1 h,并于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,以 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清液,严格按照各试剂盒说明书的方法进行操作,用ELISA法检测血清中TRAP、ALP、BGP、t-PINP和CTX1水平。

2.4 双能 X 线小动物骨密度测定仪检测骨密度 (bone mineral density, BMD)^[17]

待腹主动脉取血后,固定四肢,用双能X线小动物骨密度测定仪测定大鼠BMD。

2.5 骨生物力学检测仪检测骨生物力学指标^[18]

大鼠颈椎脱臼法处死后,分离股骨并剔除周围软组织后,用骨生物力学检测仪测定股骨弹性模量、弹性载荷、最大载荷和最大应力。

2.6 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法检测股骨病理学改变情况^[19]

取“2.5”中分离的股骨,用乙二胺四乙酸脱钙处理后,石蜡包埋并制成 $5\text{ }\mu\text{m}$ 切片,分别经脱蜡至水,常规HE染色后,置于显微镜下观察并拍照。

2.7 蛋白质印迹法检测股骨 MEK/ERK 通路相关蛋白的表达水平^[20-22]

取“2.5”中分离的股骨,研磨成粉并用组织裂解液充分裂解后,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,以 $1.2\times 10^4\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清液,用蛋白测定试剂盒测定总蛋白含

量。取蛋白 $50\text{ }\mu\text{g}$ 上样,经电泳分离、转膜后,分别加入GAPDH、p-MEK、MEK、p-ERK和ERK兔抗体($1:500$ 稀释), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,用磷酸盐缓冲液清洗3次后,加入山羊抗兔二抗($1:1\,000$ 稀释),室温孵育1 h,用磷酸盐缓冲液再次清洗3次,用凝胶成像仪成像拍照,以GAPDH为内参,用Image J V1.47软件计算p-MEK、MEK、p-ERK和ERK蛋白的相对表达水平。

3 统计学处理

用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析,当单因素方差分析显示组间存在显著差异时,进一步用LSD-*t*检验进行两两比较。

结 果

1 唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠 TRAP、ALP、BGP、t-PINP 及 CTX1 的影响

低、中、高剂量实验组分别给予 2.5 、 5.0 、 $10.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 唑来膦酸;对照组给予 $0.105\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 戊酸雌二醇;正常组和模型组均给予等量 0.9% NaCl。

模型组血清中TRAP、ALP、BGP、t-PINP和CTX1水平均较正常组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组和对照组血清中TRAP、ALP、BGP、t-PINP和CTX1水平均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组的上述指标两两比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结果见表1。

2 唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠股骨骨生物力学指标和 BMD 的影响

模型组股骨的弹性模量、弹性载荷、最大载荷、最大应力及BMD均较正常组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组和对照组股骨的弹性模量、弹性载荷、最大载荷、最大应力及BMD均较模型组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组的上述指标两两比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结果见表2。

3 唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠股骨病理学的影响

HE染色结果显示:正常组大鼠骨组织无明显病理改变;模型组与正常组比较,大鼠股骨骨小梁稀疏,骨小梁结构变细,间隙增宽,骨髓腔增大;低、中、高剂量实验组及对照组大鼠骨组织均较模型组明显改善,

表1 6组大鼠抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)、碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(BGP)、总 I 型胶原氨基端延长肽(t - PINP) 和 I 型胶原交联 C 端肽(CTX1) 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of tartarate - resistant acid phosphatase(TRAP), alkaline phosphatase(ALP), bone gla protein(BGP), total N - terminal propeptide of type 1 precollagen(t - PINP) and type - I collagen carboxy - terminal peptide(CTX1) among 6 groups($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	TRAP ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	ALP ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	BGP ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	t - PINP ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	CTX1 ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
Normal	—	10	64.95 ± 1.19	42.01 ± 1.56	11.79 ± 0.59	41.59 ± 0.96	39.85 ± 1.75
Model	—	10	94.39 ± 1.04*	88.69 ± 2.29*	19.96 ± 0.46*	69.45 ± 2.62*	54.29 ± 2.07*
Experimental - L	2.50	10	84.64 ± 1.77 [#]	72.87 ± 2.06 [#]	17.60 ± 0.46 [#]	61.68 ± 2.92 [#]	48.98 ± 1.20 [#]
Experimental - M	5.00	10	78.06 ± 1.16 ^{#△}	61.72 ± 3.10 ^{#△}	14.82 ± 0.28 ^{#△}	54.09 ± 2.95 ^{#△}	45.90 ± 0.86 ^{#△}
Experimental - H	10.00	10	69.39 ± 1.44 ^{#△▲}	45.40 ± 0.82 ^{#△▲}	12.29 ± 0.28 ^{#△▲}	45.77 ± 2.65 ^{#△▲}	40.92 ± 0.77 ^{#△▲}
Control	1.05 × 10 ⁻¹	10	70.19 ± 1.24 [#]	43.53 ± 1.52 [#]	12.92 ± 0.29 [#]	42.96 ± 2.19 [#]	42.12 ± 0.56 [#]

Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P < 0.05$.

表2 6组大鼠股骨骨生物力学指标和骨密度(BMD) 的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of bone biomechanical indexes and bone mineral density(BMD) among 6 groups($\bar{x} \pm s$)

Group	Modulus elasticity (MPa)	Elastic load (N)	Maximum load (N)	Maximum stress (MPa)	BMD ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)
Normal	9 135.22 ± 109.06	110.59 ± 1.65	172.63 ± 1.41	40.83 ± 0.52	0.41 ± 0.06
Model	5 270.83 ± 218.29*	81.95 ± 1.29*	103.45 ± 1.56*	21.43 ± 0.83*	0.16 ± 0.02*
Experimental - L	6 459.76 ± 267.34 [#]	87.64 ± 1.20 [#]	120.03 ± 1.59 [#]	26.56 ± 1.00 [#]	0.20 ± 0.05 [#]
Experimental - M	7 844.60 ± 138.63 ^{#△}	95.19 ± 1.64 ^{#△}	145.95 ± 1.48 ^{#△}	33.66 ± 1.24 ^{#△}	0.28 ± 0.02 ^{#△}
Experimental - H	8 952.28 ± 111.44 ^{#△▲}	104.37 ± 1.66 ^{#△▲}	166.08 ± 1.64 ^{#△▲}	38.70 ± 1.15 ^{#△▲}	0.35 ± 0.04 ^{#△▲}
Control	8 116.01 ± 145.57 [#]	98.95 ± 1.51 [#]	155.52 ± 1.58 [#]	35.40 ± 1.36 [#]	0.38 ± 0.03 [#]

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P < 0.05$.

骨细胞密度增加,同时骨小梁较模型组变粗,骨小梁密度增加,与模型组比较,低、中、高剂量实验组及对照组骨髓腔相对变小,骨皮质增厚,骨组织结构排列有序。结果见图1。

4 唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠股骨 MEK/ERK 通路相关蛋白表达的影响

如图2所示:低、中、高剂量实验组和对照组、模型组、正常组的 MEK 蛋白相对表达水平分别为 0.88 ± 0.04、0.85 ± 0.06、0.92 ± 0.01、0.90 ± 0.06、0.91 ± 0.04 和 0.90 ± 0.04,ERK 蛋白相对表达水平分别为 0.89 ± 0.07、0.87 ± 0.10、0.85 ± 0.07、

0.96 ± 0.03、0.93 ± 0.05 和 0.89 ± 0.04, p - MEK 蛋白相对表达水平分别为 0.45 ± 0.04、0.64 ± 0.06、0.84 ± 0.05、0.78 ± 0.01、0.15 ± 0.06 和 0.88 ± 0.04, p - ERK 蛋白相对表达水平分别为 0.45 ± 0.02、0.70 ± 0.03、0.95 ± 0.02、0.84 ± 0.07、0.29 ± 0.03 和 0.97 ± 0.06。模型组的 p - MEK、p - ERK 蛋白相对水平均较正常组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);低、中、高剂量实验组和对照组的 p - MEK、p - ERK 蛋白相对表达水平均较模型组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。低、中、高剂量实验组的上述指标两两比较,在统计学

