中国骨质疏松杂志 2015 年 7 月第 21 卷第 7 期 Chin J Osteoporos, July 2015, Vol 21, No. 7
Published online www.wanfangdate.com.cn doi:10.3969/j.issn.1006-7108.2015.07.007

·论著·

金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠血清 IL-2、IL-4 和 TNF-α 表达的影响

赵玉玺[1] 张彬[1] 湛梅圣[1] 王万垠[1] 杨建强[1] 胡耀芬[1] 孙海萍[1] 吴璇[2*]
1. 湖北省枣阳市第一人民医院骨科,枣阳 441200
2. 湖北省枣阳市第一人民医院五官科,枣阳 441200

中图分类号:R681 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-7108(2015)07-0796-05

摘要:**目的** 研究一种新的国家一类中药金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠骨折愈合过程中细胞因子的影响。**方法** 建立绝经后骨质疏松性骨折大鼠模型,给予雌激素及不同浓度的金天格胶囊灌胃,并于灌胃治疗 5 周后,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)及肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的表达。**结果** 模型组大鼠的 IL-2、IL-4 的阳性表达明显降低、TNF-α 的阳性表达明显升高($P<0.05$);中、低剂量的金天格胶囊可使大鼠的 IL-2、IL-4 的阳性表达明显升高、TNF-α 的阳性表达明显降低($P<0.05$),而高剂量金天格胶囊的干预效果不显著($P>0.05$)。**结论** ①IL-2、IL-4 是促进骨质疏松性骨折愈合的细胞因子,与 TNF-α 的作用相反②金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠的愈合具有促进作用。

关键词:骨质疏松性骨折;金天格胶囊;IL-2;IL-4;TNF-α

Effect of Jintiange capsules on the serum expression of IL-2, IL-4, and TNF-α in rats with osteoporotic fractures

ZHAO Yuxi[1], ZHANG Bin[1], ZHAN Meisheng[1], WANG Wanyin[1], YANG Jianqiang[1], HU Yaofen[1], SUN Haiping[1], WU Xuan[2]
1. Department of Orthopedics, the First People's Hospital, Zaoyang 441200, China
2. Department of Head and Neck, the First People's Hospital, Zaoyang 441200, China
Corresponding author: WU Xuan, Email: zyx8023wx@163.com

Abstract: **Objective** To study the effects of a class of the new state traditional Chinese medicine, Jintiange capsules, on the expression of cytokines during the fracture healing process in osteoporotic rats. **Methods** The rat model of postmenopausal osteoporotic fracture was established. Jintiange capsules and different concentrations of estrogen were administered through stomach. After 5 weeks of the treatment, expression of interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The positive expression of IL-2 and IL-4 decreased significantly, but the expression of TNF-α increased significantly in rats of model group ($P<0.05$). Low and middle doses of Jintiange capsules increased the positive expression of IL-2 and IL-4, but decreased TNF-α significantly in rat ($P<0.05$). No significant intervention with high dose of Jintiange capsules was found ($P>0.05$). **Conclusion** 1) IL-2 and IL-4 are cytokines that promote the healing of osteoporotic fractures, which is opposite to the effect of TNF-α. 2) Jintiange capsules can promote the healing of osteoporotic fractures.

Key words: Osteoporotic fracture; Jintiange capsule; IL-2; IL-4; TNF-α

绝经后骨质疏松症(postmenopausalosteoporosis, PMOP),又称Ⅰ型骨质疏松症,其特征是骨量快速丢失,小梁骨吸收加速,骨脆性增加,骨折风险加大,是严重绝经后妇女的难治性疾病。目前公认的 PMOP 的发病原因是雌激素减少致破骨细胞介导的骨吸收作用显著增强,随之骨形成也增强,形成高转换型骨质疏松,这种改变在给予雌激素后能够得到有效地纠正[1],但长期雌激素替代治疗(estrogen replacement therapy, ERT)导致了患者患乳腺癌、子宫内膜癌[2]、深静脉血栓形成[3]的风险增高。骨质

