

DOI: 10.13376/j.cblls/2015178

文章编号: 1004-0374(2015)10-1280-05

铁过载与骨质疏松的关系

许梓^{1,2}, 李金桥², 孙维佳^{1,2}, 凌树宽², 靳小艳², 常彦忠^{1*}, 李英贤^{2*}

(1 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050024; 2 中国航天员科研训练中心
航天医学基础与应用国家重点实验室, 北京 100094)

摘要: 近来研究表明, 铁过载与骨质疏松有密切的关系。遗传性血色素沉着症和地中海贫血症等铁代谢紊乱的疾病患者中都伴随有不同程度的骨质疏松现象。另外, 长期在轨飞行环境下, 航天员出现机体铁沉积现象, 同时, 骨丢失情况十分严重, 每月的骨丢失量约与地面上绝经后妇女每年的骨丢失量相当。铁水平升高能够抑制成骨细胞的分化, 降低成骨细胞功能, 成骨能力下降, 骨形成受到抑制。铁沉积的同时, 能够促进破骨细胞活性, 增强骨吸收的能力, 造成机体骨量减少, 导致骨质疏松。铁调素能够作用于成骨细胞, 随着铁调素剂量的增加, 成骨细胞中与骨形成相关的基因表达量明显升高。铁调素还能作用于破骨细胞, 促进破骨细胞的分化。在预防和治疗骨质疏松方面, 有实验证明, 铁螯合剂和铁调素都有治疗骨质疏松的作用。利用铁调素调节机体铁代谢平衡, 降低铁过载程度, 为日后临床治疗骨质疏松提供了理论支持。

关键词: 骨质疏松; 铁过载; 铁调素

中图分类号: Q74; R683 **文献标志码:** A

Iron overload and osteoporosis

XU Zi^{1,2}, LI Jin-Qiao², SUN Wei-Jia^{1,2}, LING Shu-Kuan², JIN Xiao-Yan²,
CHANG Yan-Zhong^{1*}, LI Ying-Xian^{2*}

(1 Laboratory of Molecular Iron Metabolism, College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China;
2 State Key Laboratory of Space Medicine Fundamentals and Application,
China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094, China)

Abstract: Recent researches indicate that iron overload is closely related with osteoporosis. Osteoporosis is a frequent problem in disorders characterized by iron overload, such as the thalassemias and hereditary hemochromatosis. Furthermore, long-duration space flight can increase body iron stores and induce bone loss in astronauts. Iron overload can inhibit osteoblast differentiation and function, which leads to reduced bone formation. Meantime, iron overload can enhance osteoclast function and increase bone absorption. Thus, iron overload can induce osteoporosis. Hepcidin has been found to be a main regulator of iron homeostasis, recent studies demonstrate that liver hepcidin level is associated with osteoporosis. Hepcidin can regulate osteoblast function, and enhance the bone formation gene expression in a dose dependent manner. Moreover, hepcidin can significantly facilitate osteoclast differentiation *in vitro*. As iron overload and osteoporosis are closely associated, the approaches for decreasing iron overload may have clinical potential for treatment and prevention of osteoporosis.

Key words: osteoporosis; iron overload; hepcidin

1 铁过载疾病与骨质疏松症

骨质疏松症是以骨量减少, 骨组织微细结构破坏导致的骨脆性增加和骨折危险性增加为特征的系统性骨骼疾病^[1]。近年来的研究和临床报道, 铁代

收稿日期: 2015-06-03; 修回日期: 2015-07-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(ZRJJ140602)

*通信作者: E-mail: yingxianli@aliyun.com(李英贤);
chang7676@163.com(常彦忠)

