

跑台运动对骨质疏松大鼠骨组织 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响

黄晓 李建华

【摘要】 目的 研究跑台运动对骨质疏松大鼠骨代谢的影响以及 Wnt/ β -catenin 信号通路在运动影响骨代谢中的调节作用。**方法** 选取 2 月龄 SD 雌性大鼠 32 只,按随机数字表法分为假手术安静组(S 组)、去卵巢安静组(O 组)、假手术运动组(ST 组)和去卵巢运动组(OT 组),每组大鼠 8 只。采用去卵巢手术制造大鼠绝经后骨质疏松模型,O 组和 OT 组均摘除卵巢,S 组和 ST 组大鼠的手术只进行到找到卵巢,但并不摘除卵巢。造模成功后,S 组和 O 组大鼠在饲养笼中自由活动,ST 组和 OT 组大鼠除在饲养笼中自由活动外,每日还进行跑台训练。于 ST 组和 OT 组最后 1 次运动结束 24 h 后(入组 10 周后)处死 4 组大鼠,分别采用双能 X 线骨密度仪测定大鼠股骨骨密度(BMD),全自动生化分析仪检测血清钙(Ca)、磷(P)、碱性磷酸酶(ALP)含量,放射免疫法检测血清骨钙素(BGP)活性,三点弯曲试验检测股骨生物力学指标,Western blot 测定骨组织 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白的表达。**结果** 入组 10 周后,O 组大鼠 BMD 显著低于 S 组大鼠,ST 组大鼠 BMD 显著高于 S 组大鼠,OT 组大鼠 BMD 显著高于 O 组大鼠 BMD,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);ST 组大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 P-GSK-3 β 的相对表达量为(0.51 \pm 0.06),显著低于 S 组的(0.80 \pm 0.05),组间差异有统计学意义($P < 0.05$),而 ST 组大鼠 β -catenin 和 cyclin D1 的相对表达量均显著高于 S 组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);OT 组大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 P-GSK-3 β 的相对表达量显著低于 O 组,而 β -catenin 和 cyclin D1 的相对表达量则显著高于 O 组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 跑台运动可显著改善骨质疏松大鼠的骨代谢,其机制可能与 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活相关。

【关键词】 运动; 骨质疏松; Wnt/ β -catenin; 信号通路

Treadmill exercise can significantly improve bone metabolism in osteoporosis Huang Xiao*, Li Jianhua.

* City College, Zhejiang University, Hangzhou 310015, China

Corresponding author: Li Jianhua, Email: zjdxsyfjk@126.com

【Abstract】 Objective To study the effect of treadmill exercise on the bone metabolism of osteoporotic rats and the regulatory role of Wnt/ β -catenin signaling in it. **Methods** Thirty-two female Sprague-Dawley rats aged 2 months were randomly divided into a sham-operated quiet group (S group), an ovariectomized quiet group (O group), a sham-operated exercise group (ST group) and an ovariectomized exercise group (OT group) with 8 rats in each group. The ovariectomies established a model of post-menopausal osteoporosis. The ovaries of groups O and OT were removed, while those of the S and ST groups were exposed, but not removed. All of the rats were free to move in their cages, but those in the ST and OT groups also underwent treadmill training every day for 10 weeks. All of the rats were sacrificed 24 hours after the last exercise session. Bone mineral density (BMD) of the femur was measured using dual energy X-ray absorptiometry, while serum calcium, phosphorus and alkaline phosphatase were detected with a biochemical analyzer. Serum osteocalcin was quantified by radioimmunoassay. A three point bending test quantified the biomechanical properties of the femors. The expression of Wnt/ β -catenin was measured through western blotting. **Results** After the intervention the average BMD of group O was significantly lower than that of group S, that of group ST was significantly higher than group S and that of group OT significantly higher than group O ($P \leq 0.05$). The relative expression of Wnt/ β -catenin protein P-GSK-3 β in group ST was significantly lower than in group S ($P \leq 0.05$). The relative expressions of β -catenin and cyclin D1 in group ST were significantly higher than in group S ($P \leq 0.05$). The relative expression of protein P-GSK-3 β in group OT was significantly lower than in group O, while that of β -catenin and cyclin D1 was significantly higher ($P \leq 0.05$). **Conclusion** Treadmill exercise can signifi-

cantly improve bone metabolism in osteoporotic rats. The mechanism may be related to activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

