

OPG/RANKL/RANK系统与 骨质疏松症关系的研究进展

李喆¹, 曹寅生²

(1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208;

2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙, 410007)

[关键词] 骨质疏松症; RANKL; RANK; 综述; 学术性

[中图分类号] R274.91 [文献标识码] A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.08.097

骨组织是一种拥有复杂结构的组织, 人体通过多种机制来调节其代谢, 而骨质疏松症 (Osteoporosis, OP) 是一种常见的系统性代谢性骨病, 骨质流失, 骨组织微结构损伤为其主要特征。骨组织微结构的完整性损伤, 连续性降低, 会导致骨强度降低, 脆性增加, 易发生骨折^[1]。正常成人的成骨细胞 (Osteoblast, OB) 中的骨矿物质沉积与破骨细胞 (Osteoclast, OC) 的骨吸收平衡。在非正常生理状态下, 相对于旧骨的吸收而言新骨的形成明显不足, 导致骨量丢失, 从而形成骨质疏松^[2]。据美国的一项最新调查显示, 目前全球范围内骨质疏松症人群已超过 10.2 亿, 预计到 2030 年该数字将上升到 13.6 亿^[3]。而根据我国的一项最新调查, 2016 年以 -2.0 SD 为诊断标准的研究发现, 全国范围内 40 岁以上人群骨质疏松症发病率为 24.62%, 约 1.4 亿患者群^[4]。而随着社会人口的老龄化, 骨质疏松症的发病人数将会进一步上升。国际上通常标准是, 当一个国家或地区 60 岁以上老年人口占人口总数的 10%, 或 65 岁以上老年人口占人口总数的 7%, 即意味着这个国家或地区处于老龄化社会。而我国早在 2000 年第 5 次人口普查时, 60 岁以上人口已达 1.3 亿人, 占总人口 10.2%, 65 岁以上老年人口达 8811 万人, 占总人口 6.96%, 按国际标准已经进入了老龄化社会。而截止至 2015 年的最新权威人口数据显示, 中国的人口总数已达到 13.75 亿人, 其中 60 岁及以上人口 2.1 亿人, 占总人口的 15.5%, 65 岁及以上人口 13755 万人, 占总人口的 10.1%^[5]。伴随着日益加剧的人口老龄化形势, 骨质疏松症在我国已成为非常普遍的慢性病, 急需引起社会和医学界的高度重视, 因而针对骨质疏松症, 对人体骨组织代谢平衡因子的研究也就变得尤为重要。近年来, 分子生物学对骨质疏松症进行了深入的研究, 取得了很大的突破^[6]。研究表明, 骨保护素 (Osteoprotegerin, OPG), 核因子- κ B 受体活化因子配体 (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand, RANKL) 和核因子- κ B 受体活化因子 (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B, RANK) 对骨代谢的调节起重要作用, 并在各种骨代谢疾病, 包括骨质疏松症的形成

和进展中发挥重要作用^[7]。

1 OPG/RANKL/RANK 系统的概述

1.1 OPG 骨保护素发现于细胞序列存在于胎儿小肠的 cDNA 文库中, 其蛋白表达是一种分泌性可溶性蛋白, 可以增加骨密度, 因其可显著抑制破骨细胞形成^[8]。人 OPG 由包括 D1-D7 7 个结构域的 401 个氨基酸组成, 其中 D1-D4 是结构的生理功能部分, 抑制破骨细胞分化和骨吸收活性^[9]。而 OPG 首先在细胞以单体形式形成, 其次以二聚体分泌到细胞外, 其 D7 结构域与二聚体形成相关并且可以把它固定在细胞膜上, 二聚体活性更高, 降血钙的性能更强。人 OPG 基因具有 3 个转录位点, 在骨组织及其他组织中的都有 mRNA 表达, 而包括成骨细胞, 骨髓基质细胞在内的多种细胞可分泌 OPG 蛋白^[10]。OPG 与 RANKL 结合, 对其功能受体 RANK 形成阻断性竞争, 其接近成骨细胞诱导的破骨前体细胞分化和融合, 调节破骨细胞形成、分化、成熟和凋亡^[11]。有临床研究表明重组 OPG 治疗可以用于由 OPG 缺乏引起的可逆性严重骨质疏松症^[12]。通过实验发现卵巢切除的雌性小鼠是否给予 OPG 与其骨小梁的量显着相关, 卵巢切除术后并未给予 OPG 的雌性小鼠有较少的小梁骨, 而给予 OPG 后骨小梁增多明显, 表明 OPG 可抑制骨吸收和预防骨丢失^[13]。

