

· 药物研究 ·

护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨代谢指标的影响

钟佳贤¹, 林泽苗¹, 贾欢欢², 吴玉娥², 陈璐³, 曹祺¹, 曹克广¹, 李青南^{2,3,*}

1. 广东安诺药业股份有限公司, 揭阳 515300

2. 广东省实验动物重点实验室, 广东省实验动物监测所, 广州 510663

3. 广东药科大学, 生命科学与生物制药学院, 广州 510006

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 05-0602-07

摘要: **目的** 观察去卵巢大鼠血清骨代谢指标的改变及护骨胶囊(HG)的调节作用。**方法** 采用去卵巢(OVX)模型,分假手术(Sham),去卵巢(OVX),仙灵骨葆(Pos)和护骨胶囊低、中、高剂量组(HG-L、HG-M和HG-H)。术后2d连续灌胃给药3个月,取血清检测骨代谢指标。**结果** ①与Sham组比较,OVX组骨形成指标ALP、BALP、UcOC、PINP和骨吸收指标CTX均显著升高,但TRAP5a、TRAPb水平降低;OPG和OPG/RANKL比值显著降低。②与OVX组比较,HG-L、H组进一步升高ALP, HG-H组也升高BALP, HG-L、HG-M组降低BALP;Pos组降低ALP和BALP水平。HG和阳性药物给药组降低了UcOC和PINP水平,同时也降低CTX水平。HG-L组的TRAP5a升高;HG-L、HG-M和Pos组使TRAP5b升高。OPG在HG-H和Pos组增加;OPG/RANKL比值HG和阳性药物给药组均升高。**结论** OVX使部分骨形成和骨吸收指标增加,表现为骨高转换,HG和仙灵骨葆都能降低这些指标。由于HG能在OVX基础上进一步升高ALP,HG-H也升高BALP,而仙灵骨葆没有进一步提高ALP和BALP水平,提示护骨胶囊刺激成骨的作用较强。

关键词: 中医中药;护骨胶囊;骨质疏松;骨代谢指标

Effect of Hugu capsules on bone metabolic indexes in ovariectomized rats

ZHONG Jiaxian¹, LIN Zemiao¹, JIA Huanhuan², WU Yue², CHEN Jun³, CAO Qi¹, CAO Keguang¹, LI Qingnan^{2,3}

1. Guangdong Annol Pharmaceutical Co., Ltd, Jieyang 515300

2. Guangdong Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangdong Laboratory Animal Monitoring Institute, Guangzhou 510663

3. School of Biosciences and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutics University, Guangzhou 510006, China

Corresponding author: LI Qingnan, Email: qingnanli@sina.com

Abstract: **Objective** To study the change of bone metabolic indexes in ovariectomized (OVX) rats and the regulatory effect of the Hugu capsules (HG). **Methods** Rats were divided into Sham group, OVX group, Xianlinggubao group (Pos), and low, medium, and high dose HG group (HG-L, HG-M, and HG-H). The rats were administrated medicine intragastrically for 3 months. The serum bone metabolic indexes were detected. **Results** (1) ALP, BALP, UcOC, PINP, and CTX increased, but the levels of OPG, TRAP5a, b, and OPG/RANKL ratio decreased significantly in OVX group compared to those in Sham group. (2) Compared to those in OVX group, ALP increased in all HG groups. BALP increased in HG-H, but decreased in HG-L and HG-M group. ALP and BALP decreased Pos group. Levels of UcOC, PINP, and CTX decreased in HG groups and Pos group. The level of TRAP5a increased in HG-L group. TRAP5b increased in HG-L, HG-M, and Pos group. OPG levels increased in HG-H and Pos group. The OPG/RANKL ratios increased in all the medicine groups. **Conclusion** OVX increases part of the bone metabolic markers and shows a high bone turnover. HG inhibits high bone turnover. HG further increases ALP and HG-H increases BALP, while Xianlinggubao does not increase ALP and BALP levels, indicating that the stimulation effect of bone formation is better by HG than that by Xianlinggubao.

Key words: Traditional Chinese medicine; Hugu capsules; Osteoporosis; Bone metabolic indexes

去卵巢大鼠能模拟人的原发性骨质疏松,其表

现为骨高转换,而骨转换过程可以通过骨代谢指标反映出来,间接显示成骨细胞与破骨细胞的活性^[1]。随着骨质疏松症的流行病学、病理生理研究的不断深入,骨代谢指标检测也广泛的应用于临床

*通讯作者: 李青南, Email: qingnanli@sina.com。

骨质疏松的跟踪治疗及代谢性骨病的鉴别诊断中。

中药复方护骨胶囊已上市11年,上市前做了动物去卵巢实验和I、II、III期临床试验,均显示有较好的防治骨质疏松的作用。并于2004年获得批文,开始临床应用。目前对其处方的配伍、数理药效的分析,血清药理学对成骨细胞的影响都做了一定的研究^[25-27],临床研究显示^[28],护骨胶囊治疗后能明显改善原发性骨质疏松症中医辨证属于肾精亏虚、筋骨失养患者的腰背部疼痛、胫膝酸软、步履艰难等主要临床症状及提高患者的骨密度,且治疗过程中未发现其对心、肝、肾功能及血液系统有明显的损害,临床应用安全。

