

· 基础研究 ·

黄芪多糖对维甲酸诱导骨质疏松大鼠的影响[△]

熊金华¹, 樊志强^{2*}, 戴钦正³, 曾有文¹

(1. 江西省人民医院进贤医院骨科, 江西南昌 331700; 2. 江西省人民医院骨科, 江西南昌 330006;
3. 婺源县中医院骨科, 江西上饶 334000)

摘要: [目的] 探究不同浓度的黄芪多糖对维甲酸诱导的骨质疏松大鼠的影响。[方法] 50只SD大鼠随机分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 每组10只。除对照组外其他各组予以70 mg/kg维甲酸连续灌肠18 d, 对照组使用等体积蒸馏水灌肠。之后, 予以黄芪多糖灌胃, 低剂量组(100 mg/kg)、中剂量组(200 mg/kg)和高剂量组(400 mg/kg), 对照组和模型组使用等体积蒸馏水, 用药第30 d后, 行大鼠左侧股骨大体、BMD、生物力学检测, 检测血清TNF- α 和TGF- β 1浓度, 检测骨均浆蛋白。[结果] 股骨重量由高至低依次为对照组>高剂量组>中剂量组>低剂量组>模型组 [(1.1 \pm 0.2) g vs (1.0 \pm 0.1) g vs (0.9 \pm 0.2) g vs (0.8 \pm 0.1) g vs (0.6 \pm 0.0) g, $P<0.001$], 对照组与高剂量组间骨重差异无统计学意义 ($P>0.05$)。BMD依次为对照组>高剂量组>中剂量组>低剂量组>模型组 [(252.5 \pm 21.2) mg/cm² vs (232.7 \pm 21.4) mg/cm² vs (190.6 \pm 31.2) mg/cm² vs (158.1 \pm 13.1) mg/cm² vs (119.9 \pm 12.2) mg/cm², $P<0.001$], 对照组与高剂量组间BMD差异无统计学意义 ($P>0.05$)。力学测试的最大载荷排序同上, 组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。血清检测TNF- α 排序为对照组<高剂量组<中剂量组<低剂量组<模型组, 组间差异有统计学意义 ($P<0.05$); 血清检测TGF- β 1排序为高剂量组>对照组>中剂量组>低剂量组>模型组, 组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。骨均浆检测BMP-2/ β -actin和p-ERK/ERK均为对照组>高剂量组>中剂量组>低剂量组>模型组, 组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。[结论] 黄芪多糖可改善维甲酸诱导的大鼠骨质疏松症状, 其机理可能是激活MAPK/ERK信号通路下游。

关键词: 黄芪多糖, 大鼠骨质疏松, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 转化生长因子- β 1 (TGF- β 1), MAPK/ERK信号通路
中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 19-1791-06

Effect of astragalus polysaccharides on osteoporosis induced by retinoic acid in rats // XIONG Jin-hua¹, FAN Zhi-qiang², DAI Qin-zheng³, ZENG You-wen¹. 1. Department of Orthopedics, Jinxian Hospital, Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 331700, China; 2. Department of Orthopedics, Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 330006, China; 3. Department of Orthopaedics, Wuyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shangrao 334000, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of different concentrations of astragalus polysaccharide on osteoporosis induced by retinoic acid in rats. [Methods] Fifty SD rats were randomly divided into control group, model group, low-dose group, medium-dose group and high-dose group, with 10 rats in each group. Except the control group, the other groups were given 70 mg/kg retinoic acid continuous intragastrically for 18 days, and the control group was given equal volume distilled water. After that, astragalus polysaccharide was given intragastrically, 100 mg/kg in the low dose group, 200 mg/kg in medium dose group and 400 mg/kg in high dose group, whereas equal volume of distilled water was given in the control group and model group. At 30 days after administration, gross measurement, BMD and biomechanical tests were performed on the left femur of rats. Serum concentrations of TNF- α and TGF- β 1 and bone homogenate protein were measured. [Results] The femur weight in descending order was control group>high dose group>medium dose group>low dose group>model group [(1.1 \pm 0.2) g vs (1.0 \pm 0.1) g vs (0.9 \pm 0.2) g vs (0.8 \pm 0.1) g vs (0.6 \pm 0.0) g, $P<0.001$], with no significant difference in bone weight between control group and high-dose group ($P>0.05$). BMD was ranked as control group>high dose group>medium dose group>low dose group>model group [(252.5 \pm 21.2) mg/cm² vs (232.7 \pm 21.4) mg/cm² vs (190.6 \pm 31.2) mg/cm² vs (158.1 \pm 13.1) mg/cm² vs (119.9 \pm 12.2) mg/cm², $P<0.001$], and there was no significant difference in BMD between the control group and the high-dose group ($P>0.05$). The order of maximum load in mechanical test was the same as above, with statistically significant differences among groups ($P<0.05$). The order of serum TNF- α detection was of control group<high dose group<medium dose group<low dose group<model group, with statistically significant differences among them ($P<$