*通讯作者:吴璇,Email:zyx8023wx@163.com

疏松性骨折治疗的药物大都有一定的毒副作用,服药时间较长,依从性较差,且费用较昂贵,患者较难承受[4-5]。寻找更安全、有效、经济的药物,将会是骨质疏松性骨折患者的福音[6-7],金天格胶囊为获得国家发明专利的中药一类新药,是应用仿生学研究,采用非保护动物特定部位的骨骼,以天然虎骨的特征图谱为标准研发的新一代虎骨代用品制剂,传统医学认为虎骨能祛风镇痛、强筋健骨,治疗筋骨及腰腿疼痛疗效显著[8],本实验拟观察金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠愈合过程中骨代谢因子的影响,用以探讨金天格胶囊对骨质疏松性骨折愈合的细胞分子生物学机制,为其临床应用提供理论依据和支持。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要的实验药物及试剂:金天格胶囊(西安金花企业集团股份有限公司提供,批号 110911);雌二醇(0.625 mg,爱尔兰惠氏药厂产品);IL-2;IL-4;TNF-α Elisa Kit 均为 USA R&D 产品;10% 水合氯醛(湖北医药学院附属人民医院药剂科提供);二甲亚砜(纯度 > 99.9%,北京索莱宝科技有限公司提供)。

1.1.2 实验动物:清洁级健康雌性 SD 大鼠,6 月龄,体重 280 ~ 300 g,平均(286.6 ± 119.3)g 未曾交配,购于湖北医药学院实验中心,动物合格证号:SCXK 鄂 2009-0001,本实验要求符合湖北医药学院动物保护委员会要求,饲养于湖北医药学院标准动物实验室,室温 23 ± 2℃,12 h 间隔照明,定期消毒和通风,自由进食和高压消毒后的自来水。

1.2 方法

1.2.1 骨质疏松大鼠模型的建立:6 月龄雌性 SD 大鼠 68 只按简单随机方法分为空白组和手术组,分别为 18 只和 50 只。空白组行假手术,手术组行卵巢切除术,空白组同样的处理不摘除卵巢,仅切除卵巢周围少量脂肪组织,术后给予抗炎治疗 3 天,术后自由活动和进食 3 个月。

1.2.2 骨质疏松性骨折模型建立:3 个月后从两组随机各选出 1O 只大鼠行骨密度检查,以确定造模成功。在确定造模成功后,将剩下的 46 只大鼠(2 只死亡)在麻醉下,取右侧胫骨上 1/3 切口,于胫骨结节下 1 mm 处切开骨膜,横行锯断胫骨,随即以直径 0.8 mm 克氏针固定,建立骨质疏松性骨折组(OPFM)共 38 只与一般性骨折组(CFM)共 8 只。

1.2.3 动物分组:建立骨质疏松性骨折模型一周后,将 OPFM 组 37 只(1 只死亡)大鼠随机分为 5 组,分别为手术模型组(OVX)7 只、雌激素组(OVX + E)7 只、金天格胶囊高剂量组(OVX + HJ)8 只、金天格胶囊中剂量组(OVX + MJ)8 只、金天格胶囊低剂量组(OVX + LJ)7 只,以及一般性骨折组(CFM)8 只。

1.2.4 动物给药方法:建立骨折模型 1 周开始给药,OVX + E 组给予结合雌激素 0.066 mg/kg 灌胃;OVX + HJ、OVX + MJ、OVX + LJ 组分别给予金天格胶囊 0.96 g/kg、0.48 g/kg、0.24 g/kg,溶剂均为 20% 的二甲亚砜。每日上午 9 时给药,3 天/次,OVX 组和 CFM 组每天灌胃等体积的溶剂。实验过程每周称重 1 次,按体重调整给药剂量,给药 35 天。动物每日给药剂量 = 人体给药剂量 × 6.3/60。

1.2.5 细胞因子的检测:在最后一次给药 24 h 后,麻醉下行 X 线、骨密度检查,然后麻醉下心脏取血处死大鼠,室温静置 4 h,然后 3000 r/min,离心 30 min,取血清,分装,-20℃冰箱保存,待测骨代谢指标。IL-2、IL-4、TNF-α 测定均采用 ELISA 方法,按照试剂盒说明书步骤操作,光密度(optical density, OD)值在酶标仪 450 nm 波长下 15min 内读取。