但由于当年做动物实验的条件有限,动物实验做得相对简单,对于此药作用机理的研究不够深入,广东安诺药业股份有限公司为完善动物实验,全面的了解药物的药效机制,借助现代先进的仪器设备和方法,按照美国FDA骨质疏松新药临床前研究的标准设计动物实验。采用双侧去卵巢大鼠模型,在整体动物水平研究中药护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨代谢指标的影响,完善护骨胶囊防治骨质疏松的作用机理,为临床更好的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型与实验分组

3月龄SPF级雌性SD大鼠60只,体重(210±3)g,随机分为6组:假手术组、去卵巢组、仙灵骨葆组(阳性对照组)和护骨胶囊低、中、高剂量组(Sham、OVX、Pos、HG-L、HG-M、HG-H),每组10只。大鼠适应性喂养2w后,进行如下干预:1.去卵巢造模:假手术组在手术中不切除卵巢,仅摘除少量脂肪,其余各组均切除双侧卵巢。2.药物干预(每日):去卵巢手术2d后,Sham组与OVX组灌服生理盐水[10mL/(kg·d)],Pos组灌服等剂量的仙灵骨葆[0.270g/(kg·10mL·d)],HG-L、M和H组分别灌服等剂量的HG[0.243、0.486、0.972g/(kg·10mL·d)],HG-M为临床成人的等效剂量。各组大鼠自由进食和饮水,每周称量并记录体重一次,按体重调整给药剂量,共计给药3个月。药物干预结束时,心脏抽血处死大鼠,收集各只大鼠血液,所获血标本置于室温环境下放置4h,3000r/min,离心15min,吸取血清后静置放于冰盒中,每组混合成一管,采用0.22μm滤器除菌后分装,用1.5mLEP管分装并置于-80℃冰箱保存。

1.2 实验药物

中药护骨胶囊组[由淫羊藿、巴戟天、制何首乌、杜仲、骨碎补、熟地黄、龟甲等组成,由广东安诺药业股份有限公司(原东莞万成制药有限公司)生产,批号:20150101,规格:0.45g];仙灵骨葆阳性药物组(由淫羊藿、续断、补骨脂、知母、丹参等组成,由贵州同济堂制药有限公司生产,批号:20140701规格:0.50g)

1.3 血清骨代谢指标的检测

取每组血清标本2ml送至上海邦奕生物科技有限公司采用Elisa试剂盒检测血清骨代谢指标12项:骨形成指标:碱性磷酸酶(ALP)和骨碱性磷酸酶(BALP)、骨钙素(OC)和羧化不全骨钙素(UcOC)、I型前胶原羧基末端前肽(PICP)和I型前胶原氨基末端前肽(PINP);骨吸收指标:抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP5a和TRAP5b)、I型胶原N末端肽(NTX)和I型胶原C末端肽(CTX);另外还检测了骨保护素(OPG)与核因子NF-κB配体的受体激活剂(RANKL)。

1.4 统计分析

应用SPSS 16.0统计软件进行分析处理,所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间行方差齐性检验、单因素方差分析(one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨形成指标的影响(见表1、图1)

表1、图1可见:与Sham组比较,OVX组的ALP、BALP、UcOC和PINP水平均显著升高($P < 0.01$),OC、PICP水平有所降低,但无统计学差异($P > 0.05$);HG组与OVX组相比,ALP水平在HG-L和HG-H组显著升高($P < 0.01$),HG-M组略有降低,无统计学差异($P > 0.05$);BALP水平在HG-L、HG-M组显著降低($P < 0.01$),而HG-H组升高($P < 0.01$);Pos组与OVX组比,ALP和BALP水平均降低(前者 $P < 0.05$,后者 $P < 0.01$);而UcOC和PINP水平,HG组和Pos组与OVX组比均显著降低($P < 0.01$),HG-H组PINP水平降低无统计学差异($P > 0.05$)。

2.2 护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨吸收指标的影响(见表2、图2)

表2、图2可见:与Sham组比较,OVX组的CTX水平升高($P < 0.01$),NTX的水平有所下降,但无统计学差异($P > 0.05$)。与OVX组CTX水平比,HG

和 Pos 组均显著降低 ($P < 0.01$); HG-L、HG-M 组和 HG-H 组 (54.13 nmol/L、56.30 nmol/L, 后者 61.84 nmol/L), HG-H 与 Pos 组结果相似。

