

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.05.006

激素治疗 IgA 肾病大鼠对骨密度和 TLR4 信号通路的影响 *

古丽鲜·吐尔洪 阿布力米提·阿木提[△] 李 敏 坤多姿·玉山江 李光玉

(新疆医科大学第二附属医院 新疆 乌鲁木齐 830028)

摘要 目的:探讨糖皮质激素治疗 IgA 肾病大鼠对骨密度变化和 TLR4 信号通路活性的影响。**方法:**选择 5 月龄 SPF 级 SD 雄性大鼠共 60 只,平均体重 185 g,随机分为 4 组,分别为对照组、非激素组、激素低剂量组和高剂量组,每组各 15 只。采用牛血清白蛋白灌胃 + CCl₄ 和蓖麻油皮下注射 + 脂多糖尾静脉注射法复制 IgA 肾病模型,周期为 9 周。非激素组采用盐酸贝那普利片(1.041 mg/kg/d),激素低剂量组采用甲泼尼龙 15 mg/kg/d,高剂量组采用甲泼尼龙 30 mg/kg/d,持续灌胃 10 周至实验结束。检测各组尿红细胞计数和 24h 尿蛋白定量,血清肌酐和尿素氮,采用双能 X 射线吸收法测量股骨的骨密度值,Micro-CT 骨扫描并计算骨小梁微观结构参数,包括骨小梁数、骨小梁厚度和体积分数,Western blot 法检测骨组织中 Toll 样受体 4 (TLR4)、髓样分化因子(MyD88)和核因子- κ B(NF- κ B)蛋白。**结果:**各组大鼠均存活至实验结束,激素低剂量组和高剂量组治疗后尿红细胞计数、24 h 尿蛋白定量、血清肌酐和尿素氮均显著降低,骨密度值、骨小梁数、骨小梁厚度和体积分数也显著下降,但是 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 蛋白表达量明显升高($P<0.05$)。**结论:**糖皮质激素治疗 IgA 肾病能够改善临床症状和肾功能,但同时降低了骨密度和改变了骨小梁结构,可能与骨组织 TLR4 信号通路的异常激活有关。

关键词:糖皮质激素;IgA 肾病;骨密度;TLR4 信号通路;骨小梁

中图分类号:R-33;R692 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)05-836-05

Study on Bone Density and TLR4 Signaling Pathway in IgA Nephropathy Rat Treated with Steroids*

Gulixian · Turhong, Abulimiti · Amuti[△], Li Min, Kunduozi · Yushanjiang, Li Guang-yu

(Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830028, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of glucocorticoid treatment on bone density change and TLR4 signaling pathway activity in IgA nephropathy rats. **Methods:** 60 male SD rats of SPF grade, 5-month old, mean weight of 185g were selected and randomly divided into 4 groups: control group, non-hormone group, low-dose hormone group, and high-dose hormone group, with 15 rats in each group. The IgA nephropathy model was replicated by gavage of bovine serum albumin+ subcutaneous injection of CCl₄ and castor oil+tail vein injection of lipopolysaccharide, with 9 weeks. The non-hormone group received benazepril hydrochloride tablets (1.041 mg/kg/d), the low-dose hormone group received methylprednisolone 15 mg/kg/d, and the high-dose hormone group received methylprednisolone 30 mg/kg/d, continuously administered by gavage for 10 weeks until the end of experiment. Then to detect urine red blood cell count and 24-hour urine protein quantification, serum creatinine and urea nitrogen in each group. Bone density of femur was measured using dual energy X-ray absorption method. Bone trabecular microstructure parameters were scanned and calculated by micro-CT, including bone trabecular number, bone trabecular thickness, and volume fraction. Western blot method was to detect Toll like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor (MyD88), and nuclear factor- κ B (NF- κ B) proteins in bone tissues. **Results:** All rats survived until the end of experiment. After treatment, the low-dose and high-dose hormone groups significantly reduced urinary red blood cell count, 24-hour urine protein quantification, serum creatinine, and urea nitrogen, as well as bone density, trabecular number, trabecular thickness, and volume fraction. However, TLR4, MyD88, and NF- κ B proteins significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Glucocorticoid therapy for IgA nephropathy can improve clinical symptom and renal function, but at the same time, it reduces bone density and alters bone trabecular structure, which may be related to abnormal activation of TLR4 signaling pathway in bone tissues.

