

生地黄汤对卵巢早衰大鼠骨代谢的干预作用

范妤^{1*} 郭东艳² 宋强³ 王晶² 程江雪²

1. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046

3. 陕西省核工业 215 医院, 陕西 咸阳 712000

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 09-1186-05

摘要: **目的** 研究生地黄汤对卵巢早衰大鼠骨代谢的影响。**方法** 48 只成年雌性 SD 大鼠, 随机分为空白组、模型组、阳性对照组、生地黄汤高、中、低剂量治疗组。除空白组外, 其余各组每日灌胃雷公藤多甙片 75 mg/kg, 连续造模 14 d。从第 15 d 起, 模型组灌胃生理盐水 2 mL/kg; 阳性对照组灌胃补佳乐 1 mg/kg; 高、中、低剂量治疗组灌胃生地黄汤 (12、6、3 g/kg), 每日 1 次, 连续给药 21 天。放射免疫法测定血清中雌激素 (E2)、孕酮 (P) 的含量; 比色法检测血清中钙、磷的含量; ELISA 法检测血清中碱性磷酸酶 (ALP)、骨碱性磷酸酶 (BALP)、1,25 二羟基维生素 D₃ (1,25(OH)₂D₃) 含量。**结果** 与模型组比较, 生地黄汤高、中剂量治疗组血清中 E2、P 水平升高 ($P < 0.05$); 生地黄汤高剂量组血清钙、磷的含量高于模型组 ($P < 0.05$); 生地黄汤各剂量组血清 ALP、BALP 含量均较模型组降低 ($P < 0.05$), 1,25(OH)₂D₃ 含量高于模型组 ($P < 0.01$)。**结论** 生地黄汤可以通过类雌激素样作用升高血清雌二醇水平, 改善早衰卵巢功能, 同时增强成骨细胞活性, 使骨形成大于骨吸收, 调节骨代谢平衡, 改善卵巢功能减退引起骨质疏松。

关键词: 生地黄汤; 卵巢早衰; 性激素; 骨质疏松

Effect of raw radix rehmanniae decoction on bone metabolism in rats with premature ovarian failure

FAN Yu^{1*}, GUO Dongyan², SONG Qiang³, WANG Jing², CHENG Jiangxue²

1. The Basic Medical College of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi Province Key Laboratory of Basic and New Herbal Medicament Research, Xianyang 712046, China

3. The 215 Hospital of Nuclear Industry in Shaanxi, Xianyang 712000, China

* Corresponding author: FAN Yu, Email: 806919125@qq.com

Abstract: Objective To investigate the protective effect of raw radix rehmanniae decoction (RRRD) on bone metabolism in rats with premature ovarian failure. **Methods** A total of 48 adult female SD rats were randomly divided into control group, model group, positive control group, and high, medium, or low dose RRRD group. Except in control group, rats in other groups received tripterygium glycosides for 14 d to set up model of premature ovarian failure. From the 15 d, rats in model group received 2 mL/kg of normal saline, rats in positive control group received 1 mg/kg of Bujiale, and rats in high, medium, or low dose RRRD group received 12, 6, or 3 g/kg of raw radix rehmanniae decoction, respectively, once a day for 21 days. The content of E2 and P was detected with radioimmunoassay. Serum calcium and phosphorus were determined with colorimetric method. Serum ALP, BALP, and 1,25(OH)₂D₃ were determined with ELISA. **Results** Compared with those in the model group, the serum levels of E2 and P in the high and middle dose treatment group of RRRD increased ($P < 0.05$). The serum contents of Ca²⁺ and phosphorus in the high dose group of RRRD were higher than those in the model group ($P < 0.05$). The contents of ALP and BALP in the RRRD groups were lower than those in the model group ($P < 0.05$). The content of 1,25(OH)₂D₃ in the SDHD group was higher than that in the model group ($P < 0.01$). **Conclusion** RRRD increases serum estradiol level and enhance osteoblast activity in premature ovarian function, improves bone formation over bone resorption, regulates bone metabolism balance, and relieves osteoporosis caused by ovarian dysfunction.

