

电针对去卵巢大鼠骨形成及骨吸收活性的影响

浪万英 王亚军* 宋亚文 张来举 宋凯

甘肃中医药大学针灸推拿学院,甘肃 兰州 730000

中图分类号: R25 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 05-0585-06

摘要: **目的** 研究电针对去卵巢骨质疏松模型大鼠的全身骨密度(BMD)、骨矿物含量(BMC)及其血清对体外培养成骨细胞的骨形成因子骨钙素(OPG)和骨吸收因子(RANKL)蛋白表达的影响。**方法** 选取 SPF 级 2 月龄 SD 雌性大鼠 40 只,随机分为空白组、电针组、药物组和模型组,每组 10 只。其中空白组不做任何处理,后 3 组采用手术方法切除双侧卵巢。饲养 3 个月,骨密度检测结果显示造模成功。随后药物组大鼠灌胃服用戊酸雌二醇 3 个疗程,电针组大鼠采用针刺后通电治疗 3 个疗程并服用药物组相同体积的蒸馏水,模型组服用相应体积的蒸馏水,空白组常规饲养。各组大鼠于 SPF 级实验室处理 3 个月,双能 X 射线骨密度仪检测全身骨密度和骨矿含量。随后,水合氯醛麻醉各组大鼠,心脏采血,各组血液分别经滤网过滤、56℃ 水浴处理后加入体外培养的大鼠成骨细胞培养液中,处理 3d 后多聚甲醛固定成骨细胞,采用免疫细胞化学染色法检测成骨细胞内 OPG、RANKL 蛋白的表达量。**结果** 与空白组相比,模型组大鼠 BMD、BMC 显著降低($P < 0.05$),服用药物或针刺处理后,BMD 和 BMC 显著增高($P < 0.05$),与模型组相比差异具有统计学意义。各组大鼠血清处理成骨细胞后,模型组骨形成指标 OPG 蛋白表达量较低,经药物或针刺后,OPG 蛋白表达量显著升高($P < 0.01$)。此外,模型组骨吸收指标 RANKL 的表达量较高,经药物和针刺处理后,RANKL 蛋白表达量显著下降($P < 0.01$)。**结论** 针刺能有效升高大鼠 BMD 和 BMC,同时针刺处理后的大鼠血清具有很好的促进骨形成和抑制骨吸收的能力。

关键词: 电针;骨质疏松症;BMD;BMC;OPG;RANKL

Effect of electroacupuncture on the bone formation and bone resorption in ovariectomized rats

LANG Wanying, WANG Yajun*, SONG Yawen, ZHANG Laiju, SONG Kai

Institute of Acupuncture and Massage, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: WANG Yajun, Email: tangniao2008@126.com

Abstract: **Objective** To observe the effect of electroacupuncture on bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) in ovariectomized rats, and on the expression of OPG and RANKL in cultured osteoblasts in vitro. **Methods** Forty 2-month-old female SPF-grade SD rats were selected and were randomly divided to blank group, electroacupuncture group, Western medicine group, and model group, with 10 rats in each group. Rats were bilaterally ovariectomized except in the blank group. The model was established in 3 months according to the BMD results. Rats in the western group were then administrated with estradiol valerate by means of intragastrical administration for 3 course. Rats in the electroacupuncture group were treated with acupuncture and intragastrical administration of same volume of distilled water for 3 month. Rats in the model group were administrated with distilled water for 3 month. Rats in the blank group were fed normally. After 3 months in the SPF laboratory, BMD and BMC were detected using dual energy X-ray absorptiometry. The rats of all the groups were anesthetized with chloral hydrate and blood were collected from the heart. The blood was mesh filtered and dealt with 56 °C water bath. Then it was added in the cultured osteoblasts. The osteoblasts were fixed with paraformaldehyde after 3 days. The protein expression of OPG and RANKL in the osteoblasts were detected using immunofluorescence cytochemistry. **Results** Comparing to those in the blank group, BMD and BMC in the model groups decreased significantly ($P < 0.05$). After the medicine or acupuncture treatment, BMD and BMC increased significantly, comparing to those in the model group ($P < 0.01$). The protein expression of OPG was low in the osteoblasts cultured with the model group serum. It increased after the medicine or acupuncture treatment ($P < 0.01$). The expression of RANKL was the highest in the model group. After the treatment, it decreased in the western group and the

