

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.05.03

❖ 基础研究 ❖

运动通过 p38MAPK 信号通路影响成长期小鼠骨代谢

凌丽丽¹, 李桂芳¹, 王彪², 赵学辉¹, 刘会岭¹, 李建英¹, 王新梅¹

(1. 沧州市人民医院新生儿科; 2. 沧州市公安局刑警支队, 河北 沧州 061000)

【摘要】目的: 分析运动如何通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路影响成长期小鼠骨代谢。**方法:** 40 只 8 周龄 C57/BL6 雄性小鼠随机分为运动组和对照组, 每组各 20 只。运动组小鼠在跑台上进行 8 周下坡跑; 检测两组小鼠血清生化指标、右侧股骨生物力学指标、血小板衍生生长因子 B(PDGFb)、c-fos 蛋白、细胞外调节蛋白激酶-1(ERK-1)、骨成型蛋白 2(BMP-2)、磷酸化丝裂原活化蛋白激酶(P-MAPK)、黑质区磷酸化 p38(p-P38)、黑质环氧合酶-2(COX-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的表达水平。**结果:** 运动组小鼠的血清钙(Ca)、碱性磷酸酶(AKP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(STR-ACP)、骨钙素(BGP)、碱性磷酸酶(ALP)的水平均高于对照组($P < 0.05$), 而血清磷(P)水平低于对照组($P < 0.05$); 运动组小鼠的各股骨生物力学指标均优于对照组($P < 0.05$); 运动组小鼠的 PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK 蛋白的水平均高于对照组($P < 0.05$); 运动组小鼠的黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 水平均高于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 运动能够激活成长期小鼠的 p38MAPK 信号通路相关细胞因子表达, 改善骨代谢, 增加骨密度。

【关键词】 骨代谢; 成长期; 运动; p38MAPK 信号通路

【中图分类号】 G804.2; G804.7 **【文献标志码】** A

Exercise effects bone metabolism of growing mice through p38MAPK signaling pathway

LING Li-li¹, LI Gui-fang¹, WANG Biao², ZHAO Xue-hui¹, LIU Hui-ling¹, LI Jian-ying¹, WANG Xin-mei¹

(1. Department of Neonatal, Cangzhou People's Hospital; 2. Interpol Detachment, Cangzhou Public Security Bureau of Hebei Province, Cangzhou 061000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To analyze how exercise effects bone metabolism of growing mice through p38 mitogen activated protein kinase (p38MAPK) signaling pathway. **Methods:** 40 C57/BL6 male rats (8 weeks old) were selected and divided into two groups by random number table method, namely exercise group and control group, 20 cases in each group, and the exercise group mice ran downhill on the treadmill for 8 weeks. The serum biochemical indexes, right femoral biomechanical indexes, platelet-derived growth factor B (PDGFb), c-fos protein, extracellular regulatory protein of the exercise group mice Kinase-1 (ERK-1), bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), phosphorylated mitogen-activated protein kinase (P-MAPK), phosphorylated p38 (p-P38), cyclooxygenase-2 (COX-2) and cysteine protease-3 (caspase-3) in substantia nigra were detected. **Results:** The levels of serum calcium (Ca), alkaline phosphatase (AKP), tartrate-resistant acid phosphatase (STR-ACP), osteocalcin (BGP) and alkaline phosphatase (ALP) in the exercise group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The serum phosphorus (P) level was lower than the control group ($P < 0.05$), the femoral biomechanical indexes of the exercise group mice were better than that of the control group ($P < 0.05$). The PDGFb, c-fos, ERK-1, BMP-2 and P-MAPK protein expression levels in the exercise group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The levels of p-P38, COX-2 and caspase-3 in the exercise group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sports can activate the expression of p38MAPK signaling pathway related cytokines, improve bone metabolism and increase bone mineral density in growing mice.

