

G-B-R 复配物对模拟微重力效应诱导骨丢失的防护作用

刁岩² 卢静² 孙贵才³ 郑春雨⁴ 王萌影⁴ 徐轶尔⁵ 王振宇^{1,2*}

1. 哈尔滨工业大学极端环境与营养研究所, 黑龙江, 哈尔滨 150090
2. 哈尔滨工业大学食品科学与工程学院, 黑龙江, 哈尔滨 150090
3. 南昌大学第四附属医院骨科, 江西 南昌 330003
4. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040
5. 哈药集团技术中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 11-1307-06

摘要: 目的 从天然产物中寻找对微重力效应诱导骨丢失具有防护作用的复配物。方法 通过 24 种天然产物对骨髓干细胞和成骨细胞的增殖活性, 筛选出具有较强效果的天然产物并对其进行复配; 随后通过复配物对模拟微重力效应下昆明小鼠骨质丢失的影响来评价其骨丢失防护作用。结果 银杏叶和荞麦花粉的复配物显示出最强的骨髓干细胞增殖活性; 熟地黄显示出最强的成骨细胞增殖活性; 在模拟微重力环境下不同剂量的银杏叶、荞麦花粉与熟地黄的复配物均显示出不同程度的骨丢失防护作用; 高剂量组可以显著提高模型组小鼠血清中碱性磷酸酶的活性及股骨中的有机物含量。结论 通过对天然产物促骨髓干细胞和成骨细胞增殖活性进行筛选和复配, 发现所获得的 G-B-R 复配物对微重力效应诱导的骨丢失具有良好的防护作用。

关键词: 模拟微重力效应; 骨丢失; 天然产物

The protective effect of G-B-R compound on bone loss induced by simulated microgravity

DIAO Yan², LU Jing², SUN Guicai³, ZHENG Chunyu⁴, WANG Mengying⁴, XU Yier⁵, WANG Zhenyu^{1,2}

1. Institute of Extreme Environment Nutrition and Protection, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China
2. School of Food Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China
3. Department of Orthopedics, the Fourth Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330003, China
4. Heilongjiang University Of Chinese Medicine, Harbin 150040, China
5. Technology Center, Harbin Pharmaceutical Group, Harbin 150040, China

Corresponding author: WANG Zhenyu, Email: heromylh99@sina.com

Abstract: Objective To develop a potent bone loss protective compound from natural products under microgravity environment.

Methods Twenty-four natural products were studied. The compound prescription was constituted with natural product which had high proliferative activity in bone marrow mesenchymal stem cells or osteoblasts. The effective products were screened and combined. The effect of the compound prescription on bone loss induced by simulated microgravity was examined in Kunming mice. **Results** Compound prescription of Ginkgo-Buckwheat Bee Pollen showed the strongest proliferation activity by bone marrow stem cells. Rehmannia performed the strongest proliferation activity by osteoblasts. Under simulated microgravity environment, different doses of G-B-R compound prescription showed different level of protective effect on bone loss. High dose of the compound increased the activity of ALP and the content of organics in the femur in model mice significantly. **Conclusion** G-B-R compound prescription, which is found and combined through screening from high proliferation by bone marrow stem cells and osteoblasts, has protective effect on bone loss induced by simulated microgravity.

Key words: Simulated space environment; Bone loss; Natural products

基金项目: 国家自然科学基金项目(81160445)

* 通讯作者: 王振宇, Email: heromylh99@sina.com

在宇宙空间所致的人体病理性改变中,以微重力效应引发的骨丢失在入体返地航行的超重环境下导致的骨折风险大、致死风险高而被各国所关注。现今为预防空间环境导致的骨丢失所研制的设备效果弱,而化学药和激素类品具有严重的副作用,因此寻找无毒而又效果强大的骨丢失防护剂成为解决人体适应微重力环境问题的途径之一。