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(81260584)

* 通讯作者: 王亚军, Email: tangniao2008@126.com

electroacupuncture group ($P < 0.01$). **Conclusion** The treatment of electroacupuncture increases BMD and BMC in rats. After the treatment with electroacupuncture, the rat serum has good capacity of increasing bone formation and decreasing bone resorption.

Key words: Electroacupuncture; Osteoporosis; BMD; BMC; OPG; RANKL

目前,骨质疏松症的发病率逐年上升,且以其严重的临床症状引起医学界的广泛关注^[1-3]。医学界专业研究人员致力于探索有效的治疗方法来攻克这一临床难题,主要通过探索西药、中医中药的作用机制,寻求最能缓解患者临床症状,解除病痛的治疗方法。针灸以独特的治疗优势被广大患者接受,能有效缓解患者的症状^[4,5]。为此,临床科研人员开始对针灸治疗骨质疏松症的效果及其机理进行研究^[6,7]。本文研究了电针刺对去卵巢大鼠的全身骨密度及其骨形成和骨吸收活性进行了研究,为电针刺治疗骨质疏松症的效果及其机理的研究提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

电针(上海华谊医用仪器有限公司);双能 X 线骨密度测定仪(美国 GE 公司);戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司,批号:199A3);兔 IgG-免疫组化试剂盒 SABC 即用型(博士德生物工程有限公司,批号:11C31C SA1022);OPG(ab183910,批号:GR154990-29);RANKL(ab9957,批号:GR262704-1);大鼠成骨细胞专用培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司,批号:CM-R091);PBS 液(北京雷根生物技术有限公司,批号:0111/A16);通用细胞冻存液(北京雷根生物技术有限公司,批号:0111A16);过氧化物酶阻断液(博士德生物工程有限公司,批号:11C17B08);DAB 显色试剂盒(博士德生物技术有限公司,批号:11B23C22);载玻片(中国制造,批号:7105);显微镜盖玻片(中国制造,批号:10212020C);针灸针(苏州医疗用品厂,Φ0.35 mm × 13 mm)。

1.2 方法

1.2.1 骨质疏松症模型大鼠的制备方法:选取 SPF 级 2 月龄 SD 雌性大鼠 40 只,随机分为空白组、模型组、药物组和电针组,后 3 组采用手术方法切除双侧卵巢。将大鼠以 0.3 mL/100 g 的 10% 水合氯醛溶液腹腔注射麻醉,在其最末肋骨下一横指且旁开脊柱有一小的隆起处,并剃去此处鼠毛,铺无菌洞巾,以碘酊消毒。切开皮肤、背部肌肉、腹膜,以小镊子轻轻将白色发亮脂肪团拉出切口外,分离脂肪团,便

可见到粉色菜花样卵巢。先将卵巢下端输卵管用丝线结扎,然后摘除卵巢。切口缝合后,对皮,碘酊消毒,同法摘除另一侧卵巢,造成骨质疏松症模型大鼠。造模后饲养 13 w,检测骨密度和骨矿物含量。