【Key words】 Bone metabolism; Growth period; Movement; P38MAPK signaling pathway

雄激素受体 (androgen receptor, AR) 介导基因能够通过丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等非基因途径对蛋白的合成过程进行调控^[1-2], MAPK 信号通路属于 Ser/Thr 蛋白酶家族重要因子, 通过适当运动能够将 MAPK

信号通路激活, 进而诱导抗氧化酶基因表达, 提高机体的抗氧化能力, 达到预防疾病及延缓衰老的目的^[3-4]。p38 为 MAPK 家族的成员之一, p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK) 信号通路在细胞凋亡、炎症反应、骨代谢等过程中均能发挥重要的调控作

基金项目: 河北省沧州市科学技术局(151302067)

作者简介: 凌丽丽(1984-), 女, 主治医师。E-mail: 77708089@qq.com

用^[5-6]。雄激素具有抑制骨骼肌萎缩、促进骨骼肌肥大和肌肉力量的作用,可增强运动能力^[7-8];而运动训练是预防骨质疏松的有效方式,青少年中长期参加体育锻炼的人群具有更长、更粗壮的骨骼,且骨骼的质量、形状与其所处力学环境密切相关,通过适当运动建立良好的力学环境能够改善骨代谢^[9-10]。本研究拟探讨运动如何通过 p38MAPK 信号通路影响成骨小鼠骨代谢,为后期临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 实验动物模型

40只8周龄 C57/BL6 雄性小鼠购于广西医科大学实验动物中心(合格证号:scxk 桂 20190002),体质量为 20~22 g。采用随机数字表法分为运动组和对照组,每组各 20 只,各组小鼠适应性喂养 1 周后进行实验。

对照组进行普通饲养,不给予任何干预。运动组第 1 周运动 6 d,前 3 d 运动 30 min/d,后 3 d 运动 45 min/d;第 2 周~8 周运动 5 d/周,运动 45 min/d,设定跑速为 0.8 km/h,坡度 -9°。

1.2 方法

1.2.1 生物材料 血清:最后一次训练结束后的第 3 天使用断头法处死各组小鼠,将眼球摘除后取眼眶血移入 1.5 mL 离心管内,以 5 000 rpm 的速率离心 10 min,取上层血清,置于 -80 °C 冰箱内保留待测。右侧胫骨和股骨:将小鼠骨骼表面的肌肉剥离,取出胫骨和股骨,使用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)将骨组织样本清洗干净,分装在离心管内,置于 4 °C 冰箱内保留待测。本实验中因样本量较大,且各组小鼠试验前均为健康小鼠,因此该实验中仅对右侧胫骨和股骨进行观察。脑:处死小鼠后开颅取脑,在 4 °C 下使用 4% 多聚甲醛固定 48 h,石蜡包埋后切片。

1.2.2 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 使用 ELISA 对血清钙(serum calcium, Ca)、血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP/ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, STR-ACP)、骨钙素(osteocalcin, BGP)、血清磷(phosphorus, P)水平进行检测。仪器为 LFF-LC-1781 全自动生化分析仪(美国贝克曼生物有限公司),试剂从迈瑞生物科技有限公司购买(货号:2020041113),具有 5 年以上临床经验的专家严格按照说明书操作。具体如下:(1)离心取上层血清;(2)在微量板上吸附组蛋白体;(3)加上清液使抗组蛋白抗体与核小体上的组蛋白结合;(4)加辣过氧化物酶标记的抗 DNA 抗体使之与核

小体上的 DNA 结合;(5)加酶的底物,测光吸收强度。

1.2.3 生物力学指标检测 使用微机控制电子万能试验机(济南方圆试验仪器有限公司;型号:WDW-50E/100E)对小鼠的右侧股骨各生物力学指标进行检测,将股骨放置在两个支撑点上,标本宽度朝上且水平放置,将探头下降,以 2 mm/min 的速度施压,标本断裂后停止,依据压力传感器数据获得相应指标数据,包括弹性载荷、最大载荷、破坏载荷、弹性挠度、最大挠度、破坏挠度、能量吸收和刚性系数。具体如下:(1)打开微机控制电子万能试验机主机电源、电脑,点击桌面 Smarttest 软件,打开专业测控软件;(2)进入拉力机操作界面,首先选择所使用的试验方法,此时软件右侧将会显示数据板栏目;(3)点击新建按钮,根据试样的实际规格尺寸输入到数据板里面,完成后关掉数据板;(4)调节衡量位置,将股骨放置在两个支撑点上,标本宽度朝上并水平放置;(5)清零试验数据,确认试样无异常,点击界面改到试验界面,以 2 mm/min 的速度施压,标本断裂后停止;(6)各数据均实时显示,可记录或打印。