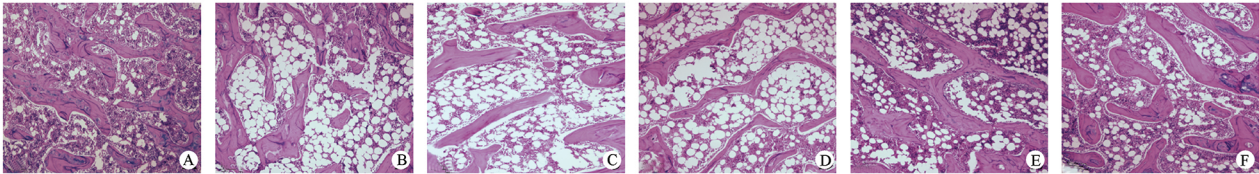


图1 6组大鼠股骨组织病理检查结果(苏木精-伊红染色, ×200)

Figure 1 Results of histopathological examination of femur among 6 groups(hematoxylin - eosin staining, ×200)

A: Normal group; B: Model group; C, D, E: Experimental - L, - M, - H groups, respectively; F: Control group.

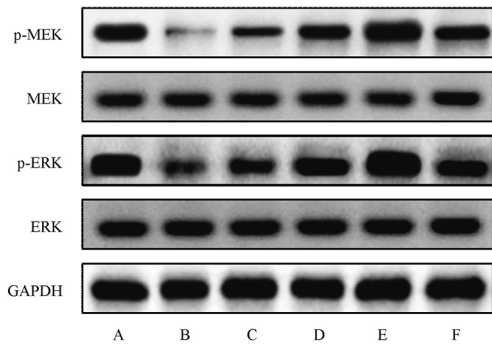


图2 用蛋白质印迹法检测6组大鼠股骨中丝裂原活化蛋白激酶(MEK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路相关蛋白的表达水平

Figure 2 The expression levels of Mitogen extracellular signal-regulated kinase (MEK)/extracellular regulated protein kinases (ERK) pathway-related proteins in femur among 6 groups were detected by Western blot

A-F refer to figure 1; p-MEK: Phospho-Mitogen extracellular signal-regulated kinase; p-ERK: Phospho-extracellular regulated protein kinases.

上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。低、中、高剂量实验组和对照组的MEK、ERK蛋白相对表达水平与模型组、正常组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

讨论

研究发现,骨细胞在增殖、分化及凋亡过程中对氧气较为敏感,在低氧环境中,破骨细胞活性增强,抑制骨形成,进而导致骨质疏松^[21]。唑来膦酸作为新型双膦酸盐类抗骨质疏松药物,对缺氧环境下骨质疏松的治疗有较大潜力。因此,本实验通过研究唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠骨代谢的影响,为唑来膦酸的相关临床研究提供参考。

刘海霞等^[22]研究表明,降低血清TRAP、CTX1、ALP和t-PINP水平能够抑制破骨细胞活性,进而显著抑制骨质疏松的进展。在本实验中,唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠TRAP、ALP、BGP、t-PINP和CTX1的降低作用是唑来膦酸调节大鼠骨代谢的体现,也进一步表明了唑来膦酸的骨代谢调节作用是改善骨质疏松大鼠骨组织病理结构的基础。此外,本研究发现,唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠骨生物学具有显著的改善作用,进而表明唑来膦酸能够通过调节骨代谢水平,显著促进低氧环境骨质疏松大鼠骨功能的恢复,也是唑来膦酸对低氧环境骨质疏松大鼠发挥治疗作用的重要基础,继而改善大鼠骨质疏松病理进展。

张刘生等^[23]研究表明,IL-10、IL-6和TNF- α 是影响骨质疏松发生及进展的重要炎症因子,IL-6及TNF- α 水平升高与低氧环境大鼠骨代谢密切相关。李永志等^[24]研究证实,降低IL-6、TNF- α 水平并升高IL-10水平能够调节骨代谢水平,进而改善骨微结构,抑制骨质疏松的进展,这与本研究结果一致,表明唑来膦酸对低氧环境骨质疏松大鼠的改善作用可能与其炎症抑制作用有关。同时,在调节骨代谢及骨组织结构过程中,MEK/ERK通路发挥重要作用。刘中胜等^[25]研究表明,MEK/ERK通路的激活能够促进骨量形成,进而有效缓解骨质疏松进展,同时,p-ERK水平的提高能够显著促进成骨分化,改善骨代谢,进而促进骨形成。由此可见,调节MEK/ERK通路可能是改善骨密度,治疗骨质疏松的有效途径和方法^[26]。