DOI:10.20184/j.cnki.Issn1005-8478.100702

[△]基金项目:江西省卫生健康委科技计划项目(编号:202210157)

作者简介:熊金华,副主任医师,研究方向:骨外科,(电子信箱)1163122121@qq.com

*通信作者:樊志强,(电子信箱)1285394632@qq.com

0.05). The order of serum TGF- β 1 was of high dose group>control group>medium dose group>low dose group>model group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Bone homogenate measured BMP-2/ β -actin and P-ERK/ERK were as follows: control group>high dose group>medium dose group>low dose group>model group, with statistical significances ($P<0.05$). [Conclusion] Astragalus polysaccharide can improve the osteoporosis induced by retinoic acid in rats, and its mechanism may be the activation of the downstream MAPK/ERK signaling pathway.

Key words: astragalus polysaccharide, rat osteoporosis, tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), MAPK/ERK signal path

骨质疏松是以骨量减少、骨组织显微结构退化、骨的脆性增高及骨折危险性增加为特征的一种全身性骨病^[1]。它是老年人的常见病、多发病。据估算,2006 年我国人群中约有 7 000 万人患有骨质疏松症,约 2 亿人骨量减少^[2]。骨质疏松性骨折是骨质疏松症的严重阶段,可造成患者重度伤残,乃至死亡,严重影响患者生命安全。此外,骨折所致的医疗护理需要投入大量人力、物力和财力,给家庭及社会带来了极大的经济负担^[3]。

黄芪是一味传统中药材,广泛用于治疗包括糖尿病和心肌梗塞在内的疾病,有着延年益寿、抗血管衰老、抗脑衰老、抗肿瘤等作用^[4,5]。现代医学认为黄芪具有防治骨质疏松的功效。临床对照研究中,包含黄芪的中药方剂“益肾健骨汤”被证实可改善老年骨质疏松症状^[6,7]。然而,黄芪的组分复杂,其具体的改善骨质疏松的机制尚不清楚。黄芪多糖是从黄芪的茎或干根中提取的具有生物活性的水溶性杂多糖^[8]。研究表明,黄芪具有抗衰老、抗肿瘤、降血糖、降血脂、抗纤维化、抗菌、辐射防护、抗病毒等作用^[9]。然而,其在骨质疏松治疗中的功效和机制尚需深入研究。

研究表明骨重建过程中骨吸收和骨形成之间骨代谢的失衡是骨质疏松的病理基础^[10]。其中,一些细胞因子,如转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 可参与骨代谢的调控^[11]。此外,骨形成蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs) 也已被证实在骨重建中发挥着核心作用^[12]。因此,本研究通过建立维甲酸诱导的骨质疏松 SD 大鼠动物模型,探究不同浓度的黄芪多糖对骨质疏松大鼠模型的骨密度、骨样本大体以及骨样本三点弯曲力学检测结果的影响,并通过检测血清 TGF- β 1、TNF- α 、骨组织 BMP-2、以及 MAPK 通路下游分子的激活,初步阐明黄芪多糖对骨质疏松的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

