

## 研究论文

# 胰岛素信号通路相关因子在2型糖尿病合并骨质疏松大鼠肝组织的表达

李宝新 张莉莉 钱冰 王慧 刘岩 王燕 李玉坤\*

(河北医科大学第三医院内分泌二科, 石家庄 050051)

**摘要** 通过高糖高脂饲料联合小剂量链脲佐菌素和去卵巢手术制备2型糖尿病合并骨质疏松大鼠模型, 探讨2型糖尿病合并骨质疏松大鼠肝组织胰岛素信号通路相关因子的表达及意义。结果表明: 随着时间延长, 2型糖尿病合并骨质疏松组(DOVX组)肝组织IGF-1、IRS-1较其他组mRNA及蛋白表达减少, 单纯去卵巢组(NOVX组)IGF-1、IRS-1 mRNA及蛋白表达较假手术对照组(NS组)降低; 糖尿病组(DS组)IRS-2较NS组mRNA及蛋白表达下降, 但NOVX组与NS组IRS-2 mRNA及蛋白表达比较无明显差别。以上结果表明, 2型糖尿病合并骨质疏松的发生可能与肝脏胰岛素信号通路受抑制有关。

**关键词** 2型糖尿病; 骨质疏松; 胰岛素信号通路; 肝脏

2型糖尿病和骨质疏松症是全身性两大代谢性疾病, 随着人口老龄化和生活方式转变, 二者发病率逐年上升。目前针对2型糖尿病如何影响骨质疏松的机制不明, 且二者是否存在共同的发病机理尚无明确报道。胰岛素信号通路在2型糖尿病及胰岛素抵抗发生中起重要作用, 研究发现通路中某些因子同样对骨质疏松的发生及骨量丢失有影响, 而肝脏作为胰岛素抵抗的重要靶器官, 能够合成表达通路中相关信号因子。本研究旨在探讨肝脏胰岛素信号通路因子表达的改变是否对2型糖尿病合并骨质疏松的发生有影响。

## 1 材料与方

### 1.1 主要仪器和试剂

链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ, Sigma公司), 胰岛素生长因子-1 (insulin growth factor-1, IGF-1, 兔多抗, 北京中杉金桥生物技术有限公司), 胰岛素受体底物-1, -2 (insulin receptor substrate-1, -2, IRS-1、IRS-2, 兔多抗, 北京博奥森生物技术有限公司), 总RNA提取试剂盒(Trizol, 北京赛百盛基因技术有限公司), 引物合成(上海捷瑞生物工程有限公司), 反转录体系(Promega公司), 扩增体系(GoTaq Green Master mix, Promega公司), 荧光分光光度计(日本岛津公司), 梯度基因扩增仪(美国MJ公司), 凝胶成像系统(法国Vilber Lourmat公司), 双能X

线吸收测定仪(DEXA, 型号osteocore3, 法国Medilink公司)。

### 1.2 模型制备

将100只2.5~3月龄健康雌性Wistar大鼠(购自河北医科大学动物实验中心, 合格证编号905105)适应性喂养1周后随机分为假手术组(NS组) 24只, 去卵巢组(NOVX组) 26只、2型糖尿病假手术组(DS组) 24只、2型糖尿病去卵巢组(DOVX组) 26只, 各组间大鼠体重无显著差异。实验期间NS组和NOVX组喂以常规饲料, DS组和DOVX组大鼠高糖高脂饲料(常规饲料中加入20%蔗糖、15%熟猪油、2.5%胆固醇)喂养8周, 禁食12 h后左下腹腔给予STZ (0.1 mmol/L, 柠檬酸钠配制, pH4.2) 30 mg/kg注射。于实验第9周末选取尾静脉空腹血糖 $\geq 7.8$  mmol/L且伴有胰岛素抵抗者作为T2DM动物模型。T2DM动物模型复制成功1周后, DOVX组和NOVX组用10%水合氯醛3~4 mL/kg腹腔注射麻醉后大鼠取俯卧位, 在背部中下1/3处剪毛, 无菌条件下沿背部正中线向下纵行逐层切开, 摘除双侧卵巢, 逐层缝合, 假手术组仅切除部分脂肪。

### 1.3 指标测定

大鼠禁食过夜, 尾静脉采血, 罗氏血糖仪测定

收稿日期: 2011-06-02 接受日期: 2011-07-06

河北省自然科学基金(No.C2009001179)资助项目

\*通讯作者。Tel: 0311-87892181, E-mail: liyukun@medmail.com.cn

空腹血糖(fasting blood glucose, FBG), 放射免疫分析法检测空腹胰岛素(fasting insulin, FINS), 并用 $\ln[1/(FBG \times FINS)]$ 计算胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)。ELISA方法检测雌激素水平, DEXA小动物软件检测大鼠腰椎3~6的骨密度(bone mineral density, BMD)。