1.2.6 统计学处理:采用 SPSS16.0 统计软件包进行单因素方差分析和多重比较,各组数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度结果

OVX 组 BMD 明显降低,与 CFM 组相比有显著性差异,$P < 0.05$,佐证了骨质疏松性骨折大鼠模型建立的成功;运用结合雌激素和金天格胶囊治疗后,大鼠骨密度明显提高,OVX + E 组、OVX + MJ 组、OVX + LJ 组 BMD 与 OVX 组相比差异有统计学意义,$P < 0.05$,但 OVX + HJ 组并无提高去势大鼠 BMD,与 OVX 相比无统计学意义,$P > 0.05$。具体结果见表 1。

2.2 IL 的结果

①去除卵巢后 OVX 组 IL-2、IL-4 水平均明显降低,与 CFM 组相比有显著性差异,$P < 0.05$,②运用结合雌激素和植物雌激素干预后,大鼠 IL-2、IL-4 均有显著增高,OVX + E 组、OVX + MJ 组、OVX + LJ 组 BGP、BLP 与 OVX 组相比差异均有统计学意义,$P < 0.05$,但 OVX + HJ 组并无增高去卵巢大鼠血清 IL-2、IL-4 的含量,与 OVX 相比无统计学意义,$P > 0.05$。具体结果见表 2。

表 1 金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠 BMD 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of JTG capsule on BMD in rats with osteoporotic fractures ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMD
CFM 组	8	0.179 ± 0.010
OVX 组	7	0.161 ± 0.006[a]
OVX + E 组	7	0.175 ± 0.007[bd]
OVX + HJ 组	8	0.168 ± 0.006[ace]
OVX + MJ 组	8	0.178 ± 0.007[bdef]
OVX + LJ 组	7	0.177 ± 0.007[bdefg]

注:与 CFM 组比较,$P^a < 0.05$, $P^b > 0.05$;与 OVX 组比较 $P^c > 0.05$, $P^d < 0.05$;与 OVX + E 组比较,$P^e > 0.05$;与 OVX + HJ 组比较,$P^f < 0.05$;与 OVX + MJ 组比较,$P^g > 0.05$。

表 2 金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠骨代谢指标 IL-2、IL-4 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of JTG capsule on IL-2 and IL-4 in rats with osteoporotic fractures ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-2(OD 值)	IL-4(OD 值)
CFM 组	8	0.227 ± 0.056	0.369 ± 0.028
OVX 组	7	0.164 ± 0.030[a]	0.318 ± 0.013[a]
OVX + E 组	7	0.213 ± 0.029[bd]	0.357 ± 0.026[bd]
OVX + HJ 组	8	0.173 ± 0.026[ace]	0.337 ± 0.011[ace]
OVX + MJ 组	8	0.235 ± 0.054[bdef]	0.376 ± 0.015[bdef]
OVX + LJ 组	7	0.252 ± 0.028[bdefg]	0.374 ± 0.013[bdefg]

注:与 CFM 组比较,$P^a < 0.05$, $P^b > 0.05$;与 OVX 组比较 $P^c > 0.05$, $P^d < 0.05$;与 OVX + E 组比较, $P^e > 0.05$;与 OVX + HJ 组比较,$P^f < 0.05$;与 OVX + MJ 组比较, $P^g > 0.05$。

2.3 TNF-α 结果

①去除卵巢后 OVX 组 TNF-α 水平均明显升高,与 CFM 组相比有显著性差异,$P < 0.05$,②运用结合雌激素和植物雌激素干预后,大鼠 TNF-α 均有明显降低,OVX + E 组、OVX + MJ 组、OVX + LJ 组 TNF-α 与 OVX 组相比差异均有统计学意义,$P < 0.05$,但 OVX + HJ 组并无降低大鼠血清 TNF-α 的含量,与 OVX 相比无统计学意义,$P > 0.05$。具体结果见表 3。