50 只雌性 SD 健康大鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,体重 (200 \pm 20) g。在 SPF 条件下饲养,给予自由进食饮水。将大鼠编号、称重后按随机数字法分为 5 组,每组 10 只:分别为对照组、模型组、黄芪多糖低剂量组 (低剂量组)、黄芪多糖中剂量组 (中剂量组)、黄芪多糖高剂量组 (高剂量组)。本实验通过江西省人民医院医学伦理学会批准。

1.2 骨质疏松模型建立

制备 70 mg/kg 浓度的维甲酸生理盐水溶液。除对照组给予等量生理盐水外,其他各组大鼠每日上午给予维甲酸溶液灌服,连续 18 d,建立骨质疏松动物模型。

1.3 药物处理

制备不同浓度的黄芪多糖生理盐水溶液。于每日下午对低剂量、中剂量、高剂量组的 SD 大鼠进行黄芪多糖灌胃给药,浓度分别为 100 mg/kg、200 mg/kg、300 mg/kg,对照组和模型组给予同体积生理盐水,连续灌胃 30 d。

1.4 检测方法

1.4.1 动物处死与样本采集

药物干预 30 d 后,采用注射器经大鼠尾静脉取血 3 ml,4 $^{\circ}$ C 静置 10 min,以 3 000 r/min 转速离心 15 min,取上清液,得到大鼠血清,置于-80 $^{\circ}$ C 中保存。随后,处死大鼠,分离股骨,去除周围附着组织,生理盐水中漂洗,吸干水分。

1.4.2 骨样本大体检测

采用电子天平、游标卡尺 (购自上海科学精密仪器公司) 测量左侧股骨骨重、骨长及固定部位的骨直径。测量 3 次,取平均值。

1.4.3 BMD 检测

采用 XR-36 型动态过滤双能 X 线骨密度诊断仪 (美国 GE 公司) 检测大鼠左侧股骨近端骨密度。

1.4.4 骨样本三点弯曲力学检测

将股骨水平放置在岛津 AGS-HIKON 骨力学测定仪 (岛津实验器材有限公司) 上进行三点弯曲试验,

设置跨度为 20 mm，速率 10 mm/min，直至其断裂，采用仪器自带的软件记录并分析数据，读取最大载荷、弹性模量、屈服载荷评价指标。

1.4.5 血清 ELISA 检测

将冰冻的血清恢复至室温，按照 ELISA 试剂盒说明制备标准品浓度梯度、包被、标记、显色，检测 450 nm 波长处的 OD 值。绘制吸光曲线，计算蛋白表达量。

1.4.6 骨组织 western blot 检测

截断股骨，液氮冷冻后研磨，加入 RIPA 裂解液，12 000 g，离心 15 min，取上清。采用 BCA 定量试剂盒进行蛋白定量，调齐蛋白浓度，100℃，10 min 煮沸变性，放于-80℃保存。取 15 μg 进行电泳，湿转，5%脱脂牛奶封闭 2 h，分别用 BMP-2、ERK、磷酸化 ERK 抗体以及 β-actin 抗体 [以上抗体购自艾博抗 (Abcam) 贸易有限公司]，孵育 4℃过夜，TBST 清洗 3 次，每次 10 min，室温孵育二抗 1 h，清洗 3 次，化学发光法显色。使用凝胶成像仪对蛋白条带进行拍照，ImageJ 软件分析计算蛋白相对表达水平。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析。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。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨样本大体检测

各组大鼠股骨样本大体测量结果见表 1。与对照组相比，模型组大鼠股骨骨重显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，低剂量、中剂量、高剂量组大鼠股骨骨重显著增加 ($P < 0.05$)；对照组与高剂量组间骨重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。骨长的比较中，与模型组比较，高剂量组骨长显著增加 ($P < 0.05$)，其余各组间骨长的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。骨直径的比较中，各组间骨直径比较的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 BMD 检测