【Key words】 Exercise; Osteoporosis; Wnt/ β -catenin; Signal pathways

绝经后骨质疏松症的预防和治疗方法一直是生命科学界的难题之一,各种药物干预方法都存在或多或少的副作用,如雌激素的补充在一定程度上可以减缓绝经后妇女骨质流失的速度,但经常补充雌激素不仅会加重女性的肝脏和肾脏的负担,而且使她们患子宫癌、卵巢癌和乳腺癌的机率大大升高^[1]。越来越多的研究证明^[2-4],运动作为一种方便易行的干预方式,能够显著改善人们的骨代谢、增加人们的骨密度。如篮球运动员下肢骨密度(bone mineral density, BMD)显著高于非运动员对照组^[2],网球运动员优势手臂 BMD 显著高于对侧手臂 BMD^[3]。然而关于运动对绝经后骨质疏松影响的分子机制的研究仍罕见报道,本研究通过去卵巢手术制造大鼠绝经后骨质疏松模型,研究跑台运动对绝经后骨质疏松大鼠骨组织的影响,并进一步分析 Wnt/ β -catenin 信号通路在运动促进骨形成中的作用,以期运动与骨健康的生物学研究提供一定的理论基础。

材料与方 法

一、实验动物及分组

选取 2 月龄 Sprague-Dawley (SD) 雌性大鼠 32 只,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,实验动物许可证号 SCXK (沪) 2008-0016,大鼠体重为 (251.6±13.2) g。动物购回后单笼饲养,自行饮水进食,以国家标准啮齿类动物饲料喂养。室内环境温度为 (22±2) °C,每日光照时间为 12 h。动物购回后适应性喂养 3 d,按随机数字表法将 32 只大鼠分为 4 组,包括假手术安静组 (S 组)、去卵巢安静组 (O 组)、假手术运动组 (ST 组) 和去卵巢运动组 (OT 组),每大鼠组 8 只。

二、骨质疏松大鼠造模方案

4 组大鼠均采用腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (0.1 g/kg 体重) 麻醉,用电动剃须刀小心的剃除大鼠腰椎两侧的长毛 (不伤到皮肤),在腰椎脊柱两侧切开皮肤 (切口大小约 1 cm),在脂肪组织中找到卵巢,用烧热的镊子摘除双侧卵巢,缝合伤口 (用可吸收的羊肠线),局部涂少量红霉素软膏用于消炎。S 组和 ST 大鼠的手术只进行到找到卵巢,但并不摘除卵巢。

三、大鼠运动方案

S 组和 O 组大鼠在饲养笼中自由活动,ST 组和 OT 组大鼠除在饲养笼中自由活动外,每日还要进行跑台训练 (杭州产 DSPT-202 型段式实验跑台)。跑台训

练方案参照 Bedford^[5] 运动负荷标准,第一周和第二周为适应性训练,跑速由最初的 10 m/min 逐渐增加为 30 m/min,训练时间由最初的 10 min/d 逐渐增加为 60 min/d。从第三周开始,跑速固定为 30 m/min,每天训练时间固定为 60 min/d,共训练 10 周。跑台训练的具体方案见表 1 和表 2。

表 1 大鼠跑台训练速度安排方案

周	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
第 1 周	10 m/min	12 m/min	14 m/min	16 m/min	18 m/min
第 2 周	20 m/min	22 m/min	24 m/min	26 m/min	28 m/min
第 3~10 周	30 m/min	30 m/min	30 m/min	30 m/min	30 m/min

表 2 大鼠跑台训练时间安排方案

周	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
第 1 周	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
第 2 周	35 min	40 min	45 min	50 min	55 min
第 3~10 周	60 min	60 min	60 min	60 min	60 min

四、取材

为避免急性运动对测试指标的影响,于运动组最后 1 次运动结束 24 h 后 (入组 10 周后),对 4 组大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (0.1 g/kg 体重) 麻醉,然后处死大鼠,用剪刀打开胸腔,注射器心脏取血,待测血液骨代谢指标。取其两侧股骨,将左侧股骨放于 -20 °C 冰箱保存,待测 BMD 和生物力学指标。将右侧股骨放于 -80 °C 冰箱保存,用于 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白的测试。

