

# 卵巢切除联合激素注射对绵羊股骨近端骨密度及生物力学性能的影响

刘 达, 康 夏, 谢庆云, 廖冬发, 黄 晨, 唐影超, 权 毅, 张 波<sup>△</sup>

(成都军区总医院骨科, 四川成都 610083)

**[摘要]** **目的** 评价去势手术联合激素注射对绵羊股骨近端骨密度(BD)及生物力学性能的影响。**方法** 将健康成年绵羊 16 只, 分为假手术组( $n=8$ )和实验组( $n=8$ )。假手术组仅对双侧卵巢进行显露; 实验组中显露并切除双侧卵巢(OVX), 术后 1 个月开始肌内注射泼尼松龙( $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 共持续注射 10 个月。测量处理前、后绵羊股骨近端的 BD, 通过压缩实验和轴向拔出实验评价处理后股骨近端的生物力学性能变化。**结果** 处理前两组绵羊 BD 比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 假手术组绵羊处理前、后股骨近端 BD 比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 实验组绵羊处理后股骨近端的 BD 显著下降, 且明显低于假手术组处理后的 BD( $P<0.05$ )。实验组的最大压缩应力和能量吸收值均显著低于假手术组, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ ); 实验组的最大轴向拔除力和能量吸收值均显著低于假手术组, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 去势手术联合激素注射的方法可以显著降低绵羊股骨近端的 BD 及生物力学强度。

**[关键词]** 骨质疏松; 股骨近端; 卵巢切除术; 骨密度; 生物力学

**[中图分类号]** R318.01 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)12-1606-03

## Effect of ovariectomy combined with hormone injection on bone density and biomechanical performance of sheep proximal femur

Liu Da, Kang Xia, Xie Qingyun, Liao Dongfa, Huang Chen, Tang Yingchao, Quan Yi, Zhang Bo<sup>△</sup>

(Department of Orthopedics, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu, Sichuan 610083, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the effect of bilateral ovariectomy combined with hormone injection on the bone mineral density and biomechanical property of sheep proximal femur. **Methods** 16 healthy adult sheep were divided into the sham operation group ( $n=8$ ) and the experiment group ( $n=8$ ) randomly. Bilateral ovaries were only exposed in the sham operation group. The experiment group was performed bilateral ovariectomy (OVX) and began to conduct the intramuscular injection of methylprednisolone ( $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) after postoperative 1 month for 10 months. The bone density (BD) of all sheep proximal femur was measured before OVX and in postoperative 1 year. The compression test and the axial pullout test were performed to evaluate biomechanical property of postoperative 1 year proximal femur. **Results** BD of proximal femur before surgery had no statistically significant difference between the two groups, and which in the sham operation group had no statistically significant difference between before and after surgery ( $P>0.05$ ). BD of proximal femur in postoperative 1 year in the experiment group was significantly decreased and significantly lower than that in the sham operation group ( $P<0.05$ ). The maximal compression stress and the energy absorption value in the experiment group were significantly lower than those in the sham operation group with statistically significant differences ( $P<0.05$ ); the maximal axial pulling force and the energy absorption value in the experiment group were significantly lower than those in the sham operation group with statistically significant difference ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The method of bilateral ovariectomy combined with hormone injection can significantly decrease BD and biomechanical intensity of sheep proximal femur.

**[Key words]** osteoporosis; proximal femur; ovariectomy; bone density; biomechanics

研究表明, 中国 50 岁以上的人群中骨质疏松性骨折占所有骨折的 70.00%~80.00%, 其中髌部是骨质疏松性骨折最常见的发病部位之一, 中国每年新增的髌部骨折患者约 23 万。治疗骨质疏松导致的髌部骨折主要包括药物治疗及内固定等手术治疗<sup>[1-2]</sup>。而这两方面的研究都必须建立在良好的髌部骨质疏松动物模型的基础上来进行, 需通过动物实验来评价药物对髌部骨密度 (bone density, BD) 及力学强度的作用和内固定稳定性, 而良好的髌部骨质疏松动物模型是该领域研究的必要前提条件。有研究表明, 绵羊髌部的解剖结构和生物力学特点与人体近似, 且卵巢切除术 (ovariectomy, OVX) 后的绵羊体内骨质条件的变化与妇女绝经后的变化近似, 可以模拟绝经后妇女的骨质疏松症<sup>[3-5]</sup>。因此, 很多的研究将绵羊作为建立骨质疏松大动物模型的首选。通过文献回顾发现, 越来越多的学者通过 OVX 联合激素的方法来建立绵羊骨质疏松模型, 主要评价了绵羊腰椎的 BD 及生物力学的变化<sup>[6-11]</sup>, 对于绵羊股骨近