表 3 金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠骨代谢指标 TNF-α 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of JTG capsule on TNF-α in rats with osteoporotic fractures ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF-α(OD 值)
CFM 组	8	0.383 ± 0.015
OVX 组	7	0.430 ± 0.021[a]
OVX + E 组	7	0.398 ± 0.014[bd]
OVX + HJ 组	8	0.414 ± 0.012[ace]
OVX + MJ 组	8	0.396 ± 0.017[bdef]
OVX + LJ 组	7	0.397 ± 0.014[bdefg]

注:与 CFM 组比较,$P^a < 0.05$, $P^b > 0.05$;与 OVX 组比较 $P^c > 0.05$, $P^d < 0.05$;与 OVX + E 组比较, $P^e > 0.05$;与 OVX + HJ 组比较,$P^f < 0.05$;与 OVX + MJ 组比较,$P^g > 0.05$。

3 讨论

大鼠是骨质疏松研究中最常用的模型动物,雌性大鼠卵巢切除后,松质骨的骨转换加快、骨量减少、骨强度下降,这种特点类似于人正常绝经后的骨丢失状态;给予合适的雌激素进行替代试验时并不增加骨转换和骨丢失,这与绝经后妇女对雌激素替代法的反应相一致[9];另外,手术后雌性大鼠在骨质疏松性骨折和骨量减少部位上也表现出与人类很大的相似性[10],大鼠 6 月龄以后股骨骨密度的变化已极小,去势后 8 周大鼠表现为骨吸收和骨形成增加的高转换型骨代谢特征,且骨吸收大于骨形成,符合骨质疏松的病理学改变[11,12],用 6 月龄大鼠建立骨质疏松模型已被认可且重复应用[13]。

BMD 的测定,在骨质疏松症的诊断和治疗中具有不可替代的地位,在 2000 年美国国立公共卫生研究所(NIH)召开的骨矿会议上也有阐明[14],从表 1 可以看出本实验中去除卵巢后 OVX 组 BMD 显著降低,和 CFM 组比较 $P < 0.05$,有显著性差异,也佐证了本实验动物模型的成功建立,运用雌激素和金天格胶囊干预后,大鼠 BMD 显著升高,证实了金天格胶囊可以提高骨质疏松性骨折大鼠的骨密度,改善骨质量,为骨折愈合提供良好的先决条件。

骨代谢是一个由骨形成和骨吸收构成的动态平衡过程,一旦这种平衡被打破, 破骨作用大于成骨作用,就会导致骨质疏松。雌激素对骨代谢有着重要作用[15,16]。一方面, 雌激素可影响钙调节激素[17]; 另一方面,雌激素可直接刺激成骨细胞和抑制破骨细胞。当雌激素水平降低时,不能抑制破骨细胞活性,破骨细胞在数量和活性上均超过成骨细胞,骨吸收的作用增强, 骨代谢出现负平衡。此外,雌激素也可以调节某些细胞因子对骨代谢的作用[4]。这些细胞因子中, 最引人注意的是 IL 和 TNF-α。骨质疏松症时主要表现全身及局部骨结构发生变化,骨量减少,明显影响了骨折愈合过程中血肿炎症期、肉芽形成期、骨化期和重塑期四个阶段连续而重叠的变化过程,使骨折愈合不能正常进行,在这个过程中,细胞因子站有重要的地位,更是超过了其在一般性骨折愈合、修复中的作用[18]。

IL 是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子,目前发现了 29 个白细胞介素,分别命名为 IL-1 ~ IL-29,功能复杂,成网络,复杂重叠。在

骨质疏松组织中可有高度表达,前人研究较为集中的是 IL-1 和 IL-6。IL-1 在体内可显著促进成骨细胞的凋亡[19],抑制破骨细胞 Caspases 的活性促使其生存[20],从而抑制骨质疏松性骨折的愈合[21],IL-6 可作用于破骨细胞的早期阶段,刺激破骨细胞前体细胞分裂增殖,影响成骨细胞活性,使成骨细胞通过细胞间接触,产生前列腺素、IL-1、集落刺激因子等(c-SFM)为破骨细胞发挥作用提供合适的微环境,Szczesny[22]、Gianni 等[23]也证实绝经后雌激素水平降低导致 IL-6 产生过量,IL-6 水平与血清中雌激素水平呈负相关。

