

文章编号: 1005-0957 (2022) 06-0610-07

• 动物实验 •

电针对绝经后骨质疏松症模型大鼠肠黏膜维生素D膜相关性快速反应类固醇结合蛋白表达的影响

石娜¹, 朱崇田¹, 欧阳钢²

(1. 临沂市人民医院, 临沂 276003; 2. 江苏省老年病医院, 南京 210024)

【摘要】 目的 通过观察去卵巢骨质疏松模型大鼠肠黏膜 1, 25 维生素 D₃ 膜相关性快速反应类固醇结合 (membrane-associated rapid response steroid-binding, 1, 25D₃-MARRS) 蛋白表达, 以及血清甲状旁腺激素相关蛋白 (parathyroid hormone-related protein, PTHrP)、1, 25-二羟基维生素 D₃ [1, 25(OH)₂D₃]、骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 和核因子κB 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor κB ligand, RANKL) 的变化, 探讨电针治疗绝经后骨质疏松症的作用机制。**方法** 将 32 只 3 月龄 SD 雌性大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组及电针组, 每组 8 只。模型组和电针组采用切除大鼠双侧卵巢的方法制备绝经后骨质疏松症模型, 假手术组仅切除卵巢周围少量脂肪组织, 空白组不做任何处理; 造模后电针组进行电针干预。各组大鼠均进行骨密度检测, 血清钙、PTHrP、1, 25(OH)₂D₃、OPG、RANKL 检测, 以及肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白的表达检测。**结果** 与空白组和假手术组比较, 模型组大鼠股骨、胫骨骨密度明显下降 ($P < 0.05$)。与空白组和假手术组比较, 模型组大鼠血清钙、PTHrP 及 1, 25(OH)₂D₃ 水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), OPG/RANKL 比值明显降低 ($P < 0.01$), 且肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 电针组股骨、胫骨骨密度升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清钙、PTHrP、1, 25(OH)₂D₃ 水平明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), OPG/RANKL 比值明显升高 ($P < 0.01$), 肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$)。**结论** 电针可通过提高血清钙、PTHrP 及 1, 25(OH)₂D₃ 含量, 提高 OPG/RANKL 比值, 增加肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达, 从而改善肠道钙吸收, 提高去卵巢骨质疏松症大鼠的骨密度, 最终达到防治骨质疏松的作用。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 骨质疏松, 绝经后; 1, 25 维生素 D₃ 膜相关性快速反应类固醇结合蛋白; 甲状旁腺激素相关蛋白; 大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2022.06.0610

Effect of Electroacupuncture on the Expression of Vitamin D Membrane-associated Rapid Response Steroid-binding Protein in Intestinal Mucosa of Postmenopausal Osteoporosis Rats SHI Na¹, ZHU Chongtian¹, OUYANG Gang². 1.Linyi People's Hospital, Linyi 276003, China; 2.Jiangsu Province Geriatric Hospital, Nanjing 210024, China

[Abstract] Objective To discuss the mechanism of action of electroacupuncture (EA) in treating postmenopausal osteoporosis (PMOP) by observing the expression of 1,25 Vitamin D₃ membrane-associated rapid response steroid (1,25D₃-MARRS)-binding protein and the changes in serum parathyroid hormone-related protein (PTHrP), 1,25-dihydroxyvitamin D₃ [1,25-(OH)₂D₃], osteoprotegerin (OPG), and receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL). **Method** Thirty-two 3-month-old female Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into a blank group, a

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0855); 江苏省中医药科技发展计划项目 (YB2020098)