本研究提示:唑来膦酸对低氧环境下骨质疏松大鼠的骨形成促进作用及骨生物力学改善作用可能是通过激活MEK/ERK通路实现的,进而提高大鼠骨密度,抑制骨质疏松的进展。

参考文献:

- [1] 司美龙,金华,刘敏科,等. 肠道菌群在高血压合并骨质疏松症中的作用[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(3):449-453.
- [2] AIBAR-ALMAZÁN A, VOLTES-MARTÍNEZ A, CASTELLOTE-CABALLERO Y, et al. Current status of the diagnosis and management of osteoporosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16):9465.
- [3] 彭利平,辜志昌. 仙灵骨葆胶囊联合金天格胶囊治疗原发性骨质疏松症患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(12):1723-1727.
- [4] KENDLER D L, COSMAN F, STAD R K, et al. Denosumab in the treatment of osteoporosis: 10 years later: A narrative review [J]. *Adv Ther*, 2022, 39(1):58-74.
- [5] LEOFF M S, GREENSPAN S L, INSOGNA K L, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis [J]. *Osteoporos Int*, 2022, 33(10):2049-2102.
- [6] 袁可馨,谢兴文,李鼎鹏,等. 槲皮素介导MAPK信号通路防治骨质疏松的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(9):1375-1379.
- [7] ZHAO Y, XU Y, ZHENG H, et al. QingYan formula extracts protect against postmenopausal osteoporosis in ovariectomized rat model via active ER-dependent MEK/ERK and PI3K/Akt signal pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 268(14):113644.
- [8] CHEN M, LIANG H, WU M, et al. Fg9 regulates bone marrow mesenchymal stem cell fate and bone-fat balance in osteoporosis by PI3K/AKT/Hippo and MEK/ERK signaling [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(9):3461-3479.
- [9] WANG W Y, CHEN L H, MA W J, et al. Drug efficacy and safety of denosumab, teriparatide, zoledronic acid, and ibandronic acid for the treatment of postmenopausal osteoporosis: A network meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,

- 2023,27(17):8253—8268.
- [10] STEVENSON J. Prevention and treatment of osteoporosis in women [J]. *Post Reprod Health*, 2023, 29(1): 11—14.
- [11] 乔林,白峰,赵轶男,等. 低氧环境下去势大鼠骨质疏松模型的骨吸收标志物观察[J]. *科学技术与工程*, 2014, 14(7): 126—128.
- [12] 陈旭,闫长青,李天琪,等. 白藜芦醇对低氧诱导大鼠牙槽骨损伤的干预作用研究[J]. *营养学报*, 2023, 45(4): 390—396.
- [13] 陆永江,刘华. 唑来膦酸对去势大鼠骨折后骨痂和骨微结构的影响[J]. *中国医药导报*, 2014, 11(6): 11—14.
- [14] 李敏,扎克艳·地力夏提,胡君萍,等. 酒花提取物调控 Wnt/ β -catenin 信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠的作用及机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(9): 1337—1343.
- [15] 常裕绅,朱亮亮,匡浩铭,等. 金刚烷抗去卵巢大鼠骨质疏松症血清代谢组学研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(2): 179—185.
- [16] 王宏伟,卜晓洁,战祥芹,等. Vaspin 对去卵巢大鼠骨质疏松的保护作用及机制研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(9): 1285—1291.
- [17] 邓宁,胡庆芬,邱宇阳,等. NGF 介导 Fabp4/LCN-2 蛋白对骨质疏松大鼠骨微结构及骨强度的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(7): 992—997.
- [18] 陈晓骊,谭小艳,刘田丰,等. 积雪草酸对骨质疏松模型大鼠生物力学特性与骨小梁面积及 Runx2 蛋白的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(2): 246—251.
- [19] 韦雨柔,田佳庆,肖方骏,等. 活血通络胶囊对激素性股骨头坏死大鼠肠道菌群影响的研究[J]. *中国全科医学*, 2023, 26(29): 3674—3682.
- [20] 贾二霞,徐娜,李帅,等. 维生素 D 介导 MEK/ERK 通路对妊娠糖尿病大鼠心肌损伤的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(7): 1014—1018.
- [21] YONG E L, LOGAN S. Menopausal osteoporosis: Screening, prevention and treatment [J]. *Singapore Med J*, 2021, 62(4): 159—166.
- [22] 刘海霞,朱如愿,马嘉轶,等. 金元宝对去卵巢小鼠骨质疏松的保护作用及其机制[J]. *现代中西医结合杂志*, 2024, 33(13): 1753—1756.
- [23] 张刘生,李正芳,张英育,等. 慢性间歇低氧/复氧对大鼠骨代谢的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(5): 536—539.
- [24] 李永志,韩礼军,李智斌,等. 秦岭箭叶淫羊藿对骨质疏松大鼠骨代谢及胫骨骨微结构的影响[J]. *疑难病杂志*, 2024, 23(8): 993—998.
- [25] 刘中胜,杨建虹. 未羧化骨钙素对高糖条件下小鼠骨髓间充质干细胞成骨与成脂分化的调控效应[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(13): 2039—2046.
- [26] HE Y, KAM H, WU X, *et al.* Dual effect of aucubin on promoting VEGFR2 mediated angiogenesis and reducing RANKL - induced bone resorption [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 108.