五、指标测定

1. 股骨 BMD 的测定:从 -20 °C 冰箱取出左侧股骨,室温自然解冻,双能 X 线 BMD 仪 (Lunar Prodigy, GE, 美国) 测试股骨干骺端 BMD。

2. 血清骨代谢指标的测定:将心脏取血得到的新鲜血液立即在 4 °C 条件下离心,转速为 3000 rpm,离心时间为 5 min,取上清,全自动生化分析仪 (型号 HITA-CHI7600-110E) 检测血清钙 (Ca)、磷 (P)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 的含量,放射免疫法检测血清骨钙素 (bone gla-containing protein, BGP) 活性,试剂盒购自南京建成生物科技有限公司,完全按照试剂盒说明书进行操作。

3. 股骨生物力学指标的测定:将测试完 BMD 的左侧股骨至于万能材料实验机上 (日本产津岛 AG-20KNA 型),调整股骨位置和方向一致,进行三点弯

曲试验,两支点距离为 17 mm,于股骨中间以 1 mm/min 速度匀速准静态加压,直至骨折,绘图仪自动描记出载荷-变形曲线。从载荷-变形曲线上记录并计算股骨最大荷载、弹性荷载、破坏荷载、最大挠度、弹性挠度、破坏挠度、刚性系数和能量吸收等生物力学指标。

4. Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白的测定:将右侧股骨于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱取出,剪刀剪碎,加液氮研磨成粉,加入含有蛋白酶抑制剂的组织裂解液,冰上研磨 15 min。在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下离心,转速为 12000/min,离心时间为 15 min,取上清。BCA 法测定蛋白浓度,将待测样品稀释至相同的蛋白浓度,取各样本 20 μL ,SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,5%的脱脂牛奶封闭,将膜在一抗(兔抗鼠, Santa Cruz)中孵育, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBST 清洗,加入荧光二抗(山羊抗兔, Odyssey),避光孵育 1.5 h。将膜放在 odyssey 荧光凝胶成像系统扫描、拍照,并用 Odyssey 凝胶图像处理系统进行数据分析,以待测蛋白与内参蛋白的平均密度之比作为待测蛋白的相对表达水平。所测 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白为 GSK-3 β 、P-GSK-3 β 、 β -catenin 和 cyclin D1,内参蛋白为 β -actin。

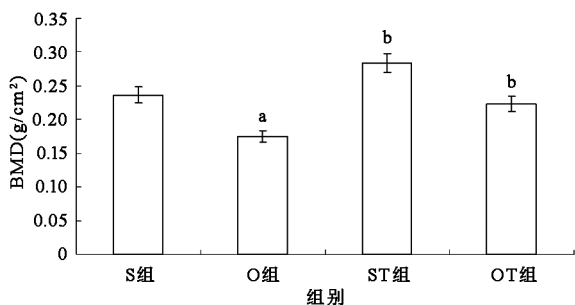
六、统计学分析

采用 SPSS 12.0 版软件进行统计学分析,所有数据均以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较均采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、4 组大鼠股骨 BMD 比较

图 1 可见,入组 10 周后,O 组大鼠的 BMD 显著低于 S 组大鼠,组间差异有统计学意义 ($P<0.05$),ST 组大鼠的 BMD 显著高于 S 组大鼠,组间差异有统计学意义 ($P<0.05$),而且 OT 组大鼠的 BMD 也显著高于 O 组大鼠,组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。



注:与 S 组和 ST 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组和 O 组比较,^b $P<0.05$

