

· 基础研究 ·

两种中药制剂对大鼠骨质疏松模型的影响

陶琳^{1a}, 王克强^{1b}, 王玫^{2a}, 梁军^{1a}, 刘振兴^{2b}

(1. 济南市第二妇幼保健院 1a: 药剂科, 1b: 器械科, 山东济南 271199; 2. 山东第一医科大学附属人民医院 2a: 药剂科, 2b: 创伤骨科, 山东济南 271199)

摘要: [目的] 探讨两种中药制剂, 即右归和补益, 对骨质疏松症模型大鼠骨代谢、骨生物力学的影响。[方法] 48 只雌性 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、右归组和补益组, 每组 12 只。假手术组动物不切除两侧卵巢, 仅将卵巢周围的脂肪切除; 其他动物切除双侧卵巢。术后 2 周所有动物每日上午灌胃 1 次, 连续灌胃 12 周, 右归组和补益组分别给予相应中药汤剂, 药量为每次 0.875 ml/100 g; 假手术组、模型组以等量的 0.9% 氯化钠溶液。12 周后, 采集血液和 24 h 内尿液, 取左侧股骨进行骨密度及骨生物力学测试。[结果] 模型组尿 Ca/Cr [(0.6±0.3) vs (0.4±0.1), $P<0.05$] 和尿 P/Cr [(0.7±0.2) vs (0.5±0.1), $P<0.05$] 显著高于假手术组; 补益组 Ca/Cr [(0.3±0.1) vs (0.5±0.2) vs (0.4±0.1), $P<0.05$] 和 P/Cr [(0.3±0.2) vs (0.6±0.3) vs (0.5±0.1), $P<0.05$] 显著低于右归组和假手术组。模型组 ALP 水平显著高于假手术组、补益组和右归组 [(193.4±9.2) U/L vs (128.6±10.4) U/L vs (110.4±9.8) U/L vs (128.9±8.5) U/L, $P<0.05$]; 而模型组的 PINP [(186.5±20.3) pg/ml vs (238.9±18.6) pg/ml vs (235.9±18.6) pg/ml vs (207.6±21.1) pg/ml, $P<0.05$] 和 BMP-2 [(10.5±0.1) pg/ml vs (15.8±0.2) pg/ml vs (15.7±0.3) pg/ml vs (13.2±0.4) pg/ml, $P<0.05$] 显著低于其他三组。补益组 ALP 水平显著低于其他组, 而 PINP、BMP-2 浓度高于模型组和右归组 ($P<0.05$), 与假手术组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。补益组骨密度、最大载荷、最大位移显著高于模型组、右归组 ($P<0.05$), 与假手术组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。[结论] 补肾健脾、益精填髓法具有对抗骨质疏松的效果。

关键词: 骨质疏松, 补肾健脾益精填髓灌味剂, 右归丸灌味剂, 骨代谢标志物, 生物力学

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 20-1880-06

Effect of two Chinese herbal preparations on osteoporosis model in rats // TAO Lin^{1a}, WANG Ke-qiang^{1b}, WANG Mei^{2a}, LIANG Jun^{1a}, LIU Zhen-xing^{2b}. 1a. Department of Pharmacy, 1b. Department of Armory, Jinan Second Maternal and Child Health Hospital, Jinan 271199, China; 2a. Department of Pharmacy, 2b. Department of Traumatic Orthopaedics, People's Hospital, Shandong First Medical University, Jinan 271199, China

