·论　著·

甲状旁腺激素 1-34 促进尾悬吊再负重大鼠骨质量恢复

徐浩[1]，张国彬[2]，邢磊[3*]，郑杰[1]，田发明[2](1.舟山医院骨科，浙江 舟山 316000；2.华北理工大学医学实验研究中心，河北 唐山 063000；3.华北理工大学附属医院老年病科，河北 唐山 063000)

摘要：目的　观察尾悬吊大鼠再负重骨量的变化及甲状旁腺激素 1-34(PTH1-34)干预的效果及机制。**方法**　5 月龄大鼠 24 只分为 4 组，对照组(CL 组)、尾悬吊 4 周组(UL 组)、尾悬吊 2 周再负重 2 周组(UL+RL 组)、尾悬吊 2 周再负重加 PTH1-34 干预 2 周组(UL+RL+PTH 组)，每组 6 只。4 周后处死大鼠，分离左侧胫骨行骨组织形态计量学分析；检测左侧股骨骨密度；取右侧胫骨提取蛋白和 RNA，分别采用 Western blotting 和 realtime PCR 检测骨钙素(osteocalcin, OCN)的表达；三点弯曲试验分析右侧股骨最大载荷和弹性模量。**结果**　CL 组骨密度显著高于其余 3 组(P<0.05)，UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组均显著高于 UL 组(P<0.05)；UL+RL+PTH 组显著高于 UL+RL 组(P<0.05)。CL 组骨小梁体积比(bone volume per total volume，BV/TV)显著高于 UL、UL+RL、UL+RL+PTH 组(P<0.05)，UL 组显著低于 UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)；UL+RL+PTH 组显著高于 UL+RL 组(P<0.05)。CL 组骨小梁数量显著高于其余 3 组(P<0.05)，UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组(P<0.05)。CL 组骨小梁分离度显著低于 UL、UL+RL、UL+RL+PTH 组(P<0.05)，UL 组显著低于 UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)。UL 组最大载荷显著低于其余 3 组，UL+RL 组显著低于 CL 组(P<0.05)；CL 组弹性模量显著高于其余 3 组(P<0.05)，UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组、UL+RL 组(P<0.05)。Western blotting 检测 OCN 蛋白表达在 CL 组和 UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组(P<0.05)。Realtime PCR 检测各组间的 OCN mRNA 表达水平无显著差别。**结论**　尾悬吊 2 周可诱发大鼠下肢骨量丢失、力学性能下降、OCN 含量减少，再负重 2 周后上述改变可得到部分恢复，PTH1-34 干预能促进这一过程。

关键词：甲状旁腺激素 1-34；尾悬吊；骨密度；骨组织形态计量学；生物力学；骨钙素

中图分类号：R965.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2020)13-1537-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.13.001

引用本文：徐浩，张国彬，邢磊，等. 甲状旁腺激素 1-34 促进尾悬吊再负重大鼠骨质量恢复[J]. 中国现代应用药学，2020，37(13): 1537-1542.

PTH1-34 Promoted Bone Mass Recovery in Rats with Reloading After Tail-suspension

XU Hao[1], ZHANG Guobin[2], XING Lei[3*], ZHENG Jie[1], TIAN Faming[2](*1.Department of Orthopaedics, Zhoushan Hospital, Zhoushan 316000, China; 2.Medical Research Center, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China; 3.Department of Gerontology, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan 063000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE　To observe the changes of bone mass in tail-suspended and subsequent reloaded rats, as well as the effects and mechanism of PTH1-34 on these process. **METHODS**　Twenty four 5 month old rats were divided into 4 groups: control(CL) group, tail suspension for 4 weeks(UL) group, tail suspension for 2 weeks and reloading for 2 weeks(UL+RL) group, tail suspension for 2 weeks and reloading plus PTH1-34 intervention for 2 weeks(UL+RL+PTH) group, 6 rats in each group. All rats were sacrificed 4 weeks later, left tibia was used for bone histomorphometry analysis, left femur was used for bone mineral density, and right tibia was assigned to biomechanical test, tibia were harvested for detecting expression levels of osteocalcin(OCN) by Western blotting and realtime PCR, respectively. The maximum load and elastic modulus of the right femur were analyzed by a three-point bending test. **RESULTS**　Bone mineral density(BMD) in CL group was significantly higher than other three groups(P<0.05), UL+RL and UL+RL+PTH rats showed markedly higher values than UL rats(P<0.05), UL+RL+PTH rats showed markedly higher BMD than UL+RL rats(P<0.05). CL group showed markedly higher bone volume per total volume (BV/TV) values than those in the UL, UL+RL and UL+RL+PTH groups, UL+RL and UL+RL+PTH groups showed significantly higher BV/TV than that of UL group(P<0.05), UL+RL+PTH group showed markedly higher BV/TV than UL+RL group(P<0.05). Trabecular number in CL group was significantly higher than other three groups, UL+RL+PTH group showed markedly higher