1.2 RANKL 核因子- κ B 受体活化因子配体是用骨保护素为标志物检测成骨细胞或基质细胞以表达骨保护蛋白配体蛋白与先前鉴定的肿瘤坏死因子配体超家族成员肿瘤坏死因子相关活化诱导细胞因子 (Tumor Necrosis Factor-related Activation-induced Cytokine, TRANCE) 和 RANKL 的 2 个成员是相同的物质^[14]。人 RANKL 的分子包含的氨基酸个数为 317, 总共有 3 种亚型, 其中 RANKL3 为分泌蛋白而 RANKL1、RANKL2 为跨膜蛋白, 其中 RANKL1 是最广泛存在的。RANKL mRNA 主要在单核细胞/巨噬细胞, 成骨细胞, 骨髓干细胞和 T、B 淋巴细胞中表达, 其在骨髓和骨组织中最多表达, 并且也在淋巴组织中表达。RANKL 蛋白可以在成骨细胞, 骨髓基质细胞和活化的 T 细胞上表达^[15]。RANKL 蛋白是维持破骨细胞功能及促进其分化的关键因素, 其功能是可使成熟破骨细胞的活力提高, 破骨细胞的分

基金项目: 湖南省教育厅资助项目 (编号: 14C0864)

第一作者: 李喆, 男, 2010 级本硕连读研究生, 研究方向: 创伤及骨与关节疾病的诊疗

通讯作者: 曹寅生, 男, 医学博士, 副主任医师, 研究方向: 创伤及骨与关节疾病的诊疗, E-mail: 573503083@qq.com

化被促进,同时使破骨细胞凋亡被延缓。RANKL 蛋白是对于破骨细胞的分化、成熟和骨吸收的产生最后下游效应的细胞因子^[16]。实验研究表明,大鼠的 RANKL 表达过多,会使骨组织增加骨吸收,增加骨脆性,从而产生骨组织的矿物质密度降低和其它骨质疏松症的表现^[17]。

1.3 RANK 核因子- κ B 受体活化因子是在分析树突状细胞的 cDNA 序列时发现的,属于肿瘤坏死因子受体家族,人 RANK 蛋白含有 616 个氨基酸,是一种 I 型跨膜蛋白,是调控破骨细胞分化、成熟、活化的关键性受体^[18]。RANK 蛋白的功能是和破骨细胞及其前体细胞表面的 RANKL 结合,从而起到对破骨细胞凋亡起阻止的作用,同时对破骨细胞分化及成熟起到促进作用。其在体内主要以两种形式存在,其中一种是可溶性 RANK 蛋白,在血液中存在,主要发挥阻断 RANKL 的促进破骨细胞分化、生长功能的作用;而第 2 种是跨膜蛋白型 RANK 蛋白,其存在于破骨细胞表面,选择性结合 RANKL,完成促进骨吸收的作用^[19]。实验研究表明,敲除了 RANK 蛋白表达基因的小鼠,会显著缺失破骨细胞的数量,随着生长会形成石骨病。而临床研究表明,RANK 基因过度表达会表现为 Paget 病,这主要是因为破骨细胞的数量会出现显著增加,而破骨细胞的迁移能力也会同时显著增强,从而使骨吸收的速度大大加快^[20]。