谢与骨质疏松有密切关系。在与铁过载有关的疾病中, 常常并发骨代谢相关的疾病。骨质疏松患者往往也伴有血清铁较低, 血清转铁蛋白升高等铁过载的现象^[2]。早在 20 世纪 60 年代, Dellbarre^[3-4] 就已经将骨质疏松症描述为是血色素沉着症的并发症。血色素沉着症的患者铁过载并伴有股骨头无菌性坏死^[5]。在地中海贫血症、镰刀形贫血症以及肝脏疾病患者中均有骨丢失的现象^[6-8]。在调查中发现, 在 106 例镰刀形贫血症患者中, 79.6% 的患者骨密度较低, 血清中铁蛋白的含量升高了 3~4 倍^[7]。抗坏血酸缺乏、铁过载、酒精滥用都会导致骨质疏松^[9-10]。在对 30 例重型地中海贫血患者(接受换血和激素替代疗法治疗的患者)研究中发现血清中的铁蛋白增加非常明显, 腰椎骨和股骨、胫骨密度减小。全世界三分之一的女性, 由于绝经导致的全身性铁沉积与绝经后的骨质疏松有关。临床证据显示, 在绝经过渡期雌激素会降低 90%, 铁水平会有明显的升高^[11]。在分析 70 例女性股骨颈骨折的患者中可将患者分为两组, 大于 75 岁患者和小于 45 岁的患者, 结果显示, 在第一组患者中铁过载作为骨质疏松的生物指标非常明显^[12]。临床数据显示, 铁过载伴随骨质疏松性骨折在老年女性中非常普遍^[13]。有研究报道, 宇航员在飞行过程骨丢失明显^[14], 铁代谢发生改变, 铁储存量增加^[15] 并且造成氧化损伤^[16-18]。长期的重复的航天飞行任务会导致骨密度下降和骨矿盐含量的再分布, 失重引起的骨丢失及钙磷代谢的负平衡在返回地球后较难恢复, 严重影响航天员的健康, 且在实验中发现在动物模拟失重模型中组织铁含量增加, 说明铁沉积与骨质疏松密切相关。

2 铁过载影响骨质疏松的机制

2.1 铁过载对成骨细胞的影响

铁是非常重要的微量元素, 承担着许多生物功能, 包括构成血红蛋白、参与氧化应激和免疫反应等^[19], 但是高浓度的铁会对组织与细胞产生危害。当铁过多时, 转铁蛋白与铁结合的能力达到饱和后, 组织和血液循环中会出现大量的自由铁, 产生严重的病理状态, 被称为是铁过载。这种铁过载的现象首先是在心血管系统疾病和脑疾病中被报道的^[20-21], 但最近铁过载与铁调素 (hepcidin) 在骨质疏松和骨代谢过程中的作用成为广泛关注的热点。体内过多的铁可以通过 Fenton 反应产生的大量活性氧破坏包括骨骼系统在内的多个器官与组织。在成骨前

体细胞中, 氧化应激削弱了 Wnt 信号途径, 将 β -catenin 的下游信号从 T 细胞因子 (TCF) 介导的转录调控转向了插头转录因子 (FOXO) 介导的转录调控^[22]。过量铁可抑制成骨细胞的分化及活性, 减少 I 型胶原分泌, 骨基质合成及矿化减少, 钙结节减少, 从而导致骨质疏松。Yamasaki 和 Hagiwara^[23] 研究发现, 在成骨细胞中 (MC3T3-E1 与小鼠颅盖骨培养的原代成骨细胞), 高铁离子影响其增殖、分化及钙化, 他们发现铁对 MC3T3-E1 细胞活性的抑制具有剂量依赖性。铁蛋白 (Ft) 重链有亚铁氧化酶的活性, 当铁蛋白重链具有亚铁氧化酶活性的部位突变后就会减少对矿化作用的抑制作用, 这说明铁抑制成骨细胞活性有可能是通过铁蛋白的亚铁氧化酶活性起作用。成骨细胞特异性骨形成相关的基因, 如碱性磷酸酶、骨钙素、成骨特异性转录因子 (ALP、OcN、Cbf α 1) 的表达也与铁蛋白的水平呈剂量依赖的负相关^[24]。