基金项目：国家自然科学基金项目(81874029)；河北省自然科学基金(H2013209255)；河北省医学科学研究重点课题(20160722)

作者简介：徐浩，男，主治医师　Tel: 13957221653　E-mail: xuhao123987@163.com　*通信作者：邢磊，男，硕士，副教授　Tel: 13731551118　E-mail: xlpangdun001@163.com

trabecular number than UL group(P<0.05); Trabecular separation in CL group was significantly lower than those in the UL, UL+RL and UL+RL+PTH groups(P<0.05), UL+RL and UL+RL+PTH groups showed significantly lower trabecular separation than that of UL group(P<0.05). UL group showed markedly lower maximal load compared to the other three groups, UL+RL group showed significantly lower maximal load than CL group(P<0.05). Rats in CL group showed markedly higher elastic modulus compared to other three groups(P<0.05); UL+RL+PTH group showed significantly higher elastic modulus than UL and UL+RL groups. Western blotting showed IOD of OCN in UL group was significantly lower than CL group and UL+RL+PTH group(P<0.05). No significant difference between any two groups was found of the mRNA expression level of OCN. **CONCLUSION** Two weeks of tail-suspension induced disuse of hindlimb caused bone loss, deterioration of biomechanical properties and reduction of OCN expression, which were partially restored after reloading and enhanced by PTH1-34 treatment.
KEYWORDS: PTH1-34; tail-suspension; bone mineral density; bone histomorphometry; biomechanical test; osteocalcin

应力刺激和应力缺失均会影响骨重建活性乃至骨质量，适当的应力刺激可以促进骨的生长，而包括制动、长期卧床患者以及航天飞行导致的失重等应力缺失则会导致骨形成能力下降、骨量减少[1-3]。根据以往研究报道，宇航员在太空航行滞留时间达 1 个月可以诱发骨量减少 1.5%，该比例与女性绝经后 1 年所丢失的骨量比例相当[4-6]，而且 1 年后该宇航员骨折发生的风险依然较正常人群更高[7-8]。因此对该类人群或患者适当干预，阻止骨丢失或促进骨量恢复对于预防其骨折很有必要。

甲状旁腺激素 1-34(PTH1-34)是促进骨形成类药物之一[9-11]，以往临床和基础研究也已经验证了 PTH1-34 对包括骨质疏松性骨折在内的骨折愈合的促进作用[12-14]。然而，PTH1-34 对于拟失重再负重大鼠骨量的恢复是否有促进作用尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 5 月龄♂ SD 大鼠 24 只，体质量 310~330 g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，许可证号：SCKX(京)2009-0015，所有大鼠于清洁级实验室饲养，室温(23±3)℃，每天光照 12 h。

1.1.2 仪器 XR36 骨密度检测仪(美国 Norland 公司)；AG-IS 生物力学检测和分析系统(日本岛津公司)；DMLB2 荧光/光学显微镜和 DC300 数码摄像系统(德国 Leica 公司)。