Abstract: [Objective] To explore the effect of two Chinese herbal preparations, the Yougui and Buyi on bone metabolism and bone biomechanics in the osteoporosis model of rats. [Methods] A total of 48 Wistar female rats were randomly divided into the sham group, model group, Yougui group and Buyi group, with 12 rats in each group. The rats in the sham group had the fat around the ovaries resected only without ovariectomy, while all those in the remaining groups underwent ovariectomy. Two weeks after surgery, all animals were given intragastrically once a day for 12 weeks, the Yougui group and Buyi group received corresponding TCM preparations with dosage of 0.875 ml/100 g/once time, respectively, whereas the sham group and model group were given 0.9% normal saline in the equal volume. After another 12 weeks, urine within 24 h and blood were collected for bone metabolism assay, and the left femur was taken for bone density and bone biomechanics tests. [Results] The model group was significantly higher than the sham group in terms of urine Ca/Cr [(0.6±0.3) vs (0.4±0.1), $P<0.05$] and urine P/Cr [(0.7±0.2) vs (0.5±0.1), $P<0.05$]. However, the Buyi group proved significantly superior to the Yougui group and model group in terms of Ca/Cr [(0.3±0.1) vs (0.5±0.2) vs (0.4±0.1), $P<0.05$] and P/Cr [(0.3±0.2) vs (0.6±0.3) vs (0.5±0.1), $P<0.05$]. The model group was significantly higher in term of ALP level [(193.4±9.2) U/L vs (128.6±10.4) U/L vs (110.4±9.8) U/L vs (128.9±8.5) U/L, $P<0.05$], whereas significantly lower in PINP [(186.5±20.3) pg/ml vs (238.9±18.6) pg/ml vs (235.9±18.6) pg/ml vs (207.6±21.1) pg/ml, $P<0.05$] and BMP-2 [(10.5±0.1) pg/ml vs (15.8±0.2) pg/ml vs (15.7±0.3) pg/ml vs (13.2±0.4) pg/ml, $P<0.05$] than the sham group, Buyi group and Yougui group. The Buyi group had significantly lower ALP level, while significantly higher PINP and BMP-2 than the model group and Yougui group ($P<0.05$), whereas without significant differences with the sham group ($P>0.05$). Moreover, the Buyi group proved significantly superior to the model group and Yougui group in terms of bone mineral density, maximum load and maximum displacement ($P<0.05$), without sig-

nificant differences with the sham group ($P>0.05$). [Conclusion] In this study, the Buyi preparation of Chinese herbal does presents the effect of anti-osteoporosis.

Key words: osteoporosis, Buyi preparation, Yougui preparation, markers of bone metabolism, biomechanics

骨质疏松症是最常见的骨系统疾病之一，与骨折风险增加有关，并给患者带来许多并发症。随着年龄的增长，这种疾病的患病率越来越高，已成为老年人的严重问题^[1]。目前针对骨质疏松的治疗药物主要为双膦酸盐类药物、雌激素、维生素 D 及钙剂等，以抑制破骨细胞活性，减少骨破坏，并促进骨形成^[2]。但其副作用也随之突显，特别是双膦酸盐类药物引起的骨痛、颌骨坏死、肾损害等^[3]。中医药正逐步成为治疗骨质疏松症的主要方向^[4]。

补肾益精是中医学中防治骨质疏松症的一个重要原则^[5]，右归丸出自明代张景岳《景岳全书》新方八阵方，近年来在骨质疏松的防治方面获得深入研究^[6,7]，可改善骨代谢及临床症状，通过调节 TGF- β 及 AMPK/mTOR 等转导通路，改善骨密度及骨代谢情况^[8,9]。但右归丸为温补肾阳之方，性偏燥热。本院在右归丸的基础上，结合现代人脾虚湿盛的体质特征，添加参苓白术散中党参、白术、薏苡仁等健脾利湿，炙龟板、紫河车、阿胶等益精填髓，取得良好临床疗效。本研究通过摘除卵巢大鼠建立骨质疏松症模型，探究补肾健脾、益精填髓方抗骨质疏松治疗对大鼠骨代谢指标、骨密度及生物力学参数的影响，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

48 只清洁级 Wistar 大鼠，雌性，体重 (200 \pm 50) g，4~5 个月龄，未曾交配。购自江苏省试验动物研究中心，许可证号 SCXK (苏) 2016-00012。按照随机分组方法，48 只大鼠分为假手术组、模型组、补益组和右归组，每组 12 只。

1.2 药物制备

补肾健脾益精填髓灌味剂 (补益)：按大鼠每百克体重 1 g 药量计算。熟地 0.252 g、山药 0.126 g、菟丝子 0.126 g、山茱萸 0.090 g、枸杞 0.090 g、杜仲 0.126 g、当归 0.090 g、肉桂 0.126 g、制附子 0.126 g、紫河车 0.126 g、阿胶 0.126 g、党参 0.200 g、白术 0.126 g、薏苡仁 0.126 g、砂仁 0.090 g (上述药物均为颗粒剂，购于山东第一医科大学附属人民医院药房)；炙龟板 0.128 g、鹿角胶 0.126 g (山东第一医科