Key words: Glucocorticoid; IgA nephropathy; Bone density; TLR4 signaling pathway; Bone trabecular

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R692 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)05-836-05

前言

IgA 肾病以血尿、蛋白尿、高血压和肾功能损害为主要临床表现,个体间差异较大,经肾脏穿刺和病理确诊,为目前原发

* 基金项目:新疆少数民族科技人才特殊培养计划科研项目(2021D03023)

作者简介:古丽鲜·吐尔洪(1983-),女,硕士,副主任医师,主要研究方向:肾病,E-mail: 1002605268@qq.com

[△] 通讯作者:阿布力米提·阿木提(1972-),男,本科,主任医师,主要研究方向:骨科,E-mail: ablimit855@sina.com

(收稿日期:2023-12-01 接受日期:2023-12-23)

性肾小球疾病常见病例类型,也是导致尿毒症的重要疾病之一^[1]。IgA 肾病的发病率逐渐增加,以中青年居多,治疗药物主要为激素、免疫抑制剂等,疗效也差异较大,病情进展严重者往往需要透析治疗^[2]。激素治疗 IgA 肾病通常疗程较长,副作用较多,如激素样外貌、高血压、糖尿病、骨质疏松,甚至股骨头坏死等^[3]。激素导致的骨质疏松发生率较高,约 50~85%,增加了骨折的发生风险^[4]。目前临床医生主要关注怎样减少糖皮质激素治疗过程中导致的骨质疏松,多项研究显示,激素引起的骨质疏松程度与使用剂量、时间有关^[5-8],但剂量与严重程度之间的关系尚不清楚。Toll 样受体 4 (TLR4)/髓样分化因子(MyD88)/核因子- κ B(NF- κ B)通路是细胞常见的通路,与细胞炎症反应密切相关,同时与骨质疏松的发生发展有关^[9-12]。有文献报道,骨质疏松患者血清 TLR4、MyD88 及 NF- κ B 含量明显升高。基于此,本研究重点探讨糖皮质激素治疗 IgA 肾病大鼠对骨密度变化和 TLR4 信号通路活性的影响,为临床早期预防提供针对性干预靶点。

1 材料与方法

1.1 动物来源

选择 5 月龄 SPF 级 SD 雄性大鼠共 60 只,平均体重 185 g,动物生产许可证编号:SCXK (粤)2018-0034。饲养温度为 22℃,自然昼夜节律光照,湿度约 55%,普通饮食,自由饮水,适应环境 1 周后进行实验。

1.2 实验分组

60 只大鼠随机分为 4 组,分别为对照组、非激素组、激素低剂量组和高剂量组,每组各 15 只。采用牛血清白蛋白灌胃 + CCl₄ 和蓖麻油皮下注射 + 脂多糖尾静脉注射法复制 IgA 肾病模型^[13],具体为牛血清白蛋白结晶粉用无菌蒸馏水稀释成 100 g/L 溶液,剂量为 4 mL/kg 灌胃,隔日 1 次,持续 8 周;同时用 CCl₄ 和蓖麻油(1:3 混合均匀),每只 0.4 mL 皮下注射,每周 1 次,持续 9 周;于第 6 周将脂多糖和生理盐水配成 0.25 g/L 溶液,每只 0.2 mL 尾静脉注射。造模周期为 9 周。非激素组、低剂量组和高剂量组均复制模型,对照组以等量生理盐水处理,造模结束后每组随机处死一只大鼠,取肾脏组织制作切片并采用免疫荧光法观察大量 IgA 呈颗粒状沉积,可判定为造模成功。