图 1 4 组大鼠股骨 BMD 比较

二、4 组大鼠血清骨代谢指标比较

表 3 显示,入组 10 周后,与 S 组大鼠比较,O 组大鼠血清中代表骨吸收水平的 Ca 显著升高,而血清中

代表骨形成水平的 ALP 和 BGP 显著降低,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与 S 组大鼠比较,ST 组大鼠血清中代表骨吸收水平的 Ca 没有显著性变化,组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),但血清中代表骨形成水平的 ALP 和 BGP 显著升高,组间差异有统计学意义 ($P<0.05$) ($P<0.05$);与 O 组比较,OT 组大鼠血清中代表骨吸收水平的 Ca 显著降低,血清中代表骨形成水平的 ALP 和 BGP 显著升高,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。4 组大鼠血清中 P 的水平组间比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 3 4 组大鼠血清骨代谢指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)	ALP (U/L)	BGP ($\mu\text{g/L}$)
S 组	8	2.12 \pm 0.18	2.26 \pm 0.24	235.45 \pm 12.30	1.33 \pm 0.09
O 组	8	2.57 \pm 0.09 ^a	2.33 \pm 0.08	187.26 \pm 18.25 ^a	0.95 \pm 0.12 ^a
ST 组	8	2.09 \pm 0.21	2.19 \pm 0.17	263.17 \pm 23.52 ^b	1.54 \pm 0.08 ^b
OT 组	8	2.23 \pm 0.16 ^b	2.27 \pm 0.15	233.94 \pm 19.14 ^b	1.28 \pm 0.15 ^b

注:与 S 组和 ST 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组和 O 组比较,^b $P<0.05$

三、4 组大鼠股骨生物力学指标比较

表 4 显示,入组 10 周后,与 S 组比较,O 组大鼠股骨结构力学指标最大荷载、弹性荷载、破坏荷载、最大挠度、弹性挠度、破坏挠度、刚性系数和能量吸收均显著降低,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与 S 组比较,ST 组大鼠股骨结构力学指标最大荷载、弹性荷载、最大挠度、刚性系数和能量吸收均显著升高,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与 O 组比较,OT 组大鼠结构力学指标最大荷载、弹性荷载、破坏荷载、最大挠度、弹性挠度、破坏挠度、刚性系数和能量吸收均显著升高,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 4 4 组大鼠股骨结构力学指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	最大荷载 (N)	弹性荷载 (N)	破坏荷载 (N)	最大挠度 (mm)
S 组	8	113.14 \pm 9.26	103.78 \pm 13.81	98.25 \pm 6.74	0.84 \pm 0.05
O 组	8	85.37 \pm 5.34 ^a	76.29 \pm 6.72 ^a	72.14 \pm 8.18 ^a	0.69 \pm 0.09 ^a
ST 组	8	136.25 \pm 12.53 ^b	124.73 \pm 10.57 ^b	106.53 \pm 10.51	0.98 \pm 0.11 ^b
OT 组	8	106.26 \pm 8.73 ^b	94.38 \pm 11.24 ^b	88.35 \pm 6.94 ^b	0.83 \pm 0.09 ^b

组别	只数	弹性挠度 (mm)	破坏挠度 (mm)	刚性系数 (N/mm)	能量吸收 (N·mm)
S 组	8	0.82 \pm 0.06	1.26 \pm 0.13	195.26 \pm 12.46	80.41 \pm 6.49
O 组	8	0.63 \pm 0.07 ^a	1.05 \pm 0.09 ^a	137.63 \pm 9.67 ^a	58.62 \pm 8.43 ^a
ST 组	8	0.87 \pm 0.13	1.31 \pm 0.14	235.52 \pm 15.84 ^b	98.31 \pm 5.88 ^b
OT 组	8	0.75 \pm 0.07 ^b	1.19 \pm 0.06 ^b	169.04 \pm 14.75 ^b	73.17 \pm 7.64 ^b

注:与 S 组和 ST 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组和 O 组比较,^b $P<0.05$

表 5 显示,入组 10 周后,与 S 组比较,O 组大鼠股骨材料力学指标最大应力、弹性应力、最大应变、弹性应变、破坏应变和弹性模量均显著降低,组间差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与 S 组比较,ST 组大鼠股骨材料力学指标最大应力、破坏应力、最大应变、弹性应变和弹性模量均显著升高,组间差异均有

统计学意义 ($P < 0.05$) ; 与 O 组比较, OT 组大鼠材料力学指标最大应力、弹性应力、破坏应力、最大应变和弹性模量均显著升高, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) 。