1.2.2 动物分组:空白组:不予任何处理,常规饲养。模型组:灌服与药物组同体积的蒸馏水,常规饲养。药物组:按照 1 mL/100 g 标准灌胃给予 0.02 mg/mL 戊酸雌二醇水溶液(大鼠给药剂量按照人与大鼠体表面积比值折算而得)^[8,9],1 次/1 d,连续治疗 5 d,间隔 2 d。20 d 疗程,治疗 3 疗程。电针组:“三阴交”穴位于后肢内踝尖直上 10 mm,直刺 5 mm;“足三里”穴位于膝关节下侧,腓骨小头下缘 5 mm 处,直刺 5 mm;“脾俞”穴位于第十一胸椎棘突下旁开 1.5 寸,直刺 5 mm;“肾俞”穴位于第 2 腰椎棘突下旁开 1.5 寸,直刺 5 mm。以大鼠脚趾中指和同身寸法确定旁开位置和针刺深度剃去背部鼠毛,应用针具及穴位常规消毒后,用 30 号 0.5 寸不锈钢毫针快速刺入皮下一定深度,接入电针,频率为 2 Hz,断续波^[10,12],刺激强度 1.0 mA,以局部见肌肉轻微收缩为佳,每次 15 min,同时灌服与药物组同体积的蒸馏水。1 次/1 d,连续治疗 5 d,间隔 2 d。20 d 疗程,治疗 3 疗程。

1.2.3 全身骨密度检测:治疗 3 个月后,采用腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉各组大鼠。待至大鼠处于全身麻醉状态下(用拇指和食指掐其尾端,如果大鼠没有甩尾动作,显示达到最佳测定时段),将其依次置于骨密度测定仪器。将大鼠置于测定板上,使四肢,尾部全部集中于测定板上,使头部、躯体和尾部处于测定板的纵端中线上,避免偏移,并使全身处于伸展状态。扫描全身,采用计算机显示大鼠全身骨影像,保存扫描图片,抄录检测数据^[13-15]。

1.2.4 大鼠成骨细胞的体外培养:将乳鼠置于 75% 酒精中浸泡处死,无菌条件下取其颅骨并去除骨膜及结缔组织,PBS 清洗 3 次;将骨片剪碎(大小约 1 mm × 1 mm × 1 mm),转移至培养瓶中,0.25% 胰酶消化 2 次(37℃,每次 10 min),弃去上清液,0.1% 的 II 型胶原酶消化 10 min,弃上清;再用 0.1% 的 II 型胶原酶消化 4 次(37℃,每次 20 min),收集合并上清液,加入 5 mL 含血清的培养基中止酶消化,150 目滤网过滤 3 次,1 000 r/min 离心 10

min;弃上清,加入培养基(α-MEM 培养基,内含 10% PBS),吹打均匀并计数。原代细胞悬液以 3×10^4 /mL 接种于大皿(Nunc)中培养,每皿 10 mL,37℃、5% CO₂ 和饱和湿度的条件下培养,每 3 d 换液 1 次。待细胞铺满 80% 培养皿后进行爬片培养。

1.2.5 成骨细胞的血清处理方法:采用 10% 水合氯醛(0.03 mL/100 g)麻醉各组大鼠,待大鼠麻醉充分后,用 5 mL 真空采血针对准心脏部位扎取一定量血清,冷置 1 h,离心(2 500 r/min,25 min),弃去沉淀物,保留上层血清。将上层血清采用 56℃ 水浴灭活 30 min,并用 0.22 μm 的滤网抽滤除菌。将各组制备血清依 10% 的比例加入爬片培养的成骨细胞 3 d 后,4% 多聚甲醛固定 10 min。采用免疫细胞化学染色法处理各组细胞爬片,并通过图像分析处理软件选取恰当视野,提取灰度值,结果采用积分光密度(IOD)表示。

