

骨痿愈方通过调节 OPG/RANKL 治疗绝经后骨质疏松的动物实验及机制研究

扶浪¹, 皮超², 罗焘³, 伍光辉³, 徐祖健³, 陈孝均³, 马文哲⁴, 罗琳³

1. 泸州市中医医院 创伤科(泸州 646000); 2. 西南医科大学 药学院(泸州 646000); 3. 西南医科大学附属医院 骨科(泸州 646000);
4. 澳门科技大学 中药质量研究国家重点实验室(澳门 999078)

【摘要】目的 通过动物实验探究骨痿愈方治疗绝经后骨质疏松的有效性及其作用机制。**方法** 将40只12周龄无特定病原体(specific-pathogen free, SPF)级雌性SD大鼠随机分为假手术组(Sham)、模型组(OVX)、对照组(AS)、骨痿愈方组(GWY)。构建去卵巢骨质疏松症模型,骨痿愈方组予以骨痿愈方浓缩液灌胃;对照组予以阿仑膦酸钠灌胃;假手术组和模型组予以生理盐水灌胃。8周后处死动物,检测各组血清中钙、磷及骨源性碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)、OPG、RANKL含量;Micro-CT检测各组L3椎体以评估骨密度变化。**结果** ①血清检测:4组中Ca、P、BALP、OPG、RANKL差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。与Sham组比较,OVX组、AS组和GWY组Ca、P、BALP降低($P < 0.05$),OVX组OPG降低($P < 0.05$),RANKL升高($P < 0.05$),OPG/RANKL降低($P < 0.05$);与OVX组比较,AS组和GWY组Ca、P、BALP增加($P < 0.05$),AS组和GWY组OPG升高($P < 0.05$),RANKL降低($P < 0.05$),OPG/RANKL升高($P < 0.05$);②骨密度:各组BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。与Sham组相比,AS组、GWY组腰椎BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N显著降低($P < 0.05$),Tb.Sp提高($P < 0.05$)。与OVX组相比较,GWY组、AS组腰椎BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N增加($P < 0.05$),Tb.Sp下降($P < 0.05$)。**结论** 骨痿愈方可通过调控OPG/RANKL信号通路治疗绝经后骨质疏松。

【关键词】 OPG/RANKL信号通路;骨痿愈方;绝经后骨质疏松;骨代谢;骨密度

【中图分类号】 R285.5

文献标志码 A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.014

Animal experiment and mechanism study of Guweiyu decoction for treating postmenopausal osteoporosis by regulating OPG/RANKL pathway

FU Lang¹, PI Chao², LUO Tao³, WU Guanghui³, XU Zujian³, CHEN Xiaojun³, MA Wenzhe⁴, LUO Lin³

1. Department of Trauma, Luzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Luzhou 646000, China; 2. School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. Department of Orthopaedics, The Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 4. State Key Laboratory of Quality Research of Traditional Chinese Medicine, Macao University of Science and Technology, Macao 999078, China

【Abstract】Objective To investigate the effectiveness and mechanism of Guweiyu decoction in treating postmenopausal osteoporosis through animal experiments. **Methods** The 12-week-old female SD rats with specific pathogen-free (SPF) status were randomly divided into the sham operation group, model group, control group, and Guweiyu decoction group. An osteoporosis model was constructed, and the Guweiyu decoction group was given a concatenated Guweiyu decoction gavage; the control group was given sodium alendronate gavage; and the sham operation group and model group were given physiological saline gavage. After 8 weeks, the animals were sacrificed, and the serum levels of calcium, phosphorus, and bone alkaline phosphatase (BALP) were measured in each group. Micro-CT was used to evaluate the bone density changes in the L3 vertebrae of each group. **Results** ①Serum detection: There were significant statistical differences in the content of Ca, P, BALP, OPG, RANKL, and OPG/RANKL among the four groups ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the content of Ca, P, and BALP in the OVX group, AS group, and GWY group decreased ($P < 0.05$), and OPG content in the OVX group decreased ($P < 0.05$), RANKL content increased ($P < 0.05$), and OPG/RANKL content decreased ($P < 0.05$); compared with the OVX group, the content of Ca, P, and BALP in the AS group and GWY group increased ($P < 0.05$), OPG content in the AS group and GWY group increased ($P < 0.05$), RANKL content decreased ($P < 0.05$), and OPG/RANKL content increased ($P < 0.05$). ②Bone density: The BMD, BV/TV, Tb.Th, Tb.N, and Tb.Sp of each group had significant statistical differences ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the lumbar BMD, BV/TV, Tb.Th, and Tb.N of the AS group and GWY group significantly decreased ($P < 0.05$), and Tb.Sp improved ($P < 0.05$). Compared with the OVX group, the lumbar BMD, BV/TV, Tb.Th, and Tb.N of the GWY group and AS group increased ($P < 0.05$), and Tb.Sp decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Guweiyu decoction might be able to treat postmenopausal osteoporosis by regulating OPG/RANKL signaling pathway.

