

· 论著 ·

在有氧运动的基础上服用补肾壮骨颗粒对改善去势大鼠骨质疏松症病情的协同效果

刘蓉¹ 商宇红^{2*}

1. 青海省西宁市第一人民医院, 青海 西宁 810000

2. 大连医科大学附属第一医院妇科, 辽宁 大连 116011

中图分类号: R580 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 06-0734-06

摘要: 目的 探讨有氧运动与补肾壮骨颗粒综合治疗绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)的疗效及机理, 为有效防治 PMOP 提供理论依据。方法 采用去势大鼠模型, 分为假手术组($n=10$)、模型组($n=10$)、阳性组($n=10$)、有氧运动组($n=10$)、补肾壮骨颗粒组($n=10$)和联合组($n=10$), 去势后 2 w 运用有氧运动、补肾壮骨颗粒以及二者联合等干预方法防治大鼠发生的骨质疏松。连续 12 w 检测各组大鼠骨组织生物力学, 同时采用实时荧光定量 PCR 技术检测骨代谢相关指标表达。结果 与假手术组相比, 模型组大鼠的左股骨最大负荷、左胫骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著降低($P<0.05$)。与模型组相比, 阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒组和联合组的左股骨最大负荷、左胫骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著提高($P<0.05$)。荧光定量 PCR 结果显示, 与模型组相比, 阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒组和联合组的 RANKL 和 OPG 均显著提高($P<0.05$), 而 RANKL/OPG 显著降低($P<0.05$)。与阳性组相比, 联合干预组的 RANKL 和 OPG 均显著提高($P<0.05$), 而 RANKL/OPG 显著降低($P<0.05$)。结论 补肾壮骨颗粒和运动的综合性治疗策略能通过降低骨组织中 OPG/RANKL 比值, 进而抑制破骨细胞的活性来改善去势大鼠骨质疏松症病情, 其疗效要优于单纯运动及补肾壮骨颗粒。

关键词: 补肾壮骨颗粒; 有氧运动; 绝经后骨质疏松症; 协同效果

The synergistic effect of aerobic exercise combined with the nourishing kidney and strengthening bone granule on rats with emasculation-induced osteoporosis

LIU Rong¹, SHANG Yuhong^{2*}

1. Department of Gynecology, the First People's Hospital of Xining, Xining, Qinghai 810000, China

2. The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116011, China

Corresponding author: SHANG Yuhong, Email: shangyuhong@263.net

Abstract: **Objective** To determine the efficacy and the mechanism of aerobic exercise combined with the nourishing kidney and strengthening bone granule for the treatment of postmenopausal osteoporosis (PMOP), in order to provide a theoretical basis for improving the prevention and treatment of PMOP. **Methods** A total of 60 female rats were randomly divided into sham operation group, model group, positive control group, nourishing kidney and strengthening bone granule group, exercise group, and combined treatment group. Each group contained 10 rats. The duration of drug administration was 12 weeks. The changes of bone histomorphometry of rats in different groups were observed. The expression of bone metabolism-related protein was detected using real-time PCR. **Results** Compared with the sham group, the maximal loading of the left femur, the left tibia, and the structure strength of the fourth lumbar vertebra in the model group significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the maximal loading of the left femur, the left tibia, and the structure strength of the fourth lumbar vertebra in the positive group, the aerobic exercise group, the nourishing kidney and strengthening bone granule group, and the combination group significantly increased ($P<0.05$). Compared with the model group, RANKL and OPG in the positive group, the aerobic exercise group, the nourishing kidney and strengthening bone granule group, and the combination group significantly increased ($P<0.05$), while the RANKL/OPG significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the positive group, RANKL and OPG in the combined intervention group significantly increased ($P<0.05$), and RANKL/OPG significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** The

*通讯作者: 商宇红, Email: shangyuhong@263.net

combination of physical exercise and the nourishing kidney and strengthening bone granule is more effective for the treatment of postmenopausal osteoporosis than exercise or the use of nourishing kidney and strengthening bone granule alone. The mechanism is through the decrease of OPG/RANKL, resulting in the inhibition of osteoclast activity.