2.2 铁过载对破骨细胞功能的影响

铁可以通过增加线粒体的呼吸产生活性氧促进破骨细胞的分化以及骨的重吸收。在卵巢摘除的大鼠模型中, 骨质减少明显并且伴有组织铁沉积现象^[25]。有实验表明, 在卵巢摘除同时用柠檬酸铁处理的小鼠中, 破骨细胞活性比单独卵巢摘除或用柠檬酸铁处理组的活性强^[26], 并且在卵巢摘除的小鼠中用铁螯合剂能够抑制破骨细胞对骨的吸收, 从而对抗骨丢失^[27]。在破骨细胞内, 瞬态感受器电位阳离子通道 (TRPV1) 的激活和抑制能够影响抗酒石酸性磷酸酶的表达及活性, 而这种影响是铁依赖的^[28]。有研究报道, 高浓度的铁可以在一定范围内促进破骨细胞的分化, 增强破骨细胞的功能, 降低骨密度, 骨代谢平衡被打破而造成骨骼内孔隙增大, 呈现中空疏松现象。另一项在小鼠中的研究也证实了铁过载引起的氧化应激与骨代谢有关。Tsay 等^[29] 证实铁过载的小鼠骨代谢异常, 活性氧水平升高, 血清中肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和白介素 6 (IL-6) 浓度升高。当用抗氧化剂 N-acetyl-L-cysteine 治疗铁过载的小鼠时, 可以有效防治骨小梁的骨代谢异常。由于铁过载引起的骨质疏松现象在大鼠中也十分明显, 有实验证明, 用 5% 的乳酸亚铁饲养绝经后的大鼠 4 周, 体重有明显的下降, 另外, 血清中通过 RANK/RANKL 信号通路增加破骨细胞活性^[30]。桡骨和小梁骨的干骺端以及股骨远端的骨密度在铁过载的大鼠中都有明显的降低^[9]。破骨细胞内铁离子的吸收主要通过转铁蛋白 / 转铁蛋白受体 (Tf/TfR)

通路, 在 Steap4 的还原作用下促进铁的吸收和利用^[27,31]。图 1 总结了铁过载对成骨细胞和破骨细胞的影响。

3 铁代谢调节与骨质疏松

3.1 铁调素与骨代谢相关

铁调素最初被认为是在肝脏表达的抗菌多肽, 之后发现在调节铁代谢方面发挥着重要作用^[32-34]。铁调素主要是由肝脏分泌, 调节体内铁代谢的一种小分子多肽, 通过调节小肠对铁的吸收与红细胞对铁の利用, 从而调节机体的铁代谢水平。在用维甲酸制作的大鼠骨质疏松模型中肝脏铁调素的表达变化非常明显, 第 3、第 5 天铁调素相对表达量开始下降, 在第 8、第 9 天达到最低值, 随后又开始回升^[35], 说明铁调素的表达与骨质疏松有密切联系。铁调素在骨质疏松形成前期也是先下降后回升, 但是随着骨质疏松的时间和程度的加深, 铁调素的表达量开始升高; 用不同剂量的铁调素处理人成骨细胞, 处理后能够明显增加细胞内钙离子浓度^[36-37]。尤其是当细胞处于铁浓度较高的环境下, 铁调素使细胞内的钙升高更加明显^[38]。铁调素能够促进钙离子向 hFOB1.19 细胞内瞬时转运, 而对铁离子瞬时转运的作用没有明显影响, 铁调素促进钙离子向成骨细胞内瞬时转运是非铁离子依赖的^[39]。用铁调素处理成骨细胞, 影响了成骨细胞内钙离子浓度的变化, 细胞内钙离子浓度增加可促进成骨细胞外的钙盐沉淀, 为骨基质的形成提供物质基础^[40]。EDTA 是钙离子螯合剂, 用来检测铁调素是否对细胞内的钙离子释放有作用, 发现 EDTA 对细胞内钙离子浓度的变化没有影响。但是用 EDTA 预先处理后, 能