然后非激素组采用盐酸贝那普利片(北京诺华制药有限公司,国药准字 H20030514,规格:10 mg/片)研碎后称重并以生理盐水配成溶液,用量为 4 mL/kg,药物质量为 1.041 mg,每天 1 次灌胃处理。激素低剂量组采用注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(海正辉瑞制药有限公司),剂量为 15 mg/kg,每天 1 次灌胃处理。高剂量组采用注射用甲泼尼龙琥珀酸钠 30 mg/kg,每天 1 次灌胃处理。对照组以等量生理盐水灌胃处理。四组持续灌胃 10 周至实验结束。

1.3 观察指标及检测方法

1.3.1 检测生化指标 造模后治疗前和治疗 10 周后分别检测各组大鼠的尿红细胞计数、24 h 尿蛋白定量、血清肌酐和尿素氮,采用全自动生化分析仪(深圳市一测医疗器械有限公司,型号 IPA-3100)进行检测。

1.3.2 检测骨密度和骨小梁参数 造模后治疗前和治疗 10 周

后分别检测各组大鼠的股骨骨密度值,采用双能 X 射线吸收法,小动物专用双能 X 射线骨密度仪(美国豪洛捷医疗公司)。Micro-CT 骨扫描并计算骨小梁微观结构参数,包括骨小梁数、骨小梁厚度和体积分数,仪器为 SkyScan 1276 Micro-CT(德国布鲁克公司),扫描后重建选择区域,得到重建图像,使用 CT-Analyser 软件对感兴趣区域进行测量。

1.3.3 Western blot 法检测蛋白 实验结束后处死大鼠,分离股骨保存在干冰中。各组分别取 30 μ g 骨组织样本研磨后加入裂解液,BCA 蛋白定量试剂盒(江苏碧云天科技有限公司)提取蛋白并进行浓度测定。取样品蛋白加入上样缓冲液,沸水浴 5 min 后进行电泳和转膜。然后依次加入兔抗鼠 Toll 样受体 4 (TLR4)、髓样分化因子(MyD88)和核因子- κ B(NF- κ B)蛋白一抗(1:2000)孵育过夜,洗涤后加入羊抗兔二抗(1:500)室温孵育后 ECL 显影,ImageJ 软件分析目标蛋白的条带灰度值与内参蛋白 GAPDH 的比值。所有一抗及二抗试剂均购自美国 Sigma 公司。

1.4 统计学方法

利用 SPSS20.0 软件对本研究数据分析,计量资料多组间单因素 ANOVA 分析,两两 LSD-t 检验,组内治疗前后比较采用配对 t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组间生化指标的比较

各组大鼠均存活至实验结束,各组治疗前尿红细胞计数、24h 尿蛋白定量、血清肌酐和尿素氮比较无差异($P > 0.05$),对照组治疗后上述指标均升高,其他三组治疗后均下降($P < 0.05$),非激素组、低剂量组和高剂量组比较无明显差异($P > 0.05$),见表 1。

2.2 组间骨密度及骨小梁参数的比较

各组治疗前骨密度值、骨小梁数、骨小梁厚度和体积分数比较无差异($P > 0.05$),只有低剂量组和高剂量组治疗后上述指标显著下降,且高剂量组明显小于低剂量组($P < 0.05$),见表 2。