端 BD 及生物力学变化的研究甚少。本实验采用去势手术联合激素应用的方法建立髌部骨质疏松动物模型, 通过双能 X 线吸收法测量股骨近端 BD, 通过生物力学测试评价股骨近端的力学强度, 综合评价上述建模方法对上述指标的影响作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 成年雌性绵羊共 16 只, 均已过生育哺乳期, 年龄为 ( $4.56 \pm 0.52$ ) 岁, 体质量为 ( $55.02 \pm 6.47$ ) kg, 均由成都军区总医院实验动物中心提供。所有涉及动物实验的操作均严格遵守动物实验的医学伦理学规定。

**1.1.2 实验耗材和药品** 手术所需器械、耗材及场地均由成都军区总医院实验中心提供。双能 X 线骨密度仪 (Lunar Corp, Madison, WI, USA) 由成都军区总医院门诊部提供。普通空心螺钉 (长度为 40.00 mm, 直径为 6.00 mm) 16 枚, 长度和直径只用于绵羊股骨颈固定, 均由医用钛合金制成, 由山

东威高骨科器械有限公司生产。MTS 858 (MTS System, Minneapolis, MN, USA) 力学实验机由西南交通大学力学实验中心提供。麻醉药品速眠新 II (每支 2.0 mL) 为解放军兽医大学军事兽医研究所生产, 每毫升含氟哌啶醇 2.5 mg, 双氢埃托啡 4.0 μg, 保定宁 60.0 mg。抗菌药物: 注射用头孢唑林钠 (每支 1.0 g, 上海先锋药业有限公司)。激素: 注射用甲泼尼龙琥珀酸钠 (每支 0.5 g, 美国辉瑞制药有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、手术及 BD 的测量 将 16 只绵羊分为假手术组和实验组, 每组 8 只。肌内注射速眠新 II (0.10 mL/kg) 麻醉成功后, 将绵羊侧卧于双能 X 线 BD 仪的扫描台上, 采用手动分析模式测定股骨近端感兴趣区域 (region of interest, ROI) 的 BD (图 1), 从股骨头下、沿股骨颈方向取矩形的 ROI, 其宽度接近股骨颈的宽度, 长度为从股骨头下到股骨外侧皮质。测量 BD 之后将绵羊仰卧于手术台上, 术区常规消毒铺单后, 切开皮肤及皮下组织, 假手术组经腹腔盆腔显露至双侧卵巢, 无任何处理, 反复冲洗后逐层缝合切口。实验组实行双侧 OVX, 仔细缝合结扎后反复冲洗, 逐层缝合。术后 1 个月开始肌内注射甲泼尼龙龙 (0.45 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>), 每月的同一天测量绵羊体质量, 根据体质量调整甲泼尼龙龙的注射剂量。连续注射 10 个月, 最后 1 个月内逐渐减量至停止注射。停药后观察 1 个月, 再次测量双侧股骨近端的 BD。注射激素期间, 对所有绵羊常规饲养。观察所有绵羊的切口愈合、注射部位感染情况及注射期间和停药后的不良反应。



图 1 股骨近端 ROI 的 BD 测量



图 2 股骨近端骨组织的钻取

1.2.2 股骨近端标本的制备 去势手术后 1 年, 处死两组中所有绵羊。取出双侧股骨, 每只绵羊随机选取一侧股骨, 紧贴股骨头下缘垂直于股骨颈锯断, 用内径 1.50 cm 的自制环钻于断面中央、沿股骨颈的轴向钻取标本直至钻透股骨近端外侧皮质 (图 2), 整个过程中采用生理盐水湿润标本。最终制成上下

截面平行、高度为 3.00 cm、直径为 1.50 cm 的圆柱状股骨近端松质骨标本。另一侧股骨标本, 于大粗隆尖部下方 3.00~3.50 cm 处顺股骨颈方向拧入螺钉。X 线检查确定空心钉位置。生理盐水纱布包裹所有标本, 密封并存储于一 20 °C 的条件下。实验前所有标本均在室温下自然解冻。