【Key words】 OPG/RANKL pathway; Guweiyu decoction; Postmenopausal osteoporosis; Bone metabolism; Bone mineral density

基金项目: 四川省科技厅计划项目(2020YJ0373);西南医科大学-西南医科大学附属医院联合课题(2020XYLH-051)

通信作者: 罗琳, E-mail: luolin311@126.com

引用本文: 扶浪, 皮超, 罗焘, 等. 骨痿愈方通过调节 OPG/RANKL 治疗绝经后骨质疏松的动物实验及机制研究[J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(5): 442-446. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.014.

绝经后骨质疏松症^[1](postmenopausal osteoporosis, PMOP)指绝经后妇女卵巢功能减弱,雌激素水平骤减,导致破骨细胞功能增强,影响骨代谢及骨重建,最终引起骨量流失、骨微结构/矿化不良、骨强度下降为特征的骨骼代谢性疾病。随着经济发展PMOP的患病率仍将持续上升,也将产生巨额的医疗费用。国际骨质疏松基金会在2020年报告中指出,绝经后的美国女性中54%存在骨量降低,30%确诊PMOP^[2]。而我国流行病学调查显示在50岁以上女性中有超过一半患有PMOP,到2050年骨质疏松患者预计将达到2.12亿^[3];PMOP的发病与妇女绝经后卵巢功能减弱导致的雌激素分泌水平骤降密切相关,加之生活习惯、环境等多种因素的相互作用,直接或间接地影响了骨代谢,造成骨量丢失,导致了骨质疏松症的发生发展^[4]。

目前防治PMOP的原则是提升骨量、减缓骨丢失、缓解临床症状、预防骨折等并发症的发生,通过适当补充雌激素、钙剂和维生素、调整生活方式、改善饮食结构、适当运动等治疗和干预方式抑制骨吸收,促进骨形成。常用的有双磷酸盐、选择性雌激素受体调节剂,两者均能提高骨密度(bone mineral density, BMD)、改善骨细微结构^[4-5]。但研究表明雌激素的长期应用可能会导致子宫内腺癌及乳腺癌的发病率增高,美国食品药品监督管理局已不推荐其作为PMOP的一线用药^[6]。双磷酸盐类药物能够特异性抑制骨吸收、减少骨流失、增加BMD,但也会引起胃肠道及流感样症状。面对西药防治骨质疏松存在副作用的现象,我国大多数学者把研究重点放在中医药抗骨质疏松方面。骨痿愈方是我科治疗PMOP的经验方,在临床使用中取得了较好的疗效。本方基于“肾主骨”理论,结合中老年妇女多虚多瘀的体质特点,在六味地黄丸的基础上,增加了补益肝肾、活血行气、化瘀通络等临床经验用药,使全方具有补益肝肾、填髓壮骨、活络止痛的功效。