大学附属人民医院药房) 打碎、烩化，混合上述颗粒剂，加 20 ml 水既得。

右归丸灌味剂 (右归)：按大鼠每百克体重 1 g 药量计算。熟地 0.252 g、山药 0.126 g、菟丝子 0.126 g、山茱萸 0.090 g、枸杞 0.090 g、杜仲 0.126 g、当归 0.090 g、肉桂 0.126 g、制附子 0.126 g (上述药物均为颗粒剂，购于山东第一医科大学附属人民医院药房)；鹿角胶 0.126 g (山东第一医科大学附属人民医院药房) 打碎、烩化，混合上述颗粒剂，加 20 ml 水既得。

1.3 手术处理

腹腔注射戊巴比妥钠麻醉，消毒无菌下在腹部双侧切开皮肤，假手术组动物不切除两侧卵巢，仅将卵巢周围的脂肪切除；其他动物切除双侧卵巢。

1.4 药物干预

术后 2 周所有动物每日上午灌胃 1 次，连续灌胃 12 周。补益组和右归组按每只大鼠每日用药量为成人用药量的 6.3 倍计算，大鼠胃容量为 0.875 ml/100 g。假手术组、模型组以等量的 0.9% 氯化钠溶液灌胃。

1.5 检测指标

1.5.1 尿液标志物检测

最后 1 次灌胃干预后，每只大鼠单独关入收集笼内，收集前 24 h 尿液。检测尿钙 (Ca)、尿磷 (P) 浓度，并用尿 Cr 校正尿液浓缩或稀释对结果的影响。

1.5.2 血液标志物检测

连续灌胃 12 周后，静脉麻醉状态下剖腹，抽取主动脉取血，3 000 r/min 离心 15 min，取上清血浆，-20℃ 保存。全自动生化分析仪检测血清中碱性磷酸酶、钙、磷、I 型前胶原氨基末端肽 (PINP)、BMP-2 蛋白^[10,11]。

1.5.3 骨密度检测

连续灌胃 12 周后，1% 戊巴比妥钠麻醉，剥离股骨，PBS 溶液进行清洗，放入无菌 EP 管中，做好标记冷藏保存。在室温下平衡 5 min，双能线骨密度测定仪对股骨上端和全部股骨骨密度进行测定。

1.5.4 生物力学检测

采用小动物骨骼强度测定仪 (济南益延科技发展有限公司) 对股骨样本进行三点测试，将两侧支架间距调整为 2.5 cm，固定股骨两端，进行扭转刚度实

验。同样固定股骨后用载荷机头对骨干中间以 2 mm/min 的速度进行三点弯曲试验，并自动记录计算出最大位移、强度、刚度等^[12]。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法；资料呈非正态分布时，采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况

手术组大鼠切口愈合良好，未出现出血、感染。所有大鼠实验期间饮食、饮水正常，无死亡大鼠。模型组大鼠毛发干枯、怠惰思卧、身体蜷曲、肢冷。补益组及右归组大鼠毛发光亮、精神佳。实验前各组间体重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。处死时，各组大鼠体重均显著大于实验前 ($P < 0.05$)，其中假手术组、模型组、右归组均显著低于补益组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 四组动物体重 (g, $\bar{x} \pm s$, n=12) 与比较

Table 1 Comparison of animal body weight among four groups (g, $\bar{x} \pm s$, n=12)

指标	假手术组	模型组	补益组	右归组	P 值
实验前	258.3±16.8	257.4±15.7	258.8±11.9	256.1±15.7	0.992
处死时	364.6±14.5	365.6±15.4	415.7±15.3	379.3±14.2	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

2.2 尿液标志物检测

尿液检测结果见表 2，模型组尿 Ca/Cr、尿 P/Cr 显著高于假手术组 ($P < 0.05$)。右归组 Ca/Cr、P/Cr 与假手术组的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。补益组 Ca/Cr、P/Cr 显著低于右归组和假手术组 ($P < 0.05$)。

2.3 血液标志物检测

血液检测结果见表 2，各组大鼠血 Ca、P 浓度比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，模型组 ALP 水平

显著高于其他组 ($P < 0.05$)。右归组、假手术组的 ALP 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但补益组的 ALP 水平显著低于其他组 ($P < 0.05$)。

除假手术组，其他组 PINP、BMP-2 均有不同程度下降。模型组 PINP、BMP-2 显著低于其他各组 ($P < 0.05$)。补益组 PINP、BMP-2 浓度显著高于右归组 ($P < 0.05$)，而与假手术组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 四组动物检测结果 ($\bar{x} \pm s$, n=12) 与比较