1.2.3 压缩实验 将松质骨标本置于特制夹具上, 以 5 mm/min 的加载速度逐渐施加轴向压力<sup>[10]</sup>, 直到标本破坏即为实验终止。实验机的载荷信号由计算机数据采集系统记录并自动生成载荷-位移曲线, 曲线达到最高点随即明显下降即为标本出现破坏, 由相应的测试软件计算出最大压缩应力 (σ<sub>ult</sub>) 和能量吸收值 (E1)。

1.2.4 轴向拔出实验 用特制夹具将标本固定于 MTS 858 上, 沿螺钉的长轴方向以 5 mm/min 的加载速度进行拔出实验<sup>[10]</sup>, 螺钉被拔出后停止。实验机的载荷信号由计算机数据采集系统记录并自动生成载荷-位移曲线, 曲线达到最高点随即明显下降即为螺钉被拔出松动, 由相应的测试软件计算出螺钉的最大轴向拔出力 (F<sub>max</sub>) 和能量吸收值 (E2)。

1.3 统计学处理 所有数据采用 SPSS16.0 进行统计学分析。计量资料均采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 同组中处理前、后 BD 间的比较采用配对 t 检验; 处理前、后两组中 BD 间的比较及处理后两组中生物力学参数之间的比较, 均采用独立样本 t 检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组绵羊大体观察 术后 16 只绵羊活动、进食情况及大小便正常, 未发生任何手术并发症。术后切口 10 d 后均甲级愈合。注射部位的皮肤均无感染迹象, 注射期间和停药后两组绵羊均未见明显异常反应。

2.2 两组绵羊处理前、后股骨近端 BD 比较 处理前两组绵羊股骨近端的 BD 比较, 差异无统计学意义 (P = 0.752)。假手术组绵羊处理前、后的 BD 无明显变化 (P = 0.387), 而实验组处理后的 BD 显著低于处理前 (P = 0.000), 平均下降 29.46%。处理后实验组的 BD 低于假手术组, 两组比较差异有统计学意义 (P = 0.018), 见表 1。

表 1 两组绵羊处理前、后股骨近端 BD 比较 ( $\bar{x} \pm s$ , g/cm<sup>2</sup>)

组别	n	处理前	处理后
假手术组	8	1.05 ± 0.10	1.07 ± 0.11 <sup>a</sup>
实验组	8	1.12 ± 0.13	0.79 ± 0.15 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: P < 0.05, 与实验组比较; <sup>b</sup>: P < 0.05, 与同组处理前比较。

2.3 两组绵羊股骨近端 σ<sub>ult</sub> 及 E1 比较 与假手术组比较, 实验组中的 σ<sub>ult</sub> 和 E1 分别下降 38.88% 和 41.34%, 均差异有统计学意义 (P < 0.05), 见表 2。

表 2 两组绵羊股骨近端 σ<sub>ult</sub> 及 E1 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	σ <sub>ult</sub> (MPa)	E1 (J)
假手术组	8	955.90 ± 268.50 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.45 <sup>a</sup>
实验组	8	584.20 ± 193.62	1.22 ± 0.38

<sup>a</sup>: P < 0.05, 与实验组比较。

表 3 两组绵羊股骨近端 F<sub>max</sub> 及 E2 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	F <sub>max</sub> (N)	E2 (J)
假手术组	8	937.80 ± 272.52 <sup>a</sup>	2.25 ± 0.60 <sup>a</sup>
实验组	8	564.60 ± 178.83	1.30 ± 0.28

<sup>a</sup>: P < 0.05, 与实验组比较。

2.4 两组绵羊股骨近端 F<sub>max</sub> 及 E2 比较 与假手术组比较, 实

验组中的  $F_{\max}$  和 E2 分别下降 39.79% 和 42.22%，均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，见表 3。

### 3 讨 论

随着人口老龄化的日益加重，骨质疏松性骨折(脆性骨折)逐渐成为临床上的常见病。屈波等<sup>[12]</sup>通过成都市流行病学调查发现，在纳入的 2 457 例骨质疏松性骨折老年患者中髌部骨折的比例最高为 37%。郝永强等<sup>[13]</sup>对上海地区 5 923 例骨质疏松性骨折的发病特点研究分析显示，髌部骨折为 22%，脊柱骨折为 8%。研究表明，中国骨质疏松性髌部骨折发生率为 16%~20%，年发病率为 180 万至 200 万例。预计 2020 年和 2050 年髌部骨折人数为 163.8 万和 590.8 万。在 2006 年用于髌部骨折治疗的费用已经超过 63.5 亿元，预计至 2020 年预计会增至 850 亿元以上，到 2050 年则将达 18 000 亿元。骨质疏松性骨折的危害很大，导致病残率和死亡率的增加。髌部骨折后 1 年内死于各种并发症者高达 20%，而存活者中约 50% 致残，生活不能自理，生活质量明显下降。而且，骨质疏松性骨折的治疗和护理需要投入巨大的人力、物力和财力，造成沉重的家庭、社会和经济负担。

