

· 药物研究 ·

护骨胶囊对去卵巢大鼠钙相关激素和性腺激素影响的研究

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

1. 广东药科大学生命科学与生物制药学院, 广东 广州 510006

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

中图分类号: R-332, R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 01-0087-06

摘要: **目的** 观察护骨胶囊(Hugu capsules, HG)对去卵巢大鼠血清中与钙代谢直接相关的激素和性激素及子宫的影响。**方法** 将 60 只 SD 雌性大鼠随机分为假手术组(Sham)、去卵巢组(OVX)、仙灵骨葆胶囊组(Pos)和护骨胶囊低、中、高剂量组(HG-L、HG-M 和 HG-H)。大鼠卵巢切除后,隔天开始,连续灌胃 3 个月。处死大鼠,取大鼠子宫与血清,观察 HG 对子宫重量,血清 1, 25 双羟维生素 D₃(1,25(OH)₂D₃)、甲状旁腺激素(PTH)、雌二醇(E₂)、孕酮(P)、睾酮(T)变化及子宫内膜组织的影响。**结果** 与 Sham 组比:OVX 组的 PTH($P < 0.01$)和 T($P < 0.05$)升高,E₂($P < 0.01$)和 P($P < 0.05$)降低;子宫重量显著减少,子宫内膜萎缩。与 OVX 组比:PTH 在 HG 各个剂量组都降低,在 Pos 组无变化;E₂ 在 HG-L 和 HG-M 组显著增加,在 Pos 组无变化;P 在 HG-L 组降低,在 Pos 组显著升高;T 在 HG-L 和 HG-H 组无变化,HG-M 组降低,而 Pos 组显著升高;HG 各个剂量组和 Pos 组的子宫重量和子宫内膜较 OVX 组均无明显差异。**结论** 护骨胶囊对 OVX 大鼠的作用是调节 PTH 和 E₂ 水平,此调节作用与仙灵骨葆胶囊的作用机制不一样。护骨胶囊在补充雌激素的同时对子宫的影响不大,为推广护骨胶囊临床防治绝经后骨质疏松提供了实验依据。

关键词: 护骨胶囊;骨质疏松;血清激素;子宫;去卵巢大鼠;性腺激素

The effect of Hugu capsules on calcium related hormones and sex hormones in ovariectomized rats

LIN Zemiao¹, ZHONG Jiaxian¹, JIA Huanhuan², WU Yu'e², CHEN Jun¹, CAO Qi¹, CAO Keguang¹, LI Qingnan^{1,2*}

1. School of Life science and Pharmacopodia, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

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

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

Abstract: **Objective** To observe the effects of HG on hormones related to calcium metabolism, sex hormones and uterus in ovariectomized (OVX) rats. **Methods** Sixty female SD rats were distributed randomly into 6 groups: Sham group, OVX group, Xianlinggubao group (positive control) and HG low, medium and high dose groups (Sham, OVX, Pos, HG-L, HG-M, HG-H). After ovariectomy, from the next day the rats were administered medicine continuously for three months. After euthanizing the experimental rats, uterus and serum were taken to study the effects of HG on uterus weight, serum 1,25(OH)₂D₃, PTH, E₂, P and T and its influence on endometrial tissue. **Results** Compared with the Sham group, OVX group's PTH ($P < 0.01$) and T ($P < 0.05$) increased; E₂ ($P < 0.01$) and P ($P < 0.05$) decreased, uterine weight decreased significantly, and endometrial atrophy occurred. Compared with the OVX group, PTH were significantly lower in all doses of HG, but not in the Pos group; E₂ increased significantly in the HG-L and HG-M groups, but not in the Pos group. P in the HG-L group decreased ($P < 0.05$), but significantly increased in the Pos group. T in HG-L and HG-H groups was unchanged, decreased in the HG-M group, but increased significantly in the Pos group. There were not significant differences between each HG dose group and Pos group in uterine weight and endometrial tissue. **Conclusion** The effect of Hugu capsules on OVX rats was regulating PTH and E₂ levels. This regulation is

基金项目: 广东省科技计划国际合作项目(2010B050700022)

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

different from the mechanism of Xianlinggubao. Hugu capsules, as it increased estrogen levels but had little effect on the uterus. This study provided an experimental basis for promoting Hugu capsules in clinical treatment of postmenopausal osteoporosis.