Key words: Nourishing kidney and strengthening bone granule; Aerobic exercise; Postmenopausal osteoporosis; Synergistic effect

骨质疏松 (osteoporosis, OP) 是一类由于骨质吸收增强导致单位体积内骨组织量减少, 继而出现以骨微结构破坏为特点的代谢性骨病变^[1,2]。目前, OP 已跃居世界常见疾病的第 7 位, 由此引起的医疗和社会负担已成为全球公共卫生关注的热点问题。其中, 绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 在原发性 OP 中占有很大比例, 其发生与雌激素缺乏密切相关^[3,4]。目前采用补充钙剂、维生素 D₃、雌激素替代治疗和选择性雌激素受体调节剂等药物治疗 PMOP 疗效并不理想, 普遍存在药物价格昂贵、钙吸收较差和骨脆性增加等弊端。因此, 进一步探索抗骨吸收药物的潜在靶标对于治疗 PMOP 具有巨大潜力, 其中骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)/核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 系统作为调节破骨细胞分化成熟和生物活性的最终因子, 更是极具开发前景^[5]。

PMOP 在我国中医学中属“骨痿”范畴, 中医认为其发生与肾精不足有关, 如《内经》曰“肾主骨”, 妇女绝精后肾气渐衰, 久之肾阴亏虚, 骨髓化生乏源, 骨失所养, 故出现骨脆易折等症状^[6]。因此, 补肾填精壮骨是治疗 PMOP 的根本大法。补肾壮骨颗粒是中医治疗 PMOP 的经验方, 具有较好的疗效。基于此, 本研究利用去卵巢大鼠模拟 PMOP 模型, 观察在适当规律有氧运动的基础上服用补肾壮骨颗粒对改善骨质疏松症病情的效果, 同时采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术检测 OPG/RANKL 是否发生变化, 为防治 PMOP 开辟新的选择方向。

1 材料和方法

1.1 实验动物、药物、试剂及仪器

健康 SD 雌性大鼠购自本地动物实验中心, 体质量 (200 ± 20) g。补肾壮骨颗粒由青海省西宁市第一人民医院提供 (主要成分: 淫羊藿、鹿角胶、龟板胶、生地、骨碎补、肉桂、山药、茯苓、三棱、水蛭), 盐酸雷洛昔芬片购于江苏恒瑞医药股份有限公司, 注射用青霉素钠购于开封豫港制药有限公司。TRIzol[®] 试剂、cDNA 第一链合成试剂盒和 micro RNA SYBR Green 实时荧光定量试剂盒购于北京全

是金生物技术有限公司, 三氯甲烷、异丙醇、无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司, DEPC 试剂购自 Sigma 公司, Rotor-Gene 3000 Real-time PCR 仪器购自 QIAGEN 公司, 5417R 小型台式高速冷冻离心机购自 Eppendorf 公司, 小动物骨骼强度仪购自北京冀诺泰科技发展有限公司。

1.2 动物模型建立和分组

60 只大鼠中选出 10 只作为假手术组, 其余大鼠施行去势手术, 具体操作如下^[7]: 大鼠经常规腹腔注射 2% 戊巴比妥钠麻醉后, 仰卧固定, 在无菌操作下以第 13 肋远端脊柱旁纵行切开, 逐层分离, 找到卵巢, 将卵巢完整摘除 (确保无残留), 然后逐层缝合。伤口用碘酒外擦, 并于术后第 2d 起每只大鼠肌注青霉素, 连续 3d, 3 万 U/d, 以预防术后感染。假手术组除了保留卵巢并且只对包裹卵巢的脂肪进行一小块切除外, 其余操作与去势手术组相同。正常喂养 2 w 后, 施行去势手术的大鼠随机分为模型组 (n = 10)、阳性组 (n = 10)、有氧运动组 (n = 10)、补肾壮骨颗粒组 (n = 10) 和联合组 (n = 10)。