目前，很多学者采用小鼠和大鼠等啮齿类动物作为骨质疏松动物模型建模的对象，主要用于抗骨质疏松药物的治疗，但该类动物体型较小，不适合进行髌部骨折内固定的模拟及力学性能的相关研究<sup>[14]</sup>。而灵长类动物无论从生理周期、行走方式，还是骨骼结构上均是与人类最为接近的动物，是骨质疏松动物模型的最佳选择。但是，饲养管理要求高，实验费用昂贵及医学伦理道德的原因让该动物的获取和应用均受到极大的制约。近年来，越来越多的学者青睐使用绵羊建立骨质疏松动物模型。绵羊价格较便宜，获取方便；性情温顺，易于管理和饲养；且激素分泌与女性类似，OVX 后的绵羊体内骨质条件的变化与妇女绝经后的变化近似，最为重要的是成年绵羊髌部的解剖结构及力学分布与人类接近<sup>[3-5]</sup>。因此，适合采用绵羊进行髌部骨质疏松动物模型的建立及内固定稳定性的相关研究。

文献回顾发现，众多学者基于绵羊进行了相关骨质疏松模型建立的实验研究。有研究发现，OVX 联合糖皮质激素注射半年和一年后，胫骨近端松质骨的 BD、骨小梁体积、弹性模量分别降低了 27% 和 33%、34% 和 37%、36% 和 62%<sup>[6]</sup>。然而，单纯行 OVX 处理 6 个月和 12 个月后上述指标均无明显降低。研究认为，OVX 联合激素使用可降低骨小梁的数量和质量，是建立绵羊骨质疏松模型的可行方法。单独使用 OVX 方法并不能显著降低绵羊体内某些部位的骨质条件。Schorlemmer 等<sup>[7]</sup>发现，OVX 联合持续注射甲泼尼松龙 ( $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 6 个月可以显著减少胫骨干皮质骨和胫骨近端松质骨的生成；使用上述方法 12 个月后可使胫骨近端松质骨的 BD 和压缩刚度分别降低 34% 和 55%。Lill 等<sup>[8]</sup>研究发现，OVX 联合甲泼尼松龙注射持续 6 个月后，腰椎和股骨头松质骨的骨小梁数量和骨小梁厚度明显减少，骨小梁间隙明显增宽，生物力学强度也明显下降，表明 OVX 联合激素可以有效地建立骨质疏松动物模型。有研究通过 OVX 联合低钙饮食和激素注射的方法建立骨质疏松绵羊模型，选取 BD 下降 25% 作为评价模型是否成功的标准，经过综合处理半年后绵羊腰椎和股骨近端的 BD 分别较处理前下降 29.5% 和 29.1%，均超过了 25% 的评价标准，骨质疏松模型成功建立<sup>[9]</sup>。而低钙饮食的依从性和可行性不如激素注射，并且目前中国还无统一、公认的低钙饲料，因此本实验采用了 OVX 联合激素注射的建模方法。有研究发现，经 OVX 的绵羊注射甲泼尼松龙 3 个月停药后，6~11 周内会出现桡骨远端松质骨 BD 的反弹(每周上升 0.22%)，但

它显著低于用药期间 BD 的下降幅度<sup>[10]</sup>。Zarrinkalam 等<sup>[11]</sup>采用 OVX 联合激素注射及低钙饮食的方法建立绵羊骨质疏松模型后发现，停止使用激素后绵羊腰椎仍然保持骨质疏松组织的微观结构特点，并为观察骨质疏松的系统或局部治疗效果及内固定的相关研究提供了充足的观察窗口。因此，本实验中，停药后 1 个月的观察期并不会严重影响骨质疏松模型的建立。