2.3 组间 TLR4 信号通路蛋白的比较

治疗后低剂量组和高剂量组 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 蛋白表达量明显高于对照组和非激素组,且高剂量组高于低剂量组,差异有统计学意义(TLR4 组间 $F = 25.635$, $P < 0.001$,低剂量组与对照组比较 $t = 15.634$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 18.634$, $P < 0.001$,高剂量组与对照组比较 $t = 20.536$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 23.635$, $P < 0.001$,高剂量组与低剂量组比较 $t = 9.968$, $P < 0.001$;MyD88 组间 $F = 30.521$, $P < 0.001$,低剂量组与对照组比较 $t = 18.635$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 16.534$, $P < 0.001$,高剂量组与对照组比较 $t = 15.423$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 13.302$, $P < 0.001$,高剂量组与低剂量组比较 $t = 7.621$, $P < 0.001$;NF- κ B 组间 $F = 36.635$, $P < 0.001$,低剂量组与对照组比较 $t = 21.203$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 15.523$, $P < 0.001$,高剂量组与对照组比较 $t = 18.625$, $P < 0.001$,与非激素组比较 $t = 16.321$, $P < 0.001$,高剂量组与低剂量组比较 $t = 11.234$, $P < 0.001$ 。见图 1。

表 1 组间生化指标的比较(n=15)

Table 1 Comparison of biochemical indicators between groups (n=15)

Groups	Urinary RBC(/HP)		24-hour urinary protein(mg)		Creatinine(μ mol/L)		Urea Nitrogen(mmol/L)	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Control group	16.8 $\pm$ 5.7	22.4 $\pm$ 6.9 ^a	256.5 $\pm$ 44.7	289.8 $\pm$ 62.3 ^a	42.3 $\pm$ 6.7	50.2 $\pm$ 7.6 ^a	6.2 $\pm$ 1.3	8.8 $\pm$ 1.5 ^a
Non-hormone group	17.2 $\pm$ 5.9	12.3 $\pm$ 3.2 ^{bc}	259.8 $\pm$ 52.3	178.5 $\pm$ 42.3 ^{bc}	43.5 $\pm$ 6.8	31.2 $\pm$ 5.6 ^{bc}	6.4 $\pm$ 1.5	5.6 $\pm$ 1.1 ^{bc}
Low dose group	17.4 $\pm$ 6.2	11.9 $\pm$ 3.3 ^{cd}	261.2 $\pm$ 53.4	182.1 $\pm$ 44.5 ^{cd}	44.1 $\pm$ 6.9	30.9 $\pm$ 5.8 ^{cd}	6.3 $\pm$ 1.4	5.5 $\pm$ 0.9 ^{cd}
High dose group	17.3 $\pm$ 6.3	12.4 $\pm$ 3.5 ^{de}	263.5 $\pm$ 55.8	180.5 $\pm$ 45.6 ^{de}	44.3 $\pm$ 7.2	31.4 $\pm$ 5.7 ^{de}	6.5 $\pm$ 1.5	5.5 $\pm$ 1.1 ^{de}
<i>F</i>	0.658	18.659	1.124	35.629	0.859	22.524	0.428	6.032
<i>P</i>	0.452	<0.001	0.325	<0.001	0.312	<0.001	0.565	<0.001

Note: In the control group a, compared with before treatment, $P<0.05$; The comparison between the non hormone group after treatment and before treatment, $P<0.05$; The comparison between the low-dose group after treatment and before treatment, $P<0.05$; The comparison between the high-dose group after treatment and before treatment, $P<0.05$ # After treatment, compared with the control group, $P<0.05$.

表 2 组间骨密度及骨小梁参数的比较(n=15)

Table 2 Comparison of bone density and trabecular parameters between groups (n=15)