基金项目: 陕西省科技厅科技发展项目 (2018ZDXM-SF-002); 陕西省中管局项目 (ZYPT010)

* 通信作者: 范妤, Email: 806919125@qq.com

Key words: raw radix rehmanniae decoction; premature ovarian failure; sex hormones; osteoporosis

骨质疏松多见于绝经期后女性,卵巢功能减退后体内雌激素水平降低,导致破骨细胞活跃增强是其主要原因,骨吸收大于骨形成,骨转换增速,骨结构的动态平衡被破坏,骨量迅速丢失导致骨质疏松,表现为骨密度降低,骨微结构退化,骨量减少,骨脆性增加^[1]。目前临床治疗多选用雌激素替代疗法,口服戊酸雌二醇等药物补充雌激素的分泌不足,但长期服用存在子宫出血、乳腺癌及心血管系统疾病发生的风险。中医理论认为,肾主骨生髓,肾精亏虚,骨髓生化无源,骨失其养是骨质疏松症的主要病机,治疗上多采用温补肾阳,填精补髓,养血活血的治则,疗效显著^[2]。生地黄汤出自唐代孙思邈《千金方》,由生地黄、大黄两味药组成,具有滋阴补肾、化瘀止血功效。有研究报道,生地黄具有雌激素样作用,通过诱导激活雌激素受体发挥雌激素样活性^[3];大黄能够提升成年大鼠血清雌激素水平^[4-5]。但生地黄汤对由于卵巢早衰雌激素水平降低诱发骨质疏松的保护作用却鲜有报道。本实验通过建立雷公藤多苷诱导的卵巢早衰大鼠模型,研究生地黄汤对卵巢早衰大鼠骨代谢的影响,为扩大生地黄汤的临床应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8 W 龄雌性成年 SD 大鼠,体质量 250 ± 20 g,由西安交通大学实验动物中心提供,动物许可证号 SYXK-R(陕)2012-003。室温饲养,不禁食不禁水,适应性饲养 7 d 后用于实验。

1.2 实验药物及试剂

雷公藤多甙片购自湖南千金协力药业有限公司,批号 20131102;戊酸雌二醇(补佳乐)购自拜耳医药保健有限公司,批号 170A。

雌二醇(E2)、孕酮(P)放免试剂盒,购于北京北方生物技术研究所;钙测试盒、磷测试盒,购自南京建成生物工程研究所;大鼠碱性磷酸酶 ELISA 试剂盒、大鼠骨碱性磷酸酶 ELISA 试剂盒、大鼠 1,25(OH)₂D₃ ELISA 试剂盒,均购自上海酶科生物科技有限公司。

1.3 仪器

Centrifuge 5417R 台式冷冻高速离心机,德国艾本德公司;BIO-RAD Model680 酶标仪,北京伯乐生命科学发展有限公司;科研级光学显微镜,德国蔡司

公司。

1.4 生地黄汤的制备

按照处方比例称取生地黄 1 200 g,大黄 40 g,加 10 倍量 20% 乙醇浸渍提取 36 h,滤过,滤液减压浓缩至每毫升相当于原药材 2 g,即得。

1.5 研究方法

1.5.1 卵巢早衰大鼠模型的建立及分组:采用口服雷公藤多甙片建立成年雌性大鼠卵巢早衰模型^[6]。48 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后开始实验,随机分为 6 组,即:空白组、模型组、阳性对照组、生地黄汤高、中、低剂量组,每组 8 只。空白组大鼠正常饲养,其余各组每日灌胃给予雷公藤多甙片(75 mg/kg),连续造模 14 d。从第 15 d 起,模型组灌胃生理盐水(2 mL/kg);阳性对照组灌胃补佳乐(1 mg/kg);生地黄汤高、中、低剂量组灌胃(12、6、3 g/kg)。每日 1 次,连续给药 21 天。