1.1.3 试剂 Realtime PCR Master Mix(上海生物生工有限公司，批号：B300502-0200)；Trizol(美国 Invitrogen，批号：15596018)；M-MLV 逆转录试剂盒(加拿大 BBI 公司，批号：B534235-0010)；PTH1-34(批号：98614-76-7)、蛋白提取试剂盒(批号：PRPTTOT-1KT)均购自美国 Sigma 公司；骨钙素(osteocalcin，OCN)抗体(美国 Santa Cruz 公司，批号：SC-365797)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 所有大鼠随机分为 4 组(n=6)，分别为对照组(CL 组)：不予干预，正常负重；尾悬吊非负重组(UL 组)：尾部悬吊，躯体与地面保持 35°~40°，下肢离地；尾悬吊 2 周再负重 2 周组(UL+RL 组)：尾悬吊 2 周后解除尾部悬吊，重新正常负重；尾悬吊 2 周再负重加 PTH1-34 干预 2 周组(UL+RL+PTH 组)：再负重同时给予皮下注射 PTH1-34 干预(20 μg·kg^{-1}，每周 5 d)。尾悬吊专用鼠笼有鼠粮槽和水瓶孔，保证大鼠正常饮食、饮水需要。尾悬吊实验共进行 4 周，实验结束后处死所有大鼠，左侧胫骨进行硬组织包埋，备行骨组织形态计量学分析；左侧股骨留存，备行骨密度检测；右侧胫骨制备组织匀浆，提取 RNA 和蛋白，分别采用 realtime PCR 和 Western blotting 检测 OCN 的表达；取右侧股骨经生物力学试验分析最大载荷和弹性模量。

1.2.2 左侧股骨骨密度 收集各组大鼠左侧股骨，标记编号按组排列，采用双能 X 线骨密度分析仪于小物体扫描模式下进行扫描分析，分辨率：1.0 mm×1.0 mm；准确度：0.01%；扫描速度：60 mm·s^{-1}；扫描宽度：5.0 cm 的参数值。扫描结束后，依次选定并读取各个标本的骨密度值。

1.2.3 硬组织包埋制片及骨组织形态计量学分析 收集大鼠左侧胫骨，于 10%多聚甲醛溶液中固定 1 d，随后转移保存至 70%乙醇固定，并经 70%~100%梯度酒精脱水及二甲苯脱脂，甲基丙烯酸甲酯包埋制备不脱钙硬组织塑料包埋块。于硬组织切片机切片，切片厚度为 5 μm，行 Von Kossa 染色观察感兴趣区(胫骨近端)松质骨骨量和参数，具体采图区域为干骺端生长板 1 mm 以下 3 mm 以上，每张采集 6 个图像，并依次测量骨组织面积(tissue area，T.Ar)、骨小梁面积(trabecular bone area，Tb.Ar)、骨小梁周长(trabecular perimeter，Tb.Pm)，经公式计算得出骨小梁体积比(bone volume per total volume，BV/TV)、骨小梁数量(trabecular number，Tb.N)、骨小梁厚度(trabecular

thickness，Tb.Th) 和骨小梁分离度 (trabecular separation，Tb.Sp)。计算公式见表 1。

表 1 骨组织形态计量学指标计算公式

Tab. 1 Derived indice in bone histomorphometry

指标	单位	公式
BV/TV	%	Tb.Ar/T.Ar×100
Tb.Th	μm	(2 000/1.199)(Tb.Ar/Tb.Pm)
Tb.N	#/mm	(1.199/2)(Tb.Pm/T.Ar)
Tb.Sp	μm	(2 000/1.199)(T.Ar−Tb.Ar)/Tb.Pm

1.2.4 生物力学分析 采取三点弯曲法检测各组大鼠右侧股骨的生物力学性能。将股骨近端和远端分别置于支架底座的两侧，调节上方压头并使其保持在 2 个底座的正中，2 支点之间的跨距为 20 mm，将制备好的股骨放置于支架底座上，其横截面短轴的方向与载荷方向一致，以保证每个试件受力后沿长轴线产生的弯曲与加载后长轴产生挠度方向一致。以 10 mm·min^{-1} 的速度垂直加压，直至股骨断裂，分析其最大压缩载荷及弹性模量。

1.2.5 OCN 的表达 Realtime PCR：大鼠处死后即时取新鲜右侧胫骨，研磨成组织匀浆，采用 Trizol 及相关试剂提取 RNA，检测 RNA 浓度和纯度，以 $A_{260/280}$ 在 1.8~2.0 视为样本合格，置于−80 ℃备用。OCN 及 GAPDH 引物序列为 OCN 上游：5’-CCATGAGGACCCTCTCTCTGC-3’；下游：5’-AAACGGTGGTGCCATAGATGC-3’。GAPDH 上游：5’-ACCATGGTGGAGATCATCGC-3’；下游：5’-GCCATGACGGTAACCACGG-3’。引物由上海生物生工有限公司合成。经逆转录合成第一链 cDNA，备行 PCR 扩增，反应液配制总量 50 μL，包括引物(10 μmol·L^{-1}) 2 μL，cDNA 模板 2.5 μL，Realtime PCR MasterMix 25 μL。PCR 扩增条件：95 ℃ 30 s；95 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s，共 40 个循环。反应结束后得出相应循环阈值(Ct)，并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 作为最终统计量，计算各实验组与 CL 组表达水平的比值。