各组大鼠股骨 BMD 测量结果见表 1。与对照组相比，模型组大鼠股骨 BMD 显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，低剂量、中剂量、高剂量组大鼠股骨 BMD 均显著升高 ($P < 0.05$)；此外，对照组与高剂量组间 BMD 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1. 五组大体测量和 BMD 检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$) 的比较
Table 1. Comparison of the gross measurements and BMD among the five groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	骨重 (g)	骨长 (cm)	骨直径 (mm)	BMD (mg/cm ²)
对照组	1.1±0.2	3.5±0.2	7.4±0.2	252.5±21.2
模型组	0.6±0.0	3.4±0.2	7.3±0.4	119.9±12.2
低剂量组	0.8±0.1	3.5±0.1	7.4±0.4	158.1±13.1
中剂量组	0.9±0.3	3.6±0.3	7.5±0.4	190.6±31.2
高剂量组	1.0±0.1	3.6±0.2	7.2±0.5	232.7±21.4
P 值	<0.001	0.033	0.581	<0.001

2.3 骨样本三点弯曲力学检测

各组大鼠股骨三点弯曲力学检测结果见表 2。与对照组相比，模型组大鼠股骨最大载荷、弹性模量、屈服载荷均显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，低剂量组、中剂量组、高剂量组大鼠股骨最大载荷、弹性模量、屈服载荷均显著增加 ($P < 0.05$)；且对照组与高剂量组间上述指标的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2. 五组生物力学检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$) 的比较
Table 2. Comparison of the biomechanical assay among the five groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	最大载荷 (N)	弹性模量 (EM)	屈服载荷 (N)
对照组	37.3±2.0	3 161.7±141.5	64.3±4.1
模型组	18.0±2.3	2 317.5±79.8	38.5±2.6
低剂量组	25.6±3.1	2 546.9±108.5	48.4±3.4
中剂量组	30.4±3.0	2 835.6±125.8	54.9±5.5
高剂量组	34.2±2.8	3 152.7±127.6	63.8±3.9
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 血清 ELISA 检测

各组大鼠血清 TNF-α、TGF-β1 ELISA 检测结果见表 3。与对照组相比，模型组 TNF-α 显著升高 ($P < 0.05$)、TGF-β1 显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，低剂量组 TNF-α 显著降低 ($P < 0.05$)、TGF-β1 无显著变化 ($P > 0.05$)；而中剂量、高剂量组 TNF-α 均显著降低 ($P < 0.05$)，TGF-β1 显著升高 ($P < 0.05$)；与对照组相比，高剂量组 TNF-α、TGF-β1 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.5 骨组织 western blot 检测

各组骨组织 BMP-2、β-actin、p-ERK、ERK 蛋白表达情况如图 1 所示，相对表达量数值见表 4。与对照组相比，模型组 BMP-2 表达量显著下降、p-ERK/ERK 比值显著下降 ($P < 0.05$)；与模型组相比，低剂量 BMP-2 表达量显著增加 ($P < 0.05$)、p-ERK/

ERK 比值差异无统计学意义 ($P>0.05$), 中剂量、高剂量组 BMP-2 表达量显著增加 ($P<0.05$)、p-ERK/ERK 比值显著升高 ($P<0.05$), 且各组间呈剂量依赖性; 与对照组相比, 高剂量组 BMP-2 表达量显著降低 ($P<0.05$)、p-ERK/ERK 比值显著降低 ($P<0.05$)。

表 3. 五组血清 TNF- α 和 TGF- β 1 ELISA 检测结果 (ng/L, $\bar{x} \pm s, n=10$) 与比较
Table 3. Comparison of the ELISA results of serum TNF- α and TGF- β 1 among the five groups (ng/L, $\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	TNF- α	TGF- β 1
对照组	56.3 \pm 4.3	20.8 \pm 2.3
模型组	80.0 \pm 5.7	15.6 \pm 3.4
低剂量组	72.2 \pm 6.0	19.0 \pm 2.7
中剂量组	68.1 \pm 5.4	20.9 \pm 2.8
高剂量组	58.2 \pm 5.4	22.1 \pm 3.3
P 值	<0.001	<0.001