1.2.4 Western blot 印迹检测 对小鼠的血小板衍生生长因子 B(platelet derived growth factor, PDGFb)、c-fos 蛋白、细胞外调节蛋白激酶-1(extracellular regulated kinase protein, ERK-1)、骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein, BMP-2)、磷酸化丝裂原活化蛋白激酶(phosphorylated mitogen-activated protein kinase, P-MAPK)蛋白表达水平及磷酸化 p38(p-P38)、黑质环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)水平进行检测。(1)分离黑质区(图 1):小鼠快速断头处死,取出完整脑,将脑至于 -80 °C 速冻 5 min。取出速冻好的鼠脑,置于冰上,切取前凶(在剥离的鼠脑上,前凶和腹侧的视交叉前缘处于同一垂直面上)后,3~4 mm 的冠状切面。在鼠脑切面上,黑质脑区的颜色是与其它脑区颜色不同的,有比较清晰的界限,用镊子或者其它工具挖取获得。(2)使用 Western blot 印迹法对小鼠黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 水平进行检测。依据试剂盒(迈瑞生物科技有限公司购买;货号:2020061719)提取蛋白,使用 BCA 蛋白定量试剂盒(迈瑞生物科技有限公司购买;货号:2020082111)对裂解物的蛋白浓度进行测定,聚丙烯酰胺凝胶电泳,参照免疫印迹说明进行转膜等过程,p-P38、COX-2、caspase-3、PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK 曝光显影,重复 3 次。具体如下:(1)将蛋白电泳后的凝胶浸入电转缓冲液中 15 min。(2)将电转膜(醋酸纤维素膜)先在甲醇中浸泡至完全

湿润,然后再将膜浸入超纯水中 5 min,最后再将膜浸入电转液中 15 min。(3)滤纸先在电转液中完全浸湿,然后将滤纸平铺在电转纤维上,在滤纸正上方平铺凝胶,在凝胶正上方平铺电转膜,在电转膜正上方平铺滤纸,最后用玻棒赶气泡。(4)100 V,电转 100 min。(5)电转结束后,将电转膜浸泡于甲醇中 5 min,最后将电转膜浸泡于 4 mL 10% 的牛奶(2 g 奶粉溶于 20 mL 超纯水)中(5% BSA),置于 37 °C 摇床(75 rpm)封闭 1.5 h(也可 4 °C 封闭过夜)。(6)封闭 1.5 h 结束后,电转膜用磷酸盐吐温缓冲液(phosphate buffered saline + Tween-20, PBST)(1LPBS 溶液 + 500 uL Tween-20)洗 3 次,每次 10 min。(7)将电转膜浸入一抗溶液中,置于 37 °C 摇床,75 rpm,1.5 h(一抗溶液的制备:10 mL 的 10% 脱脂牛奶或 BSA 溶于 PBST 中 + 5 - 10 uL 一抗,即共稀释了 1 000 ~ 2 000 倍,可根据需要自行设计抗体稀释倍数)。(8)一抗溶液浸泡结束后,将电转膜用 PBST 溶液洗 3 次,每次 10 min。(9)将电转膜浸入二抗溶液中,置于 37 °C 摇床,75 rpm,1 h(二抗溶液的制备同一抗)。(10)二抗溶液浸泡结束后,将电转膜用 PBST 溶液洗 3 次,每次 10 min。然后,将膜浸泡于底物溶液中显色,显色结束后,用滤纸吸干膜上的水分,将膜置于凝胶成像仪中用白光拍照。滴加发光液凝胶成像仪采集图像,计算蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值,以反映目的蛋白的表达。使用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值,以 β -actin 为内参,分析目的蛋白的相对含量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。计量资料均通过正态性检验,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较使用 LSD-*t* 检验;计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较