1.4 OPG/RANKL/RANK 系统 OPG/RANKL/RANK 系统在调节成骨细胞和破骨细胞的动态平衡和预防骨损失以确保正常的骨再生中起重要作用。骨刺激因子不直接刺激破骨细胞,而是成骨细胞接受骨吸收的刺激因子后分泌 RANKL,RANKL 和巨噬细胞集落刺激因子(Macrophage Colony-stimulating Factor,M-CSF)与破骨前体细胞表面受体 RANK 和巨噬细胞集落刺激因子受体(Macrophage Colony-stimulating Factor Receptor,M-CSFR)组合^[21]。细胞内 RANK 特异性位点结构域与破骨细胞中的肿瘤坏死因子受体相关蛋白(Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor,TRAF)结合,TRAF6 结合到链反应,导致破骨细胞下游信号传导^[22]。根据最新的研究显示其可能有以下传导途径:(1) RANK 与 TRAF6 结合之后,核转录因子 κ B(Nuclear Factor Kappa B,NF- κ B)诱导激酶被激活,NF- κ B 复合物进入到细胞核内,促使细胞核内的即刻早期基因(Immediate-early Gene,IEG,又称为 c-Fox)表达增多,然后和活化的 T 细胞核因子结合,诱导破骨细胞基因转录,使破骨细胞达到成熟,这被称为 NF- κ B 途径^[23]。(2) RANK 与 TRAF6 结合后激活细胞外信号调节激酶(Extracellular Signal-regulated kinase,ERK)、丝裂原活化蛋白激酶(MKK)、c-Jun 氨基末端激酶(C-Jun N-terminal Kinase,JNK),活化的 JNK 诱导 c-Jun/Fos 活化蛋白-1(AP-1)活化,使 c-Jun 磷酸化,c-Fox 表达增加,使破骨前体细胞功能活跃,分化生成破骨细胞,这种途径被称为 JNK 途径^[24]。(3) RANK 与 TRAF6 结合,激活磷脂酰肌醇,活化蛋白激酶 B(Protein Kinase B,PKB,又称为 Akt),参与 NF- κ B 活化,促进破骨细胞成熟,这被称为 Akt 途径^[25]。(4) 还有被称为钙调磷酸酶/活化 T 细胞核因子(Calcineurin/nuclear Factor of Activated T

Cells,CN/NFATc1)通路,NFAT 被 CN 活化后,进入到细胞核内,然后参与到破骨细胞基因表达的过程中来^[26]。通过上述多种途径,RANKL 最终促使破骨细胞分化与成熟。而 OPG 的组合比 RANK 强,并且 RANKL 与 RANK 结合的有效竞争性抑制阻断信号从成骨细胞向破骨细胞的传递,从而抑制破骨细胞分化和成熟,并加速破骨细胞凋亡^[27]。总之,OPG/RANKL/RANK 系统的动态平衡将影响正常的骨稳定和骨重建。

2 OPG/RANKL/RANK 系统与骨质疏松症的关系

2.1 绝经后骨质疏松症 绝经后骨质疏松症是因为女性骨吸收因子分泌和破骨细胞分化增加,破骨活动增加,骨量丢失严重,根本原因还是因为女性绝经后卵巢合成雌激素显著减少。雌激素可以维持骨密度,是因其可以抑制骨形成和吸收之间代谢的转化^[28]。雌激素分为雌激素受体 α 和雌激素受体 β 两种亚型,成骨细胞和破骨细胞存在于雌激素受体中。雌激素和雌激素受体结合可以抑制蛋白水解酶的产生从而抑制骨吸收。研究表明雌激素直接刺激成骨细胞,抑制破骨细胞的作用,即雌激素分泌减少则骨吸收亢进,骨形成抑制,因为雌激素分泌减少会使 M-CSF,RANKL 表达增加,破骨细胞分化和成熟增加,活性延迟下降,从而直接增加骨丢失,骨骼变薄,间隙增加^[29]。实验研究发现,RANKLmRNA 在卵巢切除的雌性大鼠中在第 4 周达到峰值,并且蛋白质在第 6 周达到峰值并保持在高水平。OPGmRNA 在卵巢切除的雌性大鼠中第 4 周达到峰值,并且其蛋白质在第 2 周达到最高水平,然后渐渐下降。切除卵巢的雌性大鼠的骨吸收中,骨髓细胞主要由 RANKL 表达,OPG/RANKL 的比例降低,导致成骨细胞转化成破骨细胞,破骨细胞活性增加,骨吸收增加,形成骨质疏松^[30]。此外,临床试验显示,在激素治疗后绝经后骨质疏松患者中 OPG/RANKL/RANK 水平改变,RANKL 表达与雌激素水平程度相逆,而同骨吸收趋势相同^[31]。