近年来天然产物由于其资源丰富、分布广泛、活性成分多、效果强且无毒副作用而受到广泛的重视,开发天然化合物的功能成分,并应用其制备的功能性药用制剂在人类疾病的预防和治疗中具有极其重要的意义。因此,应用天然产物来制备失重性骨丢失能力防护剂的研究逐渐成为热点。国外对于天然产物应用于微重力防护剂方面的研究未见报道。国内李红毅等^[1]对与骨代谢相关的蛋白质、矿物质、维生素组合的综合作用进行了研究,建立了一种营养素复合配方。在其研究中发现这种营养素配方可以对模拟失重大鼠多项骨生物力学指标、血生化指标以及骨密度均有改善作用。张林等^[2,3]研究了补肾、健脾和补肾健脾方对尾悬吊大鼠骨丢失的防护作用,发现其三者均对模拟失重所造成的股骨骨丢失和钙磷代谢异常具有防护作用,其中补肾健脾方的效果最好,并且其认为健脾方在促进钙吸收和维持血钙处于正常水平方面对补肾方具有协同增效作用。

为了从天然产物中寻找有效的微重力骨丢失防护剂,本实验前期对 120 多种天然产物进行了研究,从中选出具有促骨髓干细胞和成骨细胞活性的天然产物各 12 种,并且对这 24 种天然产物提取物进行了筛选和复配。通过复配物对模拟微重力效应下小鼠血清中碱性磷酸酶的活性、股骨指数,骨中有机物与无机物的含量来研究其骨丢失防护效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料与实验动物

血清与培养基均购自 HYCLONE 公司,碱性磷酸酶(ALP)和羟脯氨酸测试盒购自南京建成公司,其余试剂购自 SIGMA 公司。选取的 24 种天然产物分别为:银杏叶(Ginkgo biloba)、当归(Angelica)、荞麦花粉(Buckwheat Bee Pollen)、黄芪(Astragalus)、葡萄籽(Grape seed)、云杉(Spruce)、螺旋藻(Spirulina)、人参(Ginseng)、沙棘(Seabuckthorn)、卷柏(Selaginella)、绿茶(Green tea)、黑木耳(Black fungus)、熟地黄(Rehmannia)、肉苁蓉(Cistanche)、

党参(Dangshen)、仙茅(Curculigo)、杜仲(Eucommia)、补骨脂(Psoralea)、淫羊藿(Epimedium)、骨碎补(Drynaria)、巴戟天(Morinda)、怀牛膝(Achyranthes)、菟丝子(Dodder)、鸡血藤(Millettia)。其中草本药物均购于哈尔滨市泽仁堂中药大药房,花粉来源于哈尔滨松霖园工贸有限公司,沙棘冻果来源于黑龙江省伊春市。实验中小鼠购自哈尔滨肿瘤医院动物实验中心(普通级)。

1.2 原料的提取

将 24 种原料在 40 ℃ 下烘干,粉碎后过 40 目筛。称取 10 g 原料于锥形瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,4 ℃ 放置 5 h。取出后超声(40 ℃)90 min,每隔 30 min 1 次,然后放入 4 ℃ 冰箱过夜。取出后,用布氏漏斗过滤,将溶液定容至 100 ml,离心 10 min(2 500 rpm),取上清液。

1.3 结合指数(Combination Index, CI)

应用 CI 指数评价不同复配物之间是协同作用,增效作用,还是拮抗作用。当 CI 指数小于 1 时,表示为协同作用,等于 1 时表示为增效作用,当大于 1 时,则体现为拮抗作用。结合指数基于经典的等效公式:

$$CI = \frac{(D)_1}{(Dx)_1} + \frac{(D)_2}{(Dx)_2}$$

式中:CI:复配物结合指数; D_1, D_2 分别为:复配物中每种单一样品的浓度; D_{x1}, D_{x2} 分别为:单一提取样品的浓度。

1.4 MTT 法测定细胞增殖的活性

取对数生长期的细胞,0.25% 胰蛋白酶消化后加入 96 孔板(100 μ l/孔)中,加入不同浓度的受试样品后,在培养箱中培养 48 h。每孔加入浓度为 5 mg/ml 的 MTT 溶液 10 μ l,放入培养箱继续培养 4 h 后,弃去培养液。每孔加入 150 μ l 的 DMSO,在恒速振荡器上室温下振摇 10 min 后,在 490 nm 波长下测定各孔吸光度(OD 值)。

1.5 实验动物及模拟微重力效应模型的建立

健康昆明小鼠分为 6 组,每组 12 只。分别为正常对照组,模型组(模拟微重力效应),阳性对照组(尼尔雌醇)和实验组(高、中、低剂量),其中正常对照组和模型组每日灌胃蒸馏水,实验组每日灌胃不同剂量的 G-B-R 复配物,阳性对照组灌胃尼尔雌醇溶液。实验组的给药剂量分别为 0.8、1.2 和 1.6 mg/g·d。阳性对照组尼尔雌醇的剂量为 0.1 mg/ml·100g。以上实验组和阳性对照组每日定时灌胃 1