作者简介: 石娜 (1979—), 女, 副主任医师, 博士, Email: shina989@163.com

通信作者: 欧阳钢 (1965—), 男, 主任医师, 博士, 博士生导师, Email: oygang@sina.com

sham operation group, a model group, and an EA group, with 8 rats in each group. The model and EA groups received bilateral ovariectomy to induce a PMOP model; in the sham operation group, only some fat tissues around the ovaries were removed; the blank group did not receive any intervention. EA intervention was offered to the EA group after modeling. The bone mineral density (BMD) was tested for each group as well as the serum calcium, PTHrP, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, OPG, and RANKL, and the expression of $1,25\text{D}_3$ -MARRS-binding protein in the intestinal mucosa. **Result** Compared with the blank and sham operation groups, the rat femoral and tibial BMD dropped significantly in the model group ($P < 0.05$). Compared with the blank group and the sham operation group, the levels of serum calcium, PTHrP, and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dropped markedly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), OPG/RANKL declined markedly ($P < 0.01$), and the expression of $1,25\text{D}_3$ -MARRS-binding protein in the intestinal mucosa also declined significantly ($P < 0.01$) in the model group. Compared with the model group, the femoral and tibial BMD increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the levels of serum calcium, PTHrP, and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ rose significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), OPG/RANKL elevated notably ($P < 0.01$), and the $1,25\text{D}_3$ -MARRS-binding protein in the intestinal mucosa increased markedly ($P < 0.05$) in the EA group. **Conclusion** EA can improve intestinal calcium absorption and BMD in ovariectomy-induced PMOP rats via elevating the contents of serum calcium, PTHrP, and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, OPG/RANKL, and the expression of $1,25\text{D}_3$ -MARRS-binding protein in the intestinal mucosa, so as to finally achieve the effect of preventive treatment of osteoporosis.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Osteoporosis, Postmenopausal; $1,25$ Vitamin D_3 membrane-associated rapid response steroid-binding protein; Serum parathyroid hormone-related protein; Rats

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是绝经后女性的常见疾病, 发病率为 25%~50%, 多发生在 55~70 岁或绝经后 5~10 年内^[1]。患者可出现全身乏力、骨痛等症状, 且极易发生骨折^[2]。骨质疏松性骨折是老年患者致残和致死的主要原因, 严重影响患者的生活质量, 并增加了家庭和社会的负担^[3]。目前西医主要以激素替代疗法为主, 但不良反应多, 且有致癌的风险^[4]。针灸可有效提高患者骨密度及雌激素值, 是一种安全有效的治疗方法^[5-6]。研究发现, 伴有消化系统疾病的患者其骨质疏松发生率明显增高^[7-8], 这与钙的吸收下降密切相关。 $1,25$ 维生素 D_3 膜相关性快速反应类固醇结合 (membrane-associated rapid response steroid-binding, $1,25\text{D}_3$ -MARRS) 蛋白和甲状旁腺激素相关蛋白 (parathyroid hormone-related protein, PTHrP) 为胃肠道内存在的特异性蛋白, 二者结合后可促进小肠黏膜 Ca^{2+} 的吸收, 对 PMOP 的防治具有重要作用^[9-10]。本研究拟通过观察去卵巢大鼠肠黏膜 $1,25\text{D}_3$ -MARRS 表达与血清 PTHrP、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 水平的变化, 探讨电针对钙吸收的调节作用以及电针治疗绝经后骨质疏松症的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雌性 SPF 级 3 月龄 SD 大鼠 32 只, 体重 180~200 g, 未曾交配, 购于浙江省实验动物中心 [许可证号 SCXK(浙)2014-0001]。在南京中医药大学实验动物中心 (屏障环境) 喂养, 环境温度 21~25 °C, 湿度 40%~60%, 光照时间每日 12 h, 饲养期间大鼠自由摄食饮水。动物喂养及实验方案通过南京中医药大学伦理审查 (伦理批号 201812A023)。

