

补肾复方对去卵巢大鼠 MEK1、ERK2 基因表达的调控作用

高璐¹ 郑洪新^{1*} 尚德阳¹ 宗志红² 林庶茹¹

1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032

2. 中国医科大学, 沈阳 110001

中图分类号: R271.116 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014)05-0471-05

摘要: **目的** 研究补肾中药复方(鹿茸、牡蛎、淫羊藿)对去卵巢骨质疏松症大鼠的影响,探讨肾虚骨质疏松症的病理机制,为中医药防治骨质疏松症提供实验依据。**方法** 采用摘除雌性大鼠双侧卵巢的方法复制骨质疏松症模型,以正常组作为标准对照,模型组作为空白对照,盖天力组作为阳性对照,补肾中药复方低、中、高剂量组作为实验组。各用药组灌胃给药 12 周。采用腹主动脉取血法采集大鼠血清测定血骨钙素(BGP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP),并用 DEXA 骨密度仪检测左侧股骨骨密度;右侧股骨匀浆提取骨组织中的 Total RNA,RT-Real Time PCR,检测 MEK1 及 ERK2 的 mRNA 表达水平。**结果** 模型组 BGP 水平显著低于正常组($P < 0.01$),TRAP 水平较正常组显著升高($P < 0.01$);正常组和补肾中药复方组的股骨骨密度均高于模型组($P < 0.05$);ERK2 mRNA 相对表达量明显高于模型组($P < 0.01$),MEK1 mRNA 相对表达量明显低于模型组($P < 0.01$)。**结论** 补肾中药复方具有防治去卵巢大鼠骨质疏松的作用,其机制与调控 MEK1、ERK2 基因表达有关。

关键词: 骨质疏松症;补肾中药;骨组织

Regulation of kidney-tonifying compound on the ovariectomized rats MEK1, ERK2 gene expression

GAO Lu¹ ZHENG Hongxin¹ SHANG Deyang¹ ZHONG Zhihong² LIN Shuru¹

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 110032

2. China Medical University, Liaoning, Shenyang 110001

Corresponding author: ZHENG Hongxin, Email: zhenghx2002@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of the kidney-tonifying traditional Chinese medicine (velvet, oysters, and epimedium) on osteoporosis in ovariectomized rats, and to explore the pathogenesis of osteoporosis with kidney-deficiency, in order to provide experimental evidence for Chinese medicine in the prevention and treatment of osteoporosis. **Methods** The osteoporosis model was established using bilateral ovariectomy in female rats. The normal control group was set as a standard control. The model group was set as blank control. The Gaitianli group was set as a positive control. The low, medium, and high dose of traditional Chinese medicine for kidney-tonifying groups were set as experimental groups. Rats in each treatment group were gavaged for 12 weeks. Blood was collected from the abdominal aorta, and the serum levels of osteocalcin (BGP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP) were detected. The bone mineral density (BMD) of the left femur was detected using DEXA. The total RNA of the right femur bone tissue homogenate was extracted and the mRNA expression levels of MEK1 and ERK2 were detected using RT-real time PCR. **Results** The serum BGP level in model group was significantly lower than that in the normal group ($P < 0.01$), while the serum TRAP level increased significantly compared with that in the normal group ($P < 0.01$). BMD of the femur in the normal group and the kidney-tonifying traditional Chinese medicine group was significantly higher than that in the model group ($P < 0.05$). The relative expression level of ERK2 mRNA was significantly higher than that in the model group ($P < 0.01$), while the relative expression level of MEK1 mRNA was significantly lower than that in the model group ($P < 0.01$). **Conclusion** The kidney-tonifying traditional Chinese medicine plays a role in the prevention and treatment of osteoporosis in

ovariectomized rats. Its mechanism may be related to the regulation of MEK1 and ERK2 gene expression.