够降低铁调素对细胞内钙离子浓度的刺激作用, 这说明细胞内钙离子浓度的增加依赖于细胞外钙离子的流入。同时, 用尼莫地平 (L 型钙离子通道抑制剂) 预先孵育人的成骨细胞, 也能够消除铁调素对细胞内钙离子浓度的刺激作用, 证明钙离子的流入是通过 L 型钙离子通道泵入的^[36,38]。Jang 等^[41]证实, 增加细胞内的钙离子能够明显的加速成骨细胞的分化。所以铁调素增加细胞内钙离子浓度有助于提高成骨细胞活性。此外, 在成骨细胞表面检测到有膜铁转运蛋白 (ferroportin) 的表达, 当成骨细胞内铁离子浓度增加时, Fe^{2+} 可以被膜铁转运蛋白运输到胞外^[42]。这些结果证实了成骨细胞是铁调素的效应细胞。国内也有学者研究报道, 随着铁调素干预浓度的增加, 成骨细胞骨形成相关基因 (COL1、OPG、BGP) 表达量逐渐增多, 且有一定剂量依赖^[43]。骨形态发生蛋白 (BMPs) 能够诱导未分化的间充质干细胞向成软骨细胞和软骨细胞分化, 同时 BMP6 又是调节铁调素表达与铁代谢的关键因子, 所以, 研究人员猜测铁调素可能是通过 BMPs 途径参与骨代谢的。Wang 等^[44]研究报道, 铁调素对 RAW264.7 细胞向破骨细胞晚期分化有促进作用, 而对早期分化影响甚微。当 BMM 细胞与 RAW264.7 细胞用 hepcidin 处理后, 细胞内的康酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP)、组织蛋白酶 K (cathepsin K)、基质金属蛋白酶 (MMP-9) mRNA 水平升高, TRAP-5b 蛋白分泌增加^[45]。实验发现, 向 RAW264.7 细胞中转染铁调素过表达的质粒也能促进破骨细胞的分化。铁调素促进破骨细胞的分化可能与铁调素可以和破骨细胞膜表面的膜铁转运蛋白结合而降低铁的输出有关^[45]。2015 年, Gu 等^[46]研究结果显示, 降低膜铁转运蛋白本身能够促进骨髓瘤细胞的增殖和破骨细胞的分化。

3.2 调节铁代谢对抗骨质疏松

综上, 铁过载与骨质疏松有密切的联系, 那么降低铁过载为临床上治疗或者预防骨质疏松症提供了好的思路。利用铁的螯合剂可以有效地缓解骨质疏松, 降低骨的重吸收。实验结果显示, 给绝经后的大鼠口服铁螯合剂治疗骨质疏松效果非常明显^[47]。向 C3H10T1/2 细胞培养基中加入去铁敏和 BMP2 能够明显地增加 ALP 的活性和钙沉积, 证实了降低铁过载对于成骨细胞的生长是有益处的^[48]。生活方式对于是否产生铁过载也有很大的影响, 如绿茶被证实具有铁螯合剂的潜能, 有喝绿茶习惯的绝经后的女性, 骨密度好于没有喝绿茶习惯的女性^[49]。铁调

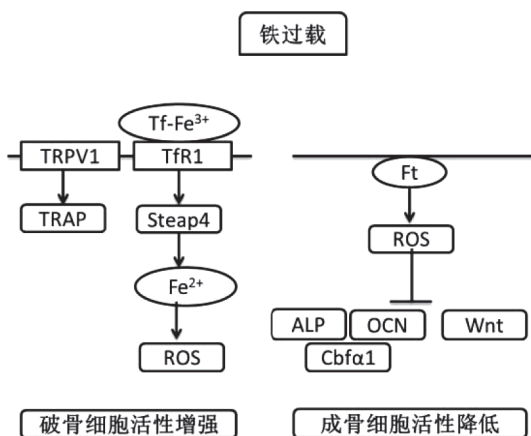


图1 铁过载对成骨细胞和破骨细胞的影响

素被认为是肝性骨营养障碍中的关键因子^[12], 铁调素的变化会引起体内铁水平的改变, 铁调素敲除会导致体内铁沉积, 铁调素的增加能够上调血清中的铁含量, 血清铁水平的变化影响了骨质疏松症。监控血清中的铁调素水平可以反映肝脏是否发生病变, 因为铁调素分泌过低说明肝功能很有可能发生了损坏, 并且很有可能与骨代谢相关疾病有关。铁调素的治疗价值在于增强了成骨细胞的活性和功能^[36,42]。2010年, 美国的一项专利“铁调素治疗绝经前和绝经后妇女骨质疏松症”为铁代谢介导的治疗骨质疏松症能够应用于临床又向前迈进了一步^[47]。