1.3 给药方法

分组后, 各组大鼠每天上午灌胃给药, 每日 1 次, 连续给药 12w, 具体给药方案为: ①阳性组以剂量为 6.25 mg/kg 灌胃雷洛昔芬片 (相当于临床等效剂量); ②补肾壮骨颗粒组以剂量为 1.66 g/kg 灌胃补肾壮骨颗粒 (相当于临床等效剂量); ③有氧运动组每日灌胃等量蒸馏水, 并参考文献方案^[8]和结合预实验的实际情况, 采用递增负荷进行跑步训练。设计的运动负荷为适应性跑步 3 d, 跑台倾斜度为 0°, 起始运动时间由 20 min/d 开始逐渐递增 10 min, 一直增加到 60 min/d, 运动强度为 12 m/min。正式跑步每周训练 6 d, 跑台倾斜度调整为 5°, 运动强度为 18 m/min, 运动时间为 60 min, 持续运动 12 w; ④联合组每日灌胃与补肾壮骨颗粒组相同剂量的药物并进行与有氧运动组相同运动量的跑步训练; ⑤假手术组、模型组每日灌胃等量蒸馏水。每周称量 1 次各组大鼠体重, 并根据体重结果调整给药剂量。

1.4 末次给药后动物处理

最后一次大鼠进行各种干预后, 将所有大鼠断头处死, 迅速取下大鼠两侧股骨, 剥除其附着在骨上

的肌肉和软组织。左侧用生理盐水浸泡的湿纱布包裹置于 -20℃ 保存,用于骨组织生物力学检测;右侧用生理盐水冲洗骨髓,用锡箔纸包裹后放入液氮罐过夜,行 qRT-PCR 检测。

1.5 骨组织生物力学检测

从 -20℃ 冰箱中取出股骨,室温自然解冻,将修剪后股骨组织块放置于 YLS-16 小动物骨骼强度测定仪的模具之间,参照说明测定骨组织最大负荷、骨结构强度。

1.6 Real-time PCR

①RNA 的提取:称取大鼠右侧股骨 200 mg,敲碎并研磨成粉末,按照 TRIzol®试剂(Invitrogen life technologies)说明书的步骤,加入 3 倍体积的 TRIzol 试剂与粉末混合,置于冰沙中,依法提取出标本中的总 RNA,通过紫外分光光度计法测定总 RNA 的纯度和浓度,以及凝胶电泳法鉴定 RNA 的完整性。②逆转录和实时荧光定量 PCR(qPCR):逆转录反应需参照试剂盒说明书进行,反应条件为:16℃,30 min;42℃,42 min;85℃,5 min。结束后立即 1 μL cDNA 产物进行 PCR 反应。目的基因的引物设计是根据 GeneBank 提供的 mRNA 序列由上海生工合成,见表 1 所示。PCR 反应程序为:95℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 14 s,61℃ 退火延伸 58 s,共 42 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min。反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线,进行 PCR 定量时制作标准曲线等。为减小因 RNA 浓度定量误差和 RNA 逆转录效率误差等的影响,将三次独立实验后所得数据用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式进行分析^[7],计算公式为: ΔCt 值 = 目的基因 Ct 值 - 内参基因 Ct 值, $\Delta\Delta Ct$ = ΔCt 实验 - ΔCt 对照。用计算得到的值判定标本中目的 miRNA 的表达量。

1.7 统计学处理

应用 spss13.0 软件对数据进行分析,计量资料

采用 $\bar{x} \pm s$ 的方式表达,组间均数比较采用单因素方差分析,多组间的两两比较采用 LSD-t 分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

表 1 目的基因的引物设计

Table 1 Primer design of the target genes

基因名称	引物名称	序列(5'→3')
β-actin	F primer	CCGTGTCTCGTGCAGCTCCA
	R primer	GCCTCGACCGTATCTGACTCT
RANKL	F primer	ATCCACCTACATCTTGTCCG
	R primer	CTTTTGAACGTCCCGAACAC
OPG	F primer	CTTCGACGCTCGGTGCGAGT
	R primer	TTCACATTATCACGGGAGAG

2 结果

2.1 大鼠一般情况

在整个实验过程中,各组大鼠体重均有所增加,实验结束时,各组体重为:假手术组 (418.32 ± 36.84) g、模型组 (436.73 ± 29.65) g、阳性组 (426.15 ± 32.40) g、补肾壮骨颗粒组 (422.51 ± 21.04) g、有氧运动组 (412.37 ± 18.62) g、联合干预组 (435.09 ± 31.43) g,各组大鼠平均体重无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.2 大鼠股骨生物力学指标变化