3 讨论

随着我国逐步进入老龄化社会, 骨质疏松症的发病率有不断上升的趋势^[13]。尤其围绝经期女性, 雌

激素水平明显下降, 骨质疏松的发病率也高于男性^[14]。中医药作为中华民族的瑰宝, 对骨质疏松的防治也有不少记载。现代研究发现, 这些中药不仅能够抑制破骨细胞活性, 而且部分药物可发挥雌二醇作用^[15]。中医认为“脾肾亏虚”是骨质疏松的基本病因病机。黄芪, 作为“补药之长”, 具有温补脾气同时兼补肾阳虚的功效^[16]。为深入了解黄芪对骨质疏松的影响和机制, 本研究采用不同浓度的黄芪多糖(黄芪的主要活性成分), 治疗骨质疏松大鼠, 并观察其疗效及骨代谢相关的细胞因子、通路的改变。实验结果分析如下。

首先, 本实验采用维甲酸构建骨质疏松大鼠动物模型。维甲酸是常见的骨质疏松诱导剂^[17]。它是维生素 A 的活性衍生物, 具有与维生素 A 相似的药理作用^[18]。研究表明, 维甲酸可以激活破骨细胞, 促进骨吸收^[19]。同时, 维甲酸还可以损害卵巢功能, 降低雌激素水平, 从而导致骨质疏松症的发生^[20]。研究中大鼠股骨检测结果显示, 大鼠股骨骨重、BMD 明显下降、骨生物力学明显受损, 表明骨质疏松大鼠动物模型构建成功。

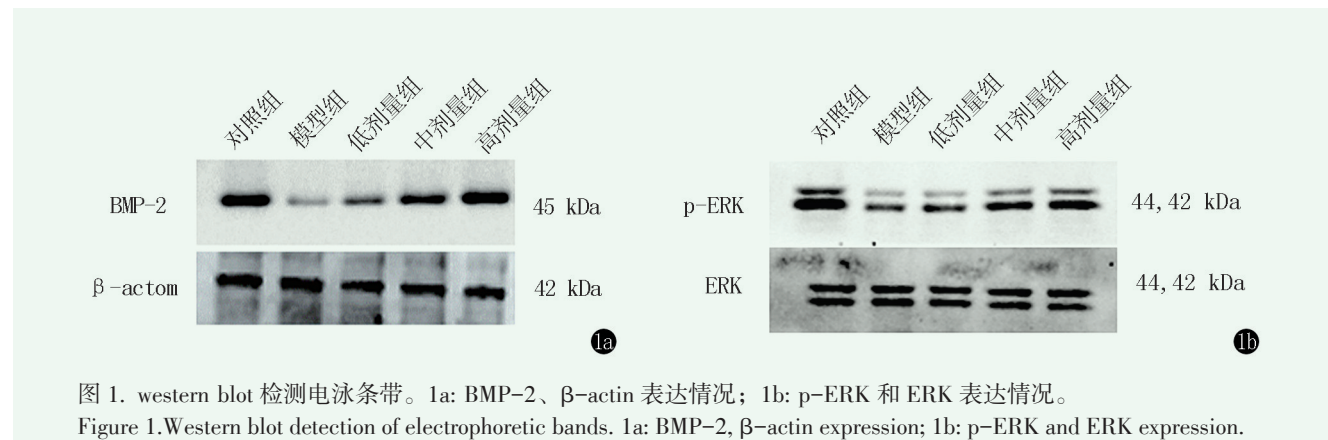


表 4. 五组骨均浆 western blot 检测结果 (相对表达量, $\bar{x} \pm s, n=10$) 与比较
Table 4. Comparison of the western blot of bone homogenate among the five groups (relative expression, $\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	BMP-2/ β -actin	p-ERK/ERK
对照组	1.1 \pm 0.1	1.0 \pm 0.0
模型组	0.2 \pm 0.0	0.3 \pm 0.1
低剂量组	0.4 \pm 0.0	0.4 \pm 0.1
中剂量组	0.7 \pm 0.0	0.6 \pm 0.1
高剂量组	0.9 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1
P 值	<0.001	<0.001