Table 2 Comparison of urine and blood assay consequences among four groups ($\bar{x} \pm s$, n=12)

指标	假手术组	模型组	补益组	右归组	P 值
尿液检测					
Ca/Cr	0.4±0.1	0.6±0.3	0.3±0.1	0.5±0.2	0.043
P/Cr	0.5±0.1	0.7±0.2	0.3±0.2	0.6±0.3	<0.001
血液检测					
s-Ca (mmol/L)	2.4±0.1	2.4±0.2	2.4±0.3	2.3±0.2	0.577
s-P (mmol/L)	76.4±6.1	76.4±5.2	76.2±6.5	77.4±5.6	0.931
ALP (U/L)	128.6±10.4	193.4±9.2	110.4±9.8	128.9±8.5	<0.001
PINP (pg/ml)	238.9±18.6	186.5±20.3	235.9±18.6	207.6±21.1	<0.001
BMP-2 (pg/ml)	15.8±0.2	10.5±0.1	15.7±0.3	13.2±0.4	<0.001

2.4 骨密度与生物力学检测

骨密度与生物力学检测检测结果见表 3。模型组的骨密度、最大载荷、最大位移及刚度显著低于其他组 ($P < 0.05$)。补益组骨密度、最大载荷、最大位移

显著高于模型组、右归组 ($P < 0.05$)，而与假手术组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。假手术组、右归组、补益组的刚度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 四组动物骨密度与生物力学检测结果 ($\bar{x} \pm s$, n=12) 与比较

Table 3 Comparison of results of bone mineral density and biomechanical test among four groups ($\bar{x} \pm s$, n=12)

指标	假手术组	模型组	补益组	右归组	P 值
骨密度 (g/cm ³)	18.1±2.9	12.3±3.3	17.9±4.2	15.1±3.2	<0.001
最大载荷 (N)	85.2±5.1	73.6±6.1	84.9±5.4	75.3±6.1	<0.001
最大位移 (mm)	0.7±0.1	0.5±0.3	0.8±0.2	0.6±0.1	0.003
刚度 (N/m)	199.5±4.9	154.3±3.5	196.8±2.6	195.6±4.2	<0.001

3 讨论

骨质疏松症属中医学“骨痿”、“骨枯”的范畴。在中医理论中肾虚是骨质疏松发生的根本原因。《素问·痿论》“肾主身之骨髓……骨枯而髓减，发为骨痿”，“肾者水脏也，今水不胜火，则骨枯而髓虚，故足不任身，发为骨痿”，故大部分中药治疗骨质疏松集中于补肾壮骨方剂，如李智奎等^[13]应用补肾活血方治疗绝经后骨质疏松，结果表明可降低 CRP、TNF- α 及 IL-6、10 的表达，同时抑制 ALP、骨钙蛋白、N 端骨钙素，提高 N 端骨钙素水平，改善骨代谢平衡。现代研究也发现一些补肾壮骨中药不仅能够抑制破骨细胞活性，而且部分药物中存在植物类雌激素——黄酮类化合物，发挥雌二醇作用。如淫羊藿^[14]、芹菜素^[15]、骨碎补等^[16]。但近年来研究发现，肠道微生物与骨代谢存在显著相关性^[17]，肠道菌群的代谢产物——短链脂肪酸 (SCFAs) 通过降低肠腔内的 pH 值，增加钙在大鼠结肠段的吸收^[18]。该研究印证了中医理论中关于“脾主运化”论述，“脾为后天之本”，主四肢肌肉。若脾胃亏虚，水谷精微化生不足，肌肉得不到水谷精微的充养，而肾失所藏，肾精不足，筋骨失养，则骨骼与肌肉协调性下降而骨痿不用^[19]。本研究中右归丸为基础方药，补肾壮骨，结合参苓白术散方义中的党参、白术、薏苡仁等健脾，发挥调整肠道微生物环境的作用，最后添加大补精血的炙龟板、紫河车、阿胶等益精填髓，该方是中西医理论结合的基础组方，以脾肾两脏亏虚为切入点，取得良好临床效果。