1.2 主要试剂与仪器

MEDIX90 双能 X 线骨密度检测仪 (法国奥斯托公司), 雷勃尔离心机 (北京雷勃尔离心机有限公司), Thermo ST16R 低温离心机, RT-6000 酶标仪 (深圳雷杜公司)。胎牛血清 (FBS, 美国 Gibco 公司, 货号 10099141), 低糖 DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司, 货号 11054001)、小鼠 ERP57 单克隆抗体 (美国 Santa 公司, 货号 sc-23886)、山羊抗小鼠 IgG 二抗 (赛默飞公司, 货号 A-11008)、戊巴比妥钠购于德国默克公司 (中国上海分装, 货号 283256), ELISA 试剂盒购于上海酶联生物公司。

1.3 分组与造模

大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为空白组、假手术

组、模型组及电针组, 每组 8 只。模型组和电针组采用切除大鼠双侧卵巢的方法制备绝经后骨质疏松症模型^[11]。采用 3%戊巴比妥钠(按每 100 g 体质量 0.1 mL)腹腔注射麻醉大鼠, 局部去毛, 取背侧改良切口, 最下肋下缘一横指处与腰椎旁开一个半横指处的交点为切口中心, 纵行切开 0.8~1 cm, 于深部脂肪层中可发现粉红色卵巢, 在子宫角处结扎后切除卵巢。假手术组仅切除卵巢周围少量脂肪组织。为防止抗菌药物对实验结果的影响, 术后不予注射或局部应用任何抗菌药物。空白组大鼠不做任何处理。所有大鼠术后均自由摄食和饮水。

1.4 干预方法

造模后, 电针组行电针干预。将大鼠装于自制锥形袋内进行针刺。取关元和双侧三阴交为一组穴位, 肾俞和双侧后三里为另一组穴位。取穴方法均参照《实验针灸学》^[12]中相关描述。每日取一组穴位, 两组穴位交替进行。用 0.25 mm×25 mm 针灸针刺入穴位后, 接韩氏电针仪对双侧三阴交或双侧肾俞进行电刺激, 强度 2 mA, 疏密波, 频率 2 Hz/15 Hz, 电针 20 min。每日 1 次, 每周连续治疗 5 d, 间隔 2 d, 共治疗 12 周。其余各组均不进行任何干预。

1.5 样本采集

采集标本前一晚 8 点开始禁食, 不禁水。第 2 天使用 3%戊巴比妥钠(按每 100 g 体质量 0.1 mL)将大鼠进行腹部麻醉, 将其置于无菌操作台上, 打开腹腔, 腹主动脉取血, 离心得血清后置于 -20 °C 冰箱保存。取完血后, 从十二指肠起始端剪下约 10 cm 小肠, 无菌生理盐水冲洗干净后, 剪刀纵行剪开肠腔, 用烤过的载玻片刮下肠黏膜, 用锡铂纸包裹, 迅速置于盛有液氮的容器中, -70 °C 冰箱冻存备用。大鼠放血致死, 剥离大鼠右侧股骨及胫骨, 彻底去除肌肉及肌腱等组织, 用生理盐水纱布包裹后放入 EP 管中, 置于 -20 °C 冰箱保存。

1.6 观测指标

1.6.1 骨密度

将大鼠离体股骨和胫骨自冰箱中取出, 室温下静置 30 min 后, 使用 MEDIX90 双能 X 线骨密度检测仪进行骨密度检测, 进行数据分析, 得出骨密度值。

1.6.2 血清钙、PTHrP、1, 25(OH)₂D₃、OPG 和 RANKL 水平

使用 ELISA 法进行检测。按照说明书设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL。

分别设定空白孔和待测样品孔, 在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液 40 μL, 然后再加待测样品 10 μL。将样品加于酶标板孔底部, 不能触及孔壁, 轻轻晃匀, 除空白孔外每孔加入酶标试剂 100 μL, 用封板膜封板后放至 37 °C 温育 60 min; 揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每个孔内加满洗涤液, 静置 30 s 后弃去, 重复 5 次, 最后拍干; 每个孔内先加入显色剂 A 50 μL, 再加入显色剂 B 50 μL, 轻轻震荡混匀, 37 °C 避光显色 15 min; 每个孔内加终止液 50 μL, 终止反应; 在加终止液后 15 min 以内测定, 以空白孔调零, 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。