Key words: Osteoporosis; Kidney-tonifying traditional Chinese medicine; Bone tissue

骨质疏松症是常见的骨代谢疾病,分为原发性、继发性和特发性 3 类。以骨量减少、骨组织结构破坏、骨脆性增加和易发生骨折为特征的疾病,是老年人的多发病,随着人口的老齡化,日益受到人们的重视^[1]。绝经后骨质疏松症属于原发性骨质疏松症,是更年期妇女的常见全身性骨代谢疾病,体内雌激素水平下降是其重要病因。目前,对于绝经后骨质疏松症,中医药预防和治疗相关研究进展较快,中医学认为,骨质疏松症与肾虚、脾虚、血瘀有着密切的关系,其中肾虚是绝经后骨质疏松症的主要原因^[2]。本实验应用补肾中药复方(鹿茸、牡蛎、淫羊藿)低、中、高剂量组,探讨补肾中药防治骨质疏松症的机理,为开发中药防治骨质疏松症提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要仪器与试剂

DEXA 骨密度(BMD)仪(美国 GE-Lunar);实时荧光定量 PCR 仪(ABI, USA);多功能酶标仪 INFINITE M200(奥地利 TECAN);血骨钙素试剂盒、抗酒石酸酸性磷酸酶测定试剂盒酶联免疫试剂盒(RB 公司);RNAiso Reagent、反转录试剂盒、Taq DNA 聚合酶、Easy Dilution 稀释液均购自 TaKaRa 公司;引物自行设计合成。

1.2 实验药品及制备

实验药品:补肾中药复方:淫羊藿提取物,马鹿鹿茸(辽宁清原鹿场),冻干,脱毛,切片,粉碎,过 80 目筛。牡蛎(长山岛大连湾牡蛎),洗净,晒干,应用纳米技术制备,平均粒径 720 μm 。中药复方制备:淫羊藿提取物、鹿茸微粉与牡蛎微粒,混合即得。对照药物:盖天力片;东盛科技启东盖天力制药股份有限公司,国药准字 H32025396,产品批号 AJ192。

1.3 实验动物及模型建立

实验选用 SPF 级 SD 雌性大鼠 92 只,体重 250 ± 50 g,4~5 月龄,未曾交配,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供(实验动物质量合格证明号:1100170659)。造模方法:除正常组外,大鼠经 10% 水合氯醛(3 ml/kg)肌肉注射麻醉,将麻醉后大鼠以俯卧位固定,从腰背部脊柱两侧纵行切口切开皮肤及肌肉,摘除两侧卵巢组织后逐层缝合,关闭创口。术后 3 日,常规给予青霉素预防感染。

1.4 动物分组与给药

按随机数字表分出正常组(9 只)。其余大鼠手术:假手术组 14 只,腰背部脊柱两侧纵行切口缝合,不摘除卵巢组织;去卵巢组 73 只。术后 7d 将去卵巢组存活者按体重随机分为 5 组(每组 14 只左右):模型组(13 只,切除卵巢后不给予补肾中药复方),补肾中药复方低、中、高剂量组(切除卵巢后给予补肾中药复方低、中、高剂量灌胃),盖天力组(13 只,切除卵巢后给予盖天力灌胃)。

术后 7d 各组动物分别给予以下灌胃处理:正常组、假手术组自由饮水,模型组均给予 0.9% 氯化钠注射液 0.875 ml/100 g 体重;补肾中药复方低剂量组给药量 0.227 g/(kg·d);补肾中药复方中剂量组给药量 0.908 g/(kg·d);补肾中药复方高剂量组给药量 0.454 g/(kg·d),各组灌胃 12 周。标本采集与保存:灌胃处理 12 周后采集标本。血液采集:腹主动脉取血法采集大鼠血液,离心后收集上清, -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。骨骼标本采集:在无菌条件下迅速剥取其双侧股骨,剔尽软组织,左侧股骨用 0.9% 氯化钠注射液浸湿的纱布包裹,右侧股骨加入 trizol -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,待测骨密度。

1.5 血生化指标测定

采用 ELASA 方法在酶标仪上测定血清骨钙素(BGP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)水平,具体操作均按照试剂盒说明书完成。

1.6 骨密度检测

各组大鼠在灌胃处理 12 周后用 10% 水合氯醛(3 ml/kg)肌肉注射麻醉,待其呈稳定麻醉状态,置于 DEXA 骨密度仪测定的左侧股骨骨密度值。

1.7 RT-Real Time PCR 分析

将冷冻的右侧股骨迅速研磨后提取骨组织中的总 RNA, RT-Real TimePCR 方法检测 MEK1 及 ERK2mRNA 的表达水平。总 RNA 的提取采用 TRIzol 一步法,紫外分光光度计检测浓度,并用 1% 甲醛变性琼脂糖电泳检测其完整性,调整总 RNA 的浓度至 500 ng/ μL ,取 2 μL 将其逆转录为 cDNA。逆转录体系、PCR 扩增体系及反应条件均参照试剂盒中的说明书设定,以标本中所提取的高浓度 RNA 逆转录得到的 cDNA 作为标准品,经 10 倍梯度比例稀释后,进行 PCR 反应制备标准曲线。反应结束后,根据自动生成的标准曲线,计算出待测样本中管