#### 1.4 HE及免疫组化染色

固定标本石蜡包埋切片后, 常规染色观察肝组织病理变化; 免疫组化采用SP法: 石蜡切片脱蜡水化, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>甲醇溶液室温孵育10 min, 柠檬酸缓冲液高压修复10 min, 室温冷却30 min。IGF-1 (1:100)、IRS-1 (1:200)、IRS-2 (1:100)稀释, 4 °C冰箱孵育过夜, 滴加大鼠抗兔二抗及辣根酶标记物各10 min, DAB显色。阴性对照用PBS替代一抗。结果判定: 以细胞浆内出现棕黄色颗粒者为阳性, 免疫组化化学评分(IHS)参照文献[1]。结合阳性细胞百分比及阳性细胞染色强弱两个方面进行评分: a为阳性细胞百分比(无阳性细胞计0分, 阳性细胞占1%~10%计1分, 11%~50%计2分, 51%~80%计3分, 81%~100%计4分), b为阳性细胞染色强弱(阴性计0分, 弱阳性计1分, 中度阳性计2分, 强阳性计3分), a、b两项乘积即为IHS评分。

表1 各组大鼠2型糖尿病成模时空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素敏感指数比较

Table 1 The comparisons of FBG, FINS, ISI in each group when diabetic model succeed

分组	只数	体重(克)	空腹血糖	空腹胰岛素	胰岛素敏感指数
Groups	N	Weight (g)	FBG (mmol/L)	FINS (U/L)	ISI
NS	23	0.233±0.024	4.39±0.57	20.76±8.31	-4.51±0.92
NOVX	26	0.238±0.029	5.01±1.03	21.99±9.25	-4.72±0.65
DS	22	0.251±0.031 <sup>#</sup>	12.47±5.61 <sup>#§</sup>	81.53±9.35 <sup>#§</sup>	-7.01±1.21 <sup>#§</sup>
DOVX	24	0.254±0.037 <sup>#</sup>	13.14±4.88 <sup>#§</sup>	79.80±7.23 <sup>#§</sup>	-7.01±0.98 <sup>#§</sup>

与NS组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与NOVX组比较, <sup>§</sup> $P < 0.05$ 。

<sup>#</sup> $P < 0.05$  vs NS group; <sup>§</sup> $P < 0.05$  vs NOVX group.

病合并骨质疏松大鼠模型建立成功(表2) (实验过程中NS组死亡1只, DS组和DOVX组因血糖不合格各淘汰2只)。

#### 2.2 HE染色

非糖尿病组光镜观察正常肝小叶结构清晰、肝细胞索排列整齐、核结构清晰, 未见明显脂肪变性及炎细胞浸润; 糖尿病组肝小叶结构紊乱、肝细胞明显脂肪变性、部分呈大泡样改变、脂变细胞中胞核被脂滴挤向一侧, 成印戒样改变(图1)。

#### 2.3 免疫组化结果

去卵巢后4周DS组IGF-1、IRS-1蛋白表达明显高

#### 1.5 反转录聚合酶链反应(reverse transcription-PCR)

用Trizol试剂盒提取肝组织总RNA, 反转录后以适量cDNA为模板扩增相应指标mRNA片段(引物及反应参数见表4)。PCR产物在8%聚丙烯酰胺凝胶上200 V恒压电泳1 h, 溴化乙锭溶液染色10 min; 应用凝胶成像图像分析系统进行吸光度扫描, 计算相对表达量与 $\beta$ -actin比值。

#### 1.6 统计学分析

所有资料使用SPSS16.0统计软件进行分析, 各组数据均行正态性检验, 正态分布数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 各组数据比较前先进行方差齐性检验, 两组比较采用 $t$ 检验, 多组比较采用方差分析, 组间比较采用SNK- $q$ 检验,  $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

#### 2.1 大鼠模型制备参数比较

去卵巢手术前DS组和DOVX组FBG、FINS、体重(weight)明显高于NS组、NOVX组, DS组、DOVX组ISI明显低于NS组、NOVX组( $P < 0.05$ ), 表明糖尿病模型建立成功(表1); 去卵巢后4周、8周、12周NOVX组和DOVX组腰椎3~6 BMD、雌激素水平(estrogen)明显低于NS组和DS组( $P < 0.01$ ), 表明2型糖尿