Western blotting：上述方法制备组织匀浆，并加入 RIPA 裂解液充分裂解，4 ℃ 12 000 r·min^{-1} 离心 15 min，提取上清，用考马斯亮蓝法测定各样本蛋白浓度，置于−80 ℃备用。加入 loading buffer 后，100 ℃ 5 min 将蛋白样本变性，进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳，电泳完毕后立即进行 220 mA 120 V 恒流电转，电转完毕后取出 PVDF 膜条带，并用 5%脱脂奶粉室温摇动封闭 2 h，分别加入目的蛋白 OCN、β-actin 抗体(1∶1 000)，4 ℃孵育过夜，次日 TBST 洗涤后，加入相应二抗，室温孵育 1 h，TBST 洗涤后经 ECL 发光显影。PVDF 膜经扫描后，采用自动图像分析系统进行半定量分析，在同一条件下测定目标条带 OD 值，计算出各组样品目标条带与内参(β-actin)条带 OD 值的比值做进一步统计分析。

1.3 统计学分析

数据录入 Excel 表，采用 SPSS 23.0 进行统计分析。采用单因素方差分析检验是否存在组间差异，post-hoc 分析采用 LSD-t 检验，得出两两比较结果，P<0.05 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 骨密度

经骨密度分析，CL 组骨密度最高，UL 组、UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组依次升高。CL 组显著高于 UL 组、UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)，UL 组显著低于 UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)；UL+RL+PTH 组显著高于 UL+RL 组(P<0.05)。结果见图 1。

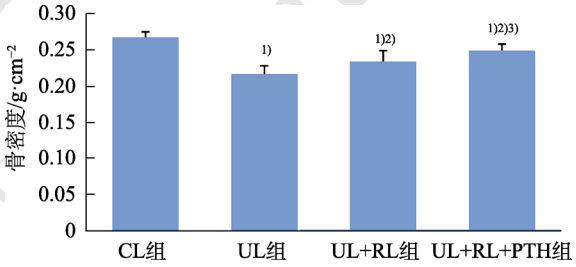

图 1 骨密度检测结果

与 CL 组比较，$^{1)}P$<0.05；与 UL 组比较，$^{2)}P$<0.05；与 UL+RL 组比较，$^{3)}P$<0.05。

Fig. 1 Detection results of bone mineral density

Compared with CL group, $^{1)}P$<0.05; compared with UL group, $^{2)}P$<0.05; compared with UL+RL group, $^{3)}P$<0.05.

2.2 骨组织形态计量学检测结果

CL 组 BV/TV 最高，降序排列依次为 UL+RL+PTH 组、UL+RL 组和 UL 组。CL 组显著高于 UL 组、UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)，UL 组显著低于 UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)；UL+RL 组显著低于 UL+RL+PTH 组(P<0.05)。结果见图 2。

CL 组 Tb.N 显著高于 UL 组、UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组(P<0.05)，UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组(P<0.05)，UL+RL+PTH 组与 UL+RL 组比