1.6.3 肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白的表达

使用 Western blot 法检测。根据试剂盒说明书提取总蛋白, 煮沸使蛋白变性。SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜后 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h, ERP 57 单克隆抗体(1:100)作为目的蛋白, β-actin(1:1 000)作为内参, 4 °C 过夜。山羊抗小鼠二抗(1:10 000)37 °C 孵育 2 h, 洗膜后显色, 暗室内胶片曝光。采图后用 Gel-pro 软件图像数据分析灰度值。

1.7 统计学方法

采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差表示, 多组间比较采用单因素方差分析; 方差齐性检验采用 Leven 法, 若方差齐则采用 LSD 法进行两两比较, 若方差不齐则采用 Dunnett' T3 法进行两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠股骨及胫骨骨密度比较

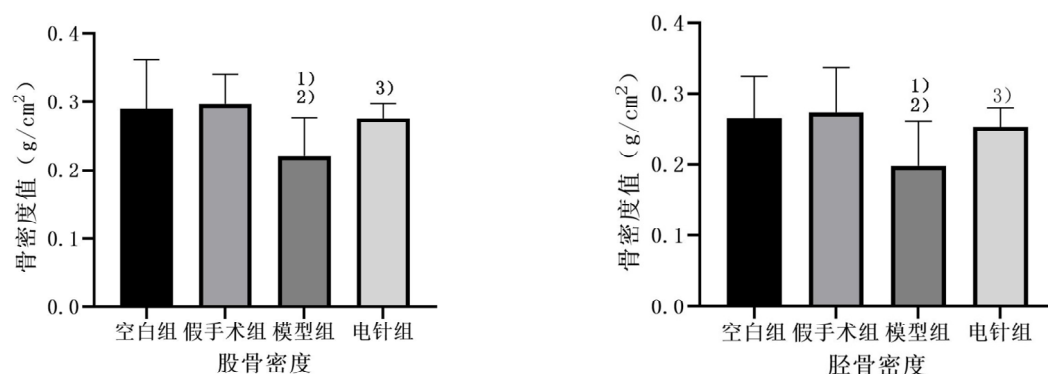
与空白组比较, 模型组大鼠股骨、胫骨骨密度明显降低($P < 0.01$); 与假手术组比较, 模型组股骨及胫骨骨密度降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组大鼠股骨、胫骨骨密度升高($P < 0.05$)。详见图 1。

2.2 各组大鼠血清钙、PTHrP、1, 25(OH)₂D₃、OPG 和 RANKL 水平比较

与空白组比较, 模型组和电针组血清 1, 25(OH)₂D₃ 及 PTHrP 水平明显降低($P < 0.01$); 与假手术组比较, 模型组和电针组血清 1, 25(OH)₂D₃ 及 PTHrP 水平明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组血清 1, 25(OH)₂D₃ 及 PTHrP 水平明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与空白组比较, 模型组和电针组血清 OPG 水平明显降低($P <$