表 5 4 组大鼠股骨材料力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	最大应力 (N/mm ²)	弹性应力 (N/mm ²)	破坏应力 (N/mm ²)
S 组	8	105.62±8.62	99.67±6.37	97.28±10.28
O 组	8	76.35±7.34 ^a	73.58±4.39 ^a	87.54±5.67
ST 组	8	138.75±12.08 ^b	105.93±11.26	131.45±9.33 ^b
OT 组	8	103.79±8.40 ^b	98.82±7.31 ^b	99.84±10.57 ^b

组别	只数	最大应变 (%)	弹性应变 (%)	破坏应变 (%)	弹性模量 (N/mm ²)
S 组	8	8.34±0.54	7.83±0.85	7.79±0.69	14.69±1.26
O 组	8	6.15±0.46 ^a	6.67±0.37 ^a	6.72±0.66 ^a	11.92±1.07 ^a
ST 组	8	9.73±0.82 ^b	9.24±0.99 ^b	8.23±0.58	17.51±1.48 ^b
OT 组	8	7.57±0.62 ^b	7.11±0.53	7.09±0.72	14.53±0.87 ^b

注: 与 S 组和 ST 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组和 O 组比较, ^b $P < 0.05$

四、4 组大鼠骨组织 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达水平

图 2 和图 3 可见, 入组 10 周后, 与 S 组比较, ST 组大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 P-GSK-3 β 的相对表达量显著降低, β -catenin 和 cyclin D1 的相对表达量显著升高, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 2 组间 GSK-3 β 的相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 O 组比较, OT 组大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 P-GSK-3 β 的相对表达量显著降低, β -catenin 和 cyclin D1 的相对表达量显著升高, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 但两组间 GSK-3 β 的相对表达量没有显著差异, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 。

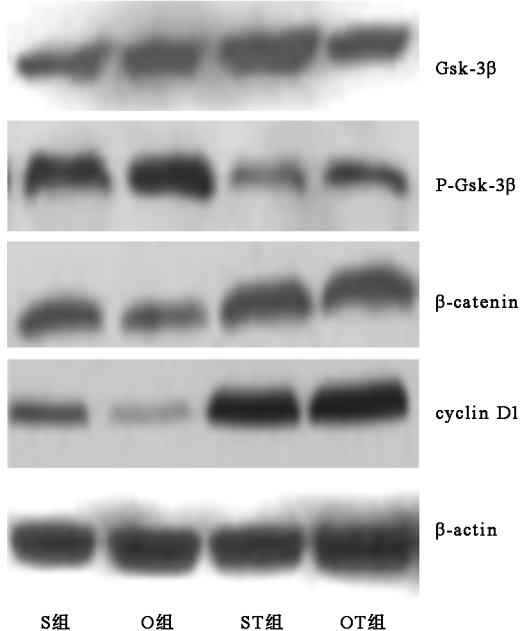
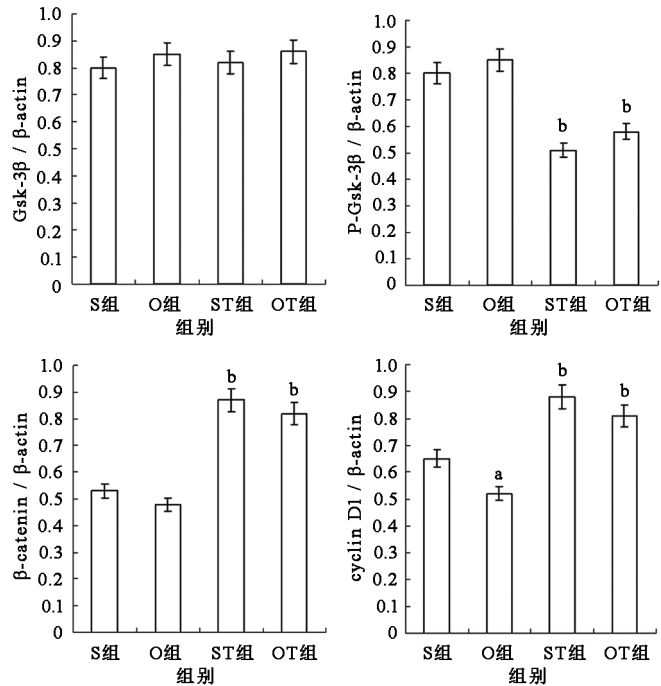