与假手术组相比,模型组大鼠的左股骨最大负荷、左胫骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著降低 ($P < 0.05$),表明大鼠去势骨质疏松模型建造成功。与模型组相比,阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒组和联合组的左股骨最大负荷、左胫骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著提高 ($P < 0.05$)。与阳性组相比,联合干预组的左股骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著提高 ($P < 0.05$)。与有氧运动组相比,阳性组、补肾壮骨颗粒组和联合干预组的左股骨最大负荷、左胫骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著提高 ($P < 0.05$)。见表 2 所示。

表 2 各组大鼠股骨生物力学指标变化情况 (kg, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 The changes of biomechanical indexes of the femur in each group (kg, $\bar{x} \pm s$)

组别	左股骨最大负荷	左胫骨最大负荷	第四腰椎结构强度
假手术组	10.502 ± 1.684	6.076 ± 1.752	20.314 ± 4.206
模型组	6.095 ± 1.219 *	5.042 ± 0.972 *	14.623 ± 3.685 *
阳性组	8.421 ± 1.530 * [#] ^Δ	6.005 ± 1.250 * [#] ^Δ	16.197 ± 4.891 * [#] ^Δ
补肾壮骨颗粒组	8.036 ± 1.413 * [#] ^Δ	5.791 ± 1.179 * [#] ^Δ	16.381 ± 4.903 * [#] ^Δ
有氧运动组	7.512 ± 1.384 * [#]	5.443 ± 1.090 * [#]	15.883 ± 3.981 * [#]
联合干预组	9.078 ± 1.764 * [#] ^Δ	6.107 ± 1.427 * [#] ^Δ	17.134 ± 5.362 * [#] ^Δ

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, [#] $P < 0.05$;与阳性组比较, ^Δ $P < 0.05$;与有氧运动组比较, ^Δ $P < 0.05$

Note: Compared with the sham-operated group, * $P < 0.05$; compared with the model group, [#] $P < 0.05$ compared with the positive group; compared with the aerobic exercise group, ^Δ $P < 0.05$