使用 χ^2 检验(检验水准 $\alpha = 0.05$)。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

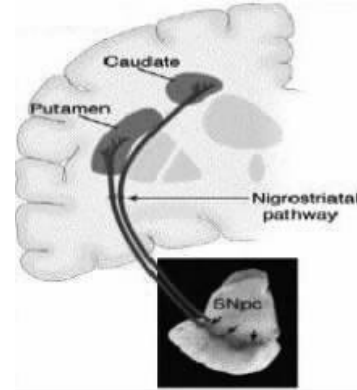


图 1 小鼠黑质区

2 结果

2.1 两组血清生化指标水平比较

ELISA 法检测结果显示,运动组小鼠的 Ca、AKP、ALP、STR-ACP、BGP 水平均高于对照组,血清 P 水平低于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组右侧股骨生物力学指标比较

微机控制电子万能试验机检测结果显示,运动组小鼠股骨生物力学指标均优于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组 PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK 蛋白表达水平比较

Western blot 印迹法检测结果显示,运动组小鼠的 PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK 蛋白的表达水平均高于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3、图 2。

表 1 血清生化指标水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

分组	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)	AKP (U/L)	STR-ACP (B-L)	BGP (mg/ml)	ALP (U/L)
运动组 (n = 20)	2.98 ± 0.45	4.18 ± 1.09	37.89 ± 13.88	14.28 ± 1.65	6.52 ± 1.42	2.31 ± 0.23
对照组 (n = 20)	2.12 ± 0.38	4.85 ± 1.50	28.98 ± 15.11	12.86 ± 1.69	5.13 ± 1.80	1.90 ± 0.49
<i>t</i> 值	2.767	3.376	2.001	2.557	2.580	2.823
<i>P</i> 值	0.008	0.001	0.046	0.015	0.010	0.005

表 2 右侧股骨生物力学指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

分组	弹性载荷 (N)	最大载荷 (N)	破坏载荷 (N)	弹性挠度 (mm)	最大挠度 (mm)	破坏挠度 (mm)	能量吸收 (N/mm)	刚性系数 (N/mm)
运动组 (n = 20)	146.31 ± 21.43	160.72 ± 22.97	151.79 ± 20.84	0.64 ± 0.03	0.84 ± 0.18	0.99 ± 0.15	202.34 ± 24.46	224.97 ± 45.17
对照组 (n = 20)	115.54 ± 17.35	132.89 ± 12.80	122.34 ± 7.89	0.57 ± 0.08	0.79 ± 0.10	0.90 ± 0.10	155.47 ± 15.66	189.70 ± 23.41
<i>t</i> 值	2.125	2.917	2.292	2.678	2.561	1.975	2.858	2.013
<i>P</i> 值	0.041	0.003	0.036	0.009	0.013	0.049	0.004	0.045

表 3 PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	PDGFb	c-fos	ERK-1	BMP-2	P-MAPK 蛋白表达
运动组 (n = 20)	0.17 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	3.59 ± 0.55
对照组 (n = 20)	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	2.97 ± 0.78
t 值	2.389	2.517	1.983	2.377	2.801
P 值	0.032	0.019	0.048	0.033	0.006

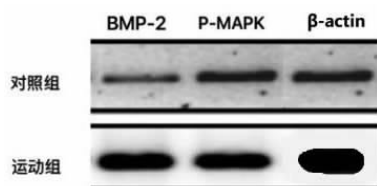


图 2 BMP-2 mRNA 及 P-MAPK 蛋白表达

2.4 两组黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 水平比较

Western blot 印迹法检测结果显示,运动组小鼠的黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 水平均高于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4、图 3。

表 4 黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	p-P38	COX-2	caspase-3
运动组 (n = 20)	6.15 ± 0.82	10.56 ± 2.65	4.67 ± 1.44
对照组 (n = 20)	1.42 ± 0.46	3.57 ± 1.41	0.76 ± 0.29
t 值	2.001	3.098	2.253
P 值	0.046	0.002	0.038