表 1 实验后各组大鼠血清骨形成指标的变化 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The changes of serum bone formation indexes in rats of each group after the experiment ($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	数量 n	碱性磷酸酶 ALP(U/L)	骨碱性 磷酸酶 BALP(U/L)	骨钙素 OC(ng/L)	羧化不全 骨钙素 UcOC(pg/mL)	I 型前胶原 羧基端前肽 PICP(ng/L)	I 型前胶原 氨基端前肽 PINP(μg/L)
假手术组 Sham	10	10.20 ± 0.42	7.08 ± 0.21	961.29 ± 21.58	746.14 ± 18.51	208.84 ± 6.58	15.41 ± 0.73
去卵巢组 OVX	10	12.31 ± 0.4454**	7.91 ± 0.11**	949.63 ± 33.22	1088.60 ± 20.17**	199.47 ± 7.96	17.21 ± 0.44**
阳性药物组 Pos	10	11.53 ± 0.24**#	7.05 ± 0.09##	881.48 ± 5.63**#	925.86 ± 27.90**#	267.71 ± 15.05*##	15.65 ± 0.42##
护骨低剂量组 HG-L	10	13.62 ± 0.44*##△△	6.80 ± 0.23##	909.72 ± 29.77*	769.28 ± 32.06*##△△	245.25 ± 9.16*##△	14.18 ± 0.45*##△△
护骨中剂量组 HG-M	10	12.30 ± 0.21*△□□	6.08 ± 0.13*##△△□□	941.03 ± 20.29△	854.12 ± 16.25*##△△□□	224.76 ± 9.28*##△□	14.40 ± 0.45*##△
护骨高剂量组 HG-H	10	13.21 ± 0.14*##△△◇◇	7.93 ± 0.19*##△△□□◇◇	847.10 ± 22.20*##□□◇◇	932.80 ± 14.14*##□□◇◇	210.80 ± 8.90△△□□	16.57 ± 0.43*△□□◇◇

注: *, ** $P < 0.05, 0.01$ VS Sham; #, ## $P < 0.05$ VS OVX; △, △△ $P < 0.05, 0.01$ VS Pos; □, □□ $P < 0.05, 0.01$ VS HG-L; ◇, ◇◇ $P < 0.05, 0.01$ VS HG-M.

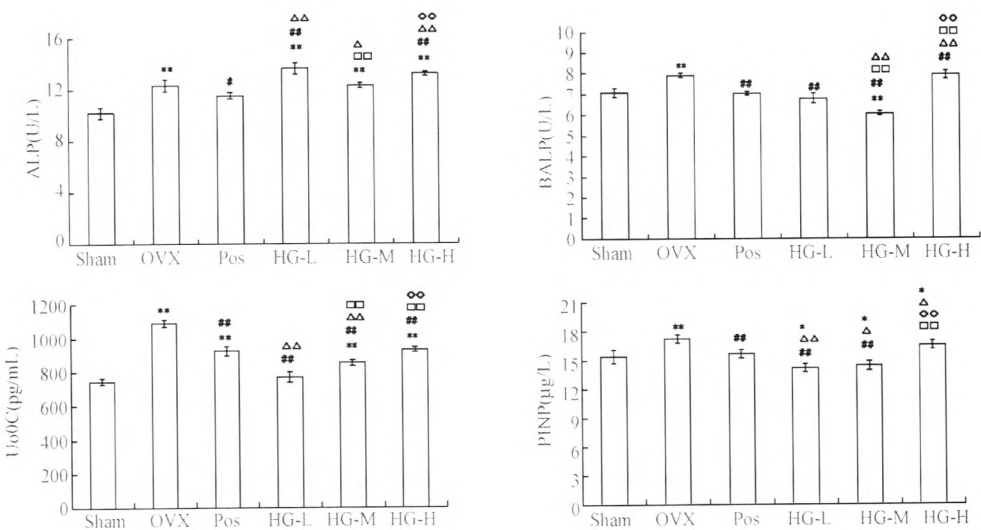


图 1 实验后各组大鼠相对 OVX 组有意义的血清骨形成指标变化柱形图
Fig.1 The chart of changes of serum bone formation indexes in groups that have statistical differences comparing to those in OVX group after the experiment.

与 Sham 组比较,OVX 组 TRAP5a 和 TRAP5b 水平降低 ($P < 0.01$)。与 OVX 组相比,HG-L 组的 TRAP5a 水平升高 ($P < 0.01$),而 HG-H 组的 TRAP5a 水平明显降低 ($P < 0.05$),HG-M 组介于中间,无统计学差异 ($P > 0.05$),与 Pos 组相似。TRAP5b 水平,HG-L 和 HG-M 组高于 OVX 组,有显著性差异 ($P < 0.01$),Pos 和 HG-H 组都下降至接近 OVX 组 (前者 $P < 0.01$,后者 $P > 0.05$)。