Key words: Hugu capsules; Osteoporosis; Serum hormone; Uterus; Ovariectomized rats; Gonadal hormone

绝经后骨质疏松症是由于卵巢功能衰退,血内雌激素水平下降,致使骨吸收与骨形成加速,从而造成高转换型骨量丢失,结果导致骨小梁断裂、穿孔,皮质骨变薄,易于发生骨折的一种疾病^[1-2]。去卵巢大鼠的雌激素水平下降,与人类绝经后的骨质疏松相似。

中药复方护骨胶囊为广东安诺药业股份有限公司的产品,由制何首乌、淫羊藿、熟地黄、龟甲、骨碎补、杜仲、续断、巴戟天、当归和山药等中药根据中医的君臣佐使原则组成。目前在临床已广泛应用于治疗原发性骨质疏松症。为深入探讨其作用机理,本实验采用护骨胶囊作用于去卵巢大鼠,观察大鼠血清中与钙代谢直接相关的激素和性激素及子宫的影响,以进一步阐明其预防骨质疏松症的作用机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物与实验环境

3 月龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 60 只,体重(210 ± 3)g (由广东省医学实验动物中心提供,实验动物许可证号:NO.44007200017783)。饲养于广东省实验动物监测所,室温为(25 ± 2)℃,湿度为(60 ± 2)%。任意进食大鼠标准饲料和饮水。

1.2 动物分组与造模

按随机函数将大鼠分为 6 组:假手术组(Sham);去卵巢组(OVX);仙灵骨葆胶囊组(Pos);护骨胶囊低剂量组(HG-L);护骨胶囊中剂量组(HG-M);护骨胶囊高剂量组(HG-H)。每组各 10 只。适应性喂养 2w 后,用 2% 戊巴比妥钠,按 45mg/kg 腹腔注射对大鼠进行麻醉,大鼠成功麻醉后,行双侧卵巢切除手术。假手术组按同法操作,仅摘除双侧卵巢周围部分脂肪。

1.3 药物及给药方法

护骨胶囊由制何首乌、淫羊藿、熟地黄、龟甲、巴戟天、杜仲、续断、骨碎补、当归和山药组成,由广东安诺药业股份有限公司生产,批准文号为药准字 Z20040124,批号为 20150101,规格为 0.45 g;仙灵骨葆胶囊(阳性药物)由淫羊藿、续断、补骨脂、知母、丹参和地黄组成,由贵州同济堂制药有限公司生

产,批准文号为国药准字 Z20025337,批号为 20140701,规格为 0.50 g。仙灵骨葆胶囊组每天灌服人体等效剂量的仙灵骨葆胶囊 0.270 g/(kg·10ml)。护骨胶囊低、中、高剂量组每天分别灌服 0.243 g/(kg·10ml)、0.486 g/(kg·10ml)、0.972 g/(kg·10ml)。其中护骨胶囊中剂量组为人体等效剂量组。

1.4 主要试剂及仪器

试剂:石蜡、二甲苯、无水乙醇、盐酸乙醇、TO 生物型制片透明剂、苏木精液、伊红液、中性树脂。仪器:Leica 包埋机、Leica 切片机、Leica 碳化钨钢刀、Leica 生物显微镜。

1.5 血清性激素的检测

药物干预结束时,心脏取血处死大鼠,将血液以 3000 r/min 离心 20 min,分离出血清,送至上海邦奕生物科技有限公司,采用 Elisa 试剂盒检测血清激素 5 项:1,25 双羟维生素 D₃(1,25(OH)₂D₃)、甲状旁腺激素(PTH)、雌二醇(E₂)、孕酮(P)、睾酮(T)。

1.6 子宫观察

药物干预结束时,心脏取血处死大鼠,取各组大鼠子宫,称重后,进行石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察。