图 2 4 组大鼠骨组织 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达水平



注: 与 S 组和 ST 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组和 O 组比较, ^b $P < 0.05$

图 3 各组大鼠骨组织 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达水平数据图

讨 论

本研究结果显示, 大鼠被摘除双侧卵巢后, 出现了明显的骨质疏松症状, 表现为 O 组大鼠 BMD 显著低于 S 组, 该结果提示, 通过去卵巢致大鼠骨质疏松的造模方法是成功的, 造模大鼠骨密度下降与大鼠体内雌激素的迅速减少有关, 这与妇女绝经后骨质疏松的发生和发展过程类似。绝经后妇女给与适当的雌激素补充, 可在一定程度上减缓骨质的流失^[6]。但补充雌激素的副作用也显而易见, 经常补充雌激素不仅会加重女性的肝脏和肾脏的负担, 而且使她们患子宫癌、卵巢癌和乳腺癌的机率大大升高^[1]。除了雌激素的补充、钙剂补充和各种药物干预手段之外, 运动作为一种方便易行、经济实惠而且副作用很少的干预手段, 广泛地被广大大医务工作者、科研人员和骨质疏松患者所推崇^[7]。本研究的结果还显示, 入组 10 周后, ST 组大鼠 BMD 显著高于 S 组大鼠, 而且 OT 组大鼠 BMD 也显著高于 O 组大鼠, 这表明不管是针对假手术大鼠还是去卵巢大鼠, 跑台运动均可以显著提高其 BMD。

本研究的结果显示, 与 S 组大鼠比较, O 组大鼠血清中代表骨吸收水平的 Ca 显著升高, O 组和 ST 组大鼠血清中代表骨形成水平的 ALP 和 BGP 显著降低, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 O 组比较, OT 组大鼠血清中代表骨吸收水平的 Ca 显著降低而血清中代表骨形成水平的 ALP 和 BGP 显著升高, 组间差

异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。研究证明, Ca、P、ALP 和 BGP 是常用的血清骨代谢生化标志物, 血清 Ca 的升高往往预示着骨质在被加速溶解, 表明骨质在流失, 血清 Ca 与 P 存在一定的比例关系, 血清 Ca 和 P 的浓度能够在一定程度上反映骨吸收的程度^[8]。ALP 是成骨细胞的表型标志物之一, BGP 是由成骨细胞合成和分泌的, 二者在一定程度上可以反映成骨细胞的活动, 可作为骨形成的生化标志物^[9]。在本研究中, O 组大鼠与 S 组大鼠血清骨代谢指标的变化情况提示, 大鼠去卵巢后骨吸收水平增强而骨形成水平减弱, 从而导致大鼠骨质疏松症的发生。而各运动组与其相应的安静组大鼠血清骨代谢指标的变化情况提示, 跑台运动可以有效抑制大鼠的骨吸收作用并增强大鼠的骨形成作用。Prisby 等^[10]的研究结果显示, 后肢去负荷后, 由于缺乏运动应力刺激, 小鼠血清 ALP 等骨形成生化标志物显著下降, 表明后肢去负荷抑制了小鼠的骨形成过程。在 Andreoli 等^[11]的研究中, 绝经后骨质疏松妇女在长期的跑步运动后, 其血清骨吸收生化标志物抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, TRACP) 和 Ca 显著降低。

本研究结果还显示, 与 S 组比较, O 组大鼠股骨结构力学指标和材料力学指标均降, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 该结果进一步验证了去卵巢手术导致大鼠骨质疏松症的发生。而且, 与 S 组和 O 组比较, ST 组和 OT 组大鼠的股骨结构力学指标和材料力学指标均显著升高, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 该结果提示, 跑台运动可提高大鼠骨组织的生物力学性能, 这与跑台运动促进骨代谢, 提高骨组织 BMD 的效应一致。骨组织的生物力学性能主要表现为骨组织的硬度和韧性, 包括结构力学指标和材料力学指标等^[12]。结构力学指标包括最大载荷、弹性载荷、破坏载荷、最大挠度、弹性挠度、破坏挠度、刚性系数和能量吸收等。材料力学指标包括最大应力、弹性应力、破坏应力、最大应变、弹性应变、破坏应变和弹性模量等^[13]。骨组织的生物力学性能不仅与 BMD 高度相关, 而且与骨小梁的微观立体结构密切相关, 是评价骨组织承重、抗压以及其它力学性能的直接指标^[14]。