2.3 护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨代谢指标 OPG

和 OPG/RANKL 比值的影响 (见表 2、图 2)
表 2、图 2 可见:与 Sham 组相比较,OVX 组的 RANKL 水平有所下降,但无统计学差异 ($P > 0.05$);与 OVX 组比,RANKL 水平在 HG 低、中剂量组有统计学差异的下降 ($P < 0.01$),但 HG-H 组则增加 ($P < 0.05$),Pos 组与 OVX 组比无统计学意义的变化 ($P > 0.05$)。OPG 为 RANKL 的拮抗剂,OVX 组与 Sham 组比下降 ($P < 0.01$),与 OVX 组比,只有 HG-H 组和 Pos 组有统计学意义的增加 ($P < 0.01$)。

OPG/RANKL 比值, OVX 组显著降低 ($P < 0.01$), 统计学差异 ($P > 0.05$)。
HG 和 Pos 组都增加 ($P < 0.01$), HG-M 组增加无统

表 2 实验后各组大鼠血清骨吸收指标和 OPG 水平、OPG/RANKL 比值的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The changes of serum bone resorption indexed and the levels of OPG and OPG/RANKL ratios after the experiment ($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	数量 n	抗酒石酸酸性 磷酸酶 5a TRAP5a (U/L)	抗酒石酸酸性 磷酸酶 5b TRAP5b (U/L)	I 型胶原 N 末端肽 NTX (nmol/L)	I 型胶原 C 末端肽 CTX (nmol/L)	骨保护素 OPG (ng/L)	核因子 kb 受体 活化因子配体 RANKL (pg/mL)	骨保护素/ 核因子 kb 受体 活化因子配体 OPG/RANKL
假手术组 Sham	10	10.16 ± 0.30	5.97 ± 0.23	17.55 ± 0.53	63.92 ± 2.66	1343.28 ± 33.30	36.68 ± 1.38	36.67 ± 2.07
去卵巢组 OVX	10	9.23 ± 0.24**	4.43 ± 0.12**	16.77 ± 0.41	69.46 ± 3.06**	1129.24 ± 44.71**	34.67 ± 1.25	32.57 ± 0.17**
阳性药物组 Pos	10	9.00 ± 0.36**	5.35 ± 0.07***	18.06 ± 0.48#	61.34 ± 1.00**	1339.45 ± 30.65**	36.43 ± 0.67	36.77 ± 0.28**
护骨低剂量组 HG-L	10	11.11 ± 0.19***△△	6.08 ± 0.19**△△	16.60 ± 0.88△	54.13 ± 2.00***△△	1143.05 ± 28.13***△	29.82 ± 1.10***△△	38.37 ± 1.91**
护骨中剂量组 HG-M	10	9.60 ± 0.20*△□□	5.75 ± 0.30**△	19.75 ± 0.53***△△□□	56.30 ± 1.58***△	1126.94 ± 11.59***△△	32.11 ± 1.58***△△□	35.16 ± 1.96□
护骨高剂量组 HG-H	10	8.70 ± 0.15***□□□◇◇	4.66 ± 0.12***△△□□◇◇	19.60 ± 0.92***△△□□	61.84 ± 1.31**□□□◇◇	1350.96 ± 18.61**□□□◇◇	37.10 ± 0.78*□□□◇◇	36.44 ± 1.20**

注: *, ** $P < 0.05, 0.01$ VS Sham; #, ** $P < 0.05$ VS OVX; △, △△ $P < 0.05, 0.01$ VS Pos; □, □□ $P < 0.05, 0.01$ VS HG-L; ◇, ◇◇ $P < 0.05, 0.01$ VS HG-M