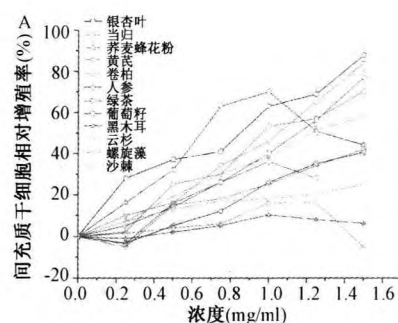
次,连续灌胃 10 d 后模拟微重力效应(尾悬吊)处理 14 d。

1.6 小鼠股骨指数及骨中有机物与无机物的测定

将剔除肌肉组织的小鼠右腿股骨至于坩埚中,105℃下烘干至恒重,得骨干重。股骨干重与小鼠体重的比值为股骨指数。将恒重后的干骨置于 550℃马弗炉中连续灰化 24 h,其骨灰重量与骨干重的比值作为骨矿盐量。将骨灰经王水消化处理后,ICP 仪测量骨钙、磷、镁等骨无机盐含量(mg)。取烘干至恒重的小鼠左侧股骨,按照南京建成的羟脯氨酸测试盒方法处理骨组织,测定骨羟脯氨酸含量,并依据骨中羟脯氨酸占骨胶原的 12.5% 的比例及骨胶原占骨有机质中 90% 以上,可计算骨有机质的相对含量(mg)。

1.7 数据的处理及统计分析

实验中测定结果进行三次重复试验,每次做三个平行,最后结果以平均值 $\pm$ 标准方差(means $\pm$ SD)表示。结果采用统计分析软件 SPSS 和 Origin8.5 进行统计分析,通过 SPSS19.0 one-way ANOVA 进行检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义, $P < 0.01$ 是极显著的。



2 结果

2.1 12 种植物提取物促骨髓干细胞增殖活性比较

骨髓间充质干细胞具有向成骨细胞分化的能力。在机体骨环境确定的情况下,骨髓间充质干细胞数量可以直接决定成骨细胞的数量,进而直接影响骨形成的能力。在对具有促骨髓间充质干细胞增殖能力的天然产物进行了筛选时发现(图 1 A),12 种植物提取物在低浓度(0.25 mg/ml)时,银杏叶提取物相对于其他原料显示出略强的促骨髓干细胞增殖活性(28.09%),且促细胞增殖速率较快。浓度较高(1 mg/ml)时,12 种原料提取物的促增殖活性差异明显,其中荞麦花粉体现出最强的促骨髓干细胞增殖活性,增殖率为 70.24%,银杏叶(62.77%)其次,当归、黄芪、绿茶、葡萄籽的增殖率相差不大,分布于 38.63%~53.22%。由 12 种原料提取物促骨髓干细胞增殖活性的 EC50 值(图 1 B)得出其活性顺序依次为:银杏叶<当归<荞麦花粉<黄芪<葡萄籽<云杉<螺旋藻<人参<沙棘<卷柏<绿茶<黑木耳。根据顺序,选择活性较强的天然产物(荞麦花粉、银杏叶、黄芪和当归)做为后续的研究对象。

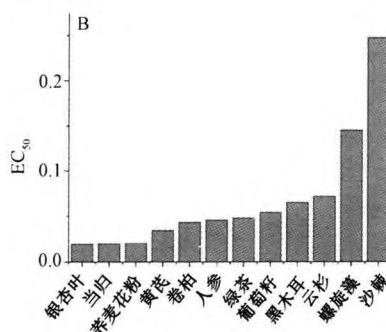


图 1 12 种植物提取物对骨髓干细胞增殖能力

Fig. 1 Proliferative effect of 12 plant extracts on bone marrow mesenchymal stem cells.