1.7 数据处理

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

2 结果

2.1 OVX 及 HG 对大鼠血清 PTH 和 1,25(OH)₂D₃ 的影响

与 Sham 组比较,OVX 组的 PTH 水平显著升高($P < 0.01$);与 OVX 组相比,PTH 水平在 HG-L、HG-M($P < 0.01$)和 HG-H 组($P < 0.05$)减少,HG-H 组比 HG-L、HG-M 组显著升高,Pos 组与 OVX 组比差异无统计学意义($P > 0.05$)。HG 各组均比 Pos 组降低($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$)。1,25(OH)₂D₃ 在此实验中差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠实验后血清激素指标的变化($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 1 Changes of serum hormone indexes in rats after the experiment($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	1,25 双羟维生素 D ₃ (1,25-(OH) ₂ D ₃)	甲状旁腺激素(PTH)
假手术组(Sham) (n=10)	64.13 ± 2.00	28.28 ± 0.96
去卵巢组(OVX) (n=10)	62.02 ± 0.73	31.76 ± 1.31 **
仙灵骨葆胶囊组(Pos) (n=10)	62.55 ± 4.39	32.12 ± 0.95 * *
护骨胶囊低剂量组(HG-L)(n=10)	63.02 ± 3.52	26.06 ± 1.83 * * * Δ Δ
护骨胶囊中剂量组(HG-M)(n=10)	60.85 ± 1.05	26.03 ± 0.79 * * * Δ Δ
护骨胶囊高剂量组(HG-H)(n=10)	60.62 ± 3.53	29.63 ± 0.85 * * * □ □ ◇ ◇

Note: * ** P < 0.05, 0.01 VS Sham; * , ** P < 0.05 VS OVX; Δ . Δ Δ P < 0.05, 0.01 VS Pos; □ . □ □ P < 0.05, 0.01 VS HG-L; ◇ . ◇ ◇ P < 0.05, 0.01 VS HG-M.

2.2 OVX 及 HG 对大鼠血清 E₂、P 和 T 的影响

表 2 各组大鼠实验后血清性激素指标的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of serum sex hormone indexes in rats after the experiment($\bar{x} \pm s$)

组别	雌二醇(E ₂) (ng/L)	孕酮(P) (nmol/L)	睾酮(T) (nmol/L)
假手术组(Sham) (n=10)	67.52 ± 0.48	28.47 ± 0.14	86.86 ± 2.54
去卵巢组(OVX) (n=10)	57.64 ± 2.62 **	27.23 ± 0.38 *	100.07 ± 5.50 *
仙灵骨葆胶囊组(Pos) (n=10)	57.78 ± 2.12 **	28.51 ± 0.38 **	122.25 ± 7.08 * * * *
护骨胶囊低剂量组(HG-L) (n=10)	64.57 ± 1.76 ** Δ Δ	26.23 ± 0.58 * * * Δ Δ	99.18 ± 5.04 * Δ Δ
护骨胶囊中剂量组(HG-M) (n=10)	64.48 ± 0.48 * * * Δ Δ	27.07 ± 0.57 ** Δ Δ	85.51 ± 6.39 ** Δ Δ □ □
护骨胶囊高剂量组(HG-H) (n=10)	60.60 ± 1.27 ** □ ◇	26.50 ± 0.43 ** Δ Δ	104.55 ± 4.11 ** Δ Δ ◇ ◇

Note: * ** P < 0.05, 0.01 VS Sham; * , ** P < 0.05, 0.01 VS OVX; Δ . Δ Δ P < 0.05, 0.01 VS Pos; □ . □ □ P < 0.05, 0.01 VS HG-L; ◇ . ◇ ◇ P < 0.05, 0.01 VS HG-M.