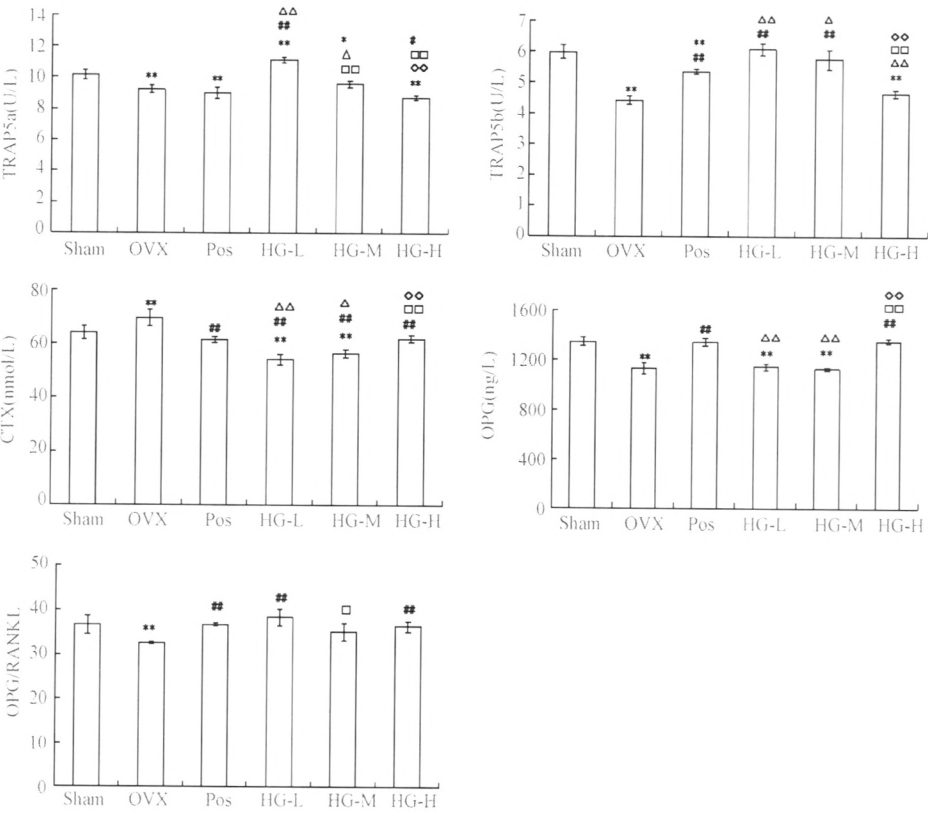


图 2 实验后各组大鼠相对 OVX 组有意义的血清骨吸收指标变化柱形图

Fig. 2 The chart of changes of serum bone resorption indexes in groups that have statistical differences comparing to those in OVX group after the experiment.

3 讨论

3.1 切除双侧卵巢建立绝经后骨质疏松症大鼠模型已成为公认的标准化的绝经后骨质疏松经典模型^[3]。此模型的病理变化与妇女绝经后骨质疏松有许多相似之处,其中包括具备骨吸收与骨形成均异常增加的“高转换型”骨质疏松的特征^[17]。本实验中,大鼠卵巢摘除3个月后,部分反映骨形成的指标如ALP、BALP、UcOC和PINP及反映骨吸收的指标如CTX的含量均显著升高($P < 0.01$),表明去卵巢后骨形成与骨吸收部分指标增加,但TRAP5a和TRAP5b水平较假手术组降低,这与方玲娜、戴如春等^[11]采用70只7月龄SD雌性大鼠OVX3w、15w后TRAP5b水平降低的结果文献相似。

3.2 骨形成指标分析

ALP和BALP是最常用的评价骨形成和骨转换的指标^[18],故成为反映成骨细胞活性的特异及敏感指标,成骨细胞活性增强,则ALP和BALP分泌增加^[1]。OC和UcOC也是评价骨形成和骨转换率的特异性指标^[16]。PICP、PINP是骨形成的特异和敏感指标^[1,2,8,18]。本实验中,ALP水平,HG组在去卵巢升高的基础上,更进一步的升高,而仙灵骨葆组降低。HG的结果与中药骨疏灵对OVX大鼠骨代谢的影响的结果一致^[15],以及与中药增骨丸对OVX所致骨质疏松大鼠血、尿生化的结果相似^[19],也在OVX升高ALP的基础上更进一步增加。而高剂量的HG的BALP水平在OVX基础上显著升高。究其原因,可能为这几个中药复方中都含有淫羊藿、骨碎补等成分,具有成骨刺激作用所致。现代医学发现淫羊藿、骨碎补等补肾中药具有植物异黄酮抗骨质疏松活性,具有骨细胞双向调节作用及雌激素样作用^[4,12],且已有大量研究表明黄酮类化合物对成骨有明显促进作用^[7];BALP水平在低、中剂量的HG组降低,仙灵骨葆组也降低,上述结果提示HG能降低OVX所致的BALP水平升高,但HG对BALP有剂量依赖。HG能降低OVX所致的UcOC和PINP水平的增加,与仙灵骨葆一致,本文结果与卢建华等^[20]、刘菊等^[21]、张瑶和刘菊等^[22]的补肾方降低骨形成指标如PINP水平的结果一致。

3.3 骨吸收指标分析

NTX和CTX是目前国际公认的代表骨吸收的生化指标^[16]。本实验中,大鼠去卵巢后CTX水平显著升高,HG和仙灵骨葆给药组均能显著降低CTX水平,提示护骨胶囊和仙灵骨葆均能降低OVX

所致的CTX的增加,可能具有降低骨吸收的作用。本实验的结果与倪天庆^[14]关于仙珠胶囊对OVX大鼠血生化指标的影响的研究结果一致。

TRACP是骨吸收的重要指标^[3],主要由破骨细胞释放,因而血清中的TRACP水平反映破骨细胞活性和骨吸收的状态,TRACP分成5a和5b两个亚型^[6,23]。本实验中,OVX组TRAP5a和TRAP5b水平较假手术组明显降低,此结果与崔省珍等^[10]和李宝芬等^[5]将大鼠OVX14w后,TRAP5a和TRAP5b水平均升高的结果不一致。但与方玲娜、戴如春等^[11]采用70只7月龄SD雌性大鼠OVX3w、15w后TRAP5b水平降低的结果相似。他们在文献中分析到,OVX大鼠的血清TRAP5b水平变化并不能真正代表破骨细胞骨吸收活性的变化,而在更大程度上代表破骨细胞数量的变化^[21,22],血清CTX可能更直接的反映破骨细胞骨吸收活性的变化^[11]。