1.2.6 免疫细胞化学染色方法:各组成骨细胞经 4% 多聚甲醛固定 10 min 后,PBS 清洗 3 次(每次 3 min),0.1% Triton X-100 透膜 10 min,清洗 3 次后加入 30% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶。蒸馏水清洗 3 次,加入 BSA 封闭 20 min,清洗后加入 OPG 和 RANKL 一抗(1:500 稀释),4℃ 过夜处理。PBS 清洗 3 次(每次 3 min),滴加生物素化二抗,37℃ 孵育 20 min,PBS 清洗 3 次(每次 3 min),滴加 SABC 试剂并 37℃ 孵育 20 min,PBS 清洗 3 次(每次 3 min)。使用 DAB 显色后流水清洗,乙醇梯度脱水,树脂封片,拍照采集照片。通过图像分析处理软件选取恰当视野,采用 Image-Pro Plus 6.0 扫描光密度(IOD)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计学软件进行分析,各组数据均以均数加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示。数据结果采用单因素方差分析(one-way ANOVA),方差齐采用其项下的 LSD 检验,方差不齐采用 Tamhane's 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠全身骨密度 BMD 检测结果

如表 1 所示,与空白组相比,模型组骨密度显著降低($P < 0.05$),说明去卵巢骨质疏松大鼠模型建立成功。经过药物或针刺处理后,骨密度显著升高,与模型组相比具有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 大鼠全身骨矿物含量 BMC 检测结果

如表 2 所示,与空白组相比,模型组骨矿物含量

显著降低($P < 0.05$),说明去卵巢骨质疏松大鼠模型建立成功。经过药物或针刺处理后,骨矿物含量显著升高,与模型组相比具有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠全身 BMD 比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the whole body BMD in rats($\bar{x} \pm s$)		
组别	n	BMD(g/cm ²)
空白组	10	0.179 ± 0.001
模型组	10	0.156 ± 0.005 *
药物组	10	0.169 ± 0.034 **
电针组	10	0.170 ± 0.001 **

注: * 与空白组比较, $P < 0.05$,差异具有统计学意义。
** 与模型组比较, $P < 0.01$,差异具有统计学意义。

表 2 各组大鼠全身 BMC 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the whole body BMC in rats($\bar{x} \pm s$)		
组别	n	BMC(g/cm ²)
空白组	10	22.213 ± 0.016
模型组	10	18.550 ± 1.086 *
药物组	10	20.038 ± 2.105 **
电针组	10	20.213 ± 1.267 **

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.01$

2.3 大鼠血清处理后成骨细胞 OPG 蛋白表达结果

如图 1、2 所示,空白组 OPG 表达量最高,模型组最低,经过药物或针刺处理后,OPG 表达显著升高,与模型组相比具有统计学意义($P < 0.01$)。

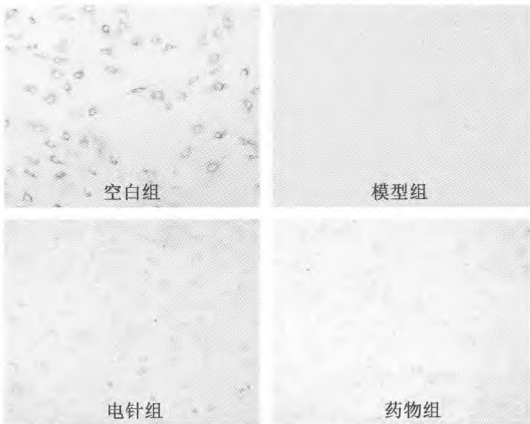


图 1 大鼠血清处理后成骨细胞 OPG 蛋白表达
Fig. 1 The expression of osteoblasts OPG protein after processing of rat serum