1.5.2 取材:末次给药后禁食不禁水,16 h 后水合氯醛麻醉,腹主动脉采血,室温静置 2 h 后,4 ℃ 离心,分离血清, -20 ℃ 保存备用。

1.5.3 观察大鼠动情周期:自灌胃雷公藤多甙造模第 1 天起,每隔 2 天,均在早晨固定时间用棉签蘸取各组大鼠阴道脱落上皮,制做涂片,HE 染色后,观察动情周期变化,判断大鼠卵巢早衰模型制备情况。

1.5.4 血清性激素水平检测:采用放射免疫法测定血清中雌激素(E2)、孕酮(P)的含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5.5 血清钙(Ca)、磷(P)的检测:比色法检测血清中钙、磷的含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5.6 血清碱性磷酸酶(ALP)、骨碱性磷酸酶(BALP)、1,25 二羟基维生素 D₃(1,25(OH)₂D₃)的检测:ELISA 法检测血清中 ALP、BALP、1,25(OH)₂D₃ 含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5.7 统计学方法:采用 SPSS18.0 统计软件对数据进行处理,实验数据以“平均数 ± 标准差”($\bar{x} \pm s$)表示,各组之间均值比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为有显著统计学差异。

2 结果

2.1 对卵巢早衰大鼠动情周期的影响

空白组大鼠的动情周期较为规律,为 3 ~ 5 d,造模 14 d,与空白组比较,其余各组大鼠动情周期均不

同程度延长,约 6~8 d,且周期变化紊乱,表明卵巢受损,功能受到抑制。经生地黄汤灌胃治疗 21 d 后,各组大鼠动情周期缩短,为 4~6 d,各时期稳定并顺序出现。

2.2 对卵巢早衰大鼠血清性激素水平的影响

阳性对照组和生地黄汤治疗组均能升高卵巢早衰大鼠血清 E2,与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。阳性对照组和生地黄汤高剂量组能够促进大鼠血清中 P 水平升高,与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$),但生地黄汤中、低剂量组血清中 P 水平与模型组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 生地黄汤对卵巢早衰大鼠血清性激素水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of raw radix rehmanniae decoction on serum sex hormone levels in rats with premature ovarian failure ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	雌二醇 (pg/mL)	孕酮 (pg/mL)
空白组	8	15.77 ± 1.52	4.32 ± 0.49
模型组	8	6.07 ± 0.85 ^{##}	3.09 ± 0.52 ^{##}
阳性对照组	8	39.42 ± 3.08 ^{**}	3.87 ± 0.51 [*]
生地黄汤高剂量组	8	14.16 ± 2.38 ^{**}	3.69 ± 0.37 [*]
生地黄汤中剂量组	8	11.76 ± 1.07 ^{**}	3.67 ± 0.83
生地黄汤低剂量组	8	8.44 ± 1.39 ^{**}	3.46 ± 0.96

注:与空白组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

2.3 对血清钙、磷含量的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清钙、磷含量降低,统计学差异显著 ($P < 0.05$);与模型组对比,阳性对照组、生地黄汤高、中剂量治疗组,血清钙含量

升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,生地黄汤高剂量组血清磷含量升高 ($P < 0.05$),中、低剂量组差别均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 生地黄汤对卵巢早衰大鼠血清钙、磷含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of raw radix rehmanniae decoction on serum calcium and phosphorus in rats with premature ovarian failure ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清钙含量 (mmol/L)	血清磷含量 (mmol/L)
空白组	8	1.16 ± 0.21	2.27 ± 0.55
模型组	8	0.96 ± 0.11 [#]	1.98 ± 0.18 [*]
阳性对照组	8	1.10 ± 0.09 [*]	2.24 ± 0.27
生地黄汤高剂量组	8	1.05 ± 0.17 [*]	2.16 ± 0.57 [*]
生地黄汤中剂量组	8	1.12 ± 0.26 [*]	2.00 ± 0.31
生地黄汤低剂量组	8	0.86 ± 0.09	2.02 ± 0.44