2.2 老年性骨质疏松症 人类年龄的增长,会使体内 RANKLmRNA 表达增高和 OPGmRNA 表达降低,这有可能是老年性骨质疏松症的重要原因。研究发现,骨质疏松症的发生与遗传基因密切相关,OPG 基因启动子区 T950C 基因座的多态性与老年人骨质疏松症的发生有关^[32]。实验研究表明,年轻大鼠比中老年大鼠 OPGmRNA 水平稍高,而 RANKLmRNA 水平低 2.1~4.4 倍。而老年大鼠的骨量比中老年大鼠的骨质量低 52%,中老年大鼠的骨量比青年大鼠低 20%^[33]。另外老年性骨质疏松症也与激素水平有关,老年女性的骨质疏松症除之前已经提到过的雌激素水平降低之外,也与一些非雌激素有关。同时老年男性的骨密度与骨强度下降也同雄激素水平关系密切,可能的机制包括:(1) 雄激素直接与成骨细胞雄激素受体结合,刺激相关基因的表达。(2) 雄激素刺激骨微环境,进而影响某些活性因子,从而影响 OPG 表达。在体外培养的小鼠细胞中,雄激素使 OPG 上调促进成骨细胞表达^[34]。在人体试验中,5- α -双氢睾酮导致 OPGmRNA 和蛋白血清水平明显下降。这可能与雄激素可以在芳香化酶的作用下转化为雌激素有关,

当雄激素转化为雌激素后可促进 OPG 的分泌,但当芳香化酶被抑制,雄激素直接与受体结合则会下调 OPGmRNA 的表达^[35]。尽管雄激素对 OPG/RANKL/RANK 系统的作用仍然存在争议,但其在调节破骨细胞功能中的确起到重要作用。

2.3 废用性骨质疏松症 根据 Wolff 定律,外力的变化可引起骨小梁微结构的相应变化,因此认为废用性骨质疏松与缺乏机械外力密切相关。长期卧床休息,制动或长期在太空中处于失重状态可以导致骨质量和骨强度的明显降低,骨骼显微组织退化导致骨质脆性增加,容易骨折。因为骨骼和骨小梁的方向和外力的作用在协调的方向上,所以身体运动可以增加骨量,制动和微重力会减少骨量。研究表明,机械应激可以减少 RANKL 的表达,从而使骨损失增加。实验研究表明,OPG 可以抑制与制动相关的骨量的损失^[36]。

3 OPG/RANKL/RANK 系统在骨质疏松症治疗方面应用的前景

OPG/RANKL/RANK 系统的发现及其在骨质疏松症发病机理中的作用为开发用于预防和治疗骨质疏松症的新药开辟了新的途径。例如 OPG, RANK - Fc, 抗 RANKL 抗体是用于预防和治疗骨质疏松症的理想靶标,而外源 OPG 抗体, RANKL 抗体, RANK - Fc 及 Fc - OPG 融合蛋白和其他拮抗剂可以有效抑制 RANKL 对破骨细胞的作用^[37]。