研究结果显示, 与模型组相比, 治疗组(低剂量、中剂量、高剂量组) BMD、骨重, 以及最大载

荷、弹性模量、屈服载荷均显著升高 ($P<0.05$), 表明黄芪多糖可有效改善维甲酸诱导的大鼠骨质疏松症状, 缓解生物力学受损。在骨长的比较中, 高剂量组较模型组骨长增加, 表明高浓度的黄芪多糖可能促进骨质疏松大鼠骨的生长。然而, 各组间骨直径无明显差异, 说明黄芪多糖对维甲酸所致的骨质疏松大鼠的骨直径无影响。血清 ELISA 检测显示: 与模型组相比, 低剂量大鼠 TNF- α 降低 ($P<0.05$)、TGF- β 1 无明显变化 ($P>0.05$); 而中剂量、高剂量组大鼠 TNF- α 均降低 ($P<0.05$), TGF- β 1 升高 ($P<0.05$)。其中升高的炎症因子 TNF- α 可导致骨量丢失^[21]。研究发现, TNF- α 可通过招募 TNF 受体相关

因子, 依次激活转录因子 NF- κ B p50 和 p52、c-Fos 以及 NFATc1, 诱导破骨细胞分化, 促进骨吸收^[22, 23]。此外, TNF- α 还可抑制骨髓干细胞的增殖和成骨细胞的分化, 减少骨形成^[24]。本研究发现, 黄芪多糖可降低大鼠血清 TNF- α , 减少骨丢失。此外, 研究发现, 黄芪多糖可提高骨质疏松大鼠血清 TGF- β 1 表达。TGF- β 1 是公认的抗炎因子, 由调节 B 淋巴细胞分泌^[25]。TGF- β 1 可通过经典的 TGF- β /Smad 通路抑制破骨细胞分化, 降低破骨细胞生成所需的转录因子 NFAT1 的水平, 从而影响骨形成^[26]。此外, 研究发现, 与模型组相比, 黄芪多糖提高了骨质疏松大鼠 BMP-2 表达量、提升了 p-ERK/ERK 比值。BMP-2 属于 TGF- β 超家族成员, 是胚胎发育时期和成年期中重要的维持骨代谢平衡的细胞因子, 可通过激活 Smad (经典) 信号通路和非 Smad (非经典) 信号通路, 激活成骨基因, 促进成骨细胞分化^[27, 28]。此外, p-ERK/ERK 比值的升高表明黄芪多糖增加 MAPK 信号下游分子 ERK 蛋白的磷酸化。MAPK 信号转导为三级激酶级联反应, MAPK 蛋白位于该信号通路下游^[29]。ERK 为 MAPK 其中一个亚族。研究表明, ERK 参与了人成骨细胞的生长、分化、粘附、扩散、迁移以及整合素的表达^[30]。本实验发现, 黄芪多糖增加了 BMP-2 表达, 还可以提高 MAPK 通路中 p-ERK/ERK 的比值。

综上所述, 本研究表明, 黄芪多糖可降低大鼠血清 TNF- α 、升高血清 TGF- β 1、激活骨组织中的 MAPK 通路下游分子, 增加骨质疏松大鼠骨重、BMD, 缓解生物力学受损, 改善维甲酸诱导的大鼠骨质疏松症状, 为黄芪多糖临床抗骨质疏松应用提供体内实验依据。