注:与空白组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

2.4 对卵巢血清碱性磷酸酶 (ALP)、骨碱性磷酸酶 (BALP)、1,25 二羟基维生素 D₃ (1,25(OH)₂D₃) 含量的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清中 ALP、BALP 活力增强;与模型组比较,阳性对照组、生地黄汤高、中剂量治疗组 ALP、BALP 活力降低,差异显著,具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组比较,模型组大鼠血清中 1,25(OH)₂D₃ 含量降低,与模型组比较,阳性对照组和生地黄汤各剂量治疗组 1,25(OH)₂D₃ 含量显著升高 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 生地黄汤对卵巢早衰大鼠血清 ALP 活力、BALP 含量及 1,25(OH)₂D₃ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

Table 3 Effect of raw radix rehmanniae decoction on ALP, BALP, and 1,25(OH)₂D₃ content in serum with premature ovarian failure rats ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

组别	ALP 活力 (金氏单位/100 mL)	BALP 含量 (U/L)	1,25(OH) ₂ D ₃ 含量 (ng/mL)
空白组	4.88 ± 1.24	25.71 ± 4.85	6.50 ± 0.84
模型组	9.50 ± 1.68 ^{##}	34.62 ± 2.01 ^{**}	4.08 ± 0.71 ^{##}
阳性对照组	5.23 ± 1.69 ^{**}	20.18 ± 2.04 ^{##}	5.55 ± 0.94 ^{**}
生地黄高剂量组	5.76 ± 1.32 ^{**}	22.31 ± 5.16 ^{**}	5.40 ± 0.27 ^{**}
生地黄中剂量组	7.82 ± 1.24 [*]	25.65 ± 1.89 ^{**}	5.04 ± 0.36 ^{**}
生地黄低剂量组	8.54 ± 0.97	28.94 ± 4.52 [*]	5.18 ± 0.18 ^{**}

注:与空白组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

3 讨论

骨质疏松症 (Osteoporosis, OP) 是一种以骨量

降低及骨组织微结构破坏为特征,导致脆性增加的代谢性骨病^[7]。多种病因所致的卵巢早衰患者,卵巢功能过早衰竭导致合成分泌雌激素能力下降,

长期的低雌激素状态常常会增加骨质疏松症发生的风险。植物雌激素研究近年为人们所重视,植物雌激素是体内存在的一类甾体化合物,多以雌酮、雌二醇、雌三醇等形式存在,其中雌二醇生理功能最强。大量研究报道显示,植物雌激素作用温和,能够有效减轻女性绝经期症状,预防骨质疏松,同时降低出血、血栓、生殖系统肿瘤等常见并发症的发病率^[8-9]。本研究采用灌胃雷公藤多甙片建立成年雌性大鼠卵巢早衰模型,观察生地黄汤对卵巢早衰所致骨质疏松的治疗作用。

大鼠阴道上皮细胞形态及类型可随体内卵巢激素的周期性变化而改变,动态观察动情周期能够直接反映大鼠性腺功能,是检测卵巢功能状态的直接标志之一,灌胃雷公藤多甙片 14 d,模型大鼠均出现动情周期紊乱、延长,表明大鼠卵巢功能损伤,卵巢早衰模型建立成功,这与文献报道相一致^[6]。有文献显示,生地黄具有雌激素样作用,大黄能够升高成年大鼠血清雌激素水平^[4-5],本实验中,灌胃给予卵巢早衰大鼠补佳乐和生地黄汤治疗后,大鼠血清雌激素、孕激素水平均升高,生地黄汤高剂量治疗组大鼠孕激素水平与补佳乐组最为接近,显示生地黄汤能够提高体内雌激素、孕激素水平,发挥类雌激素样作用。实验中生地黄汤中、低治疗组大鼠血清孕激素含量有升高,但与模型组比较无统计学差异,可能与生地黄汤治疗时间较短、给药剂量较小有关。