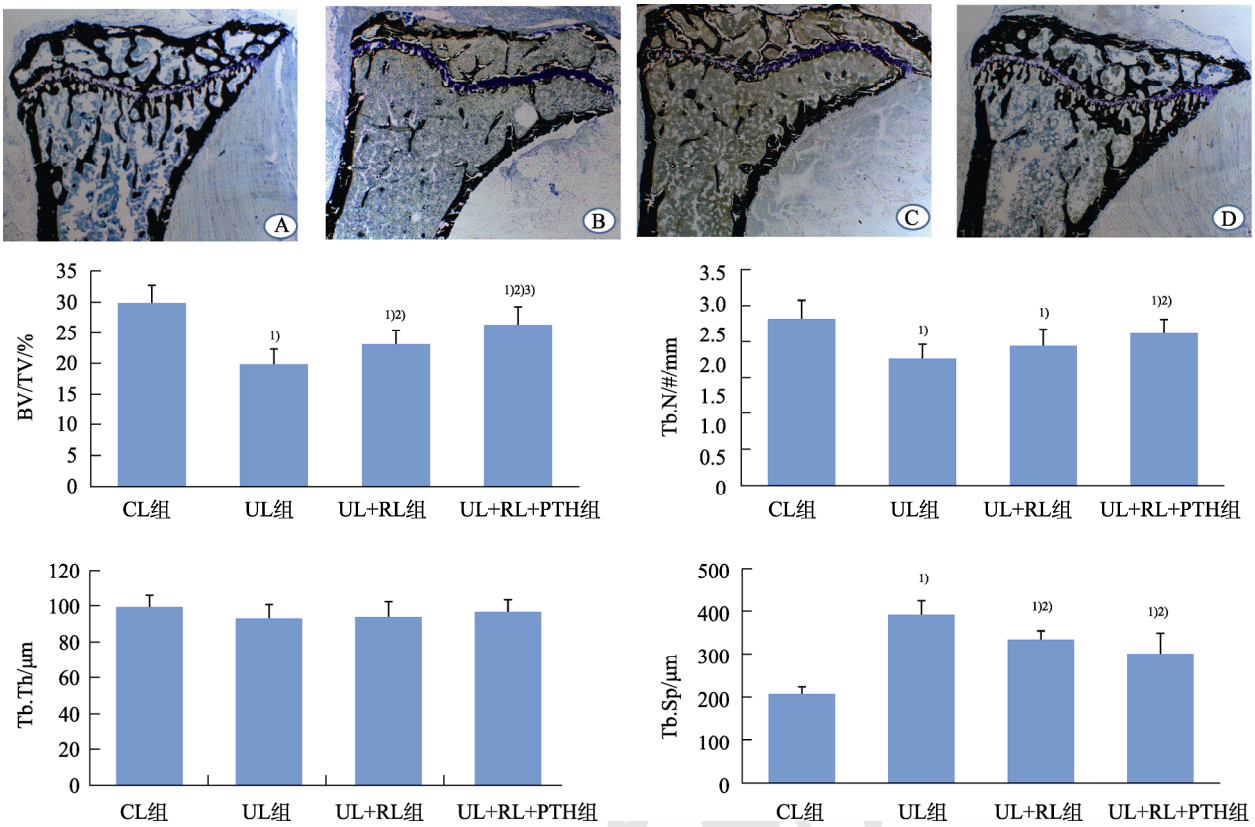

图 2 左侧胫骨 Von Kossa 染色(40×)及骨组织形态计量学结果

A–CL 组；B–UL 组；C–UL+RL 组；D–UL+RL+PTH 组。与 CL 组比较，[1]$P<0.05$；与 UL 组比较，[2]$P<0.05$；与 UL+RL 组比较，[3]$P<0.05$。

Fig. 2 Von Kossa staining(40×) and bone histomorphometric results of left tibia

A–CL group; B–UL group; C–UL+RL group; D–UL+RL+PTH group. Compared with CL group, [1]$P<0.05$; compared with UL group, [2]$P<0.05$; compared with UL+RL group, [3]$P<0.05$.

较，差异无统计学意义。

经统计学分析，Tb.Th 结果未发现任意 2 组间存在显著差异。

CL 组 Tb.Sp 显著低于 UL 组、UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组($P<0.05$)，UL+RL 组和 UL+RL+PTH 组均显著低于 UL 组($P<0.05$)；UL+RL 组与 UL+RL+PTH 组无显著差别。

2.3 生物力学检测结果

三点弯曲试验分析显示，最大载荷：UL 组显著低于其余 3 组($P<0.05$)，UL+RL 组显著低于 CL 组($P<0.05$)，其余各组间两两比较，无统计学差异；弹性模量：CL 组显著高于其余 3 组($P<0.05$)，UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组、UL+RL 组($P<0.05$)，UL 组和 UL+RL 组比较，差异无统计学意义。结果见图 3。