Indexes	Control group	Non-hormone group	Low dose group	High dose group	<i>F</i>	<i>P</i>
Bone mineral density(g/cm ³)						
Before treatment	0.33 $\pm$ 0.04	0.34 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.04	0.658	0.502
After treatment	0.32 $\pm$ 0.03*	0.33 $\pm$ 0.04*	0.28 $\pm$ 0.04 ^{c*}	0.23 $\pm$ 0.03 ^d	4.032	<0.001
Number of bone trabeculae(/mm)						
Before treatment	3.3 $\pm$ 0.4	3.4 $\pm$ 0.5	3.5 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.3	0.546	0.623
After treatment	3.2 $\pm$ 0.3*	3.3 $\pm$ 0.3*	2.7 $\pm$ 0.4 ^{c*}	2.1 $\pm$ 0.3 ^d	4.529	<0.001
Trabecular thickness(/mm)						
Before treatment	0.22 $\pm$ 0.03	0.23 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.04	0.263	0.856
After treatment	0.21 $\pm$ 0.02*	0.22 $\pm$ 0.02*	0.18 $\pm$ 0.02 ^{c*}	0.14 $\pm$ 0.02 ^d	5.002	<0.001
Bone trabecular volume fraction(%)						
Before treatment	32.5 $\pm$ 5.6	33.5 $\pm$ 5.9	33.8 $\pm$ 6.5	33.6 $\pm$ 5.7	0.968	0.325
After treatment	31.8 $\pm$ 5.4*	32.3 $\pm$ 5.6*	26.5 $\pm$ 5.2 ^{c*}	21.1 $\pm$ 5.3 ^d	5.426	<0.001

Note: In the control group a, compared with before treatment, $P<0.05$; The comparison between the non hormone group after treatment and before treatment, $P<0.05$; The comparison between the low-dose group after treatment and before treatment, $P<0.05$; The comparison between the high-dose group after treatment and before treatment, $P<0.05$ # After treatment, compared with the control group, $P<0.05$.

3 讨论

激素是治疗 IgA 肾病的常见方法,通过抑制免疫反应和减少肾小球炎症反应来发挥治疗作用。常用药物包括泼尼松、免疫抑制剂(如环磷酰胺)等。激素治疗可以减轻 IgA 肾病患者的临床症状^[14]。激素治疗 IgA 肾病有一定的疗效,但疗效有一定的差异性,个体间对激素的敏感性差异较大。激素治疗的安全性也同样需要引起重视^[15]。激素治疗通常需要个体化的治疗方案,根据患者的具体情况和病情进行调整^[16-18]。需要注意用药的

时间、剂量和疗程,以及可能出现的副作用和药物相互作用^[19]。因此,本研究重点探讨了糖皮质激素治疗 IgA 肾病对骨组织的影响。

本研究采用牛血清白蛋白灌胃 + CCl₄ 和蓖麻油皮下注射 + 脂多糖尾静脉注射法,经免疫荧光法观察到大量 IgA 呈颗粒状沉积,与人体病理表现基本一致。郭乐乐等^[20]研究采用尾静脉注射盐酸阿霉素复制了肾病模型,但是缺少 IgA 沉积,不适合本研究。本研究同样显示,非激素组、低剂量组和高剂量组治疗后均可明显改善血尿、蛋白尿和肾功能。这些结果均证实