Wnt/ β -catenin 信号通路是最经典的信号通路之一, cyclin D1 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的重要的下游基因, 其作为重要的核内转录因子, 可以调节细胞周期^[15], Wnt/ β -catenin 信号通路通过激活 cyclin D1 基因的转录, 并进而调控成骨细胞的增殖, 促进骨形成^[16]。在 Wnt 蛋白未被激活的情况下, GSK-3 β 可以使 β -catenin 磷酸化, 并进而使 β -catenin 被降解。而在 Wnt 蛋白被激活的情况下, Wnt 蛋白可以抑制 GSK-3 β 对 β -catenin 的磷酸化过程, 并进而使 β -catenin

蛋白在细胞和内积聚, β -catenin 通过激活其下游基因蛋白 cyclin D1 的转录, 并进而发挥其调控成骨细胞增殖的作用^[17]。本研究的结果显示, 与 S 组和 O 组比较, ST 组和 OT 组大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白 P-GSK-3 β 的相对表达量均显著降低而 β -catenin 和 cyclin D1 的相对表达量均显著升高, 这表明运动可通过抑制 P-GSK-3 β 的表达从而降低 P-GSK-3 β 对 β -catenin 的磷酸化, 可减少 β -catenin 降解, 增加细胞内 β -catenin 积聚, 并通过激活其下有基因蛋白 cyclin D1, 发挥其促进成骨细胞增殖的作用。同时, 本课题组还发现, 与 S 组和 O 组比较, ST 组和 OT 组大鼠的 GSK-3 β 相对表达量并没有显著差异, 这说明运动通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进骨形成的效应并不是通过使 GSK-3 β 表达量增加的途径完成的, 而是通过提高 GSK-3 β 的磷酸化过程, 从而使 P-GSK-3 β 蛋白的表达量增加的途径来完成的。

综上所述, 跑台运动可显著改善骨质疏松大鼠的骨代谢, 提高骨质疏松大鼠骨组织 BMD 和生物力学性能, 且促进骨质疏松大鼠骨形成的效应与 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活密切相关。

参 考 文 献

- [1] Schröder L, Koch J, Mahner S, et al. The effects of petroselinum crispum on estrogen receptor-positive benign and malignant mammary cells[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(1):95-102. DOI: 10.21873/anticancer.11294.
- [2] Bagur-Calafat C, Farrerons-Minguella J, Girabent-Farrés M, et al. The impact of high level basketball competition, calcium intake, menses, and hormone levels in adolescent bone density: a three-year follow-up[J]. *J Sports Med Phys Fitness*, 2015, 55(1-2):58-67.
- [3] Ireland A, Maden-Wilkinson T, Ganse B, et al. Effects of age and starting age upon side asymmetry in the arms of veteran tennis players: a cross-sectional study[J]. *Osteoporos Int*, 2014, 25(4):1389-400. DOI: 10.1007/s00198-014-2617-5.
- [4] Plaza-Carmona M, Vicente-Rodríguez G, Gómez-Cabello A, et al. Higher bone mass in prepubertal and peripubertal female footballers[J]. *Eur J Sport Sci*, 2016, 16(7):877-883. DOI: 10.1080/17461391.2016.1144794.
- [5] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1979, 47(6):1278-1283.
- [6] Zain NM, Seriramulu VP, Chelliah KK, et al. Bone mineral density and breast cancer risk factors among premenopausal and postmenopausal women A systematic review[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(7):3229-3234.
- [7] Bodnar M, Skalicky M, Viidik A, et al. Interaction between exercise, dietary restriction and age-related bone loss in a rodent model of male senile osteoporosis[J]. *Gerontology*, 2012, 58(2):139-149. DOI: 10.1159/000329113.
- [8] Buehlmeier J, Frings-Meuthen P, Mohorko N, et al. Markers of bone

metabolism during 14 days of bed rest in young and older men[J]. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2017, 17(1):399-408.