目前的研究主要针对脊柱、桡骨远端及胫骨近端等部位的骨质条件及生物力学的评价，对髌部周围、尤其是股骨近端的研究甚少。本课题组在前期刊对股骨近端的 BD 和微观结构的变化进行了研究，而缺乏对股骨近端的生物力学强度的变化进行评价。本研究通过 OVX 联合激素的方法建立髌部骨质疏松动物模型，考虑到股骨近端的脆性骨折及内固定松动的风险，采用了 DEXA 测量股骨近端的 BD 变化，通过压缩实验评价股骨近端的生物力学强度，顺股骨颈置入螺钉后通过螺钉的轴向拔出实验来评价股骨近端骨质对内固定的把持力。研究发现通过去势手术联合激素注射综合处理 12 个月后，绵羊股骨近端的 BD 较前有显著的下降 ( $P < 0.05$ )，且平均下降大于 25% (29.46%)。该方法处理后绵羊股骨近端的自身机械强度显著下降，局部骨质对螺钉的把持力也显著下降，证实了 BD 下降可导致骨质生物力学强度的下降，符合骨质疏松病理改变的特点。

综上所述，本研究认为去势手术联合激素注射可显著降低绵羊股骨近端的 BD、骨质强度及螺钉在股骨近端的稳定性。总之，去势手术联合激素注射的方法可用于建立髌部骨质疏松动物模型。

### 参考文献

- [1] 中华医学会骨科学分会. 骨质疏松骨折诊疗指南[J]. 中华骨科杂志, 2008, 28(10): 875-878.
- [2] Bhutani G, Gupta MC. Emerging therapies for the treatment of osteoporosis[J]. J Midlife Health, 2013, 4(3): 147-152.
- [3] Mazoochian F, Hölzer A, Jalali J, et al. Finite element analysis of the ovine hip; development, results and comparison with the human hip[J]. Vet Comp Orthop Traumatol, 2012, 25(4): 301-306.
- [4] Sheng SR, Wang XY, Xu HZ, et al. Anatomy of large animal spines and its comparison to the human spine: a systematic review[J]. Eur Spine J, 2010, 19(1): 46-56.
- [5] Oheim R, Amling M, Ignatius A, et al. Large animal model for osteoporosis in humans: the ewe[J]. Eur Cell Mater, 2012(24): 372-385.
- [6] Augat P, Schorlemmer S, Gohl C, et al. Glucocorticoid-treated sheep as a model for osteopenic trabecular bone in biomaterials research[J]. J Biomed Mater Res A, 2003, 66(3): 457-462.
- [7] Schorlemmer S, Ignatius A, Claes L, et al. Inhibition of cortical and cancellous bone formation in glucocorticoid-treated OVX sheep[J]. Bone, 2005, 37(4): 491-496.
- [8] Lill CA, Fluegel AK, Schneider E. Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep; a pilot study[J]. Osteoporos Int, 2002, 13(6): 480-486.
- [9] Zarrinkalam MR, Beard H, Schultz CG, (下转第 1612 页)

架蛋白等其他裂孔膜成份相互作用,共同维持足细胞足突的完整性及裂孔膜的正常功能。有学者认为 nephrin、podocin 的减少参与了糖尿病肾病蛋白尿的发生<sup>[11]</sup>。而  $\alpha$ -SMA 和 Fibronectin 是间充质细胞的特异性表型标志蛋白,非平滑肌细胞表达  $\alpha$ -SMA 是细胞激活、转分化的重要依据。其过高表达常标志着间充质转分化过程的发生。

Transwell 小室检测经不同浓度葡萄糖处理的足细胞清蛋白流入量的变化,提示高糖环境下足细胞单层屏障功能受损。提示高糖刺激可以诱导足细胞发生间充质转分化,造成维持其上皮细胞表型的功能蛋白丢失,进而破坏裂孔隔膜的完整性,导致肾小球滤过功能异常,可能是糖尿病肾病蛋白尿形成的重要机制之一,但仍需进一步的体内实验来证实。

GSK-3 $\beta$  是一种遗传保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可以调控基因转录、细胞周期代谢、细胞凋亡、肿瘤发生等,但其调控机制仍不清楚<sup>[12]</sup>。有关高糖刺激对 GSK-3 $\beta$  表达及活性的影响目前研究的尚不多,有文献报道,GSK-3 $\beta$  在高糖诱导的肾小管上皮细胞转分化的过程中活性增强;也有文献报道,GSK-3 $\beta$  在高糖诱导肾脏系膜细胞凋亡的过程中,活性也增强<sup>[13]</sup>。GSK-3 $\beta$  在细胞内作为众多信号转导通路的主要调控酶之一,可以影响多种细胞的生长及凋亡<sup>[14]</sup>,研究证明,其表达量的过度增高及活性过度增强会引起细胞的凋亡、分化等。但也有研究证明,持续的 GSK-3 $\beta$  抑制是肿瘤发生的一个标志,GSK-3 $\beta$  活性抑制可能是肿瘤细胞化学耐药的一种机制<sup>[15]</sup>。因此,GSK-3 $\beta$  在体内的作用有利有弊。在病理或一定条件下 GSK-3 $\beta$  的过度激活会引起机体的病理改变;过度抑制 GSK-3 $\beta$  的活性及表达量同样会产生负面影响。