本实验,测定了前人未检测过的指标 IL-2、IL-4,意在发现白细胞介素类在骨质疏松性骨折愈合的微环境中的更多作用,并为后人深入的研究其分子生物学机制奠定一定的动物实验基础。从表 2 可以看到,去除卵巢后 OVX 组 IL-2、IL-4 水平均明显降低,与 CFM 组相比有显著性差异,$P<0.05$;运用结合雌激素和金天格胶囊干预后,大鼠 IL-2、IL-4 均有显著升高,OVX + E 组、OVX + MJ 组、OVX + LJ 组与 OVX 组相比差异均有统计学意义,$P<0.05$,并且 OVX + MJ、OVX + LJ 这两组 IL-2、IL-4 水平都有超过 CFM 组水平,考虑和绝经后骨质疏松症处于骨代谢高转换状态有关,CFM 组、OVX + E 组、OVX + MJ 组、OVX + LJ 组这四组的 IL-2、IL-4 水平两两比较,差异无统计学意义,$P>0.05$,从而证实了结合雌激素和金天格胶囊对骨质疏松性骨折治疗的确切作用;但 OVX + HJ 组并无升高去势大鼠 IL-2、IL-4 的作用,与 OVX 相比无统计学意义,$P>0.05$,说明金天格胶囊在中、低剂量时已经达到其治疗大鼠骨质疏松性骨折的理想剂量,虽然其作为一种国家一类中药,也有剂量的限制。

TNF-α 也是单核细胞和巨噬细胞分泌的细胞因子,具有抑制骨形成、促进骨吸收的作用[24],TNF-α 也可以被雌激素调节,体外研究证实雌激素可以直接抑制 TNF-α 基因的表达[25]。从表 3 可以看出,本实验中去除卵巢后 OVX 组 TNF-α 水平升高,运用结合雌激素和金天格胶囊干预后,大鼠 TNF-α 显著降低,这和 Rachon 等[26]的研究报道一致,从而也证实了金天格胶囊对骨质疏松性骨折治疗具有确切的促进作用。

综上所述,IL-2、IL-4 作为白细胞介素家族中的两个,在骨质疏松性骨折的愈合的骨微环境中发挥着重要的作用,并且和 IL-1、IL-6、TNF-α 的作用相反,是两个促进骨折愈合的因子。

虎骨作为名贵珍稀药材在骨伤科应用历史悠久,作为新一代虎骨代用品,金天格胶囊含有的药用成分与虎骨的药用成分相同[27],本实验应用骨密度仪配合小动物软件检测大鼠骨密度的方法,结合 ELISA 方法检测血清细胞因子指标,证实了合理剂量的金天格胶囊在去势 SD 雌性大鼠骨折愈合早期起着确切的促进作用,但还需认识到,提高 IL-2、IL-4 的阳性表达、降低 TNF-α 的阳性表达,可能只是金天格胶囊促进骨质疏松性骨折愈合的一个机制,其详尽促骨折愈合机制和合理的剂量还有待深入研究。

【参 考 文 献】

[1] Pacifici R. Cytokines, estrogen, and postmenopausal osteoporosis-the second decade. Endocrinology, 1998, 139: 2659-2661.

[2] Li CI, Malone KE. Porter PL. et al. Relationship between long durations and different regimens of hormone therapy and risk of breast cancer. JAMA, 2003, 289(24): 3254-63.

[3] Baber RJ, O'Hara JL, Boyle FM. Hormone replacement therapy: to use or not touse? Med J Aust, 2003, 178(12): 630-3.

[4] Park HM, Heo J, Park Y. Calcicum from plant sources is beneficial to lowering the risk of osteoporosis in postmenopausal Korean women. Nutr Res, 2011, 31(1): 27-32.

[5] Lewiecki EM, Bilezikian JP, Khosia, et al. Osteoporosis update from the 2010 santa fe bone symposium. J Clin Densitom, 2011, 14(1): 1-21.

[6] Saleh NK, Saleh HA. Olive oil effectiveiy mitigates Ovaruectomy induecd Osteoporosis in Rats. BMC Complmenet Altern Med, 2011, 11(1): 10.