于NS组、NOVX组, IRS-2蛋白表达DS组明显低于NS组、NOVX组( $P < 0.05$ ); 8周DOVX组IRS-1、IRS-2高于DS组, 但低于NS组、NOVX组, DOVX组IGF-1明显低于其他三组( $P < 0.05$ ); 12周DOVX组IGF-1、IRS-1蛋白表达明显低于其他三组, 且NOVX组明显低于NS组( $P < 0.05$ ), IRS-2蛋白表达在DS组和DOVX组无明显差别, 4周、8周、12周NS组和NOVX组IRS-2蛋白表达无明显差别( $P > 0.05$ ) (表3, 图2~图4)。

#### 2.4 RT-PCR结果

去卵巢后4周DS组IGF-1、IRS-1 mRNA表达高于NS组和NOVX组( $P < 0.05$ ), DS组IRS-2 mRNA表达

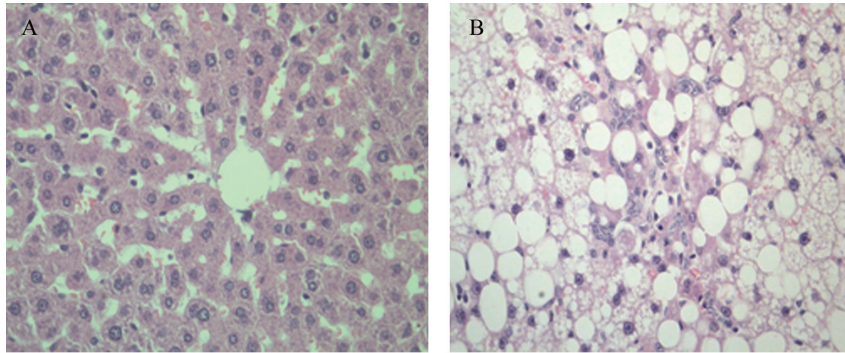
表2 各组大鼠骨密度和雌激素比较

Table 2 The comparisons of BMD and estrogen in each group

	分组	只数	4周	8周	12周
	Groups	N	4 W	8 W	12 W
BMD (g/cm <sup>2</sup> )	NS	18	0.098±0.016	0.095±0.028	0.079±0.034
	NOVX	21	0.076±0.016 <sup>#*</sup>	0.052±0.013 <sup>#*</sup>	0.044±0.016 <sup>#*</sup>
	DS	17	0.089±0.019	0.074±0.026 <sup>#</sup>	0.060±0.017 <sup>#</sup>
	DOVX	19	0.073±0.012 <sup>#*</sup>	0.048±0.021 <sup>#*</sup>	0.035±0.017 <sup>#*</sup>
Estrogen (pg/mL)	NS	13	31.74±8.22	31.23±4.06	28.13±6.66
	NOVX	16	25.43±3.76 <sup>#</sup>	26.06±6.36 <sup>#</sup>	21.31±3.94 <sup>#</sup>
	DS	12	27.27±6.91	24.91±5.49 <sup>#</sup>	20.32±8.85 <sup>#</sup>
	DOVX	14	18.54±3.90 <sup>#§</sup>	18.40±4.31 <sup>#§</sup>	15.85±3.40 <sup>#</sup>

与NS组比较, <sup>#</sup>*P*<0.05; 与DS组比较, <sup>\*</sup>*P*<0.05; 与NOVX组比较, <sup>§</sup>*P*<0.05。(表3和表5同本表)

<sup>#</sup>*P*<0.05 vs NS group; <sup>\*</sup>*P*<0.05 vs DS group; <sup>§</sup>*P*<0.05 vs NOVX group. (Table 3 and table 5 are the same as table 2)

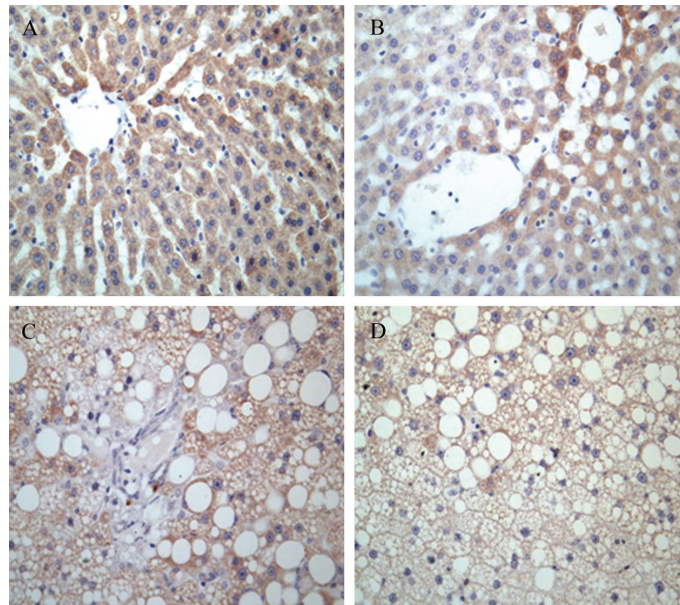


A: NS组(12周); B: DS组(12周)。

A: NS group (12 W); B: DS group (12 W).