2.2 复配物促骨髓干细胞增殖活性分析

将荞麦花粉、银杏叶、黄芪和当归的提取物分别进行两两复配以研究其是否可以进一步提高骨髓间充质干细胞的增殖活性。图 2 A 显示出,6 种植物组合在浓度较低(0.25 mg/ml)时,促骨髓干细胞增殖能力差异较大,其中当归银杏叶复配物的促干细胞增殖率最高(31.03%),当归花粉(An-B)次之;在较高浓度(1.50 mg/ml)下,黄芪银杏叶显示出极强的促干细胞增殖活性,与其他复配组差异显著,其增殖率为 112.38%。这表明黄芪银杏叶促干

细胞增殖反应时间较长,但促增殖活性较高。本实验 6 种复配物促骨髓间充质干细胞增殖的 CI 指数如图 2 B 所示,当归银杏叶(CI=0.8809),花粉银杏叶(CI=0.8194)表现出协同作用,而黄芪当归(CI=0.9538)体现增效作用。其余 3 种复配物的 CI 指数均大于 1,表现出不同程度的拮抗作用,其中当归花粉(CI=2.8209),黄芪花粉的拮抗作用最为显著(CI=1.7727)。因此筛选银杏叶与荞麦花粉的复配物作为后续研究对象。

2.3 12 种天然产物促成骨细胞增殖能力的比较

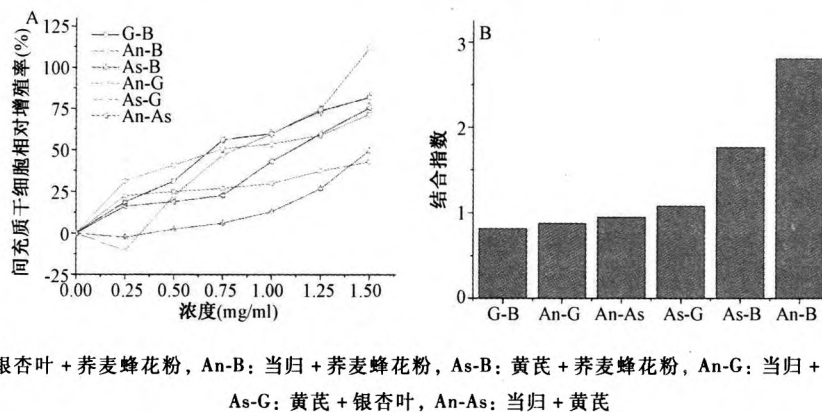


图2 不同植物复配物促骨髓干细胞增殖能力比较

Fig. 2 Proliferative effect of different compound prescription on bone marrow mesenchymal stem cells.

由于成骨细胞对骨形成具有直接作用,所以本研究对具有促成骨细胞增殖活性的天然产物进行筛选。由图3A可知,12种原料对于成骨细胞均有不同程度的促进增殖的作用。浓度较低(0.5 mg/ml)时,不同植物提取物对成骨细胞的增殖作用分布在25%以下;当加药浓度增加到1.5 mg/ml时,其促成骨细胞增殖作用呈现出显著差异;当加药浓度达到高剂量(3.0 mg/ml)时,怀牛膝的促增殖速率陡然上升,最后达到72.95%。在12种骨丢失防护原料

中可以很明显的看出,熟地黄的增殖率最高为98.75%,其次为肉苁蓉,其增殖速率为93.78%。图3B中,12种天然产物提取物对成骨细胞增殖的促进作用依次为熟地黄、肉苁蓉、党参、仙茅、杜仲、补骨脂、淫羊藿、骨碎补、巴戟天、怀牛膝、菟丝子、鸡血藤。因此,筛选出熟地黄与银杏叶与荞麦花粉的复配物(G-B)再次进行复配成为银杏叶-荞麦花粉-熟地黄(G-B-R)复配物作为后续研究对象。

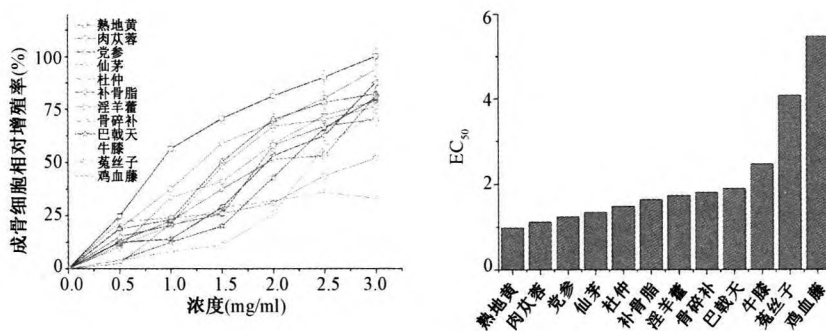


图3 12种植物提取物促成骨细胞增殖能力

Fig. 3 Proliferative effect of 12 plant extracts on osteoblasts.