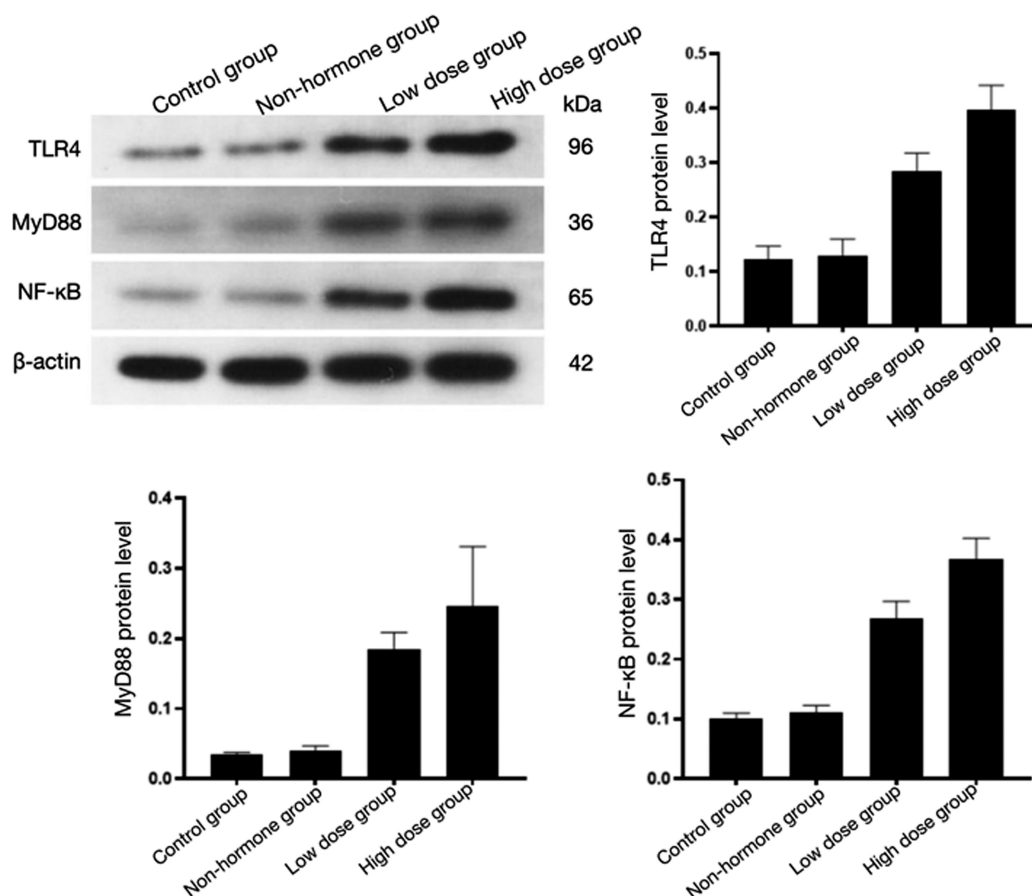


图1 各组间 TLR4 信号通路蛋白的比较

Fig.1 Comparison of TLR4 signaling pathway proteins among different groups

IgA 肾病动物模型制备成功。

本研究显示,低剂量组和高剂量组治疗后骨密度值、骨小梁数、骨小梁厚度和体积分数下降,且高剂量组明显小于低剂量组,提示大剂量糖皮质激素治疗 IgA 肾病可增加骨质疏松的发生风险。长期和高剂量的糖皮质激素使用已被确认与骨质疏松的发生和发展密切相关^[21]。糖皮质激素使用的持续时间、剂量以及用药方式都会对骨质疏松的风险产生重要影响^[22]。糖皮质激素可以抑制骨芽细胞的增殖和分化,破坏正常的骨代谢平衡;抑制骨重建过程中的骨吸收,导致骨质破坏的速度高于骨重建的速度;还会影响骨骼细胞的凋亡和功能异常,进一步加速骨质丧失的进程^[23]。此外,糖皮质激素还可以引起骨钙代谢紊乱,导致骨骼密度降低和骨微结构破坏;影响肠道对钙的吸收和肾脏对钙的排泄,进一步加剧骨质丢失;抑制性激素和生长激素的分泌,进一步削弱骨重建的能力^[24]。

TLR4 广泛分布于各种细胞,它可以诱导骨髓细胞释放炎性介质干扰骨代谢^[25]。本研究发现,治疗后高剂量组骨组织中 TLR4、MyD88 和 NF-κB 蛋白表达量明显高于低剂量组,提示激素治疗 IgA 肾病对骨密度和骨小梁结构的影响可能与 TLR4 信号通路的异常激活有关。TLR4 是一种广泛表达在多种免疫细胞表面的受体,介导了炎症反应^[26]。TLR4 的激活能够引发炎症反应,产生多种促炎因子,进而启动免疫系统的应答^[27]。TLR4 信号通路主要通过两个信号传递途径来激活:MyD88 依赖途径和 TRIF 依赖途径。研究发现^[28],糖皮质激素可以通过多种机制影响 TLR4 信号通路的活性。糖皮质激素可以抑制