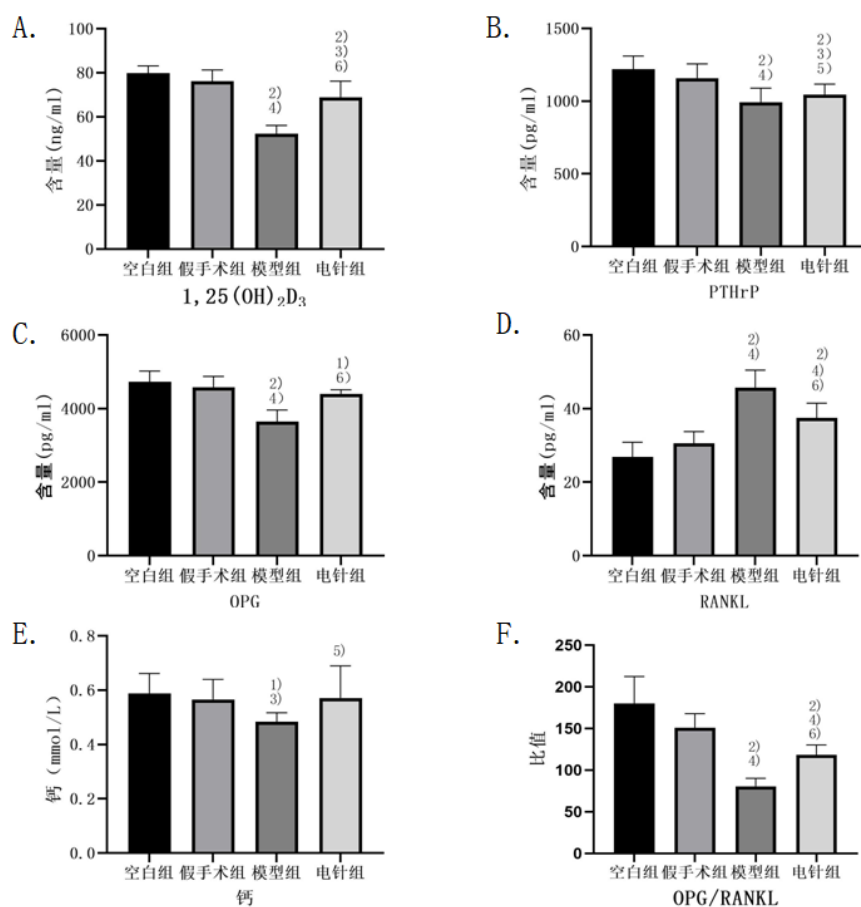
0.01, $P < 0.05$); 与假手术组比较, 模型组血清 OPG 水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组血清 OPG 水平明显升高 ($P < 0.01$)。与空白组比较, 模型组和电针组血清 RANKL 水平明显升高 ($P < 0.01$); 与假手术组比较, 模型组和电针组血清 RANKL 水平升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组 RANKL 水平明显降低 ($P < 0.01$)。与空白组比较, 模型组血钙水平明显降低 ($P < 0.05$); 与假手术组比较, 模型组血钙水平明显降

低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 电针组血钙水平明显升高 ($P < 0.05$)。与空白组比较, 模型组和电针组血清 OPG/RANKL 值明显降低 ($P < 0.01$); 与假手术组比较, 模型组和电针组血清 OPG/RANKL 值降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组 OPG/RANKL 比值明显升高 ($P < 0.01$)。详见图 2。



注: 与空白组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与假手术组比较 ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ³⁾ $P < 0.05$

图 1 各组大鼠股骨及胫骨骨密度比较(每组 8 只大鼠)

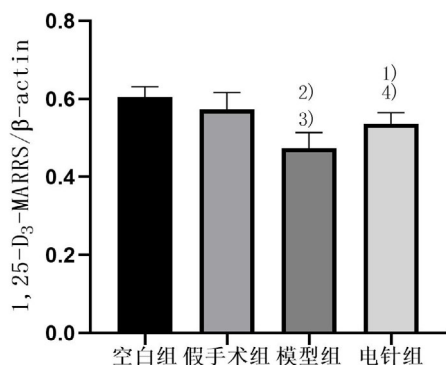


注: 与空白组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与假手术组比较 ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$

图 2 各组大鼠血清钙、PTHrP、1,25(OH)₂D₃、OPG 和 RANKL 水平比较(每组 8 只大鼠)

2.3 各组大鼠肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达的比较

与空白组和假手术组比较, 模型组 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达明显降低 ($P < 0.01$); 与空白组比较, 电针组 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 电针组 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$)。详见图 3。



注: 与空白组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与假手术组比较 ³⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ⁴⁾ $P < 0.05$

图2 各组大鼠血清钙、PTHrP、1, 25 (OH)₂D₃、OPG 和 RANKL 水平比较 (每组 4 个样本)