图1 糖尿病组和非糖尿病组肝组织病理变化代表图(400×)

Fig.1 Representative of pathology in liver of each group (400×)

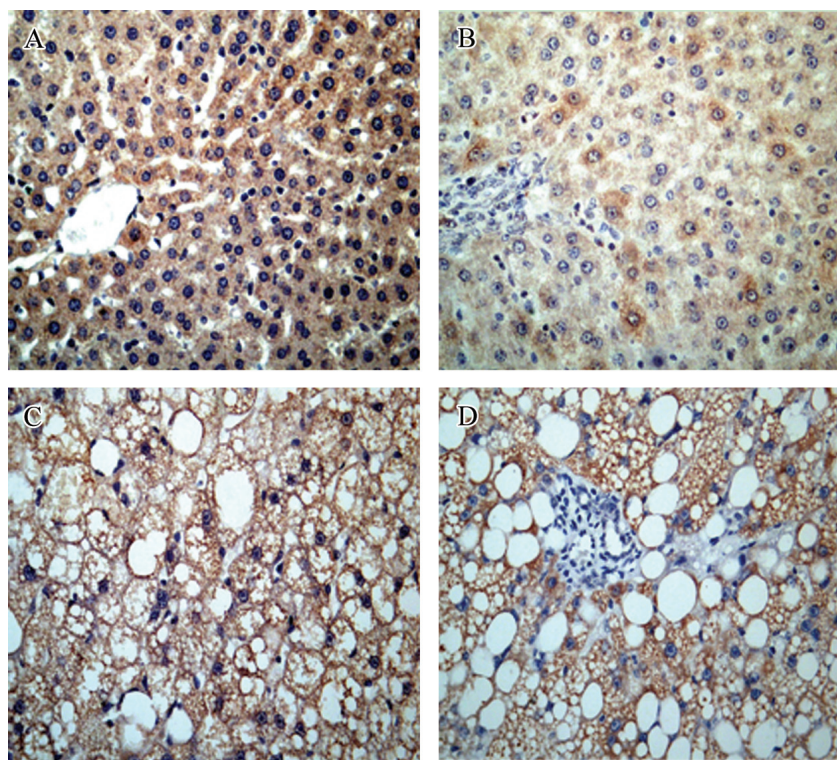


A: NS组(4周); B: NOVX组(8周); C: DS组(12周); D: DOVX组(12周)。

A: NS group (4 W); B: NOVX group (8 W); C: DS group (12 W); D: DOVX group (12 W).

图2 各组大鼠肝组织 IGF-1阳性表达图(400×)

Fig.2 Representative of IGF-1 positive impressions in liver of each group (400×)

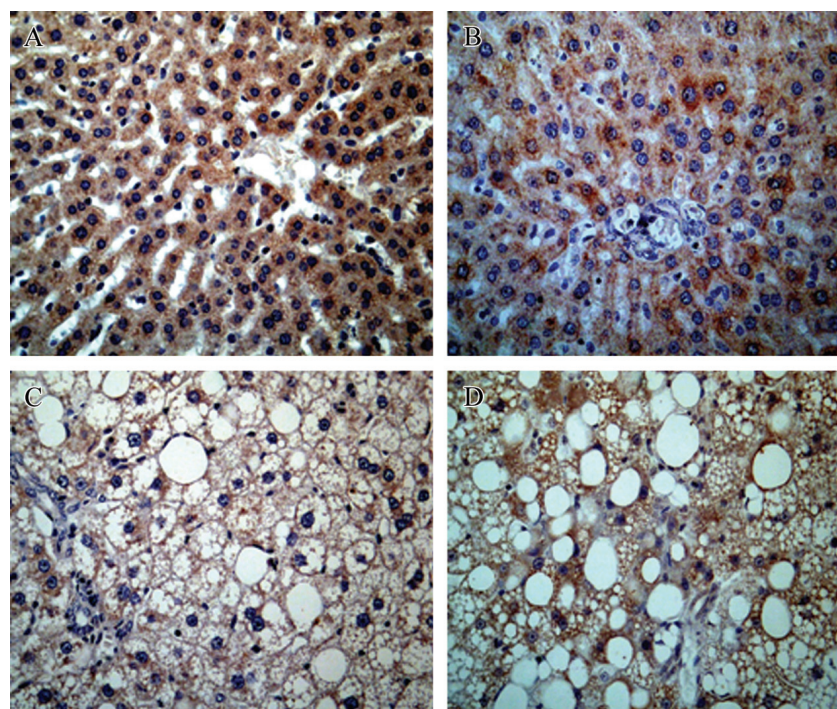


A: NS组(8周); B: NOVX组(12周); C: DS组(8周); D: DOVX组(12周)。

A: NS group (8 W); B: NOVX group (12 W); C: DS group (8 W); D: DOVX group (12 W).