2.4 OCN 表达水平检测结果

经比较，各组 OCN mRNA 表达水平无统计学差异。结果见图 4。

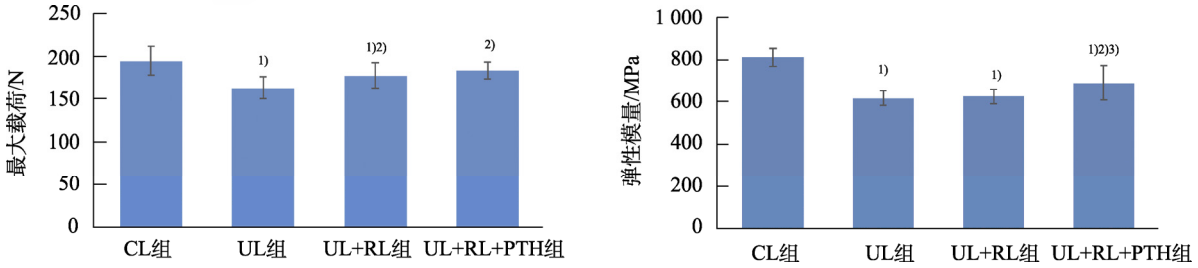

图 3 生物力学检测结果

与 CL 组比较，[1]$P<0.05$；与 UL 组比较，[2]$P<0.05$；与 UL+RL 组比较，[3]$P<0.05$。

Fig. 3 Results of biomechanical

Compared with CL group, [1]$P<0.05$; compared with UL group, [2]$P<0.05$; compared with UL+RL group, [3]$P<0.05$.

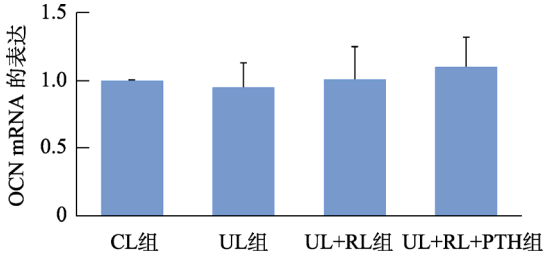

图 4 OCN mRNA 表达水平

Fig. 4 Expression level of OCN mRNA

Western blotting 检测 OCN 蛋白表达，经半定量分析发现，UL 组显著低于 CL 组(P<0.05)，UL+RL+PTH 组显著高于 UL 组(P<0.05)；其余各组间比较，未发现统计学差异。结果见图 5。

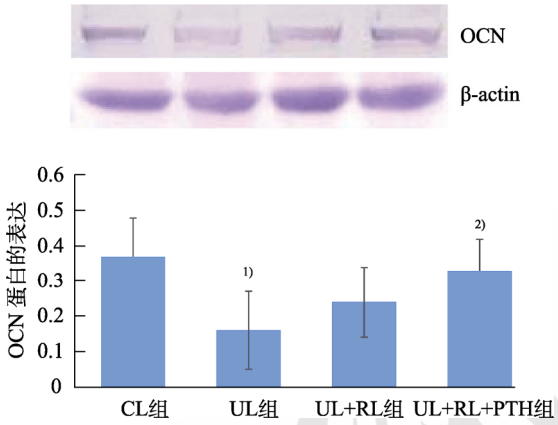

图 5 OCN 蛋白表达水平

与 CL 组比较，[1]P<0.05；与 UL 组比较，[2]P<0.05。

Fig. 5 Expression level of OCN protein

Compared with CL group, [1]P<0.05; compared with UL group, [2]P<0.05.

3 讨论

失重可造成骨丢失乃至骨质疏松，负重及适当应力刺激则可促进骨形成。失重与再负重均可影响成骨细胞和破骨细胞相关功能活性，进而改变骨骼的重建活性，最终表现为骨密度、微观结构、生物力学性能等的变化。本研究发现，尾悬吊造成大鼠后肢拟失重 4 周可导致骨量丢失、微观结构退变和生物力学性能的下降，以及骨组织中 OCN 含量的降低。失重再重新负重后，骨形成能力会逐渐恢复，骨吸收能力下降，因此，骨量得以逐渐缓慢恢复[15]。本研究中采用尾悬吊造成下肢离地，是目前应用较多的模拟失重诱发骨丢失的动物模型之一，研究证实，3 月龄或年轻大鼠尾悬吊后其骨丢失速度及重新负重后恢复速度都较快，而年龄更大的大鼠骨量的恢复所需时间更长[16]。课题组前期研究中采用辛伐他汀对 5 月龄大鼠进行干预，结果发现辛伐他汀不能显著促进失重后再重新正常负重大鼠骨量的恢复[17]。考虑到辛伐他汀口服给药对骨形成刺激较弱，本研究采用促骨形成作用更强的 PTH1-34 干预，发现该干预措施对该模型大鼠骨量的恢复具有积极的促进作用，但仍未达到正常对照组水平。