(收稿日期 2024-11-02)

· 科学文摘 ·

高剂量维生素 D 治疗多发性硬化症典型临床孤立综合征患者的临床研究

引自:THOUVENOT E, *et al.* High-dose vitamin D in clinically isolated syndrome typical of multiple sclerosis: The D-Lay MS randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2025, 333(16): 1413—1422.

THOUVENOT 等评价了高剂量维生素 D₃ 单药治疗多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 典型临床孤立综合征 (clinically isolated syndrome, CIS) 患者降低疾病活动性的临床疗效。D-Lay MS 试验是一项平行、双盲、随机、安慰剂对照的临床试验,在法国的 36 个 MS 中心进行。患者入组时间为 2013 年 7 月至 2020 年 12 月(最终随访时间为 2023-01-18)。招募年龄在 18~55 岁、CIS 持续时间小于 90 d、血清维生素 D 浓度小于 100 nmol·L⁻¹、磁共振诊断成像(magnetic resonance imaging, MRI)符合 2010 年空间扩散或 2 个或更多病变且存在寡克隆带的未经治疗的 CIS 患者。将患者按 1:1 随机分为试验组(口服维生素 D₃ 1.0×10⁵ U, 每 2 周 1 次; n=163)和安慰剂组(n=153),持续治疗 24 个月。主要结局指标是疾病活动性。

该研究共纳入 316 例参与者,其中,有 303 例(95.9%)患者至少服用了 1 剂研究药物,有 288 例(91.1%)患者最终完成了 24 个月的试验。试验组和安慰剂组分别有 94 例(60.3%)和 109 例(74.1%)患者出现疾病活动,风险比(hazard ratio, HR)为 0.66 (P<0.01),试验组的中位疾病活动时间更长(432 vs 224 d, Log-Rank P<0.01)。所有 3 个次要 MRI 结果均报告了试验组与安慰剂组有显著性差异:MRI 活性[(89 例(57.1%) vs 96 例(65.3%), HR=0.71, P<0.05]、新发病变[72 例(46.2%) vs 87 例(59.2%), HR=0.61, P<0.01]、对比增强病变[29 例(18.6%) vs 50 例(34.0%), HR=0.47, P<0.01]。试验组和安慰剂组分别有 17 例和 13 例患者发生了严重的不良事件,这些不良事件均与维生素 D₃ 无关。

该研究表明,口服维生素 D₃ (1.0×10⁵ U, 每 2 周 1 次)能够显著降低 CIS 和早期复发缓解型 MS 的疾病活动性。