家基因和目的基因的准确含量。以同一样本中,目的基因与管家基因含量的比值作为评价目的基因表达水平的指标。所用引物根据 GenBank 所发布的序列自行设计并合成(表 1)。

表 1 Real-Time PCR 引物序列及扩增产物长度

Table 1 Real-time PCR primer sequences and the length of amplification products

基因 Gene	PCR 引物序列 Primer sequences	扩增长度 (bp) Length of amplification product (bp)
GAPDH	上游:5'-CGTATCGGACGCCTGGTT-3'	124bp
	F:5'-CGTATCGGACGCCTGGTT-3'	
	下游:5'-CGTGGGTAGAGTCATACTGGAAC-3'	
	R:5'-CGTGGGTAGAGTCATACTGGAAC-3'	
MEK1	上游:5'-GTCGGACATCTGGAGCAT-3'	109bp
	F:5'-GTCGGACATCTGGAGCAT-3'	
	下游:5'-CACCTGGCATCCAAACA-3'	
	R:5'-CACCTGGCATCCAAACA-3'	
ERK2	上游:5'-TCCCAAATGCTGACTCCAAAG-3	91bp
	F:5'-TCCCAAATGCTGACTCCAAAG-3'	
	下游:5'-GCCAGAGCCTGTTCAACTTCA-3'	
	R:5'-GCCAGAGCCTGTTCAACTTCA-3'	

1.8 统计学分析

测定结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS10.0 软件处理数据,单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠离体股骨骨密度的比较

与正常组相比,模空组的股骨骨密度明显低于正常组($P < 0.01$),骨质疏松症模型成功复制。用药 12 周后,与模空组比较可显著上调股骨骨密度水平($P < 0.05$)。实验组间比较,低、高剂量组高于盖天力组($P < 0.05$),但低、高剂量组间差异无统计学意义,见表 2。

2.2 各组大鼠骨代谢生化指标的比较

与正常组、假手术组比较,模空组 BGP 水平明显降低($P < 0.01$),说明模型组骨形成明显下降;补肾复方低、中、高剂量组与盖天力组用药 12 周后,与模空组比较可显著上调 BGP 水平($P < 0.01$),但组间差异无统计学意义;与正常组、假手术组比较,模空组的 TRAP 水平显著升高($P < 0.01$),说明模型组骨吸收明显增强。补肾复方低、中、高剂量组与盖天力组用药 12 周后,与模空组比较可显著降低 TRAP 水平($P < 0.01$),实验组间比较,高剂量组低于低剂量组、盖天力组($P < 0.01$),高剂量组低于中剂量组($P < 0.05$),见表 3。

表 2 各组大鼠左后肢离体股骨骨密度测定结果($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The results of BMD of the isolated rat left hind femur in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	数量 N	股骨骨密度(g/cm^2) Femur Bone mineral density(g/cm^2)
正常组 normal group	9	$0.1268 \pm 0.0090^{\text{efmn}}$
假手术组 sham group	14	$0.1222 \pm 0.0089^{\text{ef}}$
模空组 blank group	13	$0.1090 \pm 0.0088^{\text{abcdghijkln}}$
低剂量组 low-dose group	14	$0.1238 \pm 0.0079^{\text{efn}}$
中剂量组 middle-dosegroup	15	$0.1230 \pm 0.0086^{\text{ef}}$
高剂量组 high-dose group	14	$0.1252 \pm 0.0082^{\text{efn}}$
盖天力组 Gaitianli group	13	$0.1173 \pm 0.0054^{\text{abfhl}}$