临床研究^[7]表明骨痿愈方联合用碳酸钙D₃片及阿仑膦酸钠联合骨痿愈方的中西医结合治疗更有助于改善PMOP患者的症状体征、增强骨密度,且安全性良好,但其具体的作用机制尚不明确。本研究以去卵巢骨质疏松症模型大鼠为研究对象,通过检测大鼠骨密度和骨微结构形态变化,血清钙、磷、骨碱性磷酸酶、OPG、RANKL的水平变化,从OPG/RANKL信号通路探讨骨痿愈方对PMOP的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 40只雌性12周龄无特殊病原体级SD大鼠,体重(200±20)g,购于西南医科大学动物实验中心,动物许可证号[SYXK(川)2018-065];饲养在西南医科大学中西医结合学院动物研究中心,湿度40%~

60%,室温20℃~25℃,自由饮食(SPF级大鼠维持饲料,购买自西南医科大学动物实验中心)。本研究通过西南医科大学动物伦理委员会批准(编号:SWMU20210031)。

1.1.2 实验药物 中药方剂采用骨痿愈方,药材由西南医科大学附属中医医院中药房提供。骨痿愈方配方为:熟地黄、淫羊藿、山萸肉、肉苁蓉、山药各10g,盐杜仲、烫骨碎补、烫狗脊各8g,醋龟甲、茯苓、盐泽泻、酒川芎、牡丹皮各6g,鸡血藤8g,鹿衔草10g,炒莱菔子5g,川牛膝8g。对照组药物采用阿仑膦酸钠片(主要成分为阿仑膦酸钠,化学名称为二膦酸钠三水合物,上海信谊延安药业有限公司,国药准字H20010619)。

1.1.3 试剂与仪器 大鼠BALP、OPG、RANKL ELISA试剂盒(无锡市东林科技发展有限责任公司,中国),血清Ca、P检测试剂盒(信裕生物,中国);Micro-CT(SIEMENS,德国),高速冷冻离心机(蜀科,中国),Synergy2酶标仪(宝特,美国),Mini-PROTEAN®Tetra电泳仪(Biorad,美国)。

1.2 模型制备与给药

1.2.1 分组与模型制备 将40只SPF级雌性SD大鼠随机分为假手术组(sham operation group, Sham)、模型组(ovariectomy, OVX)、骨痿愈方组(guweiyu decoction, GWY)和对照组即阿仑膦酸钠组(alenophosphate, AS),每组10只。分笼饲养,5只/笼,常规进食进水,适应性喂养一周。去卵巢大鼠模型^[8]制备方法:大鼠禁饮禁食24h后麻醉,俯卧位,备皮后消毒,沿背部后正中线作纵向切口,长约1.0~1.5cm,摘除双侧卵巢。假手术组开腹后只切卵巢附近白色脂肪组织。术后予青霉素(20×10⁴ IU/kg)腹腔注射3d以防感染,常规饲养8周。

1.2.2 给药方法 每付骨痿愈方采用传统方法煎煮两次后浓缩成50mL保存,每片阿仑膦酸钠加生理盐水制成50mL混悬液备用。骨痿愈方浓缩煎剂和阿仑膦酸钠的大鼠用量按照Meeh-Rubner氏公式,根据人与大鼠体表面积进行换算,等效剂量为0.103付(片)/kgd⁻¹,则根据制备液浓度得到,造模8周后骨痿愈方组和阿仑膦酸钠组的灌胃量为0.5mL/(100g·d⁻¹);Sham组与OVX组予以生理盐水灌胃,灌胃量为0.5mL/(100g·d⁻¹)。连续灌胃8周,期间常规饲养,自由饮食。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 钙磷离子、BALP及OPG、RANKL的检测 将收集到的抗凝血清送到西南医科大学附属中医医院检验科,血清Ca、P浓度检测采用Beckmancoulterau 5800自动生化仪;血清BALP、OPG、RANKL浓度使用Synergy2多功能酶标仪进行ELISA检测,取450nm波长处的OD值,计算浓度。

1.3.2 L3椎体BMD检测及骨微结构检测 在Micro-CT扫描仪校准后,将L3椎体沿长轴固定,设置曝光时

间200 ms,分辨率为9 μm ,扫描方向为L3椎体长轴,扫描得到HDR格式图像,通过配套软件Inveon Research WorkplASe进行处理,选取L3椎体中部50层图像的区域为松质骨感兴趣区域进行分析处理,相关参数包括BMD、骨体积分数(bone volume per tissue volume, BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)和骨小梁分离度(trabecular separation, Tb.Sp)。