外源 OPG 可抑制许多刺激破骨细胞的因子,抑制动物和各种骨质疏松症模型中的骨吸收。实验研究了重组 OPG 对人类骨代谢的影响,发现重组 OPG 以剂量依赖性方式抑制绝经后女性的骨吸收。OPG 单体的半衰期更长,对二聚体 RANKL 的亲合力更强。为了增强天然 OPG 的药理活性,已经设计了许多新的药物结构。例如重组人骨保护素 Fc 融合蛋白,其中 DDH 区,肝素结合区和信号肽都被去除,并且 TNF - R 区的 C 末端或 N 末端的剩余肽片段被融合与人免疫球蛋白 G1 的 Fc 区段连接。所得 OPG 重组体允许保留天然 OPG 的二聚体形式,并具有更长的半衰期,这种 OPG 重组称为 Fc - OPG。Fc - OPG 皮下施用于健康的绝经后女性,导致骨吸收指数的剂量依赖性降低,在注射尿 I 型胶原氨基末端肽后 12h 降低,在最大剂量 (3.0mg/kg) 下降了 80%。如果 OPG 活性区的 N 末端与 Fc 结合,称为 OPG - Fc,其具有比 Fc - OPG 更长的半衰期,将 OPG - Fc 注射到具有升高的骨转换的多发性骨髓瘤和乳腺癌相关的患者,其尿 I 型胶原氨基末端肽减少 60% 和 80%,其作用与帕米膦酸相似^[38]。

另外,Amgen 团队开发了狄诺塞麦 (Denosumab), 一种人 RANKL 的完整单克隆抗体,其对 RANKL 拥有高度的亲合力,并且与天然 OPG 起到类似的作用。狄诺塞麦对比 2 种重组人骨保护素 Fc 融合蛋白的优点是半衰期显著增加,并且启动免疫应答的机会低^[39]。Mc Clung 等观察皮下注射狄诺塞麦的安全性和功效,将具有低骨量的 412 名绝经后女性随机化以每 3 个月分别注射狄诺塞麦 (6、14 或 30mg) 或者每 6 个月注射狄诺塞麦 (14、60、100 或 210mg)。实验结果表明,将狄诺塞麦应用于低骨密度的绝经后女性后,降低了骨的再吸收而升高了骨密度,并且未见明显的不良

反应^[40]。但由于 OPG/RANKL/RANK 系统除了在体内调控骨的重建,还参与调控免疫系统和其他未知领域,因此应用狄诺塞麦的长期安全性还有待观察。

4 小结与展望

针对 OPG/RANKL/RANK 系统的各种实验及临床研究结果说明了 OPG/RANKL/RANK 系统可影响破骨细胞的功能,OPG 的增加可抑制破骨细胞的分化,而 RANK 的增加则会促使破骨细胞的增殖分化,且两者都通过与 RANK 结合后发挥相应生物学效应。OPG/RANKL 比率的改变可以直接影响破骨细胞的增殖、分化,进而对骨代谢产生重要影响,而这种影响是通过多种途径完成的。OPG/RANKL/RANK 系统对骨质疏松症发生、发展影响的基本机制,也已经为各种用于治疗骨质疏松症的手段开辟了广泛的范围。了解 OPG/RANKL/RANK 系统的调节机制有助于治疗骨质疏松症和开发更多新药物,而对此已有许多学者进行了探索与努力,这些探索与努力为骨质疏松症的预防与治疗带来了新的希望,但关于 OPG/RANKL/RANK 系统和骨质疏松症,无论是相关的基础研究还是相关的实验及临床研究都仍有广阔的未知领域需要我们继续深入探索。