2.3 PCR 产物鉴定

各产物的熔解曲线仅有 1 个峰,说明为产物较

纯,见图 1 所示。

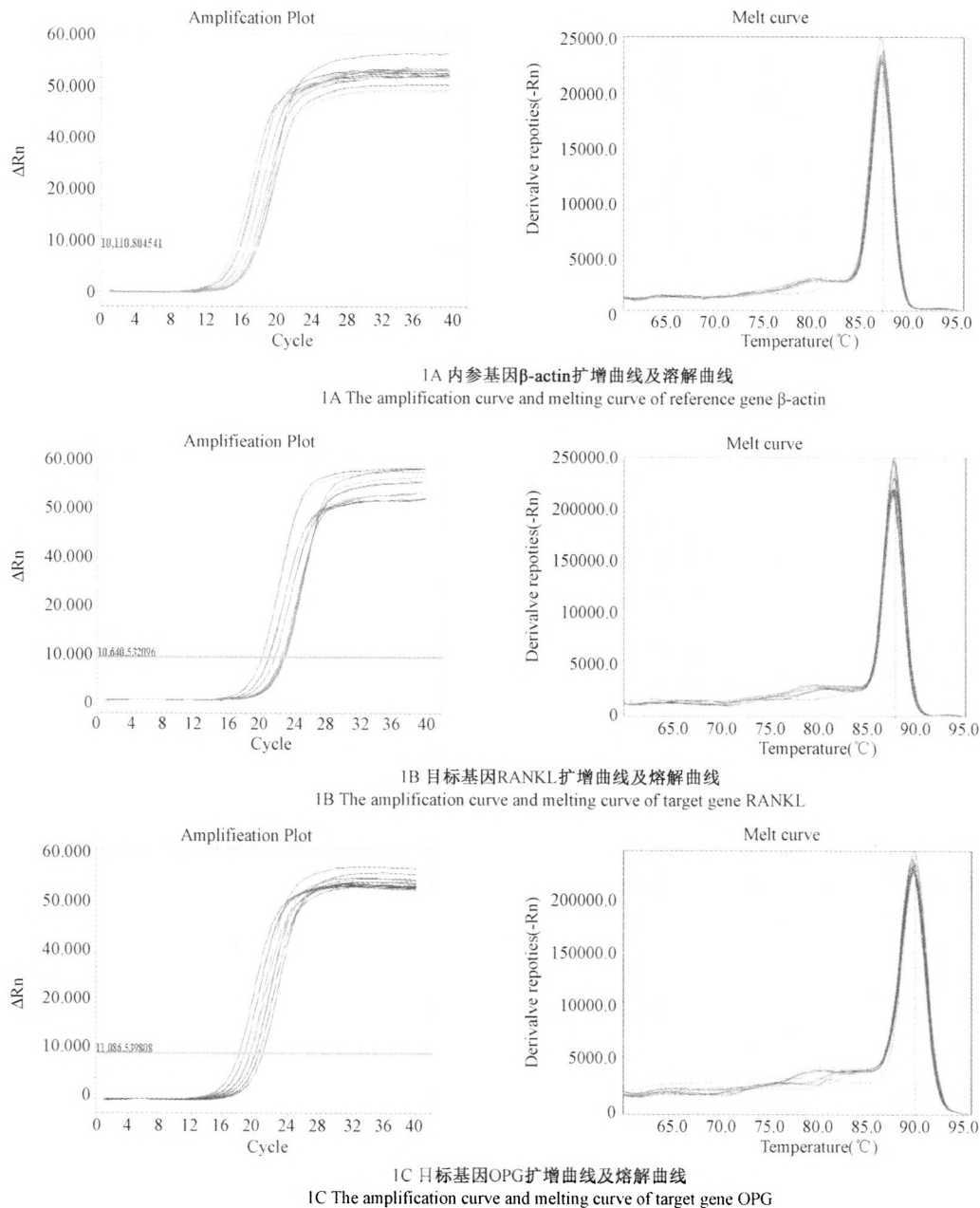


图 1 qRT-PCR 扩增曲线及溶解曲线
Fig.1 The amplification curve and melting curve of genes

2.4 骨代谢相关基因表达情况

荧光定量 PCR 对骨代谢相关基因 RANKL、OPG mRNA 表达进行定量分析,结果显示,与假手术组相比,模型组大鼠的 RANKL 和 RANKL/OPG 均显著提高($P < 0.05$),而 OPG 则显著降低($P < 0.05$)。与模型组相比,阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒

组和联合组的 RANKL 和 OPG 均显著提高($P < 0.05$),而 RANKL/OPG 显著降低($P < 0.05$)。与阳性组相比,联合干预组的 RANKL 和 OPG 均显著提高($P < 0.05$),而 RANKL/OPG 显著降低($P < 0.05$)。见表 3 所示。

表 3 各组骨代谢相关基因表达情况

Table 3 The expression of bone metabolism related genes in each group

组别	RANKL	OPG	RANKL/OPG
假手术组	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组	1.941 ± 0.022 *	0.762 ± 0.016 *	2.557 ± 0.037 *
阳性组	1.446 ± 0.011 **	0.923 ± 0.034 #	1.542 ± 0.023 **
补肾壮骨颗粒组	1.518 ± 0.014 **	0.913 ± 0.025 #	1.673 ± 0.018 **
有氧运动组	1.634 ± 0.018 **	1.029 ± 0.012 #	1.585 ± 0.015 **
联合干预组	1.339 ± 0.013 **Δ	1.076 ± 0.018 #Δ	1.276 ± 0.012 **Δ

注:与假手术组比较,**P* < 0.05;与模型组比较,#*P* < 0.05;与阳性组比较,Δ*P* < 0.05

Note: Compared with the sham-operated group, **P* < 0.05; compared with the model group, #*P* < 0.05 compared with the positive group; compared with the aerobic exercise group, Δ*P* < 0.05