1.3 统计学方法

采用GraphPad Prism 9软件进行统计学分析和作图。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对所有连续变量进行正态性检验,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行四组间差异分析,事后组间两两比较采用Tukey检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清中钙磷离子及BALP的含量

干预8周后,对各组大鼠血清Ca、P、BALP含量进

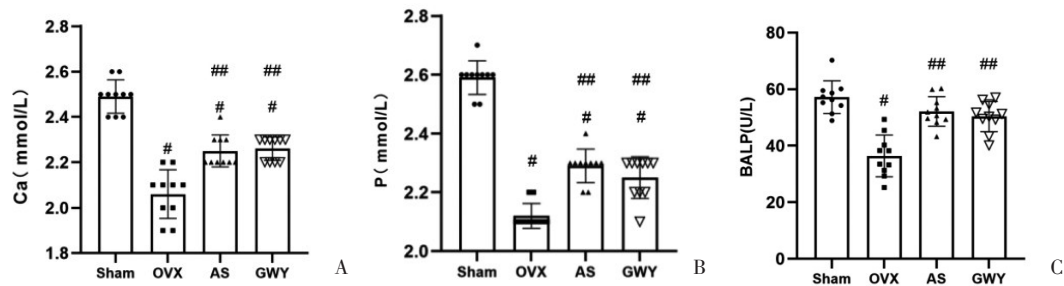


图1 各组大鼠血清Ca、P、BALP的含量

Figure 1 Content of Ca, P, and BALP in the serum of rats in each group
注: #表示与Sham组相比, $P < 0.05$; ##表示与OVX组相比, $P < 0.05$ 。

2.2 各组血清OPG、RANKL含量

干预8周后,对各组大鼠血清OPG、RANKL含量进行统计分析,结果如图2、表2所示,各组血清OPG、RANKL含量及OPG/RANKL间的差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。进一步经两两分析结果显示,与Sham组比较,OVX组血清OPG含量显著降低($P < 0.05$),RANKL含量显著升高($P < 0.05$),OPG/RANKL含量显著降低($P < 0.05$);与OVX组比较,AS组和GWY组OPG含量显著升高($P < 0.05$),RANKL含量显著降低($P < 0.05$),OPG/RANKL含量显著升高($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠BMD检测及腰椎骨微结构情况

干预8周后,对各组大鼠BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp进行统计分析,结果如表3、图3所示,各组BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。进一步经两两分析结果显示,与Sham组相比,AS组、GWY组腰椎BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N显著降低($P < 0.05$),Tb.Sp提高($P < 0.05$)。与OVX组相比较,GWY组、AS组腰椎BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N增加($P < 0.05$),Tb.Sp下降($P < 0.05$)。

行统计分析,结果如图1及表1所示:四组大鼠血清中Ca、P、BALP含量间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。进一步采用两两分析,结果显示:OVX组、AS组和GWY组血清Ca、P、BALP含量与Sham组相比,均明显降低($P < 0.05$);AS组和GWY组血清Ca、P、BALP含量较OVX组明显增加($P < 0.05$),但AS组与GWY组组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠血清Ca、P、BALP的含量($n = 10$)

Table 1 Content of Ca, P, and BALP in the serum of rats in each group ($n = 10$)

组别	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)	BALP(U/L)
Sham组	2.49 \pm 0.07	2.59 \pm 0.04	57.15 \pm 5.79
OVX组	2.06 \pm 0.10 ^a	2.12 \pm 0.04 ^a	36.39 \pm 7.37 ^a
AS组	2.25 \pm 0.07 ^{ab}	2.29 \pm 0.05 ^{ab}	52.13 \pm 5.25 ^b
GWY组	2.26 \pm 0.05 ^{ab}	2.25 \pm 0.07 ^{ab}	50.30 \pm 5.33 ^b
F	50.22	119.5	21.95
P	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