2.4 大鼠血清处理后成骨细胞 RANKL 蛋白表达结果

如图 3、4 所示,空白组 RANKL 表达量最低,模型组最高,经过药物或针刺处理后,RANKL 表达显

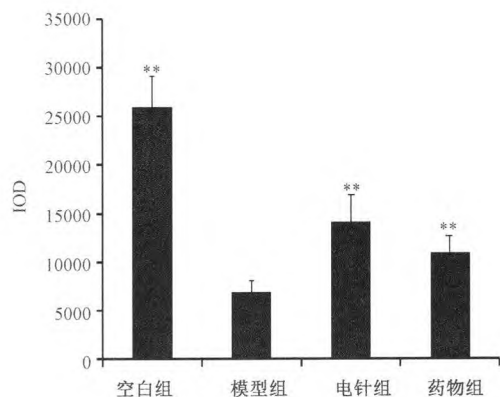


图2 大鼠血清处理后成骨细胞 OPG 蛋白表达
与模型组比较, ** $P < 0.01$

Fig. 2 The expression of osteoblasts OPG protein after processing of rat serum

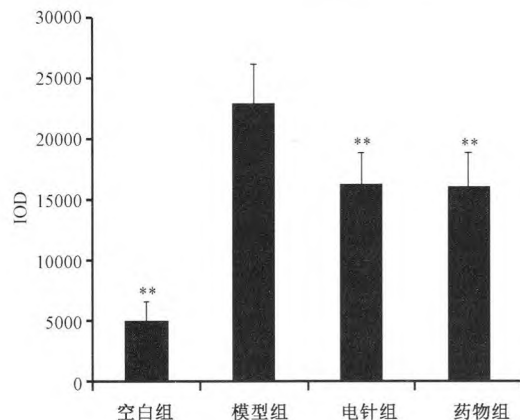


图4 大鼠血清处理后成骨细胞 RANKL 蛋白表达
与模型组比较, ** $P < 0.01$

Fig. 4 The expression of osteoblasts RANK protein after processing of rat serum

著下降,与模型组相比具有统计学意义($P < 0.01$)。

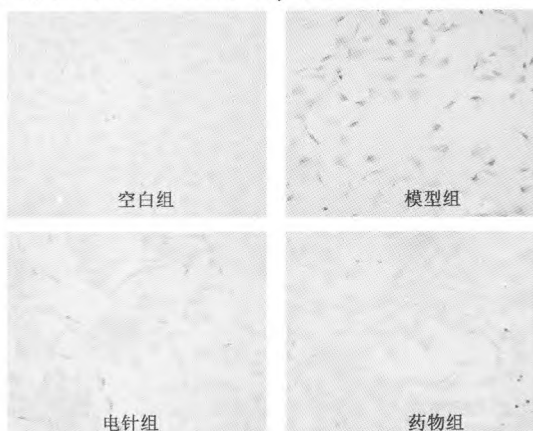


图3 大鼠血清处理后成骨细胞 RANKL 蛋白表达

Fig. 3 The expression of osteoblasts RANKL protein after processing of rat serum

3 讨论

以往一系列实验^[16-18]都对骨质疏松大鼠有关于骨质变化的各项指标进行了详细的研究,结果均表明:针灸在骨质疏松症的预防或是治疗方面均能起到良好改善作用。本实验结果提示:针刺治疗骨质疏松症可能是通过调控成骨细胞内 OPG、RANKL 蛋白的表达,从而调节 OPG-RANKL-RANK 信号通路,以此调节破骨细胞骨破坏和成骨细胞骨重建系统的平衡,达到预防和治疗骨质疏松症的效果,亦进一步证实临床上采用针灸治疗多种原因导致的骨质疏松症均能取得良好效果的实践经验。