GSK-3 $\beta$  表达量与活性的改变对足细胞功能的影响,还需进行体内实验等更深入研究,以进一步明确 GSK-3 $\beta$ 、转分化及糖尿病肾病蛋白尿形成之间的关系,为寻找糖尿病肾病新的治疗靶点提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Zhao D,Zhao F,Li Y, et al. Projected and observed diabetes epidemics in China and beyond[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2012, 14(1):106-111.
- [2] Choudhury D,Tuncel M,Levi M. Diabetic nephropathy-a multifaceted target of new therapies[J]. *Disc Med*, 2010, 10(54):406-415.
- [3] 李金红,陶建瓴,李航. 足细胞损伤与糖尿病肾病的研究现状[J]. *中国医学科学院学报*, 2010, 32(5):590-596.
- [4] Li Y, Kang YS, Dai C, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dys-

function and proteinuria[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(8): 299-308.

- [5] Mariappan MM, Shetty M, Sataranatarajan K, et al. Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  is a novel regulator of high glucose-and high insulin-induced extracellular matrix protein synthesis in renal proximal tubular epithelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(45):30566-30575.
- [6] Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(2):212-222.
- [7] Campa VM, Kypta RM. Issues associated with the use of phosphospecific antibodies to localise active and inactive pools of GSK-3 in cells[J]. *Biol Direct*, 2011, 6(3):236-165
- [8] Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics[J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(32):577-595.
- [9] Fukasawa H, Bornheimer S, Kudlicka K, et al. Slit diaphragms contain tight junction proteins[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(7):1491-1053.
- [10] Leeuwis JW, Nguyen TQ, Dendooven A, et al. Targeting podocyte-associated diseases[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62(14):1325-1336.
- [11] Billing H, Muller D, Ruf R, et al. NPHS2 mutation associated with recurrence of proteinuria after transplantation[J]. *Pediatr Nephrol*, 2004, 19(5):561-564.
- [12] 杨俊. 糖原合酶激酶 3 $\beta$  调控前列腺癌细胞死亡的机制研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2010.
- [13] Lin CL, Wang JY, Huang, YT, et al. Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling modulates survival of high glucose-stressed mesangial cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(8):2812-2820.
- [14] Shakoori A, Ougolkov A, Yu ZW, et al. Deregulated GSK3 $\beta$  activity in colorectal cancer; its association with tumor cell survival and proliferation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(4):1365-1373.
- [15] Beurel E, Kornprobst M, Blivet-Van Eqqelpol MJ, et al. GSK-3 $\beta$  inhibition by lithium confers resistance to chemotherapy-induced apoptosis through the repression of CD95 (Fas/APO-1) expression[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 300(2):354-364.

(收稿日期:2014-08-18 修回日期:2015-01-10)

(上接第 1608 页)

- et al. Validation of the sheep as a large animal model for the study of vertebral osteoporosis[J]. *Eur Spine J*, 2009, 18(2):244-253.
- [10] Goldhahn J, Jenet A, Schneider E, et al. Slow rebound of cancellous bone after mainly steroid-induced osteoporosis in ovariectomized sheep[J]. *J Orthop Trauma*, 2005, 19(1):23-28.
- [11] Zarrinkalam MR, Schultz CG, Parkinson IH, et al. Osteoporotic characteristics persist in the spine of ovariectomized sheep after withdrawal of corticosteroid administration[J]. *J Osteoporos*, 2012(2012):1825-1829.

- [12] 屈波,潘显明,权毅,等. 成都地区老年人骨质疏松性骨折发病特点分析[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2008, 14(10):733-735.
- [13] 郝永强,郝光亮,戴魁戎. 上海地区骨质疏松性骨折的发病特点研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(3):197-200.
- [14] Anastassopoulos G, Panteliou S, Christopoulou G, et al. Vibrational bone characteristics versus bone density for the assessment of osteoporosis in ovariectomized rats[J]. *J Med Eng Technol*, 2010, 34(1):35-42.

(收稿日期:2014-07-08 修回日期:2015-01-15)