与OVX组比,TRAP5a水平只有HG低剂量组增加,而TRAP5b水平在HG低、中剂量和仙灵骨葆组都增加。这些结果提示HG和仙灵骨葆能增加OVX后的TRAP5b水平,而TRAP5b水平在更大程度上代表破骨细胞数量的变化,提示它们能促进破骨细胞的增殖,促进骨转化,这可能有利于促进骨骼的更新,具体的原因有待深入的研究。

3.4 RANKL/RANK/OPG系统分析

OPG/RANKL/RANK是近些年来发现的在破骨细胞分化过程中的一个重要信号传导通路^[13],OPG是破骨细胞生成抑制因子,RANKL是诱使破骨细胞分化的关键因子,RANK是RANKL的唯一靶受体^[17,24]。OPG与RANKL竞争性结合,阻止RANK与RANKL结合,抑制骨吸收、促进骨形成^[6]。OPG水平和OPG/RANKL比值升高时,说明骨形成增加而骨破坏减少^[9]。

去卵巢后OPG水平和OPG/RANKL比值降低;HG高剂量组和仙灵骨葆组与OVX组比较,OPG水平有统计学意义的升高,而HG和仙灵骨葆给药组使OPG/RANKL比值升高。此结果与滋肾丸浸膏对OVX大鼠骨质疏松模型OPG/RANK/RANKL系统的影响结果一致^[13]。提示两种药物均可能通过对OPG/RANKL/RANK系统的调节,促进骨形成,抑制骨吸收。

综上所述,OVX使部分骨形成和骨吸收指标增加,表现为骨高转换。HG和仙灵骨葆用药后降低了BALP、UcOC、PINP和CTX水平,降低骨高转换;同时,也提高了OPG/RANKL比值。且HG在OVX

增加的基础上进一步升高 ALP,高剂量 HG 也升高 BALP 水平,提示 HG 降低骨高转换的同时还刺激成骨,而仙灵骨葆只是降低了 OVX 所致的高 ALP 和 BALP 水平,这些指标的变化提示护骨胶囊刺激成骨的作用较强。HG 和仙灵骨葆能增加 OVX 后的 TRAP5b 水平,这可能有利于促进骨骼的更新,具体的原因有待深入的研究。