- [9] Wang R, Zhang S, Jiang Z, et al. Bone metabolism markers; indicators of loading dose intravenous ibandronate treatment for bone metastases from breast cancer[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(1):88-93. DOI: 10.1111/1440-1681.12673.
- [10] Prisby RD, Alwood JS, Behnke BJ, et al. Effects of hindlimb unloading and ionizing radiation on skeletal muscle resistance artery vasodilation and its relation to cancellous bone in mice[J]. J Appl Physiol, 2016, 120(2):97-106. DOI: 10.1152/jappphysiol.00423.2015.
- [11] Andreoli A, Celi M, Volpe SL, et al. Long-term effect of exercise on bone mineral density and body composition in post-menopausal elite athletes: a retrospective study[J]. Eur J Clin Nutr, 2012, 66(1):69-74. DOI: 10.1038/ejcn.2011.104.
- [12] Graham RS, Samsell BJ, Proffer A, et al. Evaluation of glycerol-preserved bone allografts in cervical spine fusion; a prospective, randomized controlled trial[J]. J Neurosurg Spine, 2015, 22(1):1-10. DOI: 10.3171/2014.9.SPINE131005.
- [13] Seo SH, Lee J, Park IH. Efficacy of dual energy X-ray absorptiometry

for evaluation of biomechanical properties; bone mineral density and actual bone strength[J]. J Bone Metab, 2014, 21(3):205-212. DOI: 10.11005/jbm.2014.21.3.205.

- [14] Wallace IJ, Gupta S, Sankaran J, et al. Bone shaft bending strength index is unaffected by exercise and unloading in mice[J]. J Anat, 2015, 226(3):224-228. DOI: 10.1111/joa.12277.
- [15] Shi L, Cai G, Shi J, et al. Ossification of the posterior ligament is mediated by osterix via inhibition of the β -catenin signaling pathway[J]. Exp Cell Res, 2016, 349(1):53-59. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.12.001.
- [16] Ikehata M, Yamada A, Morimura N, et al. Wnt/ β -catenin signaling activates nephronectin expression in osteoblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 484(2):231-234. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.053.
- [17] Gori F, Superti-Furga A, Baron R. Bone formation and the Wnt signaling pathway[J]. N Engl J Med, 2016, 375(19):1902-1903. DOI: 10.1056/NEJMc1609768.

(修回日期:2018-09-17)

(本文编辑:阮仕衡)

· 外刊撷英 ·

Aspirin and clopidogrel after ischemic stroke or transient ischemic attack

BACKGROUND AND OBJECTIVE In 2013, the CHANCE trial found a 32% lower risk of stroke recurrence at 90 days by using a combination of clopidogrel and aspirin, as compared to aspirin alone, in a Chinese sample. This study, the Platelet-Oriented Inhibition in New TIA and Minor Ischemic Stroke (POINT) trial was designed to generalize these results to the international population.

METHODS This randomized, double-blind, placebo-controlled trial enrolled 4,881 patients from 10 countries. Patients with NIHSS stroke scores of less than three were randomized within 12 hours after an acute ischemic stroke. The treatment group received a loading dose of clopidogrel 600mg, followed by 75mg daily, in addition to aspirin for 90 days for the duration of the study. The control group received aspirin plus placebo. The primary efficacy outcome measure was the risk of a composite of ischemic stroke, myocardial infarction and death from ischemic vascular causes. The primary safety outcome variable was the risk of major hemorrhage.

RESULTS After 90 days, five percent of the patients who received combination therapy and 6.5% who received aspirin monotherapy achieved the primary efficacy outcome ($P=0.02$). Major hemorrhage occurred in 0.9% of the combination group and in 0.4% in aspirin group ($P=0.02$), with nonfatal, extracranial hemorrhage accounting for most of the hemorrhages. The risk of ischemic or hemorrhagic stroke was greater in the aspirin group than in the combination group ($P=0.01$).

CONCLUSION This international study of patients who had sustained an acute ischemic stroke found that combining aspirin and clopidogrel reduces the risk of ischemic stroke, myocardial infarction or death from ischemic vascular causes while increasing the risk of major hemorrhage.

【摘自:Johnston SC, Easton JD, Farrant M, et al. Clopidogrel and aspirin in acute ischemic stroke and high-risk tia. N Engl J Med, 2018,7, 19, 379(3): 215-225.】