参考文献

- [1] Johnston CB, Dagar M. Osteoporosis in older adults [J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104 (5) : 873-884. DOI: 10.1016/j.mena.2020.06.004.
- [2] 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 (2017) [J]. *中国全科医学*, 2017, 20 (32) : 3963-3982. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.00.118. Chinese Society of Osteoporosis and Bone Mineral Diseases. Guidelines for the diagnosis and treatment of primary osteoporosis (2017) [J]. *Journal of Chinese General Practice*, 2017, 20 (32) : 3963-3982. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.00.118.
- [3] Wang L, Yu W, Yin X, et al. Prevalence of osteoporosis and fracture in China: The China Osteoporosis Prevalence Study [J]. *JA-MA Netw Open*, 2021, 4 (8) : e2121106. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.21106.
- [4] Zhang YM, Liu YQ, Liu D, et al. The effects of astragalus polysaccharide on bone marrow-derived mesenchymal stem cell proliferation and morphology induced by A549 lung cancer cells [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4110-4121. DOI: 10.12659/MSM.914219.
- [5] Liu P, Zhao H, Luo Y. Anti-aging implications of astragalus membranaceus (Huangqi): a well-known Chinese Tonic [J]. *Aging Dis*, 2017, 8 (6) : 868-886. DOI: 10.14336/AD.2017.0816.
- [6] 袁雨露, 杨桢, 丁薇, 等. 中药抗骨质疏松作用及机制探讨 [J/OL]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30 (4) : 290-298. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20231940. Yuan YL, Yang Z, Ding W, et al. Effect and mechanism of Chinese medicine in treatment of osteoporosis [J/OL]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2024, 30 (4) : 290-298. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20231940.
- [7] 赖立勇, 徐圣焱, 夏天爽, 等. 基于抗氧化机制的中药及其化学成分在骨质疏松中的应用 [J]. *海军军医大学学报*, 2022, 43 (8) : 943-950. DOI: 10.16781/j.cnki.1000-4713.20201547. Lai LY, Xu SY, Xia TX, et al. Application of traditional Chinese medicine and its chemical components based on antioxidant mechanism in osteoporosis [J]. *Journal of Naval Military Medical University*, 2022, 43 (8) : 943-950. DOI: 10.16781/j.cnki.1000-4713.20201547.
- [8] Li CX, Liu Y, Zhang YZ, et al. Astragalus polysaccharide: a review of its immunomodulatory effect [J]. *Arch Pharm Res*, 2022, 45 (6) : 367-389. DOI: 10.1007/s12272-022-01393-3.
- [9] Zheng Y, Ren W, Zhang L, et al. A review of the pharmacological action of astragalus polysaccharide [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 349. DOI: 10.3389/fphar.2020.00349.
- [10] Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10169) : 364-376. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32112-3.
- [11] Yao D, Huang L, Ke J, et al. Bone metabolism regulation: Implications for the treatment of bone diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110494. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110494.
- [12] Chen Y, Ma B, Wang X, et al. Potential functions of the BMP family in bone, obesity, and glucose metabolism [J]. *J Diabetes Res*, 2021, 2021: 6707464. DOI: 10.1155/2021/6707464.
- [13] 梁锋, 沈思远, 田纪伟, 等. 骨质疏松股骨颈骨折两种入路全髋置换比较 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2023, 31 (10) : 929-932. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.10.14. Liang FS, Shen SY, Tian JW, et al. Comparison of two approaches for total hip arthroplasty for osteoporotic femoral neck fractures [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2023, 31 (10) : 929-932. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.10.14.
- [14] 王兴博, 金明霞, 胡宁宁, 等. 兰州市中老年体质与骨质疏松调查 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2023, 31 (21) : 2009-2012. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.21.18. Wang XB, Jin MX, Hu NN, et al. An investigation on physical condition and osteoporosis in the middle age and elderly in Lanzhou city [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2023, 31 (21) : 2009-2012. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.21.18.