3 讨论

钙是重要的骨矿物质元素, 钙的减少和丢失是引起骨密度下降并最终导致骨质疏松的重要因素之一^[13]。近端小肠(十二指肠和近端空肠)是钙吸收的主要部位, 小肠黏膜病变或切除小肠后可导致骨密度下降, 最终造成骨质疏松发病率增加^[7-8], 而这一过程受 1, 25 (OH)₂D₃、雌激素及甲状旁腺激素(PTH)等多种激素的调控^[14-15]。

1, 25 (OH)₂D₃ 是维生素 D 在体内的活性形式, 它对人体钙磷代谢及骨骼系统的生长发育都有重要的作用^[16-17]。破骨细胞的分化与功能也受 1, 25 (OH)₂D₃ 的调控, 当肠道钙的摄取明显下降时, 1, 25 (OH)₂D₃ 会明显增多, 通过增强骨吸收并抑制骨质矿化以维持血清钙正常水平^[18]。1, 25D₃-MARRS 是蛋白质二硫化物异构酶家族中的一员, 可在小肠、肾、脑、骨等多种组织中表达^[19-20], 是 1, 25 (OH)₂D₃ 发挥作用的非基因组机制^[21]。研究显示, 1, 25D₃-MARRS 可以促进小肠对钙的快速吸收。1, 25 (OH)₂D₃ 与小肠上皮细胞膜受体 1, 25D₃-MARRS/ERp57 结合后, 先后激活磷脂酶 A2 (PLA2)、磷脂酶 C (PLC), 最终导致 PLC 释放^[22], 从而达到促进钙磷代谢

的目的。大鼠去卵巢后 1, 25 (OH)₂D₃ 及 1, 25D₃-MARRS 水平下降, 会严重影响肠道钙的吸收, 从而导致骨质疏松。电针治疗后血清 1, 25 (OH)₂D₃ 水平升高, 肠黏膜 1, 25D₃-MARRS 表达也明显增加, 这种变化有利于促进肠道钙的快速吸收, 以促进骨形成, 最终达到预防骨质疏松的目的。

PTHrP 在人胃肠道黏膜中均有表达^[23], 可影响骨、肾、乳腺、胎盘等多种组织中的钙吸收, 是一种起效快、副作用少的骨形成促进剂^[24-25]。PTHrP 通过与 PTH1R 相互作用, 刺激 IGF-1 合成, 促进成骨细胞合成代谢^[26]。给小鼠注入 PTHrP 后可以刺激十二指肠钙吸收的增加, 而胃泌素对十二指肠钙的吸收并没有作用^[24]。另外, PTHrP 缺失的小鼠出生后可出现头部软骨、肋软骨发育不良及牙齿萌出障碍, 说明 PTHrP 在骨骼发育、成骨及破骨代谢过程中发挥着重要的作用^[27-28]。大鼠去卵巢后血清 PTHrP 水平明显下降, 影响了成骨细胞合成及十二指肠对钙的吸收, 导致骨密度下降, 电针可有效提高 PTHrP 水平, 改善骨密度。

OPG 和 RANKL 是破骨细胞形成、分化和调节的关键因子, OPG 和 RANKL 的表达是骨吸收与重建的重要因素^[29-31]。OPG/RANKL 系统在机体中处于动态平衡, 当比值下降时, 会引起一些骨代谢疾病, 而当比值升高时, 会减弱破骨细胞的分化成熟, 有利于骨重建^[32]。大鼠去卵巢后 OPG/RANKL 比值明显下降, 说明破骨细胞分化活跃, 发生骨质疏松的风险性高。而电针可有效提高 OPG/RANKL 的比值, 发挥骨保护的作用^[33-34]。