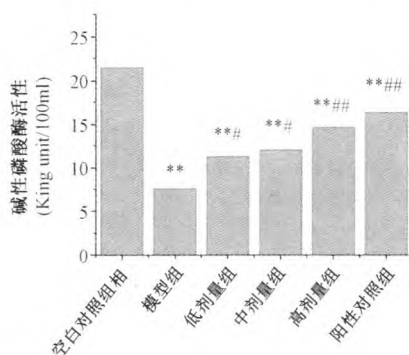
2.4 G-B-R 复配物对模拟微重力效应下小鼠血清中碱性磷酸酶活力的影响

G-B-R 复配物对小鼠血清中碱性磷酸酶的影响如图4所示。可以看出,小鼠在模拟微重力效应下,血清碱性磷酸酶含量急剧下降。当受到不同剂量药物处理后,其血清中碱性磷酸酶含量均显著提升,且其提升量随 G-B-R 复配物浓度的升高而升高,然而即使高剂量的复配物仍无法使小鼠血清碱性磷酸酶的含量达到正常水平。

2.5 G-B-R 复配物对模拟微重力效应下小鼠骨质的影响

表1中显示,模型组小鼠的骨干重和股骨指数均比正常组显著降低($P < 0.01$)。通过比较加药组的效果可以发现,加药中剂量组骨的干重量较重,股骨指数较大。在模拟微重力效应的作用下,小鼠股骨中矿物质含量减少,其中以模型组骨矿盐量下降最明显,加药剂量组虽然能提高骨中骨矿盐含量,但各剂量组之间没有显著的差异(表2)。阳性对照组虽然能够维持骨中矿盐量,但相比正常组差异显著,说明模拟空间极端环境作用使小鼠骨矿盐丢失严重。

模型组小鼠骨钙含量降低,较空白组有显著差



*与空白对照组相比, $P < 0.05$ **与空白对照组相比, $P < 0.01$

#与模型组相比, $P < 0.05$, ##与模型组相比, $P < 0.01$

图4 G-B-R复合物对小鼠血清中碱性磷酸酶的影响

Fig.4 Effects of G-B-R compound prescription on serum ALP in mice

异,而加药各剂量组与模型组均有显著差异($P < 0.05$),说明 G-B-R 复合物对小鼠骨钙影响较显著,一定程度上,具有防护骨中钙丢失的功效。通过骨中磷元素的比较得出, G-B-R 复合物能够提高微重力小鼠骨中磷元素含量。而骨中镁元素的含量各组

表1 G-B-R复合物对小鼠骨干重、股指数的影响

Table 1 Effects of G-B-R compound prescription on bone weight and femoral indexes in mice.

组别	骨质量 (mg)	股骨指数 (mg/g)
空白对照组	99.7 ± 2.1	3.65 ± 0.67
模型组	67.4 ± 1.9**	2.64 ± 0.38*
低剂量组	79.5 ± 4.7***	3.01 ± 0.44**
中剂量组	83.1 ± 5.2***	3.11 ± 0.71*
高剂量组	82.8 ± 4.3***	3.05 ± 0.45**
阳性对照组	92.2 ± 6.7***	3.51 ± 0.77*

注: *与空白对照组相比, $P < 0.05$, **与空白对照组相比, $P < 0.01$; #与模型组相比, $P < 0.05$, ##与模型组相比, $P < 0.01$

间无差异,表明模拟空间极端环境下, G-B-R 复合物对骨中镁含量影响较小。

有机质是骨中重要的组成成分,在模拟微重力下,骨中有机质含量下降,实验结果如表2所示。模拟空间极端环境下,各组骨中有机质的含量有所降低,其中,模型组与空白组有显著差异($P < 0.05$),给药组中、低剂量组与模型组无显著性差异,表明 G-B-R 复合物中、低剂量组对骨中有机质含量维持作用不强。而加药高剂量能够有效的防护骨中有机质的丢失。