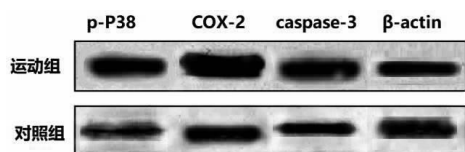


图 3 黑质区 p-P38、COX-2、caspase-3 蛋白表达

3 讨论

Goodyear 等^[11]在 1996 年就运动对大鼠骨骼肌细胞 ERK1/2、p38、JNK 信号分子的激活作用进行了探究,近年来,骨骼肌中的 MAPK 信号转导通路的调节问题逐步成为研究的热点,肌肉收缩与运动对 p38MAPK 信号转导通路的调节作用备受关注^[12-13]。谢学海等^[14]发现,人体和正常大鼠耐力运动后,48 h 骨骼肌 p38 蛋白活性与含量受影响。同时,陈彤丹等^[15]也指出,在相同的相对强度运动下,接受过运动训练的患者骨骼肌 p38MAPK 信号转导通路具有更强烈的反应。

生长发育期内的骨量增加所达到的峰值大小,对于人群老年时期发生骨质疏松有着重要作用。

p38MAPK 是含有 360 个氨基酸的络氨酸磷酸化蛋白激酶,临床中能够激活 p38 的刺激较多,热休克、蛋白质合成抑制剂、高渗透压环境等应激刺激及脂多糖等均能激活 p38 通路^[16]。此外,骨质疏松症的发生与维生素 D 的缺乏密切相关,维生素 D 水平低下,膳食中钙质摄入量较低,长时间会造成骨量丢失^[17]。维生素 D 是免疫调节中的重要成分,其在免疫系统多种成分中可作为自分泌及旁分泌信号系统,免疫调节中需要消耗大量的维生素 D^[18]。

本研究显示,运动组的各血清生化指标、右侧股骨生物力学指标均优于对照组,进一步探究发现观察组小鼠的 MAPK 信号通路相关因子 (PDGFb、c-fos、ERK-1、BMP-2、P-MAPK)、BMP-2 mRNA 相对表达量及 p-P38、COX-2、caspase-3 水平均优于对照组。这可能是由于运动激活了 p38 分子,并刺激了其下游信号分子 MAPKAPK2,将核底物直接磷酸化,增强了底物的活性。调控骨代谢的重要手段之一为运动训练,其不仅能够增加骨量,还能够促进骨形成代谢,适宜的运动刺激能够有效促进骨形成^[18-19]。本研究中运动组大鼠通过运动改善了骨代谢,减少了对维生素 D 的消耗,原因可能为维生素 D 与钙离子结合形成钙维生素 D 复合物,对甲状旁腺及细胞因子进行了调控,减少了骨吸收量,降低了皮质骨多孔的发生率,刺激骨钙素、骨桥蛋白等骨基质蛋白及骨生长因子的生成,促进骨微细损伤的修复和骨矿化,调节了骨重建,进而改善了骨代谢^[20]。

综上所述,运动能够激活成长期小鼠的 p38MAPK 信号通路相关细胞因子的表达,改善骨代谢,增加骨密度。

参考文献

- [1] 张晓娜,杨镒峰,常彤,等. 雌激素、雄激素在卵泡发育中的作用及应用[J]. 特产研究,2017,39(3):50-54.
- [2] 卢燕,杜静,赵景润,等. 雌激素对溃疡性结肠炎患者 NF-κB、IL-6 及 NO 表达的影响[J]. 国际免疫学杂志,2019,42(1):38-44.
- [3] 董良杰,王勤俭,王单一,等. 芍药总苷对人骨关节炎软骨细胞增殖及 p38 MAPK 蛋白表达的影响[J]. 郑州大学学报(医学版),2019,54(3):431-435.
- [4] 杨敏,黄凌云,吕泽平,等. MAPK 信号通路在力学刺激对 MG-63 成骨样细胞护骨素表达中的作用[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2019,12(1):58-64.
- [5] 王甜甜,林飞,潘灵辉,等. 乌司他丁调控 P38MAPK 信号通路降低大鼠肺缺血再灌注损伤血气屏障通透性的作用及机制研究[J]. 广西医科大学学报,2019,36(3):332-336.
- [6] Ademola AO, Dirk B, Johan E, et al. Kolaviron offered a novel cardioprotection against ischemic/reperfusion injury by modulation of Akt/protein kinase B (PKB)/p38MAPK/Caspase 3/poly-ADP-ribose polymerase signaling pathway[J]. The FASEB Journal,2020, Doi:abs/10.1096/fasebj.2020.34.s1.00691.

