

基于Nrf2/HO-1信号通路探讨褪黑素对去卵巢大鼠氧化应激损伤的作用

林煜, 陈齐勇, 肖莉莉, 林丽琼
(福州市第二总医院, 福建 福州 350008)

摘要:目的: 基于Nrf2/HO-1信号通路探讨褪黑素对去卵巢快速骨丢失模型大鼠氧化应激损伤的作用机制。方法: 将24只SD大鼠随机分为假手术组、模型对照组和褪黑素组, 每组8只。双侧卵巢切除术复制快速骨丢失模型, 灌胃干预12周, 双能X线骨密度仪检测骨密度, 苏木素-伊红染色观察骨显微结构, ELISA检测骨代谢指标骨源性碱性磷酸酶(Bone-specific alkaline phosphatase, BAP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(Tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)和氧化应激指标超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、氧化应激指标丙二醛(Malondialdehyde, MDA), 实时荧光定量PCR(Real-time PCR)和蛋白质印迹(Western blot)检测股骨核转录因子E2相关因子2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶-1(Heme oxygenase 1, HO-1)mRNA和蛋白的相对表达水平。结果: 与假手术组比较, 模型对照组大鼠骨密度显著降低, 表明骨丢失模型大鼠构建成功。褪黑素干预12周后, 与模型对照组比较, 褪黑素组骨密度值显著升高($P < 0.01$), 骨小梁数量增加和骨小梁间距缩短, 血清BAP和TRAP含量均降低($P < 0.01$), SOD含量升高和MDA含量降低($P < 0.01$), Nrf2、HO-1的mRNA和蛋白表达水平均显著升高。结论: 褪黑素可激活Nrf2/HO-1信号通路, 降低氧化应激损伤, 改善雌激素水平急剧降低引起的骨量丢失。

关键词: 绝经后骨质疏松症; 褪黑素; 氧化应激; Nrf2/HO-1信号通路

中图分类号: R977.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-7174(2026)02-0112-06

DOI: 10.3969/j.issn.2097-7174.2026.02.002

The effect of melatonin on oxidative stress damage in ovariectomized rats based on the Nrf2/HO-1 signaling pathway

LIN Yu, CHEN Qiyong, XIAO Lili, LIN Liqiong
(Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350008)

Abstract: Objective: To explore the mechanism of melatonin on oxidative stress damage in rats with rapid bone loss after ovariectomy based on the Nrf2/HO-1 signaling pathway. **Methods:** A total of 24 SD rats were randomly divided into a sham operation group, a model control group, and a melatonin-treated group, with 8 rats in each group. Bilateral oophorectomy was performed to replicate a rapid bone loss model, followed by gastric intervention for 12 weeks. Bone density was measured using a dual energy X-ray absorptiometry, and bone microstructure was observed using hematoxylin-eosin staining. ELISA was used to detect bone metabolism indicators including bone-specific alkaline phosphatase (BAP), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), and oxidative stress indicators such as superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA). Real-time PCR and Western blot were used to detect the relative mRNA and protein expression levels of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) in the femur. **Results:** Compared with the sham operation group, the bone mineral density of rats in the model control group decreased significantly, indicating that the rat model of bone loss was successfully established. After 12 weeks of melatonin intervention, compared with the model control group, the BMD of the melatonin group was significantly increased ($P < 0.01$); the

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2022J011313)

作者简介: 林煜, 男, 博士, 副主任医师, 研究方向: 骨代谢疾病的基础与临床研究。E-mail: linyu980945@163.com

通信作者: 肖莉莉, 女, 本科, 主任医师, 研究方向: 骨代谢疾病的基础与临床研究。E-mail: 372451778@qq.com

number of trabeculae increased and the trabecular spacing shortened; the serum BAP and TRAP were both decreased ($P < 0.01$); SOD was increased and MAD content was decreased ($P < 0.01$); and the mRNA and protein expression levels of Nrf2 and HO-1 were significantly increased. **Conclusion**: Melatonin can activate the Nrf2/HO-1 signaling pathway, reduce oxidative stress damage, and improve bone loss caused by a sharp decrease in estrogen levels.