注:与正常组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与假手术组比较,^c $P < 0.01$,^d $P < 0.05$;与模空组比较,^e $P < 0.01$,^f $P < 0.05$;与低剂量组比较,^g $P < 0.01$,^h $P < 0.05$;与中剂量组比较,ⁱ $P < 0.01$,^j $P < 0.05$;与高剂量组比较,^k $P < 0.01$,^l $P < 0.05$;与盖天力组比较,^m $P < 0.01$,ⁿ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; compared with sham group, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.05$; Compared with the blank group, ^e $P < 0.01$, ^f $P < 0.05$ compared with the low-dose group, ^g $P < 0.01$, ^h $P < 0.05$; Compared with the middle dose group, ⁱ $P < 0.01$, ^j $P < 0.05$; compared with the high-dose group, ^k $P < 0.01$, ^l $P < 0.05$; Compared with Gaitianli group, ^m $P < 0.01$, ⁿ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠骨代谢生化指标测定结果($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Table 3 Determination of biochemical markers of bone metabolism in rats results in each group ($\bar{x} \pm s, n = 11$)		
组别 Group	骨钙素 BGP(ng/ml)	抗酒石酸酸性磷酸(ng/mL) TRACP(ng/mL)
正常组 normalgroup	168. 6092 $\pm$ 35. 7422 ^{cdefghijklmn}	51. 4674 $\pm$ 2. 7567 ^{cdefghijklmn}
假手术组 sham group	145. 7623 $\pm$ 24. 0469 ^{abefghijklmn}	74. 8417 $\pm$ 15. 6539 ^{abefghijmn}
模空组 blank group	75. 2915 $\pm$ 8. 5287 ^{abedghijklmn}	353. 0632 $\pm$ 28. 4477 ^{abedghijklmn}
低剂量组 low-dosegroup	111. 3265 $\pm$ 9. 9215 ^{abedef}	131. 5087 $\pm$ 10. 2146 ^{abedefijklmn}
中剂量组 middle-dosegroup	113. 9447 $\pm$ 18. 3146 ^{abedef}	99. 8360 $\pm$ 8. 0278 ^{abedefghlmn}
高剂量组 high-dose group	120. 3823 $\pm$ 16. 0169 ^{abedef}	84. 8046 $\pm$ 10. 3891 ^{abefghjmn}
盖天力组 Gaitianli group	119. 3276 $\pm$ 8. 0800 ^{abedef}	156. 4748 $\pm$ 13. 9928 ^{abedefghijkl}

注;同表 2。
Note; same to Table 2

2. 3 各组大鼠股骨 MEK1、ERK2mRNA 表达分析
RT-Real Time PCR 测定结果,与正常组比较,模空组的 MEK1 mRNA 相对表达量明显增加;用药 12 周后,与模空组比较,高剂量组的 MEK1 的 mRNA 相对表达量明显降低($P < 0. 01$)。与正常组

比较,模空组的 ERK2 mRNA 相对表达量明显降低($P < 0. 01$),用药 12 周后,与模空组比较,低、中剂量组的 ERK2 mRNA 相对表达量增加,但无统计学意义。见表 4。

表 4 各组大鼠股骨 MEK1、ERK2mRNA 相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Table 4 Comparison of the relative expression of MEK 1 and ERK2 mRNA in rat femur among each group ($\bar{x} \pm s, n = 11$)		
组别 Group	MEK1mRNA 相对表达量 MEK1mRNA compare the relative expression	ERK2mRNA 相对表达量 ERK2mRNA compare the relative expression
正常组 normalgroup	1. 1992 $\pm$ 0. 7688	1. 0403 $\pm$ 0. 3509 ^{defjklmn}
假手术组 sham group	1. 0676 $\pm$ 0. 3950 ^f	0. 2462 $\pm$ 0. 2873 ^a
模空组 blank group	2. 6942 $\pm$ 1. 8499 ^{dl}	0. 1017 $\pm$ 0. 1161 ^{ab}
低剂量组 low-dosegroup	1. 3994 $\pm$ 0. 9728	0. 6815 $\pm$ 0. 7460
中剂量组 middle-dosegroup	1. 9057 $\pm$ 1. 0294	0. 1818 $\pm$ 0. 1669 ^a
高剂量组 high-dose group	0. 8968 $\pm$ 1. 2693 ^{fn}	0. 0227 $\pm$ 0. 0189 ^{ab}
盖天力组 Gaitianli group	2. 6504 $\pm$ 0. 8395 ^l	0. 0249 $\pm$ 0. 0093 ^{ab}