3 讨论

PMOP 作为一种全球性的慢性疾病正悄无声息在中老年女性人群中蔓延,被称为中老年人的隐性杀手,调查显示 50 岁及以上女性 OP 的患病率约为男性的 2.5 ~ 3.5 倍,尤其绝经后激素水平急剧下降,PMOP 发病率显著升高,并且胸腰椎、髌骨、四肢等骨折患病率约为男性的 1.5 倍,骨折的发生极大降低中老年人的生活质量,并且长期卧床可能诱发其他疾病给患者生命安全造成严重威胁^[8,9]。目前,PMOP 的治疗策略与其他原因所致 OP 大致相同,然而采用补充雌激素、骨吸收抑制剂、钙剂和维生素 D₃ 等针对发病的病理环节的传统治疗策略,虽然具有一定的治疗效果,但并不能满足大多数患者^[10]。因此,进一步筛选开发出安全高效的抗 PMOP 新药物是现代医学的重要课题。

传统中药治疗 PMOP 着重调动内因、辨证论治,具有标本兼治、整体观念等优点,最终达到纠正机体激素失衡和负钙平衡的功效。中医认为,肾为先天之本,主藏精,其盛衰与骨髓的生长发育和强壮衰弱密切相关^[11]。绝经后妇女血海无盈,骨髓生源不足,不能濡养骨骼,发为“骨痿”。正如《素问·痿论篇第四十四》曰:“肾主身之骨髓,腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”。因此,补肾填精壮骨是中医治疗 PMOP 的根本大法。补肾壮骨颗粒是根据邓伟民教授创意的经验方采用现代提取工艺手段分别从淫羊藿、鹿角胶、龟板胶、生地、骨碎补、肉桂、山药、茯苓、三棱、水蛭等 10 味中药提取有效成分组合构成,方中淫羊藿、鹿角胶、龟板胶温肾壮阳、强筋骨、益精养血、温通经脉;肉桂、生地、骨碎补散寒止痛、强骨温筋、益阴生津;茯苓、山药健脾和胃益肾;三棱、水蛭专治血瘀经闭、血脉不调。诸药合用共奏补肾壮骨、活血祛瘀功效,由于其疗效显著,目前临床上已被广

泛应用于 OP 治疗,如陈东等^[12]临床观察证实补肾壮骨方长期服用能明显提高及稳定老年性骨质疏松症患者骨矿含量、骨密度水平,降低新骨折率;又如邓伟民等^[13]通过 5 年观察发现补肾壮骨冲剂长期服用能明显提高及稳定老年性骨质疏松症患者骨矿含量、骨密度水平,降低新骨折率。

适当的规律运动是目前治疗骨质疏松症的重要方法,对于绝经后骨质疏松症而言,运动所产生的力学刺激能引起细胞骨架形态的改变进而活化或抑制细胞内的生物信号改变,可以发挥等同于补充雌激素的作用,有助于提高骨密度,减少钙质流失^[14]。基于此,本研究中我们观察了在有氧运动的基础上服用补肾壮骨颗粒对改善去势大鼠骨质疏松症病情的协同效果,结果显示联合干预组的左股骨最大负荷和第四腰椎结构强度均显著高于阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒组,提示结合补肾壮骨颗粒和有氧运动的综合性治疗策略对于改善去势大鼠骨质疏松症病情更明显,二者联合应用具有明显的协同作用,可能由于二者作用机制不完全相同,将二者联合治疗 PMOP 具有互补功效。

正常情况下,骨吸收和骨形成之间维持动态平衡,其平衡打破与众多骨疾病发病密切相关。其中,由成骨细胞分泌的 OPG、RANKL 是调节破骨细胞分化成熟和生物活性的最终调节因子,在维持骨吸收和骨形成之间平衡中发挥重要调节作用。研究发现,敲除小鼠 OPG 基因可使小鼠出现严重的骨质疏松,而敲除 RANKL 基因可使骨密度提高^[15]。因此,OPG/RANKL 比值常被用来评价破骨细胞的活性。本研究采用实时荧光定量 PCR 技术检测有氧运动联合补肾壮骨颗粒的治疗策略是否对 OPG、RANKL 产生影响,结果显示联合干预组的 RANKL/OPG 显著低于阳性组、有氧运动组、补肾壮骨颗粒组,提示二者联合干预可发挥明显的协同作用可能与抑制破