Key words: Postmenopausal osteoporosis; Melatonin; Oxidative stress; Nrf2/HO-1 signaling pathway

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal osteoporosis, PMOP)是一种常见于绝经后女性的疾病。其主要原因是雌激素水平急剧下降,导致全身骨量降低和骨组织结构改变,骨脆性增加导致骨折风险大幅升高,骨折引起的疼痛、骨骼变形及合并症会严重影响中老年女性的生活质量^[1]。骨重建由成骨细胞主导的骨形成与破骨细胞主导的骨吸收共同组成,PMOP中骨吸收量远超新骨形成量,处于负平衡状态,从而造成骨量快速大量丢失。有研究^[2-4]表明,过度的氧化应激在PMOP中发挥重要作用,机体内自由基的过量堆积,打破氧化和抗氧化的平衡状态,持续的氧化应激可引起成骨细胞的损伤甚至凋亡^[5],同样可促进破骨细胞增殖分化^[6],从而促进疾病的发生和发展。

核转录因子E2相关因子2(Nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应元件(Antioxidant response elements, ARE)信号通路是抗氧化应激的重要路径^[7],氧化应激损伤可促进下游血红素加氧酶-1(Heme oxygenase-1, HO-1)和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)等表达,通过抗氧化应激发挥保护细胞作用。褪黑素(Melatonin, MT)是松果体分泌的吲哚类激素,具有维持机体昼夜节律性和调节睡眠等生理功能,近年来大量研究表明,其可维持骨代谢的动态平衡,促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞活性,对PMOP的骨量流失起保护作用^[8-10],然而是否通过抗氧化应激发挥抗骨质疏松作用有待研究。基于此,本研究通过建立大鼠快速骨丢失模型,以Nrf2/HO-1信号通路为切入点,探讨褪黑素对卵巢切除大鼠过度氧化应激的影响,为褪黑素防治PMOP提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级3月龄雌性SD大鼠24只,(200±20)g,购自上海杰思捷实验动物有限公司,合格证编码20210004027331,饲养于福建省中医药科学院比较医学中心,实验动物生产许可证号[SCXK(沪)2018-0004]和使用许可证号[SYXK(闽)2016-0005],采用标准饲料喂食保证营养需要,适应性喂养1周后

进行实验。本研究经福州市第二总医院伦理委员会审批(编号:2021068013)。

1.2 实验药物 褪黑素,批准文号:国药准字J20130085,产品批号:T014466。

1.3 主要试剂与仪器 4%组织细胞固定液(北京索莱宝科技有限公司,批号P1110);EDTA脱钙液(pH 7.2)(Biosharp,批号BL616B);大鼠骨特异性碱性磷酸酶(上海酶联生物科技有限公司,货号ml037086);大鼠抗酒石酸酸性磷酸酶试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号ml106987);TransScript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(北京全式金生物技术,批号AU341-02);PerfectStart® Fast Green qPCR SuperMix(北京全式金生物技术,批号AQ611-01);β-actin rabbit mAb(爱博泰克生物,批号AC038);NRF2 rabbit pAb(爱博泰克生物,批号A0674);Heme oxygenase 1 rabbit pAb(爱博泰克生物,批号A1346);酶标仪(BIO-TEK,型号LX-800);双能X线骨密度仪(HOLOGIC,型号Discovery Wi);石蜡切片机(德国徕卡,型号RM2235);正置显微镜(德国徕卡,型号ivesta 3);Real-time PCR(ABI,型号7500 Fast)。

1.4 方法

1.4.1 模型制备 将24只SD大鼠按照随机数字法分为3组:假手术组(Sham)、模型对照组(OVX)和褪黑素组(OVX+MT),每组8只。模型对照组和褪黑素组双侧卵巢切除术制备大鼠快速骨丢失模型,禁食不禁水12h,称量体重,戊巴比妥钠40 mg/kg腹腔注射全身麻醉,腹部备皮,作前正中切口进入腹腔,结扎并彻底切除双侧卵巢,缝合,肌注青霉素钠预防术后感染;相同操作方法只切除卵巢周边脂肪组织作为假手术组。

1.4.2 药物干预和取材 术后褪黑素组按照100 mg/(kg·d)褪黑素进行口服^[8],假手术组和模型对照组使用等量生理盐水灌胃,连续干预12周;大鼠麻醉后仰卧位固定,打开腹腔,无菌纱布推开肠道,充分暴露腹主动脉,采血针刺取血;眼科剪和眼科镊清除股骨和胫骨周围肌肉组织,并保持骨组织完整,超低温保存待检。

1.4.3 骨密度 剔除肌肉组织,生理盐水浸湿纱布包裹胫骨,-20℃保存备检;彻底恢复至常温并保持胫骨表面湿润,放置于扫描床固定位置,骨密度仪通过每日校准质检,变异系数(Coefficient of variation, CV)为0.307%,选择小动物高分辨扫描模式进行扫描,扫描结束后划分骨骺线下方固定感兴趣区域(Region of interest, ROI)测量骨密度值。