注;同表 2。
Note; same to Table 2

3 讨论

绝经后骨质疏松症主要以骨吸收增强、骨量丢失、骨质疏松性骨折的发生率上升为主要特征^[3]。1969 年由 Saville 首先用大鼠切除卵巢建立骨质疏松动物模型,目前切除卵巢的雌大鼠骨质疏松模型已成为绝经后骨质疏松症经典动物模型^[4]。1994 年,沈霖、杜靖远发表“肾虚骨质疏松症动物模型的复制及相关指标测定”论文,认为绝经后骨质疏松症动物模型与中医学由于肾中精气亏虚“七七,天癸竭,地道不通”而绝经的病理机制相同,因此可以作为肾虚骨质疏松症动物模型^[5]。

3.1 补肾复方防治绝经后骨质疏松症的疗效机制

中医药防治绝经后骨质疏松症的文献很多,应用补肾复方的研究占 90% 以上。韦大文等用淫羊藿、补骨脂、骨碎补、菟丝子、墨旱莲、女贞子、牛膝等药物组成的补肾方(低剂量)连续给药 12 周后,去势雌性大鼠血清雌二醇和胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 含量显著增加、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量显著下降,该补肾方具明显抗去势大鼠骨质疏松的作用^[6]。葛全胜等应用食饵性高脂血症大鼠进行实验时发现,主要由熟地黄、鹿茸、水蛭、川芎、地龙、补骨脂等组成的降脂壮骨中药灌胃 8 周,可显著增强骨组织中 ER mRNA 和蛋白质表达,促进骨形态发生蛋白 2 (BMP-2) 表达,BMP-2 是成骨细胞转化促进因子,在调控骨形成、调控成骨细胞产生骨钙蛋白和碱性磷酸酶、促进成骨细胞分化中有关键作用^[7]。用牡蛎钙补肾中药血清研究对大鼠成骨细胞中骨形成蛋白-4 诱导成骨信号转导机制的调控作用。结果证明牡蛎钙补肾中药血清可以提高成骨细胞中 BMP-4 和 Smad5 基因表达、降低 Smad6 基因表达,是其防治骨质疏松症的重要机制之一^[8]。

3.2 MEK/Erk 通路及其补肾中药的调节作用

现已知丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK, Mitogen-activated Protein Kinases) 信号转导途径是细胞外信号引起细胞核内反应的通路之一,可参与细胞的增殖、分化、凋亡等多种生理过程^[9]。Ras/ Raf/ MEK/ Erk 通路是 MAPK (Mitogen-activated Protein Kinases) 众多通路中的一个。MEK (MAPK/Erk kinase) 即为其中重要的一员。其作用是磷酸化并激活下游底物 MAPK, MAPK 是一类丝/苏氨酸蛋白激酶,Erk (Extracellular signal-regulated kinase) 即为其中重要的一员,MAPK 的作用是磷酸化并激活

多种下游底物,因此可以引发多种细胞反应。Jaiswal 等发现在诱导成人 BMSCs 向成骨细胞分化时有 ERK1/2 的激活,ERK1/2 阻断剂 PD98059 能剂量依赖性的阻断其向骨组织的分化,并且出现向脂肪组织分化的增强^[10]。Pumiglia 等用 MEK 的特异抑制剂 PD98059 阻滞 MEK 进行的研究发现 NGF 可使 TRK 细胞(表达 NGF 受体 trkA 的 NIH3T3 细胞系)的 Erk 持久激活和 p21cip1 表达,并使细胞阻滞于 G1 期^[11]。

蒿长英等发现左归丸含药血清对 MC3T3-E1 细胞 ERK1/2 蛋白的磷酸化作用,与 Control 组比,ZG (L) 能明显诱导 MC3T3-E1 细胞 ERK1/2 蛋白的磷酸化,且强于 BML 组 ($P < 0.01$)。加入 PD98059 后,ZG (L) 组和 BML 组较未加 PD98059 组对 ERK1/2 蛋白磷酸化的诱导作用明显减弱 ($P < 0.05$)^[12]。本实验通过 RT-RealTime PCR 发现补肾中药复方降低了抑制成骨的 MEK1,提高了促进成骨分化的 ERK2 的 mRNA 的表达量。