中医认为,肾主骨生髓,脾主四肢肌肉,肝主筋。

如《素问·六节脏象论》记载“肾者,封藏之本,精之处也,其华在发,其充在骨。”可见,肾中精气能够化生为营养物质,润养全身骨骼,保证骨骼的正常生长代谢。同时,肾中精气的后天充养有赖于后天脾胃的不断补充才能延续生命。如《素问·生气通天论》云“是故谨和五味,则骨正筋柔,气血以流,腠理以密,如是则骨气以精,谨道如法,长有天命。”再者,中医理论认为肝气的条达、顺畅有助于脾胃的正常运化,从而腐熟水谷等精微物质,不断补充、滋养先天之脏。如《素问·上古天真论》云“肝气衰则筋不能动”;《经别论》曰“食气入胃,散精于肝,淫气于筋”。所以本研究依据动物实验针灸学选取了与肝脾肾三脏联系最为密切的穴位,同时设立阳性药物组与之作对比。研究结果进一步证实了以往研究结果:药物和电针治疗去卵巢大鼠骨质疏松症均能取得疗效,但是单纯电针和药物疗效相比,前者略微较后者好。该研究为针灸学术界再添一项具有说服力的结果,亦能更好地为临床采用针灸推拿治疗骨质疏松症提供事实依据。同时,希望该研究领域的研究人员能更进一步深入探索运用针灸骨质疏松症的实质性内容^[19-21]。

【参考文献】

- [1] 康轶鑫,王道全,刘忠厚. 针灸治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(1): 73-79.
Kang YX, Wang DQ, Liu ZH. The Experimental Research Progress of Acupuncture Therapy for the Treatment of Osteoporosis[J]. China J Osteoporos, 2011, 17(1): 73-79.
- [2] 牛爱春,吴建民,郭宪章. 中医药治疗骨质疏松症研究现状