Sham 组的子宫内膜上皮细胞肥厚,腔大,无明显增厚及增生;与 Sham 组比较,OVX 组子宫萎缩变小,宫腔变小,子宫内膜上皮细胞萎缩;与 OVX 组比较,HG-L 和 HG-M 组无明显差异,HG-H 组内膜稍增厚。Pos 组无明显差异。见图 1。

3 讨论

3.1 血清 PTH 和 1,25(OH)₂D₃ 分析

PTH 和 1,25(OH)₂D₃ 是调节体内钙、磷系统平

与 Sham 组相比,OVX 组的 E₂ 水平和 P 水平下降(P < 0.01, P < 0.05),T 水平升高(P < 0.05)。与 OVX 组相比,E₂ 水平在 HG-L 和 HG-M 组增加(P < 0.01),HG-H 组无统计学意义,但 HG-H 组较 HG-L、HG-M 组下降(P < 0.05)。Pos 组与 OVX 组比较差异无统计学意义。HG-L 和 HG-M 组的 E₂ 较 Pos 显著升高;P 水平在 Pos 组显著性升高(P < 0.01),在 HG-L 组减少(P < 0.05),HG-M 组和 HG-H 组无变化。T 水平在 HG-L 组和 HG-H 组无变化,HG-M 组减少(P < 0.01),在 Pos 组显著性升高(P < 0.01)。见表 2。

2.3 OVX 及 HG 对大鼠子宫的影响

Sham 组、OVX 组、Pos 组、HG-L 组、HG-M 组、HG-H 组的子宫重量分别是(0.670 ± 0.19)g、(0.103 ± 0.04)g、(0.097 ± 0.02)g、(0.113 ± 0.04)g、(0.112 ± 0.02)g、(0.114 ± 0.06)g。其中,与 Sham 组比较,各组的子宫重量均显著减少(P < 0.01)。药物组的子宫重量与 OVX 组比无变化。

衡的两大主要激素^[3-4]。本实验 OVX 组 PTH 水平升高,可能是因为大鼠去卵巢后,E₂ 水平下降所致。研究表明^[5],E₂ 分泌下降,会使骨骼中的钙结合力降低,刺激 PTH 的分泌,PTH 激发升高,作用于骨组织,使间质细胞向破骨细胞转化,促进破骨细胞吸收,使骨钙释放入血,导致骨质疏松^[6]。而 HG 各剂量组的 PTH 水平显著降低,这与补肾化痰壮骨汤^[7]、鹿衔草^[8] 等对去卵巢大鼠的研究结果一致。提示护骨胶囊能调节去卵巢后的 PTH 分泌失常。