4 总结

铁是地球上非常重要的金属元素, 同时也是生命有机体不可缺少的微量元素^[50]。机体需要铁参与氧气的运输、酶的合成、电子的转移以及氧化还原反应等^[51]。铁过载时会增加氧化应激水平从而促进了骨的重吸收, 干预了骨样的形成, 减少骨矿化作用造成骨质疏松。但是过度的使用铁螯合剂造成铁极度缺乏也会造成骨质疏松。当铁含量降低时会造成缺氧现象, 而低氧会促进破骨细胞生成, 增加骨吸收^[52-53]。铁在机体内参与许多酶的合成, 包括胶原酶的合成^[54], 在骨组织中约有90%的骨蛋白是由I型胶原酶组成的^[55]。另外, 铁还可以通过细胞色素P450调节维生素D的活性从而参与骨的代谢^[56]。因此, 维持正常铁含量对于骨骼健康是必需的, 如果长期过度降低铁含量也会对骨组织造成损害^[57]。铁在成骨细胞和破骨细胞中的功能作用不同, 因此, 不同剂量的铁浓度对成骨细胞和破骨细胞的影响也不一致, 究竟铁离子是如何影响成骨细胞和破骨细胞以及什么样的铁浓度对骨组织是有保护作用的, 还有待进一步研究。研究铁过载与骨质疏松之间的关系为治疗骨质疏松症提供了新思路, 通过调节铁代谢对抗骨质疏松以及将检测血清铁含量的变化作为骨质疏松的生物标记物, 研究铁调素在骨组织疏松中的作用将为临床骨质疏松的治疗与诊断提供很好的帮助。

[参 考 文 献]