注: a表示与Sham组相比, $P < 0.05$; b表示与OVX组相比, $P < 0.05$ 。

表2 各组大鼠血清OPG、RANKL含量及其比值($n = 10$)

Table 2 Contents and ratios of OPG and RANKL in serum of rats in different groups ($n = 10$)

组别	OPG(ng/L)	RANKL(pmol/L)	OPG/RANKL
Sham组	502.61 \pm 26.07	98.02 \pm 5.58	5.13 \pm 0.10
OVX组	416.52 \pm 24.76 ^a	120.88 \pm 7.04 ^a	3.45 \pm 0.26 ^a
AS组	489.35 \pm 28.55 ^b	106.97 \pm 7.52 ^{ab}	4.56 \pm 0.28 ^{ab}
GWY组	481.35 \pm 25.62 ^b	103.93 \pm 8.94 ^b	4.64 \pm 0.25 ^{ab}
F	14.92	17.30	89.50
P	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

注: a表示与Sham组相比, $P < 0.05$; b表示与OVX组相比, $P < 0.05$ 。

3 讨论

本研究结果显示,骨痠愈方改善了去卵巢大鼠血清Ca、P、BALP含量,提高了腰椎骨密度、改善骨微结构形态,增强成骨细胞活性以促进骨形成,同时可提高OPG表达、降低RANKL表达,上调OPG/RANKL因子的比例,通过激活OPG/RANK/RANKL信号通路以抑制骨吸收,促进骨形成,重塑骨代谢平衡而改善骨质疏松。

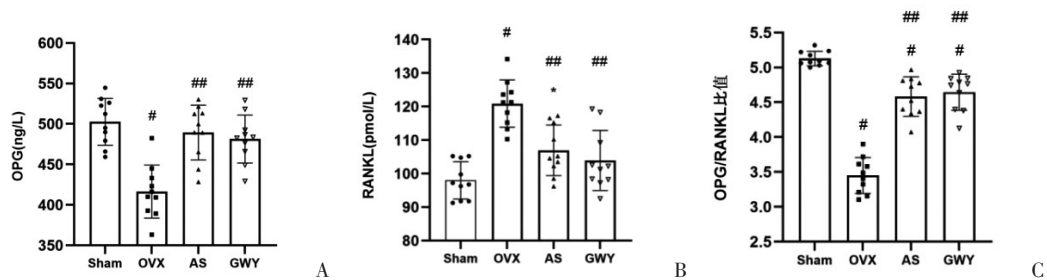


图2 各组大鼠血清 OPG、RANKL 含量及其比值

Figure 2 Contents and ratios of OPG and RANKL in serum of rats in different groups
注: #表示与 Sham 组相比, $P < 0.05$; ##表示与 OVX 组相比, $P < 0.05$ 。

表3 各组大鼠腰椎骨密度及骨微结构参数比较 ($n = 10$)

Table 3 Comparison of lumbar bone density and bone microstructure parameters of rats in different groups ($n = 10$)

组别	BMD(g/cm^2)	BV/TV (%)	Tb.Th(μm)	Tb.N (1/mm)	Tb.Sp (μm)
Sham 组	0.44 ± 0.03	45.95 ± 2.90	57.28 ± 4.54	5.21 ± 0.37	172.49 ± 19.11
OVX 组	0.20 ± 0.02^a	22.82 ± 2.02^a	40.01 ± 3.15^a	2.79 ± 0.25^a	307.65 ± 22.22^a
AS 组	0.30 ± 0.01^{ab}	31.39 ± 2.07^{ab}	49.11 ± 3.14^{ab}	4.48 ± 0.29^{ab}	248.01 ± 22.37^{ab}
GWY 组	0.29 ± 0.01^{ab}	29.25 ± 2.64^{ab}	47.58 ± 3.23^{ab}	4.25 ± 0.23^{ab}	260.06 ± 21.79^{ab}
<i>F</i>	198.8	161.0	39.37	122.2	68.31
<i>P</i>	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