临床和基础研究中已经证实 PTH1-34 抗骨质疏松效果[9-11]，而且也有报道其对于骨折愈合包括骨质疏松性骨折的愈合具有一定的促进作用[12-14]。然而，PTH1-34 对于拟失重再负重大鼠骨量的恢复是否有促进作用尚未见报道。骨密度目前仍为诊断骨质疏松症的金标准，而且常用于相关动物实验结果的判定，本研究中 4 组大鼠骨密度 CL 组最高，UL 最低，UL+RL 组有所恢复，而 UL+RL+PTH 组大鼠骨密度高于 UL+RL 组，但仍低于 CL 组，提示一方面，尾悬吊大鼠重新负重后骨量会有所恢复，PTH1-34 干预后可加速这一进程，但截至实验结束时，仍未能恢复至正常水平。而对该模型胫骨松质骨的骨组织形态计量学分析，研究发现，PTH1-34 可显著提高 Tb.N 和 BV/TV，而生物力学检测进一步提示 UL+RL+PTH 组最大载荷与 CL 组无显著差别。以上结果均提示 PTH1-34 可以促进尾悬吊再负重大鼠骨量、微观结构和生物力学性能的恢复。

OCN 主要由成骨细胞分泌，是反映骨代谢状态的主要指标之一，主要作为分析骨形成能力的指标[18-24]。本研究从 mRNA 和蛋白 2 个水平分析了 OCN 的表达水平，结果发现，mRNA 表达水平在各组间并无显著差别，而持续尾悬吊大鼠(UL 组)的 OCN 蛋白水平的表达低于 CL 组和 UL+RL+PTH 干预组。先前有研究提示尾悬吊大鼠 8，14 d 股骨 OCN mRNA 表达水平低于 CL 组[25]，而另一项研究则发现为悬吊 4，7 d 时大鼠一型胶原和 OCN mRNA 表达水平降低，而 2 周时则恢复至正常水平[26]，研究结果的不同可能与动物年龄、取材部位的差别以及观测时间点不同有关，推测因应力缺失导致骨形成能力下降，包括 OCN 表达水平的降低，而随着骨量进一步丢失，可能会反馈性引起 OCN mRNA 水平的反弹，而在重新负重、PTH1-34 干预等多种因素影响之下，各组间并未表现出差异。而蛋白水平除受 mRNA 水平的影响外，还与蛋白-蛋白间相互作用等因素有关，OCN 蛋白水平在 UL 组大鼠最低，也与骨密度反映的结

果趋势一致，而 PTH1-34 对该模型骨量恢复的促进作用也可能与上调 OCN 蛋白水平有关，但具体机制尚有待进一步研究。

综上，本研究发现 PTH1-34 可以促进该模型大鼠骨量、微观结构、生物力学性能的恢复，并促进骨组织中 OCN 蛋白的表达，PTH1-34 可能对于失用性骨质疏松的治疗或恢复具有一定的促进作用，但尚有待进一步的临床试验证实。

REFERENCES

[1] WILLEMS H M E, VAN DEN HEUVEL E G H M, SCHOEMAKER R J W, et al. Diet and exercise: A match made in bone [J]. Curr Osteoporos Rep, 2017, 15(6): 555-563.

[2] LAU R Y C, GUO X. A review on current osteoporosis research: With special focus on disuse bone loss [J]. J Osteoporos, 2011, 2011: 293808.

[3] TAKATA S, YASUI N. Disuse osteoporosis [J]. J Med Invest, 2001, 48(3/4): 147-156.

[4] LEBLANC A, SCHNEIDER V, SHACKELFORD L, et al. Bone mineral and lean tissue loss after long duration space flight [J]. J Musculoskelet Neuronal Interactions, 2000, 1(2): 157-160.

[5] LANG T F, LEBLANC A D, EVANS H J, et al. Adaptation of the proximal femur to skeletal reloading after long-duration spaceflight [J]. J Bone Miner Res, 2006, 21(8): 1224-1230.

[6] SMITH S M, HEER M A, SHACKELFORD L C, et al. Benefits for bone from resistance exercise and nutrition in long-duration spaceflight: Evidence from biochemistry and densitometry [J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(9): 1896-1906.