图3 各组大鼠肝组织IRS-1阳性表达图(400×)

Fig.3 Representative of IRS-1 positive impressions in liver of each group (400×)



A: NS组(12周); B: NOVX组(12周); C: DS组(8周); D: DOVX组(12周)。

A: NS group (12 W); B: NOVX group (12 W); C: DS group (8 W); D: DOVX group (12 W).

图4 各组大鼠肝组织IRS-2阳性表达图(400×)

Fig.4 Representative of IRS-2 positive impressions in liver of each group (400×)

表3 各组IGF-1、IRS-1、IRS-2蛋白表达变化

Table 3 The changes of IGF-1, IRS-1 and IRS-2 protein expression in each group

蛋白质	只	分组	4周	8周	12周
Proteins	N	Groups	4 W	8 W	12 W
IGF-1	5	NS	6.5±0.6	9.4±1.1	8.6±0.5
	5	NOVX	6.4±0.7	7.8±1.1 <sup>#</sup>	6.3±0.9 <sup>#</sup>
	5	DS	8.4±0.5 <sup>#§</sup>	4.8±1.2 <sup>#§</sup>	5.2±1.1 <sup>#§</sup>
	5	DOVX	8.6±0.5 <sup>#§</sup>	3.2±1.1 <sup>#**§</sup>	3.6±0.9 <sup>#**§</sup>
IRS-1	5	NS	7.2±1.1	9.5±1.2	8.8±0.4
	5	NOVX	6.4±0.9	8.0±1.2 <sup>#</sup>	7.0±1.4 <sup>#</sup>
	5	DS	8.8±0.4 <sup>#§</sup>	3.8±0.4 <sup>#§</sup>	4.0±1.4 <sup>#§</sup>
	5	DOVX	3.6±0.9 <sup>#**§</sup>	6.3±0.9 <sup>#**§</sup>	3.8±0.4 <sup>#§</sup>
IRS-2	5	NS	8.6±0.5	9.2±1.6	8.4±0.5
	5	NOVX	8.4±0.5	9.4±1.5	7.6±1.5
	5	DS	4.4±0.9 <sup>#§</sup>	5.6±0.9 <sup>#§</sup>	6.4±0.9 <sup>#§</sup>
	5	DOVX	6.3±0.6 <sup>#**§</sup>	7.5±0.9 <sup>#**§</sup>	6.6±0.7 <sup>#§</sup>

表4 RT-PCR引物序列

Table 4 Primers used for the RT-PCR analysis

基因	引物序列	反应条件	循环数	长度(bp)
Genes	Primer sequences	Reactive conditions	Cycles	Length (bp)
<i>IGF-1</i>	Left: CCG CTG AAG CCT ACA AAG TC	94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s;	35	153
	Right: GGG AGG CTC CTC CTA CAT TC	48 °C, 30 s; 72 °C, 50 s		
<i>IRS-1</i>	Left: TGT GCC AAG CAA CAA GAA AG	94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s;	35	176
	Right: ACG GTT TCA GAG CAG AGG AA	48 °C, 30 s; 72 °C, 50 s		
<i>IRS-2</i>	Left: CCA CAC ACC TGT CCT CAT TG	94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s;	31	172
	Right: TAA TCC GCT TTG CCA AAA TC	56 °C, 30 s; 72 °C, 50 s		
<i>β-actin</i>	Left: ACG GTC AGG TCA TCA CTA TC	94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s;	31	303
	Right: TAG AGC CAC CAA TCC ACA C	56 °C, 30 s; 72 °C, 50 s		

低于NS组、NOVX组和DOVX组 ( $P<0.05$ ); 8周时DS组和DOVX组 *IGF-1*、*IRS-1*、*IRS-2* mRNA表达低于NS组和NOVX组; 12周DS组和DOVX组 *IGF-1*、*IRS-1*

mRNA表达明显低于NS组和NOVX组, NS组和NOVX组、DS组和DOVX组 *IRS-2* mRNA表达比较均无明显差别 ( $P>0.05$ ) (表5和图5)。