1.4.4 苏木素-伊红染色 胫骨置于4%组织细胞固定液48h, EDTA脱钙液3d更换1次直到脱钙完成,水洗胫骨,自动脱水机进行脱水、透明和浸蜡,石蜡包埋;5μm切片,摊片,捞片,石蜡切片脱蜡复水,苏木素染色20min,水洗,分色,镜下控制,水洗,伊红染色1min,水洗,中性树脂封片,光镜观察并拍照。

1.4.5 ELISA 全血静置3h,离心机1000rpm离心15min,离心半径10cm,吸取上层血清待检;按照说明书要求加标准品和样本,加酶标试剂100μL,

37℃孵育60min,弃液并控干,洗涤液洗涤,依次加入显色剂A和B各50μL,37℃避光孵育15min,加终止液终止反应;酶标仪测定吸光度,根据标准品光密度值(Optical density, OD)制作标准曲线,计算骨代谢指标骨源性碱性磷酸酶(Bone-specific alkaline phosphatase, BAP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(Tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)、氧化应激指标丙二醛(Malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)的含量。

1.4.6 实时荧光定量PCR (Real-time PCR) 股骨超低温研磨成粉末, TRIzol法提取总RNA,检测OD 260/280nm吸光度,逆转录为cDNA,-20℃保存备检;基因引物见表1, SYBR Green 20μL反应体系,95℃15s,95℃30s,60℃30s,40个循环作为反应条件,以β-actin基因作为内参,2^{-ΔΔCT}法计算Nrf2和HO-1基因的mRNA相对表达水平。

表1 引物序列

基因	引物序列	产物长度/bp
β-actin	正向5'-ACATCCGTAAGACCTCTATGCC-3'	223
	反向5'-TACTCCTGCTTGCTGATCCAC-3'	
Nrf2	正向5'-ATGCCTTCCTGCTGCCATTAG-3'	116
	反向5'-ACCGTGCCTTCAGTGTGCTTC-3'	
HO-1	正向5'-TGACAGAGGAACACAAAGACCAGAG-3'	109
	反向5'-CTAAGGAGAGCAGAAGCCAAGAGG-3'	

1.4.7 蛋白质印迹(Western blot) 股骨超低温研磨成粉末,提取总蛋白,BCA定量法测蛋白浓度;蛋白样本加入5×Loading buffer变性,-20℃保存备检;蛋白样本通过SDS-PAGE电泳,转膜,脱脂奶粉封闭,分别加入1:10000稀释的β-actin、1:1000稀释的Nrf2和HO-1一抗4℃摇床过夜, TBST洗涤,1:1000二抗室温摇床60min, TBST洗涤,显影, ImageJ分析条带灰度值,以β-actin为内参,计算Nrf2和HO-1的蛋白相对表达水平。

1.5 统计学处理 采用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验,方差不齐采用Tamhane检验。检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 褪黑素对去卵巢大鼠骨密度的影响 与假手术组比较,模型对照组大鼠骨密度显著降低($P < 0.05$);与模型对照组比较,褪黑素组骨密度显著升高

($P < 0.05$),仍然低于假手术组。见表2。

2.2 褪黑素对去卵巢大鼠骨组织结构的影响 假手术组可见胫骨近端骨骺线下方区域内骨小梁数量多、骨小梁间距小、排列规则、互相连接;模型对照组骨小梁显著稀疏、骨小梁间距显著加大,骨小梁连接断裂,髓腔内显著脂滴聚集;与模型对照组相比,褪黑素组骨小梁数量增加、间距缩小、排列相对规则,髓腔内脂滴数量同样减少。见图1。

表2 3组大鼠骨密度比较($g/cm^2, \bar{x} \pm s$)

组别	n	骨密度
假手术组	8	0.33±0.01
模型对照组	8	0.27±0.01 ^①
褪黑素组	8	0.31±0.01 ^{①②}
F		25.675
P		0.012

注:与假手术组比较,^① $P < 0.05$;与模型对照组比较,^② $P < 0.05$ 。

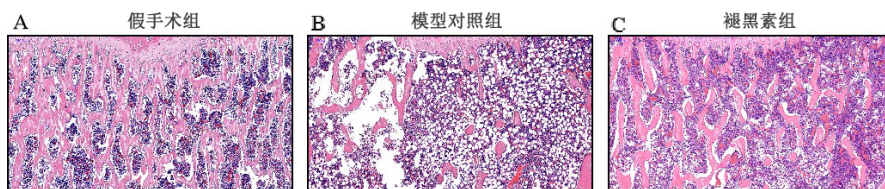


图1 股骨近端骨组织苏木素-伊红染色结果(50×)