本实验模拟绝经后骨质疏松症模型,从动物实验角度研究补肾中药复方对去卵巢大鼠骨质疏松的影响。骨密度检测是诊断骨质疏松症的可靠指标。动物实验中,常通过测定实验动物的全身、股骨及腰椎骨密度判定其是否发生骨质疏松^[13]。骨密度测定结果表明:模空组的骨密度水平明显低于正常组。同时,检测骨形成和骨吸收平衡失调的相关指标,骨钙素是有分化成熟的成骨细胞所分泌的,也被认为是成骨细胞分化和增殖的标志^[14],抗酒石酸酸性磷酸酶为骨吸收和破骨细胞活性的标志物,是骨吸收的特异性指标^[15]。本研究结果,模空组的血清骨钙素显著降低,而抗酒石酸酸性磷酸酶明显增高,结果表明骨质疏松模型成功。药物干预 12 周后,补肾中药复方低、高剂量组可以显著提高去卵巢大鼠的骨密度,并且补肾中药复方既可以促进骨形成,又可以抑制骨吸收,体现出多靶向的调节作用。

本实验采用补肾中药复方防治骨质疏松症,方中鹿茸为君,具有生精补髓,强筋健骨的作用。淫羊藿为臣,补肾壮阳,祛风除湿。牡蛎为佐使,归肝肾经,具有补肾正气,止盗汗,去烦热,补养安神的作用,现代研究发现其主要成分为碳酸钙、磷酸钙及硫酸钙,并含有钙、铁、锌等元素。本实验从术后 7d 开始给药,体现了中医“治未病”的思想,即未病先防。

本实验从动物实验角度验证补肾中药复方对去卵巢大鼠骨质疏松的疗效,并进一步阐明其机制与

(下转第 484 页)

的长度、形状、羟基磷灰石涂层范围以及弹性模量等因素都有密切的关系。

在本研究中,ABG 柄周围骨密度变化趋势比较大的是 1、7 区,其次是 2、5、6 区,几乎无变化的是 3、4 区;而 SECUR-FIT HA 在 1、2、6、7 区均有明显的变化趋势,3、5 区次之,无明显变化的是 4 区。这说明解剖型假体同直柄假体相比较,骨密度改变的范围和区域相对较大。ABG 柄和 SECUR-FIT HA 柄均采用钛 6-铝 4 钒锻合金材质,钛合金同钴铬钼合金相比较,弹性模量更接近骨组织,应力遮挡作用也有所改善,但仍存在一定的应力传导作用。ABG 柄依据股骨近端的解剖形态设计,同 SECUR-FIT HA 直柄假体比较,能够减少股骨近端的应力遮挡作用,而降低近端骨量丢失;ABG 柄为近端固定假体,SECUR-FIT HA 柄在设计上是远端固定假体,因此两者骨密度改变的区域有所不同;由于 SECUR-FIT HA 柄最短长度为 110 mm,ABG 柄最短假体长度为 100 mm,SECUR-FIT HA 柄周围骨量丢失范围也比 ABG 柄大,总丢失量也相对多。

总之,ABG 柄同 SECUR-FIT HA 相比较,术后

12 个月 ABG 柄周围骨量丢失较少,受应力遮挡作用影响相对较小。

【 参 考 文 献 】

[1] Mellon SJ, Liddle AD, Pandit H. Hip replacement: landmark surgery in modern medical history. *Maturitas*, 2013,75 (3) :221-6.

[2] Grune B, Fallon M, Howard C, et al. Report and recommendations of the international workshop Retrieval approaches for information on alternative methods to animal experiments. *Altex*, 2004,21 (3) , 115-127.

[3] Sheth NP, Nelson CL, Paprosky WG. Femoral bone loss in revision total hip arthroplasty: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg*, 2013,21 (10) :601-12.

[4] O' Neill SC, Queally JM, Devitt BM, et al. The role of osteoblasts in peri-prosthetic osteolysis. *Bone Joint J*, 2013,95-B (8) :1022-6.

[5] Thillemann TM, Pedersen AB, Mehnert F, et al. Postoperative use of bisphosphonates and risk of revision after primary total hip arthroplasty: a nationwide population-based study. *Bone*, 2010,46 (4) :946-51.

[6] Prokopetz JJ, Losina E, Bliss RL, et al. Risk factors for revision of primary total hip arthroplasty: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord*, 2012,15 (13) :251-254.