骨质由有机成分和钙盐构成,其中有机成分由胶原纤维和多种粘连蛋白构成,约占骨干重的 35%;钙盐以钙、磷结合形成羟基磷酸盐的形式存在^[10],约占骨干重 65%。检测血液中钙、磷含量是反映骨代谢状态的重要依据。在实验中,卵巢早衰模型组大鼠血清钙、磷含量显著降低,表明骨质中羟基磷酸盐沉积减少,给予补佳乐和高剂量生地黄汤治疗后,大鼠血液中钙、磷含量均显著增加,表明生地黄汤可通过发挥类雌激素样作用,调节骨组织中钙的储存与释放,改善骨组织中钙、磷代谢,促进骨钙沉积。

ALP 是骨标记性蛋白之一,成骨细胞分化成熟时可分泌 ALP 增多,参与骨的矿化,ALP 活性高低可以特异性反映成骨细胞的分化程度;BALP 是成骨细胞分泌的细胞外酶,在多糖肌醇磷酸特异水解酶的作用下,BALP 被释放到外周血,通过水解磷酸盐和焦磷酸盐,促进释放的磷酸根与钙沉积在胶原骨架上,利于骨的矿化,同时也能够降低对骨盐形成的抑制作用,促进成骨过程,是骨形成标志物^[11-12]。

有研究显示,骨质疏松发生早期,BALP 含量即发生改变,且因此可将其作为骨质疏松早期诊断和疗效检测的重要指标之一^[13]。本研究显示,模型组大鼠血清中 ALP 和 BALP 均显著升高,表明卵巢早衰发生时,骨盐分解增加,形成被抑制,骨代谢紊乱,骨质疏松发生。经补佳乐和生地黄汤治疗后,血清中 ALP 和 BALP 活性下降,与血液中的钙离子相互作用,共同促进钙、磷在骨中的沉积,加速骨质合成过程。

1,25(OH)₂D₃ 是机体活力最强的维生素 D 代谢产物^[14],在骨代谢中发挥重要作用,其既能够增强成骨细胞活性,增加 ALP 的表达,促进骨的矿化和形成,也能够促进处于成熟后期成骨细胞分泌 I 型胶原蛋白,改善骨的质与量。因此血清中 ALP、1,25(OH)₂D₃ 的含量能够反映当前骨转化状态,可用于评价干预药物的疗效^[15-16]。本实验中,卵巢早衰模型大鼠灌胃生地黄汤治疗后,血清中 ALP 活力降低,1,25(OH)₂D₃ 含量升高,表明生地黄汤可增强卵巢早衰大鼠成骨细胞活性,促进血钙沉积于骨,同时减少骨钙的释放,改善骨质疏松状态。

综上所述,本研究显示生地黄汤具有类雌激素样作用,可以通过升高卵巢早衰大鼠血清雌二醇与孕激素水平,改善卵巢功能。在此基础上,生地黄汤通过调节 ALP、BALP 活力,增加 1,25(OH)₂D₃ 含量,增强骨组织中成骨细胞活性,促进血中游离钙、磷在骨质中沉积,使骨形成大于骨吸收,调节骨代谢平衡,改善由卵巢早衰引发的骨质疏松。但由于卵巢功能衰退引发的骨质疏松症机制复杂且尚不明确,本实验研究还可从对成骨细胞膜雌激素受体的表达的影响等方面探究生地黄汤的作用机制,并通过增加样本量,减小组内误差等方面对实验进行改进和优化,为生地黄汤防治绝经后骨质疏松提供新思路。