2.3 褪黑素对去卵巢大鼠血清骨代谢指标的影响

与假手术组比较,模型对照组和褪黑素组血清中骨形成指标BAP和骨吸收指标TRAP含量均增高($P<0.01$);与模型对照组比较,褪黑素组BAP和TRAP含量均降低($P<0.01$)。见表3。

2.4 褪黑素对去卵巢大鼠血清氧化应激指标的影响

与假手术组比较,模型对照组和褪黑素组血清MDA含量增高($P<0.01$),SOD含量降低($P<0.01$);与模型对照组比较,褪黑素组MDA含量降低($P<0.05$),SOD含量增高($P<0.01$)。见表4。

2.5 褪黑素对去卵巢大鼠 Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达的影响

与假手术组比较,模型对照组骨组织 Nrf2 和 HO-1 mRNA 相对表达水平均降低($P<0.01$);与模型对照组比较,褪黑素组 Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达均升高($P<0.05$),仍低于假手术组。见图2。

2.6 褪黑素对去卵巢大鼠 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

与假手术组比较,模型对照组骨组织 Nrf2 和 HO-1 的蛋白相对表达水平均降低($P<0.01$);与模型对照组比较,褪黑素组 Nrf2 和 HO-1 的蛋白相对表达水平均升高($P<0.01$)。见图3。

表3 3组大鼠血清骨代谢指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BAP(ng/mL)	TRAP(ng/mL)
假手术组	8	72.73±9.46	23.34±1.58
模型对照组	8	164.50±13.94 ^①	36.12±1.28 ^①
褪黑素组	8	124.15±9.66 ^{①②}	31.01±2.01 ^{①②}
F		42.253	45.736
P		<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^① $P<0.01$;与模型对照组比较,^② $P<0.01$ 。

表4 3组大鼠血清氧化应激指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	MDA(nmol/L)	SOD(U/L)
假手术组	8	11.81±1.50	33.44±2.21
模型对照组	8	22.39±2.65 ^①	15.62±2.07 ^①
褪黑素组	8	18.33±2.37 ^{①②}	23.53±1.89 ^{①②}
F		41.236	47.436
P		<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^① $P<0.01$;与模型对照组比较,^② $P<0.01$ 。