研究结果显示，实验结束时，虽然各组大鼠血 Ca、P 差异无统计学意义 ($P>0.05$)，但补益组 Ca/Cr、P/Cr 显著低于其他组 ($P<0.05$)，而右归组 Ca/Cr、P/Cr 与假手术组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。这可能与补益组中添加健脾中药对肠道菌群的调节有关^[20]。进一步研究显示补益组大鼠 PINP、BMP-2 水平显著高于模型组、右归组 ($P<0.05$)，而

与假手术组无显著差异无统计学意义 ($P>0.05$)。BMP-2 是参与调控骨形成过程中的重要途径之一，其中 BMP-2 诱导成骨活性最强，是经典 BMPs / Smad 通路的重要配体，不仅能诱导未分化的骨间质细胞经过趋化期、分化期、骨质形成及重塑期 4 个环节，而且在异位骨/软骨形成过程中促进软骨内骨化^[21]。叶大林等^[22]将小鼠的 BMP-2 基因敲除，发现其成骨细胞的功能以及骨骼发育均存在缺陷。本研究中补益组大鼠的 BMP-2 水平显著升高，提示补肾健脾、益精填髓法能够显著促进 BMP-2 蛋白的分泌，从而调控骨细胞的增殖和分化，促进骨的正常和修复。PINP 是原胶原聚合成 I 型胶原过程中，去除下来的羧基端附加肽段，反映成骨细胞合成骨胶原的能力，为监测成骨细胞活力和骨形成的重要指标^[23]。补益组 PINP、BMP-2 水平的增加，可能是由于有效的中药成分作为一种良性的刺激，使 BMP-2 与细胞膜上的受体 BMPRI、II 结合成复合物，被自身磷酸化所激活后，将信息传递到细胞核，通过对相关物质加以转录促进骨髓基质细胞分化成成骨细胞，增强了成骨细胞活性^[24]。

对各组大鼠骨密度和生物力学指标分析结果显示，模型组的骨密度、最大载荷、最大位移及刚度显著低于其他组别 ($P<0.05$)，而补益组的骨密度、最大载荷、最大位移显著高于右归组 ($P<0.05$)，与假手术组无显著差异。这反映了补益组在改善骨代谢、防止矿物质丢失方面的作用效果。柴爽等^[25]研究补肾、健脾、活血方剂干预骨质疏松症大鼠模型，亦发现其在改善大鼠骨密度方面能够取得满意的效果。

综上所述，补肾健脾、益精填髓法具有对抗骨质疏松的效果，且作用机制可能与其调整肠道微生态环境，减少骨矿物质丢失，上调骨组织中 BMP-2 表达，增加成骨细胞活性有关。

参考文献

[1] Salari N, Ghasemi H, Mohammadi L, et al. The global prevalence of osteoporosis in the world: a comprehensive systematic review