注: a表示与 Sham 组相比, $P < 0.05$; b表示与 OVX 组相比, $P < 0.05$ 。

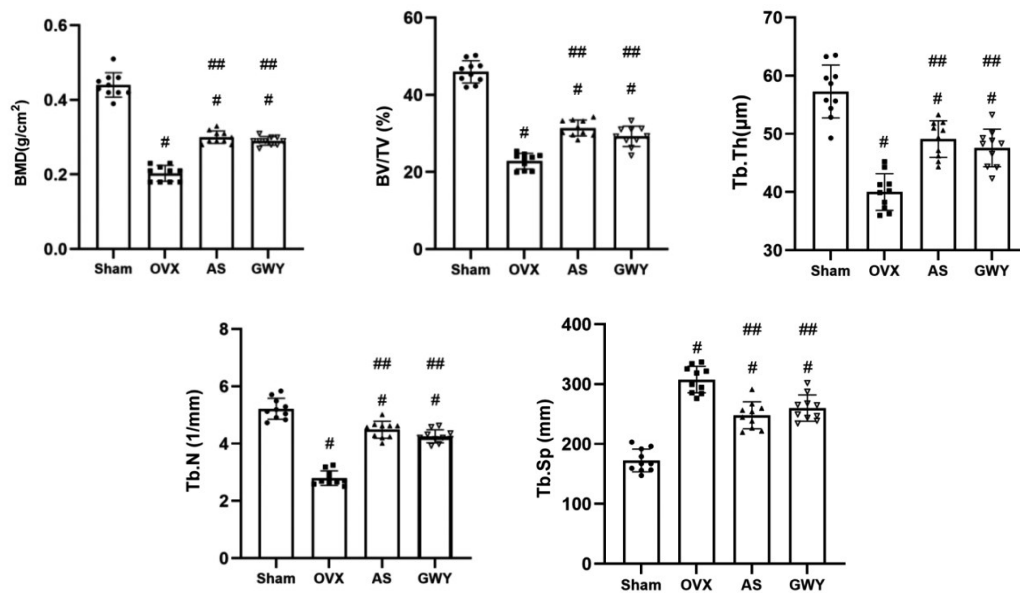


图3 各组大鼠腰椎 Micro-CT 检测结果

Figure 3 Micro-CT examination results of lumbar spine in rats from different groups
注: #表示与 Sham 组相比, $P < 0.05$; ##表示与 OVX 组相比, $P < 0.05$ 。

安洪^[9]曾发表专家述评表示骨质疏松的药物治疗必须个体化,并采取推荐的健康生活方式。肾虚血瘀是 PMOP 的主要病因病机,肾精亏虚,骨髓化生无源致骨枯髓减,必然导致骨痿的发生;而中老年妇女形体、气血渐衰,血行不畅,易致瘀血留滞经脉,进而加重骨痿的发展。骨痿愈方在六味地黄丸的基础上,增加了补益肝肾、活血行气、化瘀通络等临床经验用药,共奏补益肝肾、填髓壮骨、活络止痛之功,此与 PMOP 的中医病因病机要点巧妙相符。现代研究也证实了单味中药、中药复方及与常规西药联合应用可协同性地提高

PMOP 患者的骨密度、改善临床症状^[10]。

临床研究发现,骨碎补总黄酮能够通过提高骨密度和改善骨结构等方式来治疗卵巢切除所致的骨质疏松^[11-12],六味地黄丸经数百年医家临床应用,疗效确切,是治疗肾虚型骨痿的代表方药^[13]。同时研究证实六味地黄丸可通过多成分、多靶点、多通路调节骨代谢、细胞增殖分化、炎症反应等以防治骨质疏松^[14-15];秧荣昆等^[16]研究表明,杜仲能通过补肾改善去卵巢大鼠的钙磷代谢,以及激活 OPG/RANK/RANKL 通路而改善骨代谢、调节骨重建,从而防治 PMOP;淫羊藿苷可通