[7] CAILLOT-AUGUSSEAU A, VICO L, HEER M, et al. Space flight is associated with rapid decreases of undercarboxylated osteocalcin and increases of markers of bone resorption without changes in their circadian variation: Observations in two cosmonauts [J]. Clin Chem, 2000, 46(8): 1136-1143.

[8] LANG T, LEBLANC A, EVANS H, et al. Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight [J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(6): 1006-1012.

[9] SONG J H, LI M, GAO J H, et al. Research advances in genetic engineering of recombinant human parathyroid hormone [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(2): 112-116.

[10] YUKATA K, XIE C, LI T F, et al. Teriparatide(human PTH1-34) compensates for impaired fracture healing in COX-2 deficient mice [J]. Bone, 2018, 110: 150-159.

[11] CASADODIAZ A, DORADO G, GINER M, et al. Proof of concept on functionality improvement of mesenchymal stem-cells, in postmenopausal osteoporotic women treated with teriparatide(PTH1-34), after suffering atypical fractures [J]. Calcif Tissue Int, 2019, 104(6): 631-640.

[12] ZHANG D F, POTTY A, VYAS P, et al. The role of recombinant PTH in human fracture healing [J]. J Orthop Trauma, 2014, 28(1): 57-62.

[13] WENG S J, XIE Z J, WU Z Y, et al. Effects of combined menaquinone-4 and PTH1-34 treatment on osetogenesis and angiogenesis in calvarial defect in osteopenic rats [J]. Endocrine, 2019, 63(2): 376-384.

[14] BERNHARDSSON M, ASPENBERG P. Abaloparatide versus teriparatide: A head to head comparison of effects on fracture healing in mouse models [J]. Acta Orthop, 2018, 89(6): 674-677.

[15] CUNNINGHAM H C, WEST D W D, BAEHR L M, et al. Age-dependent bone loss and recovery during hindlimb unloading and subsequent reloading in rats [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2018, 19(1): 1-11.

[16] BETTIS T, KIM B J, HAMRICK M W. Impact of muscle atrophy on bone metabolism and bone strength: Implications for muscle-bone crosstalk with aging and disuse [J]. Osteoporos Int, 2018, 29(8): 1713-1720.

[17] ZHOU P F, HU D, ZHANG Y, et al. Effect of simvastatin on bone mass recovery in rats with reloading after tail-suspension [J]. Chin J Comp Med(中国比较医学杂志), 2017, 27(4): 20-25.

[18] BAO Y, HUANG J M, JING X Z, et al. Icariin promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究), 2016, 20(24): 3501-3507.

[19] HUANG J J, SHI X L, DENG Z Y. Effect of Qianggu Yin combined with probiotics on osteoporotic fracture healing in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(7): 791-795.

[20] LIU D M, LU N, ZHAO L, et al. Serum Sema3A is in a weak positive association with bone formation marker osteocalcin but not related to bone mineral densities in postmenopausal women [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(12): E2504-E2509.

[21] SABER L M, MAHRAN H N F, BAGHDADI H H, et al. Interrelationship between bone turnover markers, calciotropic hormones and leptin in obese Saudi children [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(22): 4332-4343.

[22] JIANG J, LI J, JIA X B. The antiosteoporotic activity of central-icaritin(CIT) on bone metabolism of ovariectomized rats [J]. Mol Basel Switz, 2014, 19(11): 18690-18704.

[23] TAO K, XIAO D M, WENG J, et al. Berberine promotes bone marrow-derived mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via canonical Wnt/β-catenin signaling pathway [J]. Toxicol Lett, 2016, 240(1): 68-80.

[24] STRINGHETTA-GARCIA C T, SINGULANI M P, SANTOS L F, et al. The effects of strength training and raloxifene on bone health in aging ovariectomized rats [J]. Bone, 2016, 85: 45-54.

[25] ITO T, OHMORI S, KANDA K, et al. Changes in serum 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and mRNAs for osteocalcin and alkaline phosphatase in femur unloaded by tail suspension in rats [J]. Environ Med, 1994, 38(2): 103-106.

[26] DRISSI H, LOMRI A, LASMOLES F, et al. Skeletal unloading induces biphasic changes in insulin-like growth factor-I mRNA levels and osteoblast activity [J]. Exp Cell Res, 1999, 251(2): 275-284.

收稿日期：2019-08-06

(本文责编：沈倩)