(收稿日期:2013-12-18)

(上接第 475 页)

提高 ERK2mRNA 的表达,降低 MEK1mRNA 的表达相关。提示补肾中药复方可以通过调节 MAPK 信号通路的某些环节,抑制破骨和促进成骨作用来改善骨质疏松骨组织的病变,而起到防治原发性骨质疏松的作用,为中医药防治绝经后骨质疏松症提供实验依据。

【 参 考 文 献 】

[1] Wang Hongfu. Efficacy of osteoporosis research methods and techniques [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2009: 9.

[2] Liu Wenbo, Hong Zhijun, Liu Hongju. Advances in medicine for osteoporosis. *Guizhou Medicine*, 2010,34 (1) : 85-86.

[3] Huayue Chen, Shoichi Emura, Hideo Isono, et al. Effects of traditional Chinese medicine on bone loss in SAMP6: a murinemodel for senile osteoporosis. *Biol Pharm Bull*, 2005,28 (5) : 865-868.

[4] Jia Jinghan, Qiu Xinjian, Chen Zhijian. Osteoporosis animal model. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2007,22 (8) :765-768.

[5] Shen Lin, Du Jingyuan. Copy and kidney-related indicators in animal models of osteoporosis Determination. *Chinese Traditional Medical Traumatology*, 1994, 2 (1) : 1-5.

[6] Wei Dawen, Shang Lizhi, Li Pei, et al. Research Kidney Treatment of osteoporosis in ovariectomized female rats and its mechanism. *Chinese Journal of Experimental Traditional*, 2010, 16 (10) : 126.

[7] Ge Quansheng, Zhu Yinghui, Wang Shouyu, et al. Lipid-

lowering medicine for bone morphogenetic hyperlipidemic rats prey protein 2, the effects of estrogen receptor expression. *Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research China*, 2010,14 (7) : 1268.

[8] Hu Jing, Zheng Hongxin. Oyster serum calcium kidney medicine on bone morphogenetic protein -4 osteoinductive signal transduction mechanism of regulation. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2009 (7) : 5.

[9] Chang L, Karin M. Mammalina MAP kinase signaling cascades. *Nature*, 2001, 410 (6284) : 37-401.

[10] Jaiswal RK, Jaiswal N, Bruder SP, et al. Adult human mesencymal stemcell differentiation to the osteogenic or adipogenic lineage is regulated by mitogenic-activated protein kinase. *J Bio Chem*, 2000, 275 : 9645-96521.

[11] Decker SJ. Nerve growth factor-induced growth arrest and inductionof p21Cip1/WAF1 in NIH-3T3 cells expressing Trka. *J Biol Chem*, 1995, 270 (52) :30841-30844.

[12] 蒿长英. 左归丸含药血清干预 MC3T3-E1 细胞 ERK1/2 信号通路的研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2012; 4-7.

[13] Hao Changying. Zuoguiwan containing serum study MC3T3-E1 cells ERK1 / 2 signaling pathway intervention [D]. Shenyang. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2012; 4-7.

[14] Liu Zhonghou. Bone mineral and clinical [M] Beijing: China Science and Technology Press, 2006; 473-475.

[15] Wang Xi, Wu Wen, Lee Zheng, et al. Marrow mesenchymal stem cells to differentiate into bone cells induced to differentiate. *Guangdong Medicine*, 2011,32 (3) :401-403.

[15] Xiao En, Meng Ping. Osteoporotic bone metabolic markers. *Chinese Osteoporosis Journal*, 2008,14 (3) :212-216, 147.

(收稿日期:2013-11-20)

补肾复方对去卵巢大鼠 MEK1、ERK2基因表达的调控作用



作者：[高璐](#)，[郑洪新](#)，[尚德阳](#)，[宗志红](#)，[林庶茹](#)，[GAO Lu](#)，[ZHENG Hongxin](#)，[SHANG Deyang](#)，[ZHONG Zhihong](#)，[LIN Shuru](#)

作者单位：[高璐, 郑洪新, 尚德阳, 林庶茹, GAO Lu, ZHENG Hongxin, SHANG Deyang, LIN Shuru\(辽宁中医药大学, 沈阳, 110032\)](#)，[宗志红, ZHONG Zhihong\(中国医科大学, 沈阳, 110001\)](#)

刊名：[中国骨质疏松杂志](#)

英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：2014(5)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201405003.aspx