- [1] Ghannam NN. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *Ann Saudi Med*, 1994, 14: 527
- [2] D'Amelio P, Cristofaro MA, Tamone C, et al. Role of iron metabolism and oxidative damage in postmenopausal bone loss. *Bone*, 2008, 43: 1010-5
- [3] Delbarre F. Osteoporosis in hemochromatosis. *La semaine des hopitaux: organe fonde par l'Association d'enseignement medical des hopitaux de Paris*, 1960, 36: 3279-94
- [4] Delbarre F. Osteoarticular manifestations of hemochromatosis. *Presse Med*, 1964, 72: 2973-8
- [5] Rollet F, Wechsler B, du Boutin le TH, et al. Hemochromatosis and femoral head aseptic osteonecrosis: a nonfortuitous association? *J Rheumatol*, 2005, 32: 376-8
- [6] Salama OS, Al-Tonbary YA, Shahin RA, et al. Unbalanced bone turnover in children with β thalassemia. *Hematology*, 2006, 11: 197-202
- [7] Sarrai M, Duroseau H, D'Augustine J, et al. Bone mass density in adults with sickle cell disease. *Br J Haematol*, 2007, 136: 666-72
- [8] Topcheeva ON. Hepatic osteodystrophy in patients with liver cirrhosis. *Exp Clin Gastroenterol*, 2010, (6): 89-94
- [9] Schnitzler CM, Macphail AP, Shires R, et al. Osteoporosis in African hemosiderosis: role of alcohol and iron. *J Bone Miner Res*, 1994, 9: 1865-73
- [10] Schnitzler CM, Schnaid E, MacPhail AP, et al. Ascorbic acid deficiency, iron overload and alcohol abuse underlie the severe osteoporosis in black African patients with hip fractures--a bone histomorphometric study. *Calcified Tissue Int*, 2005, 76: 79-89
- [11] Jian J, Pelle E, Huang X. Iron and menopause: does increased iron affect the health of postmenopausal women? *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11: 2939-43
- [12] Li GF, Pan YZ, Sirois P, et al. Iron homeostasis in osteoporosis and its clinical implication. *Osteoporosis Int*, 2012, 23: 2403-8
- [13] Morabito N, Russo GT, Gaudio A, et al. The "lively" cytokines network in β -thalassemia major-related osteoporosis. *Bone*, 2007, 40: 1588-94
- [14] Nagaraja MP, Risin D. The current state of bone loss research: data from spaceflight and microgravity simulators. *J Cell Biochem*, 2013, 114: 1001-8
- [15] Smith SM. Red blood cell and iron metabolism during space flight. *Nutrition*, 2002, 18: 864-6
- [16] Hofer T, Marzetti E, Xu J, et al. Increased iron content and RNA oxidative damage in skeletal muscle with aging and disuse atrophy. *Exp Gerontol*, 2008, 43: 563-70
- [17] Zwart SR, Morgan JL, Smith SM. Iron status and its relations with oxidative damage and bone loss during long-duration space flight on the International Space Station. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98: 217-23
- [18] Zwart SR, Kala G, Smith SM. Body iron stores and oxidative damage in humans increased during and after a 10- to 12-day undersea. *J Nutr*, 2009, 139: 90-5
- [19] Torti SV, Torti FM. Iron and cancer: more ore to be mined. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13: 342-55
- [20] Merono T, Sorroche P, Brites FD. Increased iron store and its relationship with cardiovascular disease. *Medicina*, 2011, 71: 566-72
- [21] Gille G, Reichmann H. Iron-dependent functions of mitochondria--relation to neurodegeneration. *J Neural Transm*, 2011, 118: 349-59
- [22] Almeida M, Han L, Martin-Millan M, et al. Oxidative