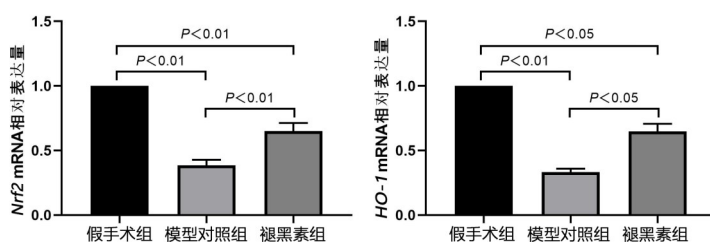


图2 3组大鼠骨组织 Nrf2 和 HO-1 mRNA 相对表达水平

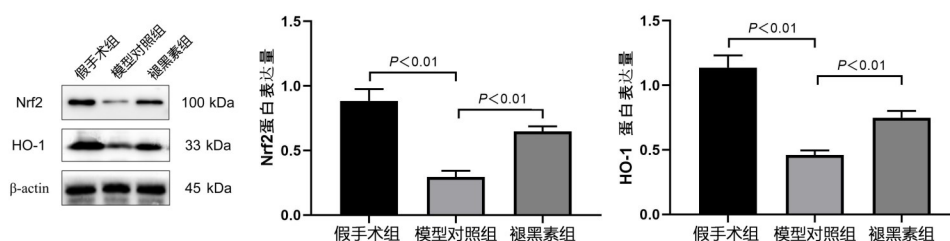


图3 3组大鼠骨组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白相对表达水平

3 讨论

绝经后女性雌激素水平的骤降是PMOP发病的关键初始因素,并且雌激素与氧化应激(Oxidative stress, OS)关系密切^[11-12],机体雌激素水平急剧降低引起抗氧化系统的清除能力降低,活性氧(Reactive oxygen species, ROS)包括 H_2O_2 、OH \cdot 和 $O_2\cdot^-$ 等高化学反应的活性分子大量蓄积可导致线粒体结构受损,触发内质网应激。内质网是极为重要的细胞器,是蛋白质合成、折叠和加工的主要场所,而持续的未折叠蛋白反应可引起成骨细胞骨基质合成功能障碍甚至凋亡、骨髓间充质干细胞的成骨分化受损和破骨细胞活跃^[13-15],骨吸收量显著强于骨形成量,引起骨重建负平衡,从而导致PMOP的发生。近年来研究显示氧化应激与骨代谢关系密切^[16],异常的氧化应激在增强破骨细胞的生成和骨吸收活性的同时^[17],可降低成骨细胞的数量和骨形成活性^[18],抗氧化应激反应的物质可调控骨代谢发挥抗骨质疏松作用。

Nrf2/ARE信号通路是机体调控氧化应激动态平衡的核心路径之一^[19],Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, KEAP1)是氧化应激的传感器,生理状态下与转录因子Nrf2结合促使其泛素化并降解,强烈氧化应激促使KEAP1与Nrf2解离,Nrf2入核与ARE结合并启动下游相关抗氧化应激基因 $HO-1$ 等转录,提高细胞抗氧化能力以避免氧化应激损伤。 $Nrf2^{-/-}$ 小鼠骨髓ROS含量升高,破骨细胞分化活性增强,骨转换速率加快和骨吸收占主导地位,从而出现股骨骨密度降低和椎骨皮质骨面积减少^[20];通过激活Nrf2/ARE信号通路可缓解成骨细胞的氧化应激损伤和凋亡^[21]。 $HO-1$ 具备抗氧化应激和抗凋亡特性的同时也是维持骨稳态平衡的重要因子^[22],其在骨髓中高表达, $HO-1$ 的代谢产物总胆红素与无潜在肝病的绝经后妇女骨密度呈正相关^[23],人骨髓间充质干细胞过表达 $HO-1$ 可促进成骨分化和骨形成^[24]。本研究结果显示,与假手术组比较,模型对照组骨密度值显著降低($P<0.05$),骨小梁数量减少和骨小梁间变大,血清BAP和TRAP含量均上升($P<0.01$),SOD含量降低和MAD含量升高($P<0.01$),Nrf2、 $HO-1$ 的mRNA和蛋白表达水平均显著降低。

褪黑素由大脑松果体合成和分泌并具有昼夜节律性,最初认为在调节睡眠-觉醒的昼夜节律中发挥重要作用。多项研究发现松果体切除术可诱发

高转换型骨质疏松^[25],进一步通过去卵巢动物模型验证了褪黑素的抗骨质疏松作用^[26],临床随机对照试验显示PMOP患者采用褪黑素治疗1年可增加股骨颈骨密度^[27]。本研究给予褪黑素处理去卵巢快速骨丢失大鼠,观察褪黑素对骨重建和氧化应激相关指标的影响,结果显示与模型对照组比较,褪黑素组骨密度显著升高($P<0.05$),骨小梁数量增加和骨小梁间距缩短,血清BAP和TRAP含量均降低($P<0.01$),MAD含量降低和SOD含量升高($P<0.01$),Nrf2、 $HO-1$ 的mRNA和蛋白表达水平均显著增高。这些结果表明褪黑素可降低去卵巢带来的氧化应激损伤。

综上所述,通过去卵巢大鼠实验证明褪黑素可通过激活Nrf2/ $HO-1$ 信号通路有效缓解过度氧化应激损伤,改善骨重建负平衡以发挥抗骨质疏松作用。未来研究需进一步探讨其对成骨细胞、骨髓间充质干细胞和破骨细胞的具体作用机制。

所有作者均声明不存在利益冲突关系。

参考文献:

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2022, 15(6): 573-611.
- [2] Marcucci G, Domazetovic V, Nediani C, et al. Oxidative stress and natural antioxidants in osteoporosis: novel preventive and therapeutic approaches [J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(2): 373.
- [3] Mohamad N V, Ima-Nirwana S, Chin K Y. Are oxidative stress and inflammation mediators of bone loss due to estrogen deficiency? a review of current evidence [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(9): 1478-1487.
- [4] Zhong M, Wu Z, Chen Z, et al. Advances in the interaction between endoplasmic reticulum stress and osteoporosis [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 165: 115134.
- [5] Chen L, Hu S L, Xie J, et al. Proanthocyanidins-mediated Nrf2 activation ameliorates glucocorticoid-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in osteoblasts [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 9102012.
- [6] 赵杰,温夏楠,林晓洁. 大黄素调控Nrf2表达对脂多糖诱导RAW_{264.7}细胞破骨分化的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2025, 36(1): 9-16.
- [7] 杨宽,刘进进,安晋阳,等. 核因子E2相关因子2/抗氧化反应元件信号通路在 H_2O_2 致MC3T3-E1细胞成骨分