- [7] Deng YJ, Yang L, Xie Q, *et al.* Protein Kinase A Is Involved in Neuropathic Pain by Activating the p38MAPK Pathway to Mediate Spinal Cord Cell Apoptosis[J]. *Mediators of inflammation*, 2020, 3(20):6420-6425.
- [8] Chen YP, Jiao N, Ming J, *et al.* Loganin alleviates testicular damage and germ cell apoptosis induced by AGEs upon diabetes mellitus by suppressing the RAGE/p38MAPK/NF- κ B pathway[J]. *Journal of Molecular Modeling*, 2020, 4(19):15198.
- [9] 孙胜奎, 廖建红, 范银燕, 等. 丹参川芎联合骨瓜或骨肽对糖尿病骨质疏松患者糖代谢和骨代谢的影响[J]. *世界中医药*, 2019, 14(6):1493-1497.
- [10] 陈昱晓, 王娜, 徐李玲, 等. 金桔精油通过抑制 p38MAPK 和 NF- κ B 信号通路减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤[J]. *广西医科大学学报*, 2019, 36(6):863-868.
- [11] Goodyear LJ, Chang PY, Sherwood DJ, *et al.* Effects of exercise and insulin on mitogen-activated protein kinase signaling pathways in rat skeletal muscle[J]. *American Journal of Physiology*, 1996, 271(2):E403-E408.
- [12] Kamila MS, Samantha FM, Vijayasameerah V, *et al.* Redundant role of ASK1-mediated p38MAPK activation in human platelet function[J]. *Cellular Signalling*, 2020, 68(1):109528.
- [13] Huang CH, Lee YC, Chiou JT, *et al.* Arsenic trioxide-induced p38 MAPK and Akt mediated MCL1 downregulation causes apoptosis of BCR-ABL1-positive leukemia cells[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020, 4(17):115013.
- [14] 谢学海, 田孝东, 马永斌, 等. p38 α 及 β 亚型对胰腺癌细胞生物学行为的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(2):261-263.
- [15] 陈彤丹, 曾苏, 边平达, 等. 老年人运动与骨密度及骨代谢指标之间的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(5):1115-1117.
- [16] Chaumette T, Delay L, Barbier J, *et al.* c-Jun/p38MAPK/ASIC3 pathways specifically activated by nerve growth factor through TrkA are crucial for mechanical allodynia development[J]. *Pain Medicine*, 2020, 161(5):1109-1123.
- [17] 杨红英, 李虹, 刘璐, 等. 绝经后女性骨密度与维生素 D 和高密度脂蛋白水平相关性研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(2):193-197.
- [18] 李苗苗, 罗炯, 张庭然, 等. 骨质代谢与运动训练: 骨重塑与骨细胞增殖[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(34):5544-5549.
- [19] 范鑫梅, 陆成龙, 孔西建, 等. 骨松健骨方对绝经后骨质疏松症(肝肾阴虚证)患者骨密度及骨代谢指标的影响[J]. *世界中医药*, 2017, 12(1):87-90.
- [20] 范涛, 何春容, 胡晓榕, 等. 维生素 D 辅助二甲双胍治疗妊娠期糖尿病临床疗效的探讨[J]. *川北医学院学报*, 2019, 34(5):508-512.

(收稿日期:2020-06-11

修回日期:2021-01-02)