表2 G-B-R复合物对小鼠股骨中有机物和无机物的影响

Table 2 Effects of G-B-R compound prescription on inorganics and organics in mouse femurs

组别	骨矿盐含量 (mg/g)	钙 (mg)	磷 (mg)	镁 (mg)	羟脯氨酸 (mg)	有机物 (mg)
空白对照组	0.162 ± 0.0082	9.26 ± 1.63	4.24 ± 1.01	0.175 ± 0.02	1.047 ± 0.043	9.31 ± 0.49
模型组	0.158 ± 0.004	8.12 ± 1.32*	4.39 ± 0.57	0.152 ± 0.02	0.913 ± 0.019*	8.12 ± 0.73*
低剂量组	0.155 ± 0.0027	8.77 ± 0.98**	5.11 ± 0.81**	0.153 ± 0.01	0.937 ± 0.022*	8.33 ± 0.59*
中剂量组	0.175 ± 0.0063**	9.32 ± 1.17*	5.33 ± 0.72**	0.151 ± 0.07	0.929 ± 0.037*	8.26 ± 0.44*
高剂量组	0.172 ± 0.0077**	9.11 ± 2.03*	4.98 ± 0.91*	0.158 ± 0.03	1.028 ± 0.010*	9.14 ± 0.85*
阳性对照组	0.181 ± 0.0036**	9.17 ± 1.77*	5.47 ± 1.15**	0.167 ± 0.02	0.994 ± 0.071	8.34 ± 0.77*

注: *与空白对照组相比, $P < 0.05$, **与空白对照组相比, $P < 0.01$; #与模型组相比, $P < 0.05$, ##与模型组相比, $P < 0.01$

3 讨论

国内对于天然产物的研究倾向于利用中药或者中药处方中具有“补肾”或“健脾”功效的方剂来防护由微重力环境引发的骨丢失。从天然产物活性功能成分的角度来看,其体现的是不同天然产物的功能活性成分之间存在协同增效作用。本研究从骨髓间充质干细胞和成骨细胞的增殖活性与骨形成直接相关的角度出发对24种天然产物进行筛选和复配。这与 Sani Boonyagul^[4]和 Poon^[5]的研究角度一致。在 Sani Boonyagul 等的研究中并未对除芦荟之外的其他天然产物进行研究。Poon 等对熟地黄与接骨草的不同溶液提取物之间的成骨细胞增殖活性进行了对比,其认为接骨草的醇提取物增殖能力最好。

本研究对比的12种具有成骨细胞增殖活性的天然产物,其均为食物或“药食同源”,所以并不包括接骨草,但结果显示熟地黄水提物的增殖活性强于其余11种天然产物。

血清中的碱性磷酸酶来自成骨细胞分泌,其活性形式可以促进骨的形成,有利于骨中钙、有机质等的沉积,并且可以维持骨的韧性,减少骨在特殊环境条件下的流失。ALP在血清中的活性可以反映成骨细胞的成骨能力。实验中模型组小鼠血清ALP的活性降低,并伴随有股骨指数下降,骨中钙元素和有机质含量降低的现象。但给药组小鼠血清中ALP的活性,骨中钙元素和有机质含量均有不同程度的升高,这间接说明 G-B-R 复合物可能是通过影响血清中ALP的活性来达到模拟微重力效应下对小鼠

骨丢失的保护作用。G-B-R 复配物可以显著提高模拟微重力效应下小鼠股骨质量、骨钙含量和血清中 ALP 的活性,但是对骨骼镁元素的影响不大。这与五加补骨方^[6,7]抗失重性骨丢失研究中的结果相同。但是 G-B-R 复配物可以增加骨中磷元素的含量,此结果在五加补骨方抗失重性骨丢失的研究中未见报道。

尼尔雌醇是一种雌激素类药物,临床中多用于骨质疏松的治疗。实验中,G-B-R 复配物对模拟微重力效应下骨中有机质含量降低的防护作用明显好于尼尔雌醇阳性对照组,但是对骨矿盐含量和股骨质量的效果低于尼尔雌醇。实验结果显示尼尔雌醇对骨中有机质的含量无显著影响,而骨中有机质含量的高低与骨的韧性直接相关。与尼尔雌醇能够增加骨量,但对生物力学性能的改善作用不明显的报道相一致^[8]。