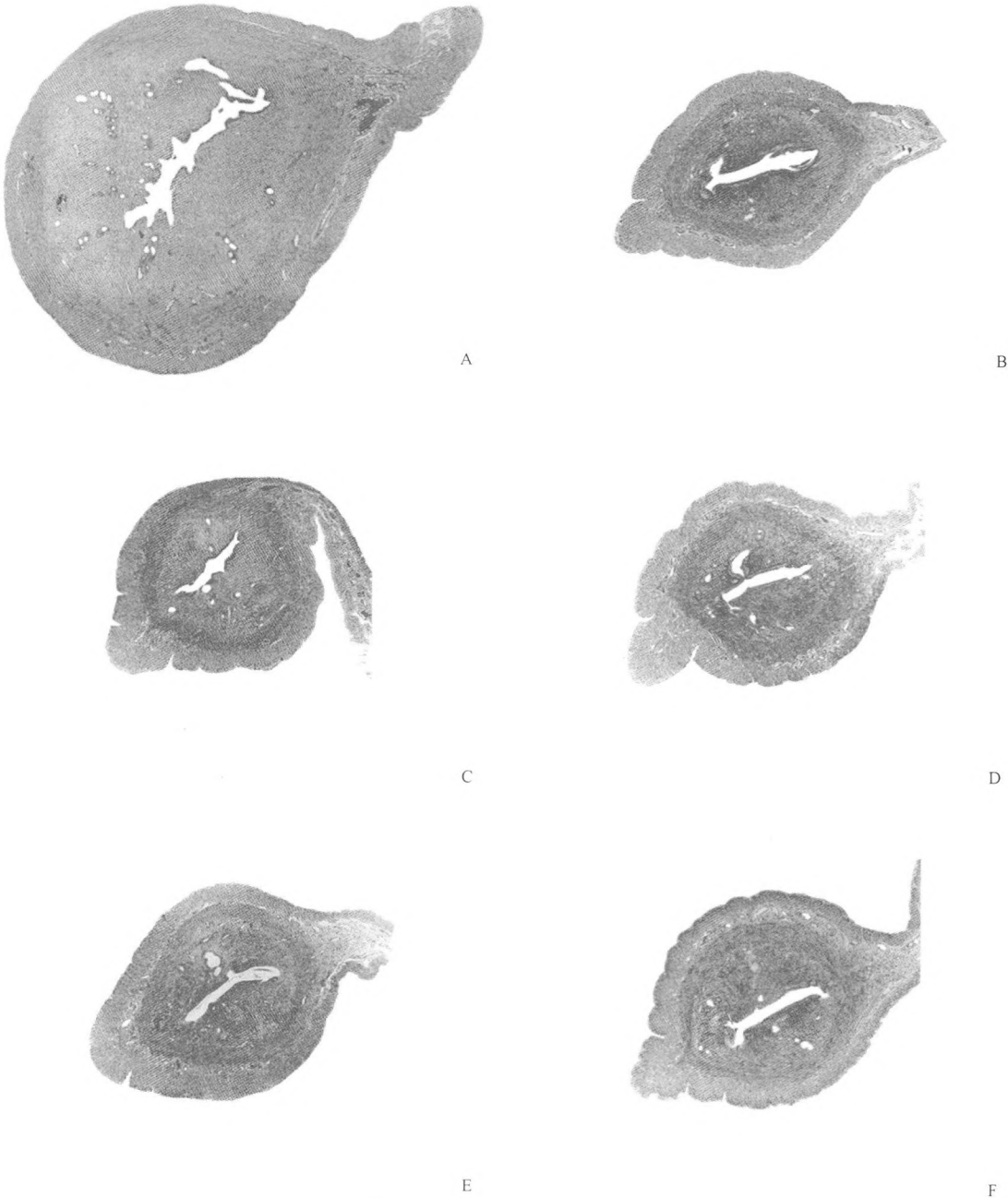


图 1 各组大鼠实验后子宫切片(HE 染色)。A:假手术组(5×);B:去卵巢组(5×);C:仙灵骨葆胶囊组(5×);D:护骨胶囊低剂量组(5×);E:护骨胶囊低中量组(5×);F:护骨胶囊低高量组(5×)
Fig. 1 The rats uterus slices after the experiment(HE dyeing). A: Sham(5×);B:OVX(5×);C: Pos(5×);D:HG-L(5×);E:HG-M(5×);F:HG-H(5×)

Pos 组的 PTH 水平与 OVX 组差异无统计学意义,说明仙灵骨葆胶囊不调节 PTH,这与赵小梅^[9]对仙灵骨葆胶囊的研究一致。而实验各组的 1, 25(OH)₂D₃ 差异均无统计学意义,此结果说明 OVX 与药物不是通过血清中的 1,25(OH)₂D₃ 起作用的。

3.2 血清 E₂、P 和 T 分析

E₂ 主要由卵巢、黄体 and 胎盘产生,肝、肾上腺皮

质及乳房等也能产生少量 E₂,它是影响雌性动物生殖系统生长发育,维持雌性性机能的重要类固醇激素^[10]。当雌激素缺乏时会引起明显的骨量丢失,骨结构退变以及骨高转换等骨质疏松症状^[11]。本实验中,OVX 组 E₂ 水平显著降低,HG-L 和 HG-M 组则显著升高,HG-H 组 E₂ 水平也升高,但与 OVX 组比差异无统计学意义。说明护骨胶囊具有补充性激