参考文献

- [1] Francisco JA, De Paula, Dennis M, et al. Rosen. Osteoporosis and Bone Biology [M]. Elsevier Inc, 2016.
- [2] Wu JL, Tsai WY, Chen JH, et al. Dextromethorphan upregulates osteoblast and osteoclast activity but does not attenuate ovariectomy - induced osteoporosis [J]. Life Sciences, 2017, 173 (3): 145 - 149.
- [3] Bonafede M, Shi N, Barron R, et al. Predicting imminent risk for fracture in patients aged 50 or older with osteoporosis using US claims data [J]. Archives of Osteoporosis, 2016, 11 (1): 26 - 30.
- [4] 张智海, 张智若, 刘忠厚, 等. 中国大陆地区以 - 2.0SD 为诊断标准的骨质疏松症发病率文献回顾性研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22 (1): 1 - 8.
- [5] 国家统计局人口和就业统计司. 中国人口和就业统计年鉴 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2016.
- [6] Oheim R, Simon MJ, Steiner M, et al. Sheep model for osteoporosis: The effects of peripheral hormone therapy on centrally induced systemic bone loss in an osteoporotic sheep model [J]. Injury, 2017, 48 (4): 841 - 848.
- [7] Wolski H, Drews K, Bogacz A, et al. The RANKL/RANK/OPG signal trail: significance of genetic polymorphisms in the etiology of postmenopausal osteoporosis [J]. Ginekologia Polska, 2016, 87 (5): 347 - 352.
- [8] Xue JB, Zhan XL, Wang WJ, et al. OPG rs2073617 polymorphism is associated with upregulated OPG protein expression and an increased risk of intervertebral disc degeneration [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2016, 12 (2): 702 - 710.
- [9] Duan P, Tu P, Si L, et al. Gene Polymorphisms in the RANKL/RANK/OPG Pathway Are Associated with Type 2 Diabetes Mellitus in Southern Han Chinese Women [J]. Genetic Testing and Molecular Biomarkers, 2016, 20 (6): 285 - 290.
- [10] Luigi C, Gaia P, Elena C, et al. Alveolar socket preservation technique: Effect of biomaterial on bone regenerative pattern [J]. Annals