【参 考 文 献】

- [1] 孟迅吾. 骨转换生化标志物及其临床应用[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(7): 504-506.
MENG Xunwu. Biochemical markers of bone turnover and its clinical use [J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2011, 31(7): 504-506. (in Chinese)
- [2] 张林, 范颖, 王俊岩, 等. 补肾和补肾健脾方对尾部悬吊骨丢失大鼠 I 型胶原代谢的影响[J]. 现代中医药, 2015, 9(35): 180-182.
ZHANG Lin, FAN Ying, WANG Junyan, et al. Effects of Formulat Bushen and Bushenjianpi of type I collagen metabolism on bone lose of tail-suspended rats [J]. Traditional Chinese Medicine, 2015, 9(35): 180-182. (in Chinese)
- [3] 李和标, 徐明. 运动与大豆异黄酮联合对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响[J]. 西安体育学院学报, 2011, 28(5): 583-587.
LI Hebiao, XU Ming. Influences of exercise combination with soybean isoflavones on ovariectomised rat's bones metabolic biochemical indices [J]. Journal of Xi' AN physical education university, 2011, 28(5): 583-587. (in Chinese)
- [4] 高俊, 张前德, 张曦等. 益肾护骨方对废用性骨质疏松的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 179-181.
GAO Jun, ZHANG Qiande, ZHANG Xi, et al. Effect of Yishen Hugu decoction on disused osteoporosis in rats [J]. Chinese Jouranal of experimental Traditional Medical Formulae, 2013, 19(23): 179-181.
- [5] 李宝芬, 闫国强, 秦晓青. 鹿龟生骨丸对去卵巢大鼠骨代谢生化指标的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(3): 195-197.
Li BF, Yan GQ, Qin XQ. Effects of Luguishenggu pills on biochemical markers of bone metabolism in ovariectomized rats [J]. Chin Hosp Pharm J, 2012, 32(3): 195-197. (in Chinese)
- [6] 张楠, 章秋. 骨代谢生化指标在骨质疏松症中应用[J]. 安徽医药, 2011, 15(4): 401-403.
ZHANG Nan, ZHANG Qiu. The roles of bone metabolic biochemical markers for application in Osteoporosis [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2011, 15(4): 401-403. (in Chinese)
- [7] 刘广飞, 程才, 王璐, 等. 淫羊藿苷治疗骨质疏松的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(26): 5185-5188.
LIU Guangfei, CHENG Cai, WANG Lu, et al. Advance in the Treatment of Osteoporosis Icaritin [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 15(26): 5185-5188. (in Chinese)
- [8] 刘敏燕, 李春霖. 骨代谢标志物研究现状与进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 10(22): 1056-1058.
LIU Minyan, LI Chunlin. Research status and progress of bone metabolism markers [J]. Labeled Immunoassays & Clin Med, 2015, 10(22): 1056-1058. (in Chinese)
- [9] 陈鑫, 朱雄白, 林文军, 等. 仙灵骨葆胶囊治疗绝经后骨质疏松的疗效及其机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(10): 827-830.
CHEN Xin, ZHU Xiongbai, LIN Wenjun, et al. Effect of Xianlinggubao capsule in the treatment of postmenopausal osteoporosis and its effect on osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor- κ B ligand [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2015, 31(10): 827-830. (in Chinese)
- [10] 崔省珍, 呼亚玲. 仙灵骨葆胶囊对去卵巢大鼠骨代谢生化指标的影响[J]. 临床医药实践杂志, 2007, 4(16): 260-262.
CUI Xingzhen, HU Yaling. Effects of Xianlinggubao capsule on biochemical markers of bone metabolism in ovariectomized rats [J]. Proceeding of Clinical Medicine J, 2007, 4(16): 260-262. (in Chinese)
- [11] 方玲娜, 戴如春, 廖二元等. 血清耐酒石酸酸性磷酸酶 5b 等骨代谢指标在大鼠去卵巢中晚期的变化[J]. 中国骨质疏松杂志, 2007, 9(13): 618-620.
FANG Lingna, DAI Ruchun, LIAO Eryuan, et al. Change of bone metabolic marker as serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b at metaphase and terminal phase postovariectomy in rats [J]. Chin J Osteoporos, 2007, 9(13): 618-620. (in Chinese)
- [12] 龚理, 索有军. 骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞的生物学特性[J]. 中国组织工程研究, 2010, 14(19): 3458-3460.
GONG Li, SUO Youjun. Biological features of bone marrow mesenchymal stem cells of osteoporosis rats [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(19): 3458-3460. (in Chinese)
- [13] 罗晓. 滋肾丸浸膏对去卵巢大鼠骨质疏松模型骨密度、骨髓 OPG/RANK/RANKL 系统的影响的实验研究[D]. 中国优秀硕士学位论文全文数据库. 医药卫生科技辑. 2011(S1): E057-450-1-64.
LUO Xiao. Research on the effect of Chinese medicine Zishen extract on bone mineral density and OPG/RANK/RANKL system in bone marrow in ovariectomized rat model of osteoporosis [D]. Chinese Master's Theses Full-text Database. Medicine and Health Sciences, 2011(S1): E057-450-1-64. (in Chinese)
- [14] 倪天庆. 仙珠胶囊对去卵巢大鼠骨密度和血生化指标的影响[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(1): 54-57.
NI Tianqing. Effect of Xianzhu Capsula on bone mineral density and blood biochemical indicators of ovariectomized rats [J]. Drugs & Clinic, 2011, 26(1): 54-57. (in Chinese)
- [15] 余根秀, 刘建宇, 魏星临. 运动联合中药骨疏灵对去卵巢大鼠骨代谢的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 11(13): 5671-5673.
YU Genxiu, LIU Jianyu, WEI Xinglin. Influences of exercise combination with Traditional Chinese medicine Gushuling on ovariectomised rat's bones metabolic biochemical indices [J].