- and meta-analysis [J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16 (1): 609. DOI: 10.1186/s13018-021-02772-0.
- [2] 王凌斌, 陆龙卫, 赵凯. 唑来膦酸在骨科领域的相关研究与应用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (7): 639-643. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.07.14.
- Wang LB, Lu LW, Zhao K. Current research and application of zoledronic acid in the orthopaedic field [J]. *Orthop J Chin*, 2018, 26 (7): 639-643. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.07.14.
- [3] 罗号, 刘忠龙, 李晓光, 等. 双膦酸盐相关性颌骨坏死发病机制的研究进展 [J]. *口腔医学*, 2021, 41 (4): 373-376. DOI: 10.13591/j.cnki.kqyx.2021.04.018.
- Luo H, Liu ZL, Li XG, et al. Research progress of the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw [J]. *Stomatology*, 2021, 41 (4): 373-376. DOI: 10.13591/j.cnki.kqyx.2021.04.018.
- [4] 马远征, 王以朋, 刘强, 等. 中国老年骨质疏松诊疗指南 (2018) [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39 (11): 2557-2575. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.11.001.
- Ma YZ, Wang YP, Liu Q, et al. 2018 China Guideline for the Diagnosis and Treatment of Senile Osteoporosis [J]. *Chin J Gerontol*, 2019, 39 (11): 2557-2575. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.11.001.
- [5] 孙凯, 魏戌, 谢雁鸣, 等. 补肾生髓方对去势骨质疏松大鼠 Smad/ERK 信号通路的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25 (11): 1556-1561. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.11.010.
- Sun K, Wei S, Xie YM, et al. Effect of Bu Gu Sheng Sui decoction on Smad/ERK signaling pathway in ovariectomized rats with osteoporosis [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2019, 25 (11): 1556-1561. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.11.010.
- [6] 刘彤, 李俊儒, 付夜平, 等. "峻补肾阳"之右归丸对骨质疏松症防治的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28 (9): 1347-1350. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2022.09.017.
- Liu T, Li JR, Fu YP, et al. Research progress of "Jun Tonifying Kidney Yang" Yougui Pill on prevention and treatment of osteoporosis [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2022, 28 (9): 1347-1350. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2022.09.017.
- [7] 李敏, 史晓林, 许超, 等. 右归丸抗骨质疏松症的中药化合物及靶点网络药理学作用机制 [J]. *中国骨伤*, 2020, 33 (10): 933-937. DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2020.10.009.
- Li M, Shi XL, Xu C, et al. Mechanism action of Chinese herbal compound and target network pharmacology of Yougui (YG) pill for the treatment of osteoporosis [J]. *Chin J Orthop Trauma*, 2020, 33 (10): 933-937. DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2020.10.009.
- [8] 陈知斌, 张文达, 胡美思, 等. 左右归丸调控 AMPK/mTOR 信号通路促进绝经后骨质疏松症大鼠骨形成的研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36 (6): 3584-3588.
- Chen ZB, Zhang WD, Hu SM, et al. Study on mechanism of bone formation of PMOP rats by Zuogui Pills and Yougui Pills based on AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 2021, 36 (6): 3584-3588.
- [9] 张文达, 胡美思, 任艳玲. 基于 AMPK/mTOR 信号通路探讨左、右归丸对绝经后骨质疏松症大鼠骨吸收的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36 (3): 1379-1383.
- Zhang WD, Hu SM, Ren YL. Effects of zuogui pills and yougui pills on bone resorption of PMOP rats based on AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 2021, 36 (3): 1379-1383.
- [10] 刘云, 罗晓婷, 李崇, 等. 代谢组学在骨质疏松中的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (1): 55-59. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.01.12.
- Liu Y, Luo XT, Li C, et al. Research progress of metabolomics in osteoporosis [J]. *Orthop J Chin*, 2021, 29 (1): 55-59. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.01.12.
- [11] 张炳坤, 张喜善. 骨代谢标志物在骨质疏松症诊治中的应用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (16): 1483-1486. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.09.
- Zhang BK, Zhang XS. Application of bone metabolic markers in the diagnosis and treatment of osteoporosis [J]. *Orthop J Chin*, 2022, 30 (16): 1483-1486. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.09.
- [12] 陶晖, 杨会营, 余美春, 等. 异体脂肪源干细胞移植对糖皮质激素性骨质疏松大鼠的影响 [J]. *解剖学报*, 2011, 42 (2): 220-225. DOI: 10.3969/j.issn.0529-1356.2011.02.016.
- Tao H, Yang HY, Yu MC, et al. Effects of systemic transplantation of allograft adipose-derived stem cells in glucocorticoid-induced osteoporosis rats [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2011, 42 (2): 220-225. DOI: 10.3969/j.issn.0529-1356.2011.02.016.
- [13] 李智奎, 孔俊博, 赵玉林. 补肾活血方辅助治疗对绝经后骨质疏松患者炎症因子及骨代谢指标的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40 (9): 1901-1904. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.09.035.
- Li ZK, Kong JB, Zhao WL. The effect of kidney tonifying and blood activating prescription as an adjuvant treatment on inflammatory factors and bone metabolic indicators in postmenopausal osteoporosis patients [J]. *Chin J Gerontol*, 2020, 40 (9): 1901-1904. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.09.035.
- [14] 王宥涵, 孔令璧, 贺宝荣. 淫羊藿苷调控破骨细胞分化治疗骨质疏松症的机制研究进展 [J]. *中华创伤杂志*, 2020, 36 (4): 377-382. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2020.04.017.
- Wang YH, Kong LQ, He BR. Research progress in mechanism of icariin regulating osteoclast differentiation for treatment of osteoporosis [J]. *Chin J Trauma*, 2020, 36 (4): 377-382. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2020.04.017.
- [15] 赖丽金, 莫浩轩. 芹菜素治疗去卵巢骨质疏松模型大鼠的作用与剂量 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24 (2): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.190.
- Lai LJ, Mo HX. Effect of apigenin on the osteoporosis in ovariectomized rats and its dose [J]. *Chin J Tiss Eng Res*, 2020, 24 (2): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.190.
- [16] 屈杭帅, 郑敬民. 植物黄酮抗骨质疏松作用的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27 (10): 1529-1533. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2021.10.023.