- 化损伤中的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(6):853-858.
- [8] 关焕帅,曹若木,赵奕威,等. 褪黑素对卵巢摘除大鼠体内炎症状态及BMSCs成骨能力影响的研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2023, 37(8):1011-1020.
- [9] 申恩谱,黄霸,刘丹平,等. 褪黑素预处理的骨髓间充质干细胞外泌体促进骨髓间充质干细胞成骨[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(30):4800-4805.
- [10] Zhou L, Chen X, Yan J, et al. Melatonin at pharmacological concentrations suppresses osteoclastogenesis *via* the attenuation of intracellular ROS[J]. *Osteoporos Int*, 2017, 28(12):3325-3337.
- [11] 徐昊. 雌激素对小鼠成骨细胞MC3T3-E1氧化应激损伤的保护作用及机制探究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(6):824-830.
- [12] 李微,张博,张雨薇,等. 雌激素调节骨代谢作用的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(2):262-266.
- [13] Chen M, Wang D, Li M, et al. Nanocatalytic bio-functional MOF coating on titanium implants promotes osteoporotic bone regeneration through cooperative pro-osteoblastogenesis MSC reprogramming [J]. *ACS Nano*, 2022, 16(9):15397-15412.
- [14] Zhang L, Bao D, Li P, et al. Particle-induced SIRT1 downregulation promotes osteoclastogenesis and osteolysis through ER stress regulation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:300-306.
- [15] 寇耀晖,吴昊. 内质网应激参与低氧诱导的小鼠骨髓间充质干细胞凋亡[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(10):1403-1407.
- [16] 李文广,谢兴文,李宁,等. 氧化应激反应影响骨质疏松症的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30(12):80-84.
- [17] Wauquier F, Leotoing L, Coxam V, et al. Oxidative stress in bone remodelling and disease[J]. *Trends Mol Med*, 2009, 15(10):468-477.
- [18] 李钺,谢炜星,晋大祥,等. 激活AMPK保护氧化应激条件下成骨细胞的作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(3):407-410.
- [19] Wang G, Ma C, Chen K, et al. Cycloastragenol attenuates osteoclastogenesis and bone loss by targeting RANKL-induced Nrf2/Keap1/ARE, NF- κ B, calcium, and NFATc1 pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12:810322.
- [20] Ibáñez L, Ferrándiz M L, Brines R, et al. Effects of Nrf2 deficiency on bone microarchitecture in an experimental model of osteoporosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014:726590.
- [21] Zheng Y H, Yang J J, Tang P J, et al. A novel Keap1 inhibitor iKeap1 activates Nrf2 signaling and ameliorates hydrogen peroxide-induced oxidative injury and apoptosis in osteoblasts[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(7):679.
- [22] Zhou X, Yuan W, Xiong X, et al. HO-1 in bone biology: potential therapeutic strategies for osteoporosis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:791585.
- [23] Bian L Q, Li R Z, Zhang Z Y, et al. Effects of total bilirubin on the prevalence of osteoporosis in postmenopausal women without potential liver disease[J]. *J Bone Miner Metab*, 2013, 31(6):637-643.
- [24] Barbagallo I, Vanella A, Peterson S J, et al. Overexpression of heme oxygenase-1 increases human osteoblast stem cell differentiation[J]. *J Bone Miner Metab*, 2010, 28(3):276-288.
- [25] Aota Y, Terayama H, Saito T, et al. Pinealectomy in a broiler chicken model impairs endochondral ossification and induces rapid cancellous bone loss [J]. *Spine J*, 2013, 13(11):1607-1616.
- [26] Xu L, Zhang L, Wang Z, et al. Melatonin suppresses estrogen deficiency-induced osteoporosis and promotes osteoblastogenesis by inactivating the NLRP3 inflammasome[J]. *Calcif Tissue Int*, 2018, 103(4):400-410.
- [27] Amstrup A K, Sikjaer T, Heickendorff L, et al. Melatonin improves bone mineral density at the femoral neck in postmenopausal women with osteopenia: a randomized controlled trial[J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(2):221-229.

(收稿:2025-05-23)(修回:2025-08-27)

(责任编辑:何明)