- of Anatomy, 2016(206):73-79.
- [11] Xu S, Zhang Y, Liu B, et al. Activation of mTORC1 in B Lymphocytes Promotes Osteoclast Formation via Regulation of β -Catenin and RANKL/OPG[J]. Journal of bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research, 2016, 31(7):1320-1333.
 - [12] Pan ZQ, Zhang XR, Shangguan YF, et al. Suppressed osteoclast differentiation at the chondro-osseous junction mediates endochondral ossification retardation in long bones of Wistar fetal rats with prenatal ethanol exposure[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2016, 305(3):234-241.
 - [13] Zhou QL, Qin RZ, Yang YX, et al. Polydatin possesses notable anti-osteoporotic activity via regulation of OPG, RANKL and β catenin[J]. Molecular Medicine Reports, 2016, 14(2):1865-1869.
 - [14] Delion M, Braux JR, Jourdain ML, et al. Overexpression of RANKL in osteoblasts; a possible mechanism of susceptibility to bone disease in cystic fibrosis[J]. The Journal of Pathology, 2016, 240(1):50-60.
 - [15] Piemontese M, Xiong J, Fujiwara Y, et al. Cortical bone loss caused by glucocorticoid excess requires RANKL production by osteocytes and is associated with reduced OPG expression in mice[J]. American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism, 2016, 311(3):587-593.
 - [16] Liu Y, Ge JP, Chen DY, et al. Osteoprotegerin deficiency leads to deformation of the articular cartilage in femoral head[J]. Journal of Molecular Histology, 2016, 47(5):1516-1522.
 - [17] Liu Y, Du HM, Wang YF, et al. Osteoprotegerin - Knockout Mice Developed Early Onset Root Resorption[J]. Journal of Endodontics, 2016, 42(10):475-483.
 - [18] Xu F, Dong YH, Huang X, et al. Pioglitazone affects the OPG/RANKL/RANK system and increase osteoclastogenesis[J]. Molecular Medicine Reports, 2016, 14(3):2289-2296.
 - [19] Zeng JZ, Ma LF, Meng H, et al. (5R)-5-hydroxytryptolide (LLDT-8) prevents collagen-induced arthritis through OPG/RANK/RANKL signaling in a rat model of rheumatoid arthritis[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2016, 12(5):3101-3106.
 - [20] Li YZ, Wang Y, Yongchang Guo, et al. OPG and RANKL polymorphisms are associated with alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head in the north area of China population in men[J]. Medicine, 2016, 95(25):3981-3981.
 - [21] Siar CH, Tsujigiwa H, Ishak I, et al. RANK, RANKL, and OPG in recurrent solid/multicystic ameloblastoma: their distribution patterns and biologic significance[J]. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol and Oral Radiol, 2015, 119(1):83-91.
 - [22] 杨国曦, 朱庆生. 杨重飞 TRPV4 离子通道在 RANKL 诱导的破骨细胞分化中的作用[J]. 中国骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2015(4):352-357.
 - [23] Lu JC, Liu F, Liu DM, et al. Amlodipine and atorvastatin improved hypertensive cardiac hypertrophy through regulation of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/receptor activator of nuclear factor kappa B/osteoprotegerin system in spontaneous hypertension rats[J]. Experimental biology & Medicine, 2016, 241(11):1237-1249.
 - [24] Sun J, Sun B, Wang W, et al. Histochemical examination of the effects of high-dose 1,25(OH)₂D₃ on bone remodeling in young growing rats[J]. Journal of Molecular Histology, 2016, 47(4):389-399.
 - [25] Xiong MY, Liu LQ, Liu SQ, et al. Effects of osteoprotegerin, RANK and RANKL on bone destruction and collapse in avascular necrosis femoral head[J]. American Journal of Translational Research, 2016, 8(7):963-968.
 - [26] Sigl V, Penninger JM. RANK and RANKL of Bones, T Cells, and the Mammary Glands[M]. Osteoimmunology, 2016.
 - [27] Ibrahim T, Ricci M, Scarpi E, et al. RANKL: A promising circulating marker for bone metastasis response[J]. Oncology Letters, 2016, 12(4):2970-2975.
 - [28] Nguyen HT, Von Schoultz B, Nguyen TV, et al. Sex hormone levels as determinants of bone mineral density and osteoporosis in Vietnamese women and men[J]. J Bone Miner Metab, 2015, 33(6):658-665.
 - [29] Marini H, Minutoli L, Polito F, et al. OPG and sRANKL serum concentrations in osteopenic, postmenopausal women after 2-year genistein administration[J]. J Bone Miner Res, 2008, 23(5):715-720.
 - [30] Melville KM, Kelly NH, Khan SA, et al. Female mice lacking estrogen receptor- α in osteoblasts have compromised bone mass and strength[J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(2):370-379.
 - [31] Chen C, Cheng P, Xie H, et al. MiR-503 regulates osteoclastogenesis via targeting RANK[J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(2):338-347.
 - [32] 张川, 李孝鹏, 符晓聪, 等. 雄激素对外成骨细胞 OPG 及其配体基因表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2001, 13(2):77-80.
 - [33] Shimizu M, Noda H, Joyashiki E, et al. The optimal duration of PTH(1-34) infusion is one hour per day to increase bone mass in rats[J]. Biol Pharm Bull, 2016, 39(4):625-630.
 - [34] Hayashida C, Ito J, Nakayachi M, et al. Osteocytes produce interferon- β as a negative regulator of osteoclastogenesis[J]. J Biol Chem, 2014, 289(16):11545-11555.
 - [35] Yu Bo, Wang Cun-Yu. Osteoporosis: The Result of an 'Aged' Bone Microenvironment[J]. Trends in molecular medicine, 2016, 22(8):641-644.
 - [36] 樊春亮. 废用性骨质疏松后神经递质 SP 含量变化对 OPG、RANKL 表达的影响[D]. 太原: 山西医科大学, 2007.
 - [37] 沈业彤, 张学斌, 吴丽红, 等. 重组人骨保护素 Fc 融合蛋白对骨质疏松性骨折早期愈合的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(10):2327-2329.
 - [38] Stuss M, Sewerynek E, Król I, et al. Assessment of OPG, RANKL, bone turnover markers serum levels and BMD after treatment with Strontium ranelate and ibandronate in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. Endokrynol Pol, 2016, 67(2):174-184.
 - [39] Lasco A, Morabito N, Basile G, et al. Denosumab inhibition of RANKL and insulin resistance in postmenopausal women with osteoporosis[J]. Calcif Tissue Int, 2016, 98(2):123-128.
 - [40] Zebaze R, Libanati C, Mcclung MR, et al. Denosumab reduces cortical porosity of the proximal femoral shaft in postmenopausal women with osteoporosis[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(10):1827-1834.