过改善雌激素功能障碍、调节 OPG/RANK/RANKL 信号通路促进成骨细胞生长、改善骨代谢、重塑平衡而治疗 PMOP^[17-18]; 川芎提取物可促进类成骨细胞 UMR106 分化与增殖, 促进骨形成, 防止骨丢失^[19]; 肉苁蓉苷 A 可通过影响 Wnt/ β -catenin 信号通路调控成骨细胞自噬促进分化与矿化, 促进骨形成而发挥抗骨质疏松的作用^[20]; 龟甲可通过抑制 NF- κ B 通路及激活 Wnt/ β -Catenin 信号通路发挥抗炎、促进成骨分化而抗骨质疏松^[21-22]。王丹等^[23]基于数据挖掘研究中药治疗股骨头坏死和骨质疏松“异病同治”的用药规律与机理, 结果表明股骨头坏死和骨质疏松的临床治疗中都常应用补虚药和活血化瘀药, 骨质疏松则会应用熟地黄、黄芪和山药以益气养阴。

骨保护素(OPG)作为一种可溶性糖蛋白, 在成骨细胞、骨髓基质细胞等细胞膜上高表达, 可抑制破骨细胞分化、增殖及吸收活性^[24-25]。鲁林等^[26]研究结果表明, 骨碎补总黄酮对去卵巢骨质疏松大鼠股骨组织中 OPG 和 BMP-2 表达的影响显著升高。RANK 是存在于破骨前体细胞、破骨细胞细胞膜上的一种 I 型跨膜蛋白, 也是目前已知的 RANKL 唯一受体; RANKL 则是一种存在于成骨细胞、骨膜细胞及淋巴细胞膜上的 II 型跨膜蛋白, RANKL 与 RANK 因子结合, 可直接促进破骨细胞的增殖与分化, 增强骨吸收活性^[27]。作为 RANKL 的天然抑制剂, OPG 更易与 RANK 结合^[28], 有效减弱 RANKL 和 RANK 的相互作用, 进而抑制破骨细胞的增殖与分化, 促进破骨细胞的凋亡, 抑制骨吸收^[29]。因此, 当增高 OPG 水平或上调 OPG/RANKL 信号因子的比例, 可抑制破骨细胞的分化成熟及增殖, 降低破骨细胞吸收活性, 使骨形成大于骨吸收, 骨代谢呈正平衡; 反之, 骨吸收大于骨形成, 骨代谢处于负平衡, 骨质疏松加重。所以, OPG/RANK/RANKL 信号通路在维持人体的骨代谢平衡中发挥了极其重要的作用, 治疗骨质疏松的关键在于有效恢复 OPG/RANK/RANKL 信号通路调控因子的正常表达。