TLR4 的表达和功能,减少其与配体的结合能力;还可以抑制 TLR4 信号通路的下游效应分子的表达和活化过程,包括抑制细胞因子的产生和释放;还可以干扰 TLR4 信号通路相关的转录因子的表达和活性,进一步调节炎症反应。炎症过度或持续存在可能导致组织损伤和疾病的发生^[29,30]。可见,大量激素可能通过 TLR4/MyD88/NF-κB 通路影响骨微环境,靶向这条通路可能是防治 IgA 肾病并发骨质疏松的策略。

综上所述,糖皮质激素治疗 IgA 肾病能够改善临床症状和肾功能,但同时降低了骨密度和改变了骨小梁结构,可能与骨组织 TLR4 信号通路的异常激活有关。

参考文献 (References)

- [1] Hassler JR. IgA nephropathy: A brief review [J]. Semin Diagn Pathol, 2020, 37(3): 143-147.
- [2] 张康,赵婷婷,张波,等. 基于网络药理学探究布地奈德治疗 IgA 肾病的作用机制[J]. 中国全科医学, 2023, 26(35): 4453-4458, 4463.
- [3] 苏吉俐,周晓霜,范秀照,等. 环磷酰胺联合糖皮质激素治疗不同血尿程度 IgA 肾病的疗效分析[J]. 中华全科医学, 2023, 21(07): 1105-1108.
- [4] 杨利娟. 活性维生素 D 联合醋酸钙胶囊对不同剂量糖皮质激素 IgA 肾病患者骨密度的影响[J]. 中国疗养医学, 2020, 29(10): 1098-1100.
- [5] 贾洪娟,皇甫晓伟,等. 肾素-血管紧张素系统与儿童糖皮质激素性骨质疏松患者骨密度的相关性分析 [J]. 中华内分泌外科杂志, 2023, 17(1): 80-83.
- [6] Pattapornpisut P, Avila-Casado C, Reich HN. IgA Nephropathy: Core Curriculum 2021[J]. Am J Kidney Dis, 2021, 78(3): 429-441.