素的作用,能调节去卵巢造成的 E_2 分泌下降,这可能是因为护骨胶囊药物组成里的淫羊藿、制何首乌和骨碎补等补肾中药含有植物雌激素。植物雌激素的研究已越来越受到重视。刘仕杰等^[12]发现淫羊藿可提高 OVX 大鼠血清雌激素水平。杨利娟^[13]通过雌激素受体 ($ER\alpha/\beta$) 对靶基因的转录调节作用,证明了何首乌的主要活性成分大黄素、骨碎补中的柚皮苷和淫羊藿中的淫羊藿苷都具有显著的植物雌激素作用,说明护骨胶囊能产生植物雌激素样作用。Pos 组的 E_2 水平与 OVX 组比差异无统计学意义,说明仙灵骨葆胶囊不调节血清 E_2 。这与赵小梅^[9]对仙灵骨葆胶囊的研究结果一致。

P 是重要的甾体激素,主要在卵巢黄体的颗粒细胞、胎盘的合体滋养层细胞合成^[14]。研究发现 P 能诱导成骨细胞 $TGF-\beta_1$ 、 $TGF-\beta_2$ 的表达,促进成骨细胞增殖与分化、增强成骨功能及骨基质合成,促进骨形成^[15]。本研究 OVX 组 P 水平降低,这与罗晓冰等^[16]对 OVX 大鼠的研究结果一致。服用护骨胶囊后,大鼠血清 P 水平不升高,这可能是因为 E_2 能与 P 竞争性激素结合球蛋白上的结合位点,故游离的 E_2 水平升高,P 不升高^[17]。Pos 组 P 水平显著升高,提示仙灵骨葆胶囊通过 P 促进成骨的作用。

T 具有促进骨形成与钙磷沉积的作用,可直接作用于成骨细胞,还可通过转化为 E_2 间接起作用^[18]。P、T 和 E_2 均为甾体激素,在体内可以通过中间体雄烯二酮进行 $P \rightarrow T \rightarrow E_2$ 的转化^[19]。研究发现,绝经后妇女 E_2 主要来自于肾上腺皮质分泌的 T 在体内的转变^[20]。故 OVX 组 T 升高,可能是由于去卵巢后 E_2 下降,刺激 T 分泌。与 OVX 组比,T 水平在 HG-L 和 HG-H 组无变化;在 HG-M 组降低,但与 Sham 组水平相当,具体原因有待深入研究;仙灵骨葆胶囊的 T 水平在 OVX 组的基础上显著升高。有研究表明:T 既能增加骨细胞的增生、分化,又能增加碱性磷酸酶的活性而起成骨作用^[21]。本研究的结果说明仙灵骨葆胶囊通过 T 促进成骨的作用。

3.3 OVX 及 HG 对大鼠子宫的影响

大鼠切除卵巢后,子宫明显萎缩。卵巢的功能之一是分泌雌激素,维持子宫功能,雌激素与孕激素等共同作用于子宫内膜^[22]。故大鼠切除卵巢后,OVX 组 E_2 减少,子宫内膜变薄,子宫萎缩变小,提示造模成功。护骨胶囊能显著增加血清 E_2 水平,但子宫与 OVX 组比较差异无统计学意义,仅高剂量使子宫内膜稍增加。其原因可能是护骨胶囊含有的成分为植物雌激素,对子宫的影响很小。这与西药雌

激素的作用不同,研究发现,长期补充外源性的西药雌激素,易导致子宫内膜增生,水钠潴留,严重的还会出现子宫内膜癌、乳腺癌、血栓栓塞等不良反应^[23]。

综上所述,护骨胶囊能降低去卵巢大鼠血清的 PTH 水平,升高 E_2 水平,说明护骨胶囊能调节与钙代谢直接相关的激素,同时又具有调节和补充雌激素的作用,且对子宫影响不大。该研究提示护骨胶囊对绝经后骨质疏松的治疗机理可能是通过调节血清中的 PTH 和 E_2 的水平,为推广护骨胶囊临床防治绝经后骨质疏松提供了实验依据。