4 结论

本研究通过动物实验证实骨痿愈方能通过调控 OPG/RANKL 信号通路治疗绝经后骨质疏松, 为骨痿愈方的临床应用及推广提供了有价值的实验依据。

5 参考文献

- ARCEO-MENDOZA RM, CAMACHO PM. Postmenopausal osteoporosis: latest guidelines[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2021, 50(2): 167-178.
- CLYNES MA, HARVEY NC, CURTIS EM, et al. The epidemiology of osteoporosis[J]. *Br Med Bull*, 2020, 133(1): 105-117.
- 白璧辉, 谢兴文, 李鼎鹏, 等. 我国近 5 年来骨质疏松症流行病学研究现状[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(2): 253-258.
- 史晓林, 吴连国, 等. 绝经后骨质疏松症(骨痿)中医药诊疗指南(2019年版)[J]. *中医正骨*, 2020, 6(2): 1-13.
- 易生辉, 招文华, 任辉, 等. 中西医结合治疗绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(5): 274-282.
- GAMBACCIANI M, LEVANCINI M. Hormone replacement therapy and the prevention of postmenopausal osteoporosis[J]. *Prz Menopauzalny*, 2014, 13(4): 213-220.
- 扶浪, 伍光辉, 罗琳. 骨痿愈方治疗肾虚血瘀型绝经后骨质疏松症的临床疗效观察[J]. *养生保健指南*, 2022(9): 33-36.
- ZHANG ZP, ZHAO QP, LIU TJ, et al. Effect of Vicenin-2 on ovariectomy-induced osteoporosis in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110474.
- 安洪. 重视高龄骨质疏松性脊柱骨折患者的治疗[J]. *西南医科大学学报*, 2018, 41(6): 491-493.
- 陈庆贤, 刘丽霞, 陈青青, 等. 补肾健脾壮骨方联合唑来膦酸对绝经后骨质疏松症骨代谢及预后的影响探究[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(2): 112-114.
- 陈学生, 张洪钦, 陈秋琴, 等. 骨碎补总黄酮对卵巢去势大鼠骨质疏松的干预作用[J]. *中国当代医药*, 2021, 28(10): 4-7, 241.
- 章轶立, 魏戌, 谢雁鸣, 等. 骨碎补总黄酮(强骨胶囊)治疗绝经后骨质疏松症大鼠实验的系统评价[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(12): 1700-1706.
- 王文君. 六味地黄丸治疗绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. *内蒙古中医药*, 2021, 40(12): 146-147.
- 刘兴兴, 郭怡鲲, 艾奇, 等. 基于网络药理学和分子对接技术分析六味地黄丸治疗骨质疏松症的作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(9): 1593-1602, 1538.
- 王洋, 郭万首, 程立明, 等. 六味地黄丸治疗绝经后骨质疏松症疗效的系统评价和 Meta 分析[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(5): 663-670, 688.
- 狭荣昆, 关智宇. 基于肾主骨理论探讨杜仲通过调控 OPG/RANKL/RANK 通路对去势骨质疏松大鼠的影响[J]. *中成药*, 2023, 45(1): 70-74.
- MA ZT, LI XX, CHEN YH, et al. Comprehensive evaluation of the combined extracts of Epimedium Folium and Ligustri Lucidi Fructus for PMOP in ovariectomized rats based on MLP-ANN methods[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 268: 113563.
- 吴祖锋, 袁垒, 吴风晴, 等. 淫羊藿苷对骨质疏松症模型大鼠 OPG/RANKL/RANK 轴系统影响的实验研究[J]. *甘肃中医药大学学报*, 2016, 33(3): 4-7.
- 李春梅. 丹参、川芎提取物对高脂喂养去卵巢大鼠血脂和骨的作用及机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- 陈桐莹. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路研究肉苁蓉苷 A 调控成骨细胞自噬的机制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- 张玉卓, 尚奇, 沈耿杨, 等. 龟甲水提液调控 NF- κ B 炎症微环境对 MC3T3-E1 成骨分化的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(8): 89-94.
- LI XY, CUI Y, LIN Q, et al. MiR-330-5p in small extracellular vesicles derived from plastrum testudinis-preconditioned bone mesenchymal stem cells attenuates osteogenesis by modulating Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 679345.
- 王丹, 刘一城, 卢锋, 等. 中药治疗股骨头坏死与骨质疏松数据库的构建及“异病同治”机理[J]. *西南医科大学学报*, 2022, 8(2): 139-145.
- SIMONET WS, LACEY DL, DUNSTAN CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density[J]. *Cell*, 1997, 89(2): 309-319.
- 熊燕琴, 周筠, 雷涛. 骨代谢信号通路的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(2): 200-204.
- 鲁林, 方虹. 骨碎补总黄酮抑制 Notch1/Hes1/Prdx1 通路对骨质疏松大鼠抗氧化能力的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(10): 1431-1436.
- LIU CZ, WALTER TS, HUANG P, et al. Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling[J]. *J Immunol*, 2010, 184(12): 6910-6919.
- HEMSHEKHAR M, THUSHARA RM, KUMAR SKN, et al. Bone degeneration, inflammation and secondary complications of arthritis: potential targets and their natural inhibitors[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2018, 18(3): 244-275.
- MENG BW, WU DL, CHENG YF, et al. Interleukin-20 differentially regulates bone mesenchymal stem cell activities in RANKL-induced osteoclastogenesis through the OPG/RANKL/RANK axis and the NF- κ B, MAPK and AKT signalling pathways[J]. *Scand J Immunol*, 2020, 91(5): e12874.

(利益冲突: 无)

(收稿日期: 2023-12-12; 修回日期: 2024-03-08)