- Chinese Journal of Gerontology, 2013, 11 (13): 5671-5673. (in Chinese)
- [16] 李萌, 李玉坤. 骨转换标志物及其临床应用[J]. 《临床荟萃》, 2014, 29(1): 104-108.
- LI Meng, LI Yukun. Biochemical markers of bone turnover and its clinical use [J]. Clinical Focus, 2014, 29 (1): 104-108. (in Chinese)
- [17] 沈耿杨, 任辉, 江晓兵, 等. 去卵巢大鼠不同时期骨量、骨转换指标、雌激素水平的变化规律及相关性[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(2): 170-176.
- Shen Gengyang, Ren Hui, JIANG Xiaobing, et al. Change rules and correlation between bone mass, bone turnover markers and estrogen levels in different periods of ovariectomized rats [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2015, 19 (2): 170-176. (in Chinese)
- [18] 何威, 杨力, 蔡德鸿. 骨形成与吸收过程中的代谢生化标记物[J]. 中国临床康复, 2015, 9(42): 118-120.
- HE Wei, YANG Li, CAI Dehong. Metabolic biochemical makers in the progress of bone formation and absorption [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2015, 9 (42): 118-120. (in Chinese)
- [19] 陈列, 赵和平, 谢兴文, 等. 中药增骨丸对去卵巢所致骨质疏松大鼠血、尿生化及骨形态的影响[J]. 中医正骨, 2002, 3(14): 6-7.
- CHEN Lie, ZHAO Heping, XIE Xingwen, et al. The effect of Traditional Chinese medicine Zhengguwan on blood, urine and bone morphology of ovariectomized osteoporosis in rats [J]. Journal of Traditional Chinese Orthopedics and Traumatology, 2002, 3(14): 6-7. (in Chinese)
- [20] 卢建华, 王维佳, 储小兵, 等. 补肾方对去卵巢大鼠 I 型胶原代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2010, 7(25): 1109-1111.
- LU Jianhua, WANG Weijia, CHU Xiaobing, et al. Effect of BuShen Prescription on metabolism of collagen I in ovariectomized rats [J]. China Journal of Traditional Chinese medicine and pharmacy, 2010, 7(25): 1109-1111. (in Chinese)
- [21] 刘菊, 张瑶, 梅群超, 等. 温阳补肾方对去卵巢大鼠骨密度及骨标志物的影响[J]. 新乡医学院学报, 2014, 31(6): 426-428.
- LIU Ju, ZHANG Yao, MEI Chaoqun, et al. Effects of Wenyangbushen prescription on the bone mineral density and marker of bone in ovariectomized rats [J]. Journal of Xinxiang Medical University, 2014, 31 (6): 426-428. (in Chinese)
- [22] 张瑶, 刘菊, 马威. 龟鹿二仙胶对去卵巢骨质疏松模型大鼠血清 I 型胶原氨基端延长肽影响的实验研究[J]. 临床实验和医学杂志, 2014, 7(13): 1134-1137.
- ZHANG Yao, LIU Ju, MA Wei. Experimental study on the effect of Procollagen Type I amino-terminal Propeptide in osteoporosis model rats after ovariectomy by Guilu Erxian glue [J]. Journal of Clinical and Eeperimental Medicine, 2014, 7 (13): 1134-1137. (in Chinese)
- [23] 阙文君, 冯正平. 骨转换生化标志物的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 5(20): 575-579.
- QUE Wenjun, FENG Zhengping. Research progress in bone turnover markers [J]. Chin J Osteoporos, 2014. 5(20): 575-579. (in Chinese)
- [24] 宋红, 黄华, 王伟, 等. 不同性别及年龄因素对原发性骨质疏松症代谢指标、血清骨保护素及骨密度影响的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 10(21): 1161-1164.
- SONG Hong, HUANG Hua, WANG Wei, et al. Study of the effect of different gender and age on bone metabolic indexes, serum osteoprotegerin, and bone mineral density in primary osteoporosis [J]. Chin J Osteoporos, 2015, 10(21): 1161-1164. (in Chinese)
- [25] 李宝红, 吴劲东, 赵文昌, 等. 护骨胶囊对成骨细胞增殖、分化影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 10(15): 24-26.
- LI Baohong, WU Jindong, ZHAO Wenchang, SONG Lijun. Effect of Hugu Capsule on Proliferation and Differentiation of Primary Osteoblasts in Vitro [J]. 2013, 10(15): 24-26.
- [26] 王晓东, 贾欢欢, 曾昭利, 等. 护骨胶囊配伍和成骨细胞分化的正交设计[J]. 中成药, 2013, 35(6): 1147-1151.
- WANG Xiaodong, JIA Huanhuan, ZENG Zhaoli, ZENG Wen, QIN Zhonghua, WAN Chao, LU Xingyan, LI Qingnan, HU Bin. Orthogonal design for compatibility of Hugu Capsules related to osteoblast differentiation [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 10(15): 24-26.
- [27] 贾欢欢, 曾昭利, 曾雯, 等. 一种定量药理学方法研究护骨胶囊的药效并分析各味药对药效的协同和拮抗作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(5): 440-442.
- JIA Huanhuan, ZENG Zhaoli, ZENG Wen, QIN Zhonghua, WAN Chao, LI Qingnan, HU Bin. Study the efficacy of the Hugu capsule and Analysis of various herbs on the efficacy of synergism and antagonism by a quantitative pharmacological method [J]. Chin J Osteoporos, 2012, 18(5): 440-442.
- [28] 洪曼杰, 卢丽, 王晓东, 等. 中药复方护骨胶囊治疗原发性骨质疏松症的临床研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(12): 891-895.
- HONG Manjie, LU Li, WANG Xiaodong, CAO Keguang, ZENG Zhaoli, LI Qingnan. Clinical Study on the Effect of Hugu Capsule in Primary Osteoporosis Treatment [J]. Chin J Osteoporos, 2008, 14(12): 891-895.

(收稿日期: 2015-12-23)