- [7] Floege J, Rauen T, Tang SCW. Current treatment of IgA nephropathy [J]. *Semin Immunopathol*, 2021, 43(5): 717-728.
- [8] Selvaskandan H, Gonzalez-Martin G, Barratt J, et al. IgA nephropathy: an overview of drug treatments in clinical trials [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2022, 31(12): 1321-1338.
- [9] Cao Y, Han X, Wang Z, et al. TLR4 knockout ameliorates streptozotocin-induced osteoporosis in a mouse model of diabetes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 546(2): 185-191.
- [10] Wang J, Chen J, Zhang B, et al. IL-6 regulates the bone metabolism and inflammatory microenvironment in aging mice by inhibiting Setd7[J]. *Acta Histochem*, 2021, 123(5): 151718.
- [11] Wu H, Zhang D, Xia H, et al. SDH5 down-regulation mitigates the damage of osteoporosis via inhibiting the MyD88/NF-kappaB signaling pathway [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2023, 45(3): 317-327.
- [12] Xie H, Cao L, Ye L, et al. The miR-1906 mimic attenuates bone loss in osteoporosis by down-regulating the TLR4/MyD88/NF-kappaB pathway [J]. *Physiol Int*, 2021, 107(4): 469-478.
- [13] 邹迪,张守琳,张洪宝,等. 基于 TLR4 信号通路探讨补肾利咽方治疗 IgA 肾病作用机制 [J]. *世界科学技术 - 中医药现代化*, 2023, 11(4): 1-8.
- [14] 陈沛,吕继成. IgA 肾病 2022 年循证医学研究进展[J]. *中国实用内科杂志*, 2023, 43(03): 177-182.
- [15] Takiguchi R, Nishi S, Goto S, et al. Effect of Bisphosphonate and Active Vitamin D Analog on Glucocorticoid-induced Osteoporosis in Patients with IgA Nephropathy: A Retrospective Observational Study [J]. *Kobe J Med Sci*, 2023, 69(1): E9-E15.
- [16] Nazario E, Lasa J, Schill A, et al. IgA Deficiency Is Not Systematically Ruled Out in Patients Undergoing Celiac Disease Testing[J]. *Dig Dis Sci*, 2022, 67(4): 1238-1243.
- [17] Galli G, Carabotti M, Conti L, et al. Comparison of Clinical, Biochemical and Histological Features between Adult Celiac Patients with High and Low Anti-Transglutaminase IgA Titer at Diagnosis and Follow-Up[J]. *Nutrients*, 2023, 15(9): 2151.
- [18] Qiu J, Lu C, Zhang L, et al. Osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis is associated with serum immune regulatory cellular factors [J]. *Clin Rheumatol*, 2022, 41(9): 2685-2693.
- [19] 史婧儒,王雨荷,赵宏艳,等. 糖尿病性肾病与糖尿病性骨质疏松症微血管病变的研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(06): 844-847.
- [20] 郭乐乐,侯月洁,徐文靖. 糖皮质激素对阿霉素肾病大鼠肾沟液中 IL-6 及 TNF- α 的影响 [J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(24): 4144-4147.
- [21] 欧阳媚,孔薇. 补肾壮骨法防治肾病综合征患者激素性骨质疏松的 Meta 分析[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2022, 23(09): 792-796.
- [22] 刘明明,王磊,华臻,等. 糖尿病肾病继发骨质疏松的病因病机[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(23): 5451-5454.
- [23] Takiguchi R, Nishi S, Goto S, et al. Effect of Bisphosphonate and Active Vitamin D Analog on Glucocorticoid-induced Osteoporosis in Patients with IgA Nephropathy: A Retrospective Observational Study [J]. *Kobe J Med Sci*, 2023, 69(1): 9-15.
- [24] Liu MM, Lv NN, Geng R, et al. Uncovering the Key miRNAs and Targets of the Liuwei Dihuang Pill in Diabetic Nephropathy-Related Osteoporosis based on Weighted Gene Co-Expression Network and Network Pharmacology Analysis [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2022, 22(3): 274-289.
- [25] Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4): 1233-1261.
- [26] Hong R, Xie J, Zhang F, et al. Identification of association between rs1057317 polymorphism in TLR4 3'-untranslated region and the susceptibility to osteoporosis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13765-13774.
- [27] Qi MY, He YH, Cheng Y, et al. Icariin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy through suppressing the TLR4/NF- κ B signal pathway[J]. *Food Funct*, 2021, 12(3): 1241-1251.
- [28] Yu YF, Yao PQ, Wang ZK, et al. MiR-137 promotes TLR4/NF- κ B pathway activity through targeting KDM4A, inhibits osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells and aggravates osteoporosis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 444-446.
- [29] Zhang Y, Zhao Q. AEG-1 deletion promotes cartilage repair and modulates bone remodeling-related cytokines via TLR4/MyD88/NF- κ B inhibition in ovariectomized rats with osteoporosis [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(20): 1298-1300.
- [30] 陈明,闫晓明,王海艳,等. 基于 TLR4/BAFF/APRIL 信号通路探讨肾炎止血丸对 IgA 肾病大鼠的作用机制 [J]. *中国中医药科技*, 2023, 30(06): 1061-1066.

(上接第 821 页)

- [35] Ruiz S, Zhao H, Chandakkar P, et al. Correcting Smad1/5/8, mTOR, and VEGFR2 treats pathology in hereditary hemorrhagic telangiectasia models [J]. *The Journal of clinical investigation*, 2020, 130(2): 942-957.
- [36] Lee Y-H, Hong Y-L, Wu T-L. Novel silver and nanoparticle-encapsulated growth factor co-loaded chitosan composite hydrogel with sustained antimicrobial and promoted biological properties for diabetic wound healing [J]. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 2020, 118: 111385.