- [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(9): 47-49.
- Niu AC, Wu JM, Guo XZ. Research progress of osteoporosis by traditional Chinese medicine [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2016, 12(9): 47-29.
- [3] 欧阳刚, 唐曦, 莫非, 等. 针刺干预对去卵巢大鼠模型骨密度和钙调节激素的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(4): 1130-1132.
- Ouyang G, Tang X, Mo F, et al. Influence of electroacupuncture intervention on serum ghrelin content and bone mineral density in ovariectomized rats [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2013, 28(4): 1130-1132.
- [4] Zhou ZH, Wang NQ, Pan FF, et al. Clinical observation on combined acupuncture and medication for osteoporosis in postmenopausal women [J]. Acupunct Tuina. Sci, 2011, 9(6): 370-375.
- [5] 魏玉芳, 郑钰林, 张珊红, 等. 针刺对去势大鼠骨质疏松模型雌激素及骨密度作用的影响[J]. 针刺研究, 2007, 32(1): 38-41.
- Wei YF, Zheng YL, Zhang SH, et al. Effect of electroacupuncture on plasma estrin and bone mineral density in ovariectomized rats [J]. Acupuncture Research, 2007, 32(1): 38-41.
- [6] 陈俊, 吴广文, 潘彩彬, 等. 针灸治疗原发性骨质疏松症动物实验研究进展[J]. 福建中医药大学学报, 2014, 24(6): 64-66.
- Chen J, Wu GW, Pan CB, et al. Research progress of acupuncture in the treatment of primary osteoporosis [J]. Journal of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 24(6): 64-66.
- [7] 李晶, 武峻艳, 王慧明, 等. 针灸对去势大鼠骨组织形态学影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(9): 1827-1830.
- Li J, Wu JY, Wang HM, et al. Experimental study on the effect of acupuncture on bone histomorphology in ovariectomized rats [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2010, 37(9): 1827-1830.
- [8] 鞠大宏, 于福禄, 张丽坤, 等. 滋阴补肾法对卵巢切除所致骨质疏松大鼠成骨细胞 COX-2 蛋白和 mRNA 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(12): 918-920.
- Ju DH, Yu FL, Zhang LK, et al. Effect of nourishing yin and tonifying kidney on the expression of COX-2 protein and mRNA in ovariectomized rats [J]. China Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2006, 12(12): 918-920.
- [9] 张瑶, 朱旭, 刘菊, 等. 二仙汤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]. 广西医学, 2014, 36(11): 1593-1595.
- Zhang Y, Zhu X, Liu J, et al. Impact of Guiliu Erxian Glue on serum type I collagen amino-terminal extension peptide in ovariectomized rat model of osteoporosis [J]. Guangxi Medical Journal, 2014, 36(11): 1593-1595.
- [10] 欧阳刚, 唐曦, 莫非, 等. 针刺干预对去卵巢大鼠血清胃饥饿素和骨密度的影响[J]. 针刺研究, 2013, 38(4): 277-280.
- Ouyang G, Tang X, Mo F, et al. Effects of acupuncture on serum ghrelin and bone mineral density in ovariectomized rats [J]. Acupuncture Research, 2013, 38(4): 277-280.
- [11] 张雪竹, 彭应梅, 于建春, 等. 针刺肾俞穴对 SAMP6 小鼠股骨生物力学性能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(6): 518-521.
- Zhang XZ, Peng YM, Yu JC, et al. Effect of acupuncture on the biomechanical properties of femur in SAMP6 mice [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2008, 28(6): 518-521.
- [12] 鲍圣涌, 张少君, 林婉娟, 等. 电针对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢生化指标及肿瘤坏死因子- α 和骨胶原代谢生化指标的影响[J]. 中国针灸, 2012, 32(12): 1108-1112.
- Bao SY, Zhang SJ, Lin WJ, et al. Effect of electroacupuncture on the biochemical indices of bone and bone collagen metabolism and TNF- α in osteoporosis model rats without ovaries [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2012, 32(12): 1108-1112.
- [13] White A, Cummings M, Filshie J. An Introduction to Western Medical Acupuncture [J]. Churchill Livingstone Elsevier, 2008, 9(23): 117-126.
- [14] 金肖青, 詹红生, 石巧娟, 等. 不同频率电针对切卵大鼠骨质疏松骨空间结构的影响[J]. 中华中医药学刊, 2010, 20(4): 817-819.
- Jing XQ, Zhan HS, Shi QJ, et al. Effects of electroacupuncture at different frequencies on the spatial structure of cancellous bone [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2010, 20(4): 817-819.
- [15] Standish LJ, Kozak L, Congdon S, et al. Acupuncture is underutilized in hospice and palliative medicine [J]. Am J Hosp Palliat Care, 2008, 25(4): 298-308.
- [16] Sagar SM. Acupuncture as an evidence-based option for symptom control in cancer patients [J]. Curr Treat Options Oncol, 2008, 9(23): 117-126.
- [17] 赵英侠, 秦逸人, 王静. 针刺后血清对培养成骨细胞与破骨细胞生长及其功能的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2009, 18(4): 498-500.
- Zhao YX, Qing YR, Wang J. Effects of acupuncture on the growth and function of cultured osteoblasts and osteoclasts [J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2009, 18(4): 498-500.
- [18] 肖丽, 谢菊英, 李晓玲, 等. 电针治疗对绝经后疏松症大鼠肿瘤坏死因子基因表达的影响[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(6): 98-99.
- Xiao L, Xie JY, Li XL, et al. Effect of electroacupuncture on the expression of tumor necrosis factor gene in postmenopausal osteoporosis [J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 28(6): 98-99.
- [19] 刘存志, 张雪竹, 于建春, 等. 针刺对快速老化骨质疏松模型小鼠 SAMP6 骨生物力学的影响[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(3): 137-139.
- Liu CZ, Zhang XZ, Yu JC, et al. Effect of acupuncture on biomechanical properties of bone in senescent accelerated mouse [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and

Technology, 2006,13(3):137-139.

- [20] 欧阳钢,王东岩,徐小梅. 针灸配合药物治疗男性骨质疏松症疗效观察[J]. 中国针灸,2011,31(1):23-25.

Ouyang G, Wang DY, Xu XM. Clinical observation on acupuncture for treatment of male osteoporosis [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2011,31(1):23-25.

- [21] 吴启跃,马雯,余正红,等. 骨质疏松两种造模方法的对照研

究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2007,15(8):17-19.

Wu QY, Ma W, Yu ZH, et al. A comparative study of two methods for modeling osteoporosis [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Traumatology & Orthopedics, 2007,15(8):17-19.