- [15] 陶琳, 王克强, 王玫, 等. 两种中药制剂对大鼠骨质疏松模型的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (20) : 1880-1885. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.20.11.
Tao L, Wang KQ, Wang M, et al. Effects of two Chinese medicinal preparations on rat osteoporosis model [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (20) : 1880-1885. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.20.11.
- [16] 刘路, 李凯, 胡阳, 等. 黄芪有效成分抗骨质疏松症作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54 (4) : 1321-1328. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.033.
Liu L, Li K, Hu Y, et al. Progress on the mechanism of anti-osteoporosis action of effective components of Astragalus membranaceus [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54 (4) : 1321-1328. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.033.
- [17] Wang X, Liang T, Zhu Y, et al. Melatonin prevents bone destruction in mice with retinoic acid-induced osteoporosis [J]. Mol Med, 2019, 25 (1) : 43. DOI: 10.1186/s10020-019-0107-0.
- [18] 郭莉. 全反式维甲酸对人牙周膜干细胞成骨分化的影响及机制 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2023. DOI: 10.27674/d.cnki.gcyku.2022.000799.
Guo L. Effects and mechanisms of all-trans retinoic acid on osteogenic differentiation of human periodontal stem cells [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2023. DOI: 10.27674/d.cnki.gcyku.2022.000799.
- [19] Yang J, Wu N, Peng J, et al. Prevention of retinoic acid-induced osteoporosis in mice by isoflavone-enriched soy protein [J]. J Sci Food Agric, 2016, 96 (1) : 331-338. DOI: 10.1002/jsfa.7098.
- [20] Zhao S, Niu F, Xu CY, et al. Diosgenin prevents bone loss on retinoic acid-induced osteoporosis in rats [J]. Ir J Med Sci, 2016, 185 (3) : 581-587. DOI: 10.1007/s11845-015-1309-2.
- [21] Fischer V, Haffner-Luntzer M. Interaction between bone and immune cells: Implications for postmenopausal osteoporosis [J]. Semin Cell Dev Biol, 2022, 123: 14-21. DOI: 10.1016/j.semedb.2021.05.014.
- [22] Yao Z, Getting SJ, Locke IC. Regulation of TNF-induced osteoclast differentiation [J]. Cells, 2021, 11 (1) : 132. DOI: 10.3390/cells11010132.
- [23] 邹世恩, 张绍芬. 细胞因子在绝经后骨质疏松症发病机制中的作用 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18 (4) : 375-380. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2012.04.022.
Zou SE, Zhang SF. Role of cytokines in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2012, 18 (4) : 375-380. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2012.04.022.
- [24] 李崇, 罗晓婷, 纪舒婷, 等. 炎症因子在骨质疏松发病机理中的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27 (10) : 1516-1522. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2021.10.022.
Li C, Luo XT, Ji SY, et al. Research progress of inflammatory factors in the pathogenesis of osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2021, 27 (10) : 1516-1522. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2021.10.022.
- [25] Frase D, Lee C, Nachiappan C, et al. The inflammatory contribution of B-lymphocytes and neutrophils in progression to osteoporosis [J]. Cells, 2023, 12 (13) : 1744. DOI: 10.3390/cells12131744.
- [26] Lee B, Oh Y, Jo S, et al. A dual role of TGF- β in human osteoclast differentiation mediated by Smad1 versus Smad3 signaling [J]. Immunol Lett, 2019, 206: 33-40. DOI: 10.1016/j.imlet.2018.12.003.
- [27] Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins [J]. Growth Factors, 2004, 22 (4) : 233-241. DOI: 10.1080/08977190412331279890.
- [28] Halloran D, Durbano HW, Nohe A. Bone morphogenetic protein-2 in development and bone homeostasis [J]. J Dev Biol, 2020, 8 (3) : 19. DOI: 10.3390/jdb8030019.
- [29] Guo YJ, Pan WW, Liu SB, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. Exp Ther Med, 2020, 19 (3) : 1997-2007. DOI: 10.3892/etm.2020.8454.
- [30] Lai CF, Chaudhary L, Fausto A, et al. Erk is essential for growth, differentiation, integrin expression, and cell function in human osteoblastic cells [J]. J Biol Chem, 2001, 276 (17) : 14443-14450. DOI: 10.1074/jbc.M010021200.

(收稿:2023-10-07 修回:2024-05-10)

(同行评议专家: 杨建东, 陈明, 梁卫东, 刘月驹)

(本文编辑: 宁桦)