表5 各组IGF-1、IRS-1、IRS-2的mRNA表达变化

Table 5 The changes of IGF-1, IRS-1 and IRS-2 mRNA expression in each group

因子	只	分组	4周	8周	12周
Factor	N	Group	4 W	8 W	12 W
IGF-1	5	NS	0.876±0.039	1.041±0.074	0.990±0.024
	5	NOVX	0.872±0.033	0.925±0.081 <sup>#</sup>	0.677±0.051 <sup>#</sup>
	5	DS	0.951±0.037 <sup>#§</sup>	0.465±0.051 <sup>#§</sup>	0.569±0.046 <sup>#§</sup>
	5	DOVX	0.995±0.009 <sup>#§</sup>	0.357±0.014 <sup>#**§</sup>	0.392±0.044 <sup>#**§</sup>
IRS-1	5	NS	0.943±0.055	1.079±0.047	0.979±0.028
	5	NOVX	0.939±0.038	0.993±0.05 <sup>#</sup>	0.939±0.052 <sup>#</sup>
	5	DS	0.975±0.027 <sup>#§</sup>	0.782±0.056 <sup>#§</sup>	0.832±0.061 <sup>#§</sup>
	5	DOVX	0.691±0.059 <sup>#**§</sup>	0.923±0.042 <sup>#**§</sup>	0.804±0.064 <sup>#§</sup>
IRS-2	5	NS	0.985±0.032	1.019±0.041	0.931±0.063
	5	NOVX	0.984±0.03	0.999±0.047	0.918±0.045
	5	DS	0.758±0.03 <sup>#§</sup>	0.855±0.07 <sup>#§</sup>	0.887±0.048 <sup>#</sup>
	5	DOVX	0.821±0.058 <sup>#**§</sup>	0.902±0.073 <sup>#**§</sup>	0.882±0.05 <sup>#</sup>

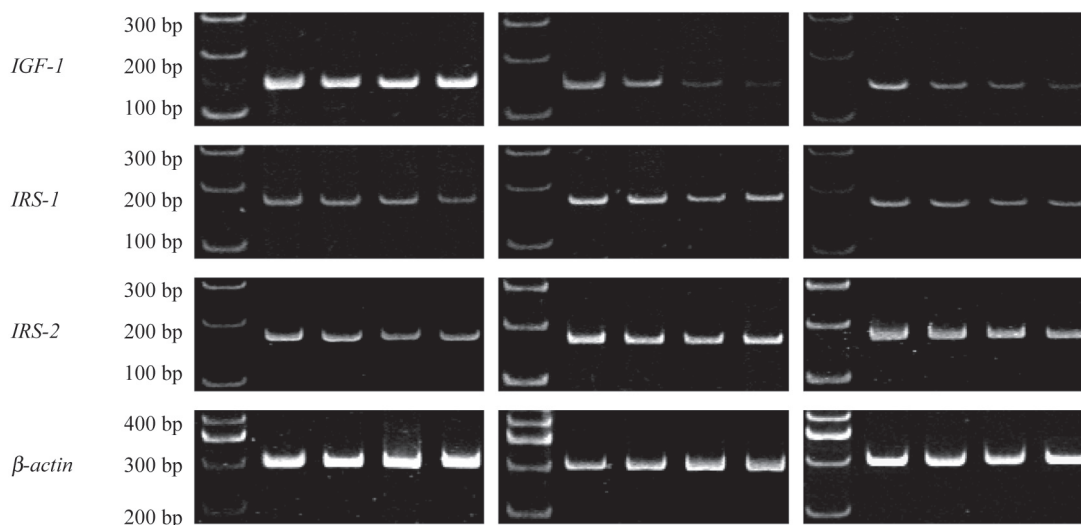


图5 各组大鼠IGF-1、IRS-1、IRS-2的mRNA表达

Fig.5 The mRNA expressions of IGF-1, IRS-1 and IRS-2 in each group

### 3 讨论

目前研究认为2型糖尿病可使骨折危险性增加,但对骨量的影响众说不一,2型糖尿病对骨质疏松的影响机制也不清楚<sup>[2]</sup>。已明确胰岛素信号通路受抑制是胰岛素抵抗和2型糖尿病发病的重要机制,且近年来发现胰岛素信号通路中因子的表达改变对骨量有影响,但胰岛素通路受抑制是否对2型糖尿病的骨量有影响尚无明确报道。故本研究提出应用2型糖尿病合并骨质疏松大鼠模型,分析不同时间其肝脏胰岛素通路核心因子IGF-1、IRS-1、IRS-2的表达,从而验证是否通路中因子表达的改变对2型糖尿病和骨质疏松均存在影响。