[7] Spangler M, Phillips BB, Ross MB, et al. Calcium supplementation in postmenopausal women to reduce the risk of osteoporotic fractures. Am J Health Syst Pharm, 2011, 68(4): 309-318.

[8] 刘铮,韩大为. 虎骨及人工虎骨的临床研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2006, 14(2): 73-75.
Liu Zheng, HanDawei. Advances in artificial tiger bones and clinical [J]. Chinese medicine Journal of Orthopedics and Traumatology, 2006, 14 (2): 73-75.

[9] Purdie DW. Consequences of long-tern hormone replacementtherapy[J]. Br Med Bull, 2000, 56(3): 809-823.

[10] Chachra D, Lee JM, Kasra M, et al. Differential effects of ovariectomy on the mechanical properties of cortical and cancellous bones in rat femora and vertebrae [J]. Biomed Sci Instrum, 2000, 36: 123-128.

[11] Nordsletten L. The development of femoral osteopenia in ovariectomized rats is not reduced by high intensity treadmill training: a mechanical and densitometrie study. Calif Tissue Int, 2004, 55(6): 436-442.

[12] Qingnan Li. Skeletal effect of constant and terminated use of risedronate on cortical bone in ovariectomized rats. J Bone Minerat

Metabol, 1999, 17: 18-22.

[13] Dike NK. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. Bone Miner, 2005, 15: 175.

[14] NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention. Diagnosis and Therapy. JAMA, 2001, 285: 785-795.

[15] Vural P, Ak Gu LC, Canbaz M. Effects of hormoe replacement therapy on plasma proinflammatcry and a n t i- in flammatory cytokines and some bo etumove rmar kers in pos tmenopausal women. Pharmacl Res, 2006, 54 (4): 298-302.

[16] Uemura H, Kamada M, Maegawa M, et al. Ef fect of hormone replacement therapy on the production of bone-resorbing cytokines by peripheral blood cells in postmenopausal women. Horm Metab Res, 2005, 37 (4): 226-230.

[17] Sakakura Y Shide N, Tsuruga E, et al. Effects 0f runnin gexercise on the mandible and tibia of ovarie-ctomized rats. J Bone Miner Metab, 2001, 19 (3): 159-167.

[18] Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing [J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(3): 513-520.

[19] Olemdo ML, Landry PS, Sadasivan KK, et al. Regulation of osteoblast levels during bone healing. J Ortbop Trauma, 1999, 13: 356-362.

[20] Okahashi N, Koide M, Jimi E, et al. Caspases (inter leukin-1 beta-converting enzyme family proteases) are involved in the regulation of the survival of osteclasls. Bone, 1998, 23: 33-41.

[21] Garcia RM, Toran N, Andalus P, et al. Vascular endothelial growth factor is express in human fetal growth cartilage. J Bone Miner Res, 2000, 15: 534-540.

[22] Szczesny G. Molecular aspects of bone healing and remodeling. Pol J Patho1, 2002, 53: 1 45-1 53.

[23] Gianni W, Ricci A, Gazzaniga P. et al. Raloxifene modulates inter leukin-6 and tumor necrosis factor-alpha synthesis in vivo: result from a pilot clinical study. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89: 6097-6099.

[24] Kobayashi K, Takahashi N, jimi E, et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoblast differention by a mechanism independent of the ODF RANKL-RANK interaction. J Exp Med, 2000, 191: 275-286.

[25] Pfeilschifter J, Koditz R, PfohiM, et al. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause Endocr Rev. 2002, 23(1): 90-119.

[26] Rachon D, Mysliwska J, Suchecka-Rachon K. et al. Efects of oestrogen deprivation on intefleukci-6 producti0n by peripheral blood mononuckear cells of postmenopausal women J Endocnno1. 2002, 172(2): 387-395.

[27] 王清玉,韩大为. 人工虎骨粉的药理作用研究进展[J]. 中医正骨, 2006, 18(11): 70-71.
Wang Qingyu, Han Dawei. Pharmacological Effect of artificial tiger bone progress[J]. TCM positive Bone, 2006, 18 (11): 70-71.

(收稿日期:2014-08-05)