(收稿日期:2016-10-26,修回日期:2016-11-22)

(上接第 573 页)

显示颌骨来源的 BMSCs 能够形成不均质的矿化物沉积和纤维样组织穿通,再生类牙周膜/牙骨质复合体样结构的能力较股骨来源的 BMSCs 相对较强,这证实了 BMSCs 分化潜能的区域性,颌骨来源的 BMSCs 倾向于向颌面部组织细胞分化,更有利于牙源性组织工程的应用。在矿物质的诱导下骨质疏松状态的股骨来源的 BMSCs 的成骨活性有所降低,移植 6w 未见显著的矿物质沉积,仅有大量的无序的成纤维组织的再生,但在同等骨条件下其颌骨来源的 BMSCs 依然表现出一定的成骨分化能力;细胞实验也提示健康和去卵巢骨质疏松大鼠的骨髓间充质干细胞培养未见形态学的显著差异;但 BMSCs 的增殖实验发现接种初期去卵巢骨质疏松大鼠与健康状态下的细胞增殖速度无显著性差异,随培养时间的延长,各类 BMSCs 的增殖活性均出现显著差异性,骨质疏松状态下干细胞的活性显著弱于健康组,但骨质疏松状态下颌骨来源的干细胞后期的增殖能力虽然较健康组有所减弱,但明显强于股骨来源的 BMSCs,本组结果部分印证了上述研究,但这是否提示骨质疏松状态下颌骨来源的 BMSCs 的生物学活性受影响的程度相对较小,尚待进一步探讨。

【参 考 文 献】

- [1] Hildebolt CF, Pilgram TK, Dotson M, et al. Estrogen and/or calcium plus vitamin D increase mandibular bone mass. Journal of Periodontology, 2004,75(6):811-816.
- [2] Mudda JA, Bajaj M. Stem cell therapy: a challenge to periodontist. Indian J Dent Res, 2011,22(1):132-139.
- [3] Huang C, Zhang GF, Han J, et al. Mechanism of age-related changes of bone marrow mesenchymal stem cells in senile osteoporosis. J Biol Regul Homeost Agents, 2016,30(2):565-

569.

- [4] Khan AA, Morrison A, Hanley DA, et al. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. J Bone Miner Res, 2015,30(1):3-23.
- [5] Jonasson G, Rythén M. Alveolar bone loss in osteoporosis: a loaded and cellular affair? Clin Cosmet Investig Dent, 2016,13(8):95-103.
- [6] Garcia-Gomez I, Elvira G, Zapata AG, et al. Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications. Expert Opin Biol Ther, 2010,10(10):1453-1468.
- [7] Rossini M, Gatti D, Adami S. Involvement of WNT/ beta-catenin signaling in the treatment of osteoporosis. Calcif Tissue Int, 2013,93(2):121-132.
- [8] Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. Endocr Rev, 2008,29(5):535-559.
- [9] Ge C, Yang Q, Zhao G, et al. Interactions between extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 MAPkinase pathways in the control of RUNX2 phosphorylation and transcriptional activity. Bone Miner Res, 2012,27(3):538-551.
- [10] Woodbury D, Reynolds K, Black IB. Adult bone marrow stromal stem cells express germLine, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. J Neurosci Res, 2002,69(6):908-917.
- [11] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature, 2002,418(6893):41-49.
- [12] Yang J, Yamato M, Shimizu T, et al. Reconstruction of functional tissues with cell sheet engineering. Biomaterials, 2007,28(34):5033-5043.
- [13] Hsu PY, Tsai MT, Wang SP, et al. Cortical Bone Morphological and Trabecular Bone Microarchitectural Changes in the Mandible and Femoral Neck of Ovariectomized Rats. PLoS One, 2016,11(4):e0154367.

(收稿日期:2016-08-04,修回日期:2016-08-29)