《素问·宣明五气》提出“肾主骨”, 认为骨质疏松症主要与肾关系密切; 《素问·逆调论》中强调“肾者水也, 而生于骨……不生则髓不能满, 故寒甚至骨也”。因此, 本研究主要选择具有补肾健脾作用的关元、三阴交、肾俞、后三里进行电针治疗。研究结果发现电针可有效提高血清 1, 25 (OH)₂D₃ 及 PTHrP 水平, 增加 1, 25D₃-MARRS 蛋白表达, 从而促进肠道钙的重吸收, 最终达到升高骨密度, 治疗骨质疏松的目的。另外, 电针还可通过提高 OPG/RANKL 的比值, 减弱破骨细胞的分化, 从而发挥骨保护作用。

综上, 肠道钙吸收不良是罹患骨质疏松症的重要原因, 而电针可促进肠道钙的重吸收, 提高血钙水平, 并可通过作用于 OPG/RANKL 系统, 最终实现防治骨质疏松症的作用。

参考文献

- [1] 黄宏兴, 万雷, 黄红. 骨质疏松实验研究概论[M]. 广州: 广东科技出版社, 2018:5-6.
- [2] 邓琳雯, 母苓, 刘艺. 130 例绝经后骨质疏松症中医证型分布规律[J]. 成都中医药大学学报, 2016, 39(2): 76-78.
- [3] WANG O, HU Y, GONG S, *et al.* A survey of outcomes and management of patients post fragility fractures in China[J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26:2631-2640.
- [4] 邵雨薇, 舒晴, 刘若兰, 等. 基于组蛋白去乙酰化酶 2 介导的成骨细胞分化通路探讨电针治疗骨质疏松症的效应机制[J]. 针刺研究, 2020, 45(6): 438-445.
- [5] 乔思雨, 赵英侠. 针灸治疗绝经后骨质疏松症的实验研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(10): 1258-1262.
- [6] WANG H D, CHEN Z, INOUE I, *et al.* Effects of electroacupuncture at GB points on markers of osteoporosis and bodyweight in ovariectomised rats[J]. *Acupunct Med*, 2015, 33(6): 465-471.
- [7] LOCANTORE P, DEL-GATTO V, GELLI S, *et al.* The interplay between immune system and microbiota in osteoporosis[J]. *Mediators Inflammation*, 2020, 2020: 3686749.
- [8] STUCKEY B G A, MAHONEY L A, DRAGOVIC S, *et al.* Celiac disease and bone health: is there a gap in the management of postmenopausal osteoporosis?[J]. *Climacteric*, 2020, 23(6): 559-565.
- [9] CAO X, DUAN Z, YAN Z, *et al.* miR-195 contributes to human osteoarthritis via targeting PTHrP[J]. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37(4): 711-721.
- [10] JUNRO Y, LAURIE K M. Effects of intermittent administration of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein on fracture healing: A narrative review of animal and human studies[J]. *JBMR Plus*, 2019, 3(12): 10250.
- [11] 欧阳钢, 唐曦, 莫非, 等. 电针对去卵巢大鼠模型肠黏膜维生素 D 受体 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. 中华老年医学杂志, 2014, 33(3): 302-305.
- [12] 余曙光, 郭义. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 151-152.
- [13] MASSIRONI S, CAVALCOLI F, ZILLI A, *et al.* Relevance of vitamin D deficiency in patients with chronic autoimmune atrophic gastritis: A prospective study[J]. *BMC Gastroenterol*, 2018, 18(1): 172.
- [14] 谭晓霞, 连晓芬, 黄政杰, 等. 糖尿病微血管病变对骨密度及骨代谢指标的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(6): 793-797.
- [15] AL SAEDI A, MYERS DAMIAN E, STUPKA N, *et al.* 1,25(OH)₂D₃ ameliorates palmitate-induced lipotoxicity in human primary osteoblasts leading to improved viability and function[J]. *Bone*, 2020, 141: 115672.
- [16] NEALE R E, KHAN S R, LUCAS R M, *et al.* The effect of sunscreen on vitamin D: A review[J]. *Br J Dermatol*, 2019, 181(5): 907-915.
- [17] ESPOSITO S, LEONARDI A, LANCIOTTI L, *et al.* Vitamin D and growth hormone in children: a review of the current scientific knowledge[J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 87.
- [18] LIEBEN L, CARMELIET G. Vitamin D signaling in osteocytes: effects on bone and mineral homeostasis[J]. *Bone*, 2013, 54(2): 237-243.
- [19] 任国臣, 刘刚, 赵丹, 等. 钙对人系膜细胞增殖及 1, 25-D₃-MARRS 蛋白表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(9): 1396-1399.
- [20] 刘富强, 陈建庭, 徐静, 等. 免疫沉淀 1, 25D₃-MARRS 后胃黏膜提取物对成骨细胞生物学活性的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2010, 16(12): 913-919.
- [21] NEMERE I, FARACH-CARSON M C, ROHE B, *et al.* Ribozyme knockdown functionally links a 1,25(OH)₂D₃ membrane binding protein (1,25D₃-MARRS) and phosphate uptake in intestinal cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(19): 7392-7397.
- [22] HETTINGHOUSE A, LIU R, LIU C J. Multifunctional molecule ERp57: from cancer to neurodegenerative diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 181: 34-48.
- [23] LIU C, CHEN J, GUO Y, *et al.* The expression of PTHrP in human gastric mucosa enterochromaffin-like cells[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 56(4): 993-998.
- [24] 刘洋贝, 罗敏, 马勋龙, 等. 妊娠哺乳相关骨质疏松症的诊治进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(3): 464-468.
- [25] LIU C P, SHAO G L, LU Y R, *et al.* Parathyroid