【参 考 文 献】

- [1] 孙琼华. 绝经后激素治疗的临床运用及其研究现状. 中国处方药, 2015, 13(12): 139-140.
Sun QH. Clinical application and research status of postmenopausal hormone therapy. Journal of China Prescription Drug, 2015, 13(12): 139-140. (in Chinese)
- [2] Li QN, Liang NC, Huang LF, et al. Skeletal effects of constant and terminated use of risedronate on cortical bone in ovariectomized rats. Journal of Bone & Mineral Metabolism, 1999, 17(1): 18-22.
- [3] 王晓燕, 刘黎明. 1,25 二羟基维生素 D3 生物学功能研究进展. 中国妇幼健康研究, 2010, 21(5): 685-687.
Wang XY, Liu LM. Progress in research on biological function of 1,25 dihydroxy vitamin D₃. Chinese Journal of Woman and Child Health, 2010, 21(5): 685-687. (in Chinese)
- [4] 刘明, 潘薇, 陈德才. 甲状旁腺激素治疗骨质疏松症的研究进展. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2012, 5(2): 151-156.
Liu M, Pan W, Chen DC. The progression of PTH supplements on osteoporosis. Chin J Osteoporosis & Bone Miner Res, 2012, 5(2): 151-156. (in Chinese)
- [5] 谭锐泉. 原发性骨质疏松症病因研究述略. 中医药学刊, 2006, 24(7): 1283-1284.
Tan RQ. The study on etiology of primary osteoporosis. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2006, 24(7): 1283-1284. (in Chinese)
- [6] 范娟娟, 莫新民, 张国民, 等. 壮骨止痛方提取物对去卵巢骨质疏松型大鼠血清 PTH、CT 的影响. 中华中医药学刊, 2011, 29(5): 1016-1018.
Fan JJ, Mo XM, Zhang GM, et al. Strong bone pain side all extracts on rats ovariectomized type of serum PTH, CT and electron microscope observation. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2011, 29(5): 1016-1018. (in Chinese)
- [7] 陈虎山. 补肾化瘀壮骨法治疗老年性骨质疏松症的临床研究. 南京: 南京中医药大学, 2011.
Chen HS. A clinical study on "tonifying KI, resolving blood stasis and strengthening bone" for senile osteoporosis. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2011. (in Chinese)
- [8] 林丽琼. 鹿衔草对去卵巢大鼠钙调节激素的影响. 福州: 福建