- stress antagonizes Wnt signaling in osteoblast precursors by diverting β catenin from T cell factor- to forkhead box O-mediated. *J Biol Chem*, 2007, 282: 27298-305
- [23] Yamasaki K, Hagiwara H. Excess iron inhibits osteoblast metabolism. *Toxicol Lett*, 2009, 191: 211-5
- [24] Zarjou A, Jeney V, Arosio P, et al. Ferritin ferroxidase activity: a potent inhibitor of osteogenesis. *J Bone Miner Res*, 2010, 25: 164-72
- [25] Liu G, Men P, Kenner GH, et al. Age-associated iron accumulation in bone: implications for postmenopausal osteoporosis and a new target for prevention and treatment by chelation. *Biometals*, 2006, 19: 245-51
- [26] Wang X, Liu L, Gao C, et al. [Antagonistic effects of estrogen on iron-induced bone resorption and its mechanism]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2014, 94: 2613-7
- [27] Ishii KA, Fumoto T, Iwai K, et al. Coordination of PGC-1 β and iron uptake in mitochondrial biogenesis and osteoclast activation. *Nat Med*, 2009, 15: 259-66
- [28] Rossi F, Perrotta S, Bellini G, et al. Iron overload causes osteoporosis in thalassemia major patients through interaction with transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels. *Haematologica*, 2014, 99: 1876-84
- [29] Tsay J, Yang Z, Ross FP, et al. Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress. *Blood*, 2010, 116: 2582-9
- [30] Isomura H, Fujie K, Shibata K, et al. Bone metabolism and oxidative stress in postmenopausal rats with iron overload. *Toxicology*, 2004, 197: 93-100
- [31] Zhou J, Ye S, Fujiwara T, et al. Steap4 plays a critical role in osteoclastogenesis *in vitro* by regulating cellular iron/reactive oxygen species (ROS) levels and cAMP response element-binding protein (CREB) activation. *J Biol Biochem*, 2013, 288: 30064-74
- [32] Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Biochem*, 2001, 276: 7811-9
- [33] Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 4596-601
- [34] Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8160-2
- [35] Ma Y, Xu YX, Wang A, et al. A preliminary report of expression of hepcidin gene in SD rats osteoporosis model. *Suzhou Univ J Med Sci*, 2006, 26: 367-9
- [36] Xu Y, Li G, Du B, et al. Hepcidin increases intracellular Ca²⁺ of osteoblast hFOB1.19 through L-type Ca²⁺ channels. *Regul Peptides*, 2011, 172: 58-61
- [37] Zhang P, Xu YJ, Zhao DY, et al. Increased intracellular iron and mineralization of cultured hFOB 1.19 cells following hepcidin activation through ferroportin-1. *Saudi Med J*, 2010, 31: 1303-8
- [38] Li GF, Xu YJ, He YF, et al. Effect of hepcidin on intracellular calcium in human osteoblasts. *Mol Cell Biochem*, 2012, 366: 169-74
- [39] Zhao DY, Zhang P, Hao YM, et al. The instantaneous influence of hepcidin on iron and calcium ion in human osteoblasts. *Jiangsu Med J*, 2008, 34: 812-4
- [40] Zhang P, Zhao DY, Wang B, et al. Influence of hepcidin and iron ion out of osteoblast on calcium transportation. *Chn J Osteoporos*, 2008, 14: 504-7
- [41] Jang HO, Park YS, Lee JH, et al. Effect of extracts from safflower seeds on osteoblast differentiation and intracellular calcium ion concentration in MC3T3-E1 cells. *Nat Prod Res*, 2007, 21: 787-97
- [42] Xu Y, Zhang W, Zhang P, et al. Downregulation of ferroportin 1 expression in hFOB1.19 osteoblasts by hepcidin. *Inflammation*, 2012, 35: 1058-61
- [43] Zhao LP, Liu H, Xiao L, et al. The effects of hepcidin on osteoblast-related gene expression. *Chn J Osteoporos*, 2010, 16: 920-3
- [44] Wang X, Wang S, Sheng Gs, et al. Then influence of hepcidin on early and terminal differentiation of RAW264.7 monocytes into osteoclasts[EB/OL]. in Sciencepaper Online (中国科技论文在线)
- [45] Zhao GY, Di DH, Wang B, et al. Effects of mouse Hepcidin 1 treatment on osteoclast differentiation and intracellular iron concentration. *Inflammation*, 2015, 38(2): 718-27
- [46] Gu Z, Wang H, Xia J, et al. Decreased ferroportin promotes myeloma cell growth and osteoclast differentiation. *Cancer Res*, 2015, 75(11): 2211-21
- [47] Huang X. Treatment of osteoporosis in peri- and postmenopausal women with hepcidin: China, 20100204122 [P]. 2010-08-12
- [48] Qu ZH, Zhang XL, Tang TT, et al. Promotion of osteogenesis through β -catenin signaling by desferrioxamine. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 370: 332-7
- [49] Wu CH, Yang YC, Yao WJ, et al. Epidemiological evidence of increased bone mineral density in habitual tea drinkers. *Archiv Inter Med*, 2002, 162: 1001-6
- [50] Denic S, Agarwal MM. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. *Nutrition*, 2007, 23: 603-14
- [51] Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, et al. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspect Med*, 2001, 22: 1-87
- [52] Arnett TR, Gibbons DC, Utting JC, et al. Hypoxia is a major stimulator of osteoclast formation and bone resorption. *J Cell Physiol*, 2003, 196: 2-8
- [53] Shiozawa Y, Jung Y, Ziegler AM, et al. Erythropoietin couples hematopoiesis with bone formation. *PLoS One*, 2010, 5: e10853
- [54] Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*, 2009, 78: 929-58
- [55] Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, et al. Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcified Tissue Int*, 2014, 94: 5-24
- [56] Pikuleva IA, Waterman MR. Cytochromes p450: roles in diseases. *J Biol Chem*, 2013, 288: 17091-8
- [57] Toxqui L, Vaquero MP. Chronic iron deficiency as an emerging risk factor for osteoporosis: a hypothesis. *Nutrients*, 2015, 7: 2324-44