本研究通过对具有骨髓干细胞和成骨细胞增殖活性的天然产物筛选及复配,获得了 G-B-R 复配物,并且通过其对模拟微重力效应下小鼠血清和股骨的影响,证明了在模拟微重力效应下 G-B-R 复配物对昆明小鼠骨丢失具有显著的防护作用,从而验证了复配物对模拟微重力效应下的骨丢失具有防护作用。

4 结论

采用多种骨丢失防护原料为研究对象,通过促骨髓干细胞和成骨细胞的增殖活性,筛选出骨丢失防护功能较强的潜在原料,并通过合理复配,最后通过构建小鼠模拟微重力模型,研究其复配物对骨丢失的功効。

发现银杏叶与荞麦花粉对骨髓干细胞的增殖具有协同增效的作用。通过股骨指数、骨中有机物与无机物的含量证明银杏叶、荞麦花粉与熟地黄复配物对模拟微重力效应诱导的骨丢失具有显著的防护作用。其机制可能是通过影响血清中 ALP 的活性来发挥 G-B-R 复配物在模拟微重力效应下的骨丢失防护作用。

【参 考 文 献】

- [1] 李红毅,龙明姣,朱德兵,等. 模拟失重大鼠骨代谢相关营养素复合配方研究[J]. 航天医学与医学工程, 2013, 26(2): 100-104.

- Li hongyi, Long yuejiao, Zhu debing, et al. Study of Compound Nutrient Prescription for Bone Metabolism of Rats Under Simulated Weightlessness [J]. space medicine&medical engineering, 2013, 26(2): 100-104. (in Chinese)
- [2] 张林, 谢鑫, 王俊岩, 等. 补肾和补肾健脾方对尾部悬吊大鼠股骨丢失的作用研究[J]. 2014, 中华中医药杂志, 2014, 29(3): 700-703.
- Zhang lin, Xie xin, Wang junyan, et al. Effects of tonifying kidney prescription, tonifying kidney and invigorating spleen prescription on bone loss of femur in tail suspension model rats [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2014, 29(3): 700-703. (in Chinese)
- [3] 张林, 范颖, 陈文娜, 等. 补肾、健脾和补肾健脾方对尾部悬吊大鼠钙、磷代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 9(12): 193-196.
- Zhang lin, Fan ying, Chen wenna, et al. Effects of Tonifying Kidney and Invigorating Spleen Prescription on the Metabolism of Calcium and Phosphorus in Rat Tail Suspension Model [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2013, 9(12): 193-196. (in Chinese)
- [4] Boonyagul S, Banlunara W, Sangvanich P, et al. Effect of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera, on BMSCs proliferation, differentiation, extracellular matrix synthesis, mineralization, and bone formation in a tooth extraction model[J]. Odontology, 2013, 102(2): 310-317.
- [5] Poon CT, Abas WAB, Kim KH, et al. Effect of Herbal Extracts on Rat Bone Marrow Stromal Cells (BMSCs) Derived Osteoblast-Preliminary Result [J]. IFMBE Proceedings, 2011, 35: 819-822.
- [6] 傅寿, 胡素敏, 杨佳佳. 五加补骨方及阿仑膦酸钠对模拟失重大鼠骨丢失干预比较[J]. 中国骨伤, 2010, 23(7): 524-528.
- Fu qian, Hu sumin, Yang jiajia. Comparison of effects of Wujia Bugu decoction and Alendronate sodium on protection the bone loss of hindlimb unloaded rats [J]. China Journal of Orthopaedics and Traumatology, 2010, 23(7): 524-528. (in Chinese)
- [7] 胡素敏, 周鹏, 傅寿, 等. 五加补骨方对模拟失重大鼠股骨无机元素含量的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(8): 543-549.
- Hu sumin, Zhou peng, Fu qian, et al. Interventional effect of Wujiabugu Formula on femur contents of inorganic elements in rats after simulated weightlessness [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2009, 32(8): 543-549. (in Chinese)
- [8] 高植明. 去卵巢大鼠骨质疏松模型特点及尼尔雌醇对其干预作用的研究[J]. 中国医药导, 2011, 8(2): 14-17.
- Gao zhiming. The research on features of osteoporosis model in ovariectomized rat and the role of Nilestriol intervention [J]. China Medical Herald, 2011, 8(2): 14-17. (in Chinese)

(收稿日期: 2015-01-14)