- 中医药大学, 2012.
- Lin LQ. Effects of pyrola on calcium-regulating hormones of ovariectomized Rats. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2012. (in Chinese)
- [9] 赵小梅. 太太骨宝颗粒治疗绝经后骨质疏松症的实验研究. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- Zhao XM. The experimental study of Taitaigubao Granules in treating postmenopausal osteoporosis. Chendu: Chendu University of TCM, 2008. (in Chinese)
- [10] 刘相洋. 孕酮、雌二醇与 IFN- τ 调控奶牛子宫内膜上皮细胞表达 GM-CSF 的研究. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- Liu XY. Progesterone, estradiol and IFN- τ regulate GM-CSF expression in endometrial epithelial cells of dairy cow in vitro. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [11] 蒲画华, 王洪复, 李斌, 等. 补肾中药复方和尼尔雌醇对卵巢摘除大鼠骨丢失及血 1, 25(OH) $_2$ D 水平的影响. 复旦学报(医学版), 2012, 39(1): 36-41.
- Pu HH, Wang HF, Li B, et al. Effect of Bushen Chinese Medicine and nilestriol on 1, 25(OH) $_2$ D blood level and bone loss in ovariectomized rats. Fudan Univ J Med Sci, 2012, 39(1): 36-41. (in Chinese)
- [12] 刘仕杰, 莫新民, 李劲平, 等. 淫羊藿苷对去卵巢骨质疏松症雌鼠的疗效及机理初步研究. 中国中医基础杂志, 2012, 18(3): 271-273.
- Liu SJ, Mo XM, Li JP, et al. A preliminary study on the efficacy and mechanism of icariin to osteoporosis in ovariectomized females rats. Chinese Journal of Basic Medicine Traditional Chinese Medicine, 2012, 18(3): 271-273. (in Chinese)
- [13] 杨利娟, 黄君梅, 王飞. 何首乌、骨碎补和淫羊藿的植物雌激素作用研究. 中药与临床, 2012, 3(3): 37-40.
- Yang LJ, Huang JM, Wang F. Evaluation of the phytoestrogenic activity of polygoni multiflori radix, drynariae rhizoma and epimedii folium. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2012, 3(3): 37-40. (in Chinese)
- [14] 贾海梅. 镉对大鼠卵巢孕激素合成的影响及其机理研究. 福州: 福建医科大学, 2007.
- Jia HM. Effect and mechanism of cadmium on the progesterone synthesis of ovaries. Fuzhou: Fujian Medical University, 2007. (in Chinese)
- [15] 张红, 廖二元, 罗湘杭. 孕激素调节人成骨细胞转化生长因子- β_1 , β_2 的表达. 中国临床康复, 2003, 7(12): 1764-1765.
- Zhang H, Liao EY, Luo XH. Progesterone regulates TGF- β_1 , β_2 expression in MG-63 cells. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2003, 7(12): 1764-1765. (in Chinese)
- [16] 罗晓冰, 卑占宇, 王文宝, 等. 3'-大豆苷元磺酸钠对去卵巢大鼠骨代谢的影响. 医药导报, 2013, 32(9): 1119-1121.
- Luo XB, Bei ZY, Wang WB, et al. Effects of 3'-daidzein sulfonate sodium on bone metabolism of ovariectomized rats. Herald of Medicine, 2013, 32(9): 1119-1121. (in Chinese)
- [17] 梁敏. 孕激素在绝经后骨质疏松中的作用. 国外医学(内分泌学册), 2003, 23(2): 136-138.
- Liang M. The role of progesterone in postmenopausal osteoporosis. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2003, 23(2): 136-138. (in Chinese)
- [18] 马翔. 补肾益气中药对去势大鼠绝经后骨质疏松症肾脏 TGF- β_1 调控的研究. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2006.
- Ma X. To study the mechanism of Supplementing kidney enriching Qi traditional chinese medicine in kidney TGF- β_1 in unsex rats with postmenopausal osteoporosis. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2006. (in Chinese)
- [19] 王鸿, 周启春, 邵燕燕, 等. 雄烯二酮的微生物生产与转化研究进展. 浙江工业大学学报, 2015, 43(6): 611-617.
- Wang H, Zhou QC, Shao YY, et al. Studies on production and transformation of steroidal drugs intermediate 4AD by microbacteria. Journal of Zhejiang University of Technology, 2015, 43(6): 611-617. (in Chinese)
- [20] 薛歆. 雌激素对成骨细胞增殖及 TGF- β_1 和 IGF-1 mRNA 表达的影响. 太原: 山西医科大学, 2013.
- Xue X. The influence of different concentration of estrogen on the expression of osteoblast proliferation and TGF- β_1 , IGF-1 mRNA. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2013. (in Chinese)
- [21] 苏汝堃, 李佛保, 刘兴漠, 等. 绝经前后妇女性激素六项与骨质疏松的关系. 中国热带医学, 2006, 6(2): 271-272.
- Su RK, Li FB, Liu XM, et al. The relationship between osteoporosis and the level of sex hormones in menopause women. China Tropical Medicine, 2006, 6(2): 271-272. (in Chinese)
- [22] 宋双红, 王德, 莫易易, 等. 柚皮素防治去卵巢致大鼠骨质疏松症的实验研究. 药学报, 2015, 50(2): 154-161.
- Song SH, Wang D, Mo YY, et al. Antiosteoporotic effects of naringenin on ovariectomy-induced osteoporosis in rat. Acta Pharmaceutica Sinica, 2015, 50(2): 154-161. (in Chinese)
- [23] 章婷婷, 刚君, 方小玲. 雌激素替代疗法的利与弊. 医学与哲学(临床决策论坛版), 2006, 27(1): 46-48.
- Zhang TT, Gang J, Fang XL. Advantages and disadvantages of hormone replacement treatment. Medicine and Philosophy, 2006, 27(1): 46-48. (in Chinese)

(收稿日期: 2016-02-19; 修回日期: 2016-03-24)