骨细胞的活性作用有关,从而有效改善去势大鼠骨质疏松症状,促进骨形成。然而,关于有氧运动联合补肾壮骨颗粒如何调节 OPG、RANKL 的表达水平仍有待继续深入研究。

本实验结果表明,补肾壮骨颗粒结合有氧运动的综合性治疗策略对于改善去势大鼠骨质疏松病情更明显,二者联合应用具有明显的协同作用,可能主要通过降低骨组织中 OPG/RANKL 比值,从而抑制破骨细胞的活性实现。本研究为临床上治疗 PMOP 选择治疗策略提供了一定理论依据。

【参 考 文 献】

- [1] Golob AL, Laya MB. Osteoporosis: screening, prevention, and management. *Med Clin North Am*, 2015, 99(3):587-606.
- [2] Reid IR. Short-term and long-term effects of osteoporosis therapies. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(7):418-423.
- [3] Wu Q, Zhong ZM, Pan Y, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in postmenopausal osteoporosis. *Med Sci Monit*, 2015, 21(5):2428-2432.
- [4] Ishtiaq S, Fogelman I, Hampson G. Treatment of postmenopausal osteoporosis: beyond bisphosphonates. *J Endocrinol Invest*, 2015, 38(1):13-29.
- [5] Liu W, Zhang X. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin system in bone and other tissues (Review). *Mol Med Rep*, 2015, 11(5):3212-3218.
- [6] 梁文娜, 李西海, 李灿东. 绝经后骨质疏松的核心病机——骨痿. *中国老年学杂志*, 2015, 7(18):5333-5335.
Liang WN, Li XH, Li CD. The core pathogenesis of postmenopausal osteoporosis bone atrophy. *Chinese Journal of Gerontology*. 2015, 7(18):5333-5335.
- [7] 郑小花, 黄惠娟, 李宝恒, 等. 左归丸联合橄榄油对大鼠去势后骨质疏松症的选择性作用. *中国妇幼保健*, 2014, 29(5):798-801.
Zhen XH, Huang HJ, Li BH, et al. Effect of Zuogui pill combined with olive oil on bone mineral density of ovariectomized rats. *Metemal & Child Health Care of China*, 2014, 29(5):798-801.
- [8] Palacios S, Mejia A. Antiresorptives and anabolic therapy in sequence or combination for postmenopausal osteoporosis. *Climacteric*, 2015, 18(4):1-3.
- [9] Palacios S, Kalouche-Khalil L, Rizzoli R, et al. Treatment with denosumab reduces secondary fracture risk in women with postmenopausal osteoporosis. *Climacteric*, 2015, 18(6):1-23.
- [10] Hilgsmann M, Evers SM, Ben SW, et al. A systematic review of cost-effectiveness analyses of drugs for postmenopausal osteoporosis. *Pharmaco Economics*, 2015, 33(3):1-20.
- [11] Li CW, Liang B, Shi XL, et al. Opg/Rankl mRNA dynamic expression in the bone tissue of ovariectomized rats with osteoporosis. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(3):9215-9224.
- [12] 陈东, 马建新, 张秋林, 等. 补肾壮骨方治疗骨质疏松的效果观察. *中药药理与临床*, 2015, 7(2):163-164.
Chen D, Ma JX, Zhang QL, et al. Effect of Bushen Zhuanggu garnules on osteoporosis. *Chin J Pharmacology and Clinics*, 2015, 7(2):163-164.
- [13] 邓伟民, 邵玉, 张金玉, 等. 补肾壮骨冲剂治疗 310 例骨质疏松症患者 5 年观察. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(10):736-738.
Deng WM, Shao Y, Zhang JY, et al. Five year observation on the effects of Bushen Zhuanggu garnules on 310 osteoporosis patients. *Chin J Osteoporos*, 2007, 13(10):736-738.
- [14] Moreira LD, Oliveira ML, Lirani-Galvão AP, et al. Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2014, 58(5):514-522.
- [15] Govindan V, Franklin MA. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss. *Clin Interv Aging*, 2010, 5(19):345-354.

(收稿日期: 2016-08-29; 修回日期: 2016-11-16)