【参 考 文 献】

- [1] 骆瑶,陈兰英,官紫祎,等. 杜仲提取物对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢、骨密度及骨微结构的影响[J]. 中药材,2016,39(11):2624-2628.
- [2] 刘爽,张玉莲,毕聪聪,等. 补肾法中药对去卵巢大鼠骨质疏松骨代谢指标的影响[J]. 中国老年学杂志,2017,37(2):529-530.
- [3] 郑晓珂,刘朝妍,蒋贇,等. 怀地黄雌激素样活性筛选的实验研究[J]. 中国药理学杂志,2013,48(21):1831-1836.
- [4] 卢宁,张树峰,佟继铭,等. 大黄水提物对成年大鼠子宫及卵巢的影响[J]. 中国实验方剂杂志,2013,19(21):258-261.

- [5] 马淑月,张树峰,佟继铭,等. 大黄不同萃取物对大鼠子宫卵巢形态结构及血清中 P、T、E2 激素水平的影响[J]. 中药药理与临床,2017,33(3):91-94.
- [6] 郝娟,王春莲,王培嵩,等. 雷公藤多甙片致卵巢早衰大鼠动物模型的研究[J]. 中国妇幼保健,2012,27(12):1866-1870.
- [7] 薛志远,赵良功,师志强,等. 红芪和黄芪对去卵巢致大鼠骨质疏松防治作用的研究[J]. 现代中医研究与实践,2017,31(6):21-24.
- [8] 赵素霞,刘会丽,江红. 菟丝子黄酮通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路干预去卵巢大鼠骨代谢的机制研究[J]. 临床和实验医学杂志,2018,17(1):25-28.
- [9] 王东生,韩婧,康文博,等. 植物雌激素防治骨质疏松作用的机制进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(5):632-639.
- [10] 邹仲之,李继承. 组织学与胚胎学[M]. 北京:人民卫生出版,2008:44-47.
- [11] 朱刚,孙海斌,徐刚. 肉苁蓉醇提取物对去卵巢骨质疏松大鼠的治疗作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版),2018,44(1):68-72.
- [12] Zhao D, Wang J, Liu Y, et al. Expressions and clinical significance of serum bone Gla-protein, bone alkaline phosphatase and C-terminal telopeptide of type I collagen in bone metabolism of patients with osteoporosis [J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(1): 91-94.
- [13] 刘红,廖二元,伍贤平,等. 正常女性与年龄相关的骨转换生化指标和骨密度的关系[J]. 中华内科杂志,2004,43(11):805.
- [14] Bettica P, Bevilacqua M, Vago T, et al. High prevalence of hypovitaminosis D among free living postmenopausal women referred to an osteoporosis outpatient clinic in northern Italy for initial screening. Osteoporos Int, 1999, 9(3):226-229.
- [15] 李玲玲,刘蔚霞. 补肾疏肝方对卵巢早衰患者骨代谢及免疫功能的影响[J]. 新中医,2017,49(9):81-85.
- [16] 唐姬辉,刘学武,刘锐,等. 强骨生血口服液对去卵巢致骨质疏松大鼠的治疗作用及其机制[J]. 中草药,2017,48(23):4935-4910.

(收稿日期:2018-04-02;修回日期:2018-05-30)

(上接第 1174 页)

- [18] Muppala S, Xiao R, Krukovets I, et al. Thrombospondin-4 mediates TGF- β induced angiogenesis[J]. Oncogene, 2017, 36(36):5189-5198.
- [19] Jeschke A, Bonitz M, Simon M, et al. Deficiency of Thrombospondin-4 in mice does Not affect skeletal growth or bone mass acquisition, but causes a transient reduction of articular cartilage thickness[J]. PLoS One, 2015, 10(12):e0144272.
- [20] 李传洁,王俊成,刘娜,等. 雌激素缺乏对大鼠成骨细胞细胞形态及增殖的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志,2015,13(3):132-137.

(收稿日期:2018-03-12;修回日期:2018-06-25)