- hormone-related protein (1-40) enhances calcium uptake in rat enterocytes through PTHR1 receptor and protein kinase C α/β signaling[J]. *Cellular Physiol Biochemistry*, 2018, 51(4):1695-1709.
- [26] RODRIGUEZ-DE L R L, LOPEZ-HERRADON A, PORTAL-NUNEZ S, *et al.* Treatment with N-and C-terminal peptides of parathyroid hormone-related protein partly compensate the skeletal abnormalities in IGF-I deficient mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9:e87536.
- [27] MCCAULEY L K, MARTIN T J. Twenty-five years of PTHrP progress: from cancer hormone to multifunctional cytokine[J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27:1231-1239.
- [28] MARTIN T J. Parathyroid hormone-related protein, its regulation of cartilage and bone development, and role in treating bone diseases[J]. *Physiol Rev*, 2016, 96:831-871.
- [29] KANG J, CHOI Y J, SEO B Y, *et al.* A selective FGFR inhibitor AZD4547 suppresses RANKL/M-CSF/OPG-dependent osteoclastogenesis and breast cancer growth in the metastatic bone microenvironment[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):8726.
- [30] AKBAR I Z, DEWI F R P, SETIAWAN B. In silico interaction of the active compounds of *scurrula atropurpurea* with the RANK/RANKL/OPG system in diabetopporosis[J]. *Acta Inform Med*, 2019, 27(1):8-11.
- [31] OZER F F, DAGDELEN S, ERBAS T. Relation of RANKL and OPG levels with bone resorption in patients with acromegaly and prolactinoma[J]. *Horm Metab Res*, 2018, 50(7):562-567.
- [32] GONG S, HAN X, LI X, *et al.* Development of a high-throughput screening strategy for upregulators of the OPG/RANKL ratio with the potential for antiosteoporosis effects[J]. *J Biomol Screen*, 2016, 21(7):738-748.
- [33] 金俊健. 电针刺激后大鼠血清对成骨细胞 OPG、RANKL mRNA 及其蛋白表达的影响[J]. 上海针灸杂志, 2019, 38(7):798-802.
- [34] 孙光华, 廖瑛, 廖源, 等. 电针对去卵巢大鼠关节软骨退变及软骨下骨骨质疏松的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(12):781-787.

收稿日期 2021-11-12