本研究首先制备2型糖尿病合并骨质疏松大鼠模型,因2型糖尿病造模需2.5个月左右,而骨质疏松大鼠模型常选用6月龄大鼠<sup>[3]</sup>,故本研究选择2.5~3月龄雌性大鼠为研究对象,经2.5月糖尿病造模后即达6月龄再进行双侧卵巢切除术,从而制备2型糖尿病合并骨质疏松模型,本研究结果表明糖尿病组(DS和DOVX组)FBG、FINS、体重均明显高于非糖尿病组(NS和NOVX组),而ISI前者明显低于后者,且2型糖尿病大鼠肝组织存在明显脂肪变性,经过12周观察,骨质疏松组(NOVX和DOVX组)BMD和雌激素明显低于非骨质疏松组(NS和DS组),综上所述表明,2型糖尿病合并骨质疏松大鼠模型(DOVX)制备成功。已有研究发现雌激素可通过雌激素受体 $\alpha$ 和雌激素受体 $\beta$ 参与调节女性能量代谢,雌激素替代治疗

可降低去卵巢后高脂饮食诱导的糖尿病小鼠血糖水平和增加胰岛素敏感性<sup>[4]</sup>,应用转基因技术发现雌激素可明显降低皮下脂肪组织含量和抑制脂肪组织对葡萄糖的摄取<sup>[5]</sup>,但未有研究报道2型糖尿病大鼠长时间病程无干预下其雌激素的表达情况,本研究发现经过12周观察,糖尿病组大鼠雌激素水平较正常组明显下降,甚至与去卵巢组雌激素水平无差别,但究竟糖尿病如何影响雌激素水平,需进一步研究。

胰岛素信号通路在2型糖尿病发病中起重要作用,胰岛素发挥降糖作用依赖于IGF-1与靶细胞表面的受体结合,使受体的 $\beta$ 亚单位自身磷酸化和激活其内在的酪氨酸激酶,导致IRS-1、IRS-2的酪氨酸残基磷酸化,从而促进葡萄糖的利用和吸收<sup>[6]</sup>,肝脏是其通路中合成信号因子的靶器官之一,其合成能力下降或信号转导受抑均可致胰岛素抵抗和2型糖尿病的发生<sup>[7]</sup>。另外,胰岛素信号通路对骨量存在影响,研究发现肝源性IGF-1缺失鼠骨的体积变小,骨构塑过程受抑制<sup>[8]</sup>,骨髓间充质干细胞向脂肪细胞分化增多,成骨细胞分化减少<sup>[9]</sup>。在胰岛素抵抗时可能同时存在IGF-1抵抗的情况,即胰岛素抵抗时血清IGF-1浓度和组织表达增加,但此效应是暂时的<sup>[10]</sup>,此与本研究发现相似,4周时DS组和DOVX组肝脏IGF-1表达高于对照组,但8周和12周DS组和DOVX组表达逐渐下降,且明显低于对照组。胰岛素受体底物是通路核心因子,通过IRS-1和IRS-2敲除鼠实验得出其在维持正常骨转换平衡中起重要作用,研

究认为, IRS-1通过上调成骨细胞合成和分解代谢功能维持骨转换平衡, 而IRS-2合成大于分解代谢作用<sup>[11]</sup>, IGF-1与PTH对骨有协同作用, 但此协同作用依赖于组织IGF-1轴的完整性<sup>[12]</sup>, 间断PTH治疗使成骨细胞分泌IGF-1从而刺激骨髓成骨细胞前体细胞刺激旁分泌IRS-1诱导骨形成<sup>[13]</sup>。研究17 $\beta$ 雌二醇对成骨细胞不同基因表达的影响, 同时观察E2对人成骨样细胞和去卵巢鼠成骨细胞*IRS-2*表达, 结果表明E2上调*IRS-2* mRNA的表达, 同时E2可增加IRS-2磷酸化, 去卵巢鼠成骨细胞和骨髓来源细胞*IRS-2*表达下降, 骨密度较对照组降低明显, 而对去卵巢鼠应用E2治疗可逆转BMD和IRS-2下降。说明IRS-2在雌激素诱导骨形成中起重要作用<sup>[14]</sup>。正常情况下, IRS-1在胰岛素信号转导中起主要的作用, 但当IRS-1受抑制时, IRS-2成为胰岛素受体的主要底物, 本研究结果发现, DS和DOVX组*IRS-1*表达随着时间延长逐渐低于NS组和NOVX组, 且NOVX组*IRS-1*表达低于NS组, 而DS和DOVX组*IRS-2*表达虽随着时间延长低于NS组和NOVX组, 但NOVX组和NS组表达无明显差别, 机制可能与IRS-1在信号转导中作用先于IRS-2有关。总之, 本研究在制备2型糖尿病合并骨质疏松大鼠模型成功基础上通过免疫组化和RT-PCR方法观察到2型糖尿病合并骨质疏松大鼠不同时间*IGF-1*、*IRS-1*、*IRS-2*表达均较单纯糖尿病组和非糖尿病组有不同程度的下降, 且除*IRS-2*外, 单纯骨质疏松大鼠不同时间肝组织*IGF-1*、*IRS-1*表达均较假手术对照组下降, 实验结果可能对认识2型糖尿病合并骨质疏松发病机制有所帮助。