- Qu HS, Zheng JM. Research progress on the anti-osteoporosis effect of plant flavones [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2021, 27 (10) : 1529-1533. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2014.05.023.
- [17] 谢辉, 林上阳, 夏晨洁, 等. 肠道菌群对骨质疏松的影响机制及治疗的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36 (5) : 600-603. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2020.05.003.
- Xie H, Lin SY, Xid CJ, et al. Research progress on the impact mechanism and treatment of intestinal microbiota on osteoporosis [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2020, 36 (5) : 600-603. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2020.05.003.
- [18] Xiao J, Sakaguchi E, Min X, et al. Dietary mannitol increased the absorption of calcium and magnesium in rats [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2016, 100 (4) : 715-722. DOI: 10.1111/jpn.12435.
- [19] 曾昭洋, 胡文斌, 魏学玲, 等. 中老年人原发性骨质疏松中医体质及辨证分型分布 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38 (2) : 435-438. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.02.077.
- Zeng ZY, Hu WB, Wei XL, et al. Distribution of traditional chinese medicine constitution and syndrome differentiation of primary osteoporosis in the middle and elderly population [J]. *Chin J Gerontol*, 2018, 38 (2) : 435-438. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.02.077.
- [20] 杨龙, 宋媛媛, 牛静虎. 参苓白术散对溃疡性结肠炎患者肠道菌群的影响 [J]. *河南中医*, 2021, 41 (9) : 1357-1361. DOI: 10.16367/j.issn.1003-5028.2021.09.0308.
- Yang L, Song YY, Niu JH. The influence of ginseng and poria and white atractylodes powder on intestinal flora of patients with ulcerative colitis [J]. *Henan TCM*, 2021, 41 (9) : 1357-1361. DOI: 10.16367/j.issn.1003-5028.2021.09.0308.
- [21] 张麟, 向楠, 周广文, 等. 补肾化痰方对去卵巢大鼠骨形成的影响及其作用机制研究 [J]. *中医正骨*, 2018, 30 (10) : 12-18. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6015.2018.10.003.
- Zhang L, Xiang N, Zhou GW, et al. Effect of bushen huatan fang on bone formation of ovariectomized rats and its mechanism of action [J]. *J Trad Chin Orthop Traumatol*, 2018, 30 (10) : 12-18. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6015.2018.10.003.
- [22] 叶大林, 谢平金, 魏合伟, 等. 补肾活血方调控膝性关节炎大鼠软骨下骨的作用机制研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24 (12) : 1606-1611. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2018.12.010.
- Ye DL, Xie PJ, Wei HW, et al. Study on the mechanism of nourishing kidney and promoting blood flow decoction on the subchondral bone of rats with knee osteoarthritis [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2018, 24 (12) : 1606-1611. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2018.12.010.
- [23] 张萌萌, 张秀珍, 邓伟民, 等. 骨代谢生化指标临床应用专家共识 (2019) [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25 (10) : 1357-1372. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.10.001.
- Zhang MM, Zhang XZ, Deng WM, et al. Expert consensus on clinical application of bone metabolism biochemical indicators (2019) [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2019, 25 (10) : 1357-1372. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.10.001.
- [24] 李晓峰, 徐大霞, 王闯, 等. 骨代谢生化标志物在原发性骨质疏松症药物治疗中的应用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25 (13) : 1193-1197. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2017.13.09.
- Li XF, Xu DX, Wang C, et al. Biochemical markers of bone metabolism for drug selection in treatment of primary osteoporosis [J]. *Orthop J Chin*, 2017, 25 (13) : 1193-1197. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2017.13.09.
- [25] 柴爽, 王吉利, 黄佳纯, 等. 补肾健脾活血方对去卵巢大鼠 BMP2/Smad 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24 (20) : 129-133. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20182038.
- Chai S, Wang JL, Huang JC, et al. Effect of Bushen Jianpi Huoxue Recipe on BMP2/Smad signaling pathway in ovariectomized rats [J]. *Chin J Exper Trad Med Formulae*, 2018, 24 (20) : 129-133. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20182038.

(收稿:2022-12-07 修回:2023-05-10)
(同行评议专家:王明明,张立峰)
(本文编辑:宁桦)