### 参考文献 (References)

- Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, *et al.* COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000; 89(12): 2637-45.
- Merlotti D, Gennari L, Dotta F, Lauro D, Nuti R. Mechanisms of impaired bone strength in type 1 and 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20(9): 683-90.
- Li X, Ominsky MS, Warmington KS, Morony S, Gong J, Cao J, *et al.* Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2009; 24(4): 578-88.
- Riant E, Waget A, Cogo H, Arnal JF, Burcelin R, Gourdy P. Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology* 2009; 150(5): 2109-17.
- Khor VK, Dhir R, Yin X, Ahima RS, Song WC. Estrogen sulfotransferase regulates body fat and glucose homeostasis in female mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(4): E657-64.
- Ogawa W, Kasuga M. Insulin signaling and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Nippon Rinsho* 2006; 64(7): 1381-9.
- Mori A, Lee P, Takemitsu H, Iwasaki E, Kimura N, Yagishita M, *et al.* Decreased gene expression of insulin signaling genes in insulin sensitive tissues of obese cats. *Vet Res Commun* 2009; 33(4): 315-29.
- Courtland HW, Sun H, Beth-On M, Wu Y, Elis S, Rosen CJ, *et al.* Growth hormone mediates pubertal skeletal development independent of hepatic IGF-1 production. *J Bone Miner Res* 2011; 26(4): 761-8.
- Fritton JC, Kawashima Y, Mejia W, Courtland HW, Elis S, Sun H, *et al.* The insulin-like growth factor-1 binding protein acid-labile subunit alters mesenchymal stromal cell fate. *J Biol Chem* 2010; 285(7): 4709-14.
- Gatenby VK, Kearney MT. The role of IGF-1 resistance in obesity and type 2 diabetes-mellitus-related insulin resistance and vascular disease. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14(12): 1333-42.
- Kawaguchi H. Hormones and osteoporosis update. *Insulin/IGF-I and bone*. *Clin Calcium* 2009; 19(7): 1015-25.
- Elis S, Courtland HW, Wu Y, Fritton JC, Sun H, Rosen CJ, *et al.* Elevated serum IGF-1 levels synergize PTH action on the skeleton only when the tissue IGF-1 axis is intact. *J Bone Miner Res* 2010; 25(9): 2051-8.
- Shinoda Y, Kawaguchi H, Higashikawa A, Hirata M, Miura T, Saito T, *et al.* Mechanisms underlying catabolic and anabolic functions of parathyroid hormone on bone by combination of culture systems of mouse cells. *J Cell Biochem* 2010; 9(4): 755-63.
- Bu YH, Peng D, Zhou HD, Huang QX, Liu W, Luo XB, *et al.* Insulin receptor substrate 2 plays important roles in 17 $\beta$ -estradiol-induced bone formation. *J Endocrinol Invest* 2009; 32(8): 682-9.

## Hepatic Gene Expression Involved in Insulin Signaling Pathway in Type 2 Diabetic Osteoporosis Rats

Li Baoxin, Zhang Lili, Qian Bing, Wang Hui, Liu Yan, Wang Yan, Li Yukun\*

(Third Hospital of Hebei Medical University, Second Department of Endocrinology, Shijiazhuang 050051, China)

**Abstract** High sugar and fat feeding, intraperitoneally streptozotocin injection, and ovariectomized surgery were used to set up model of type 2 diabetic osteoporosis rats, to explore hepatic insulin signaling pathway during type 2 diabetic with osteoporosis. The results showed that with 12 week observing, the mRNA and protein expressions of liver IGF-1 and IRS-1 in DOVX group were lower than the other three groups, these expressions in NOVX group were lower than NS group; the mRNA and protein expressions of IRS-2 in DS group were lower than NS group, but no difference found between NOVX and NS groups. In conclusion, type 2 diabetic osteoporosis might be correlated with impaired hepatic insulin signaling pathway.

**Key words** type 2 diabetes; osteoporosis; insulin signaling; liver

---

Received: June 2, 2011 Accepted: July 6, 2011

This work was supported by Hebei Provincial Natural Science Foundation (No.C2009001179)

\*Corresponding author. Tel: 86-311-87892181, E-mail: liyukun@medmail.com.cn