

· 论著 ·

葛根素对绝经后骨质疏松大鼠骨代谢、骨密度及骨生物力学的影响

岳海振* 蔡军 马新强 王英
聊城市中医医院骨科, 山东 聊城 252000

中图分类号: R-332;R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 01-0077-05

摘要: **目的** 研究葛根素对绝经后骨质疏松大鼠骨代谢、骨密度及骨生物力学的影响,探讨中医药防治绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)的作用机制。**方法** 48 只大鼠随机分为正常组、去卵巢组、骨化三醇组和葛根素组,12 只/组,构建绝经后骨质疏松大鼠动物模型并给予不同药物干预 8 周,正常组和去卵巢组:5 mL/kg 0.9% NaCl, ih, qd;葛根素组:葛根素 35 mg/kg, ih, qd;骨化三醇组:骨化三醇 0.25 μ g, po, qd,连续给药 6 周。检测各组大鼠血清骨代谢指标、骨组织(BMD、BMC)和骨生物力学指标,SP 法检测各组骨组织 ER 表达,HE 观察骨组织形态学变化。**结果** 去卵巢组大鼠血清骨代谢指标、腰椎和股骨 BMD 和 BMC、股骨骨生物力学指标较正常组显著降低($P<0.05$),骨化三醇组和葛根素组上述指标较去卵巢组均显著增高($P<0.05$),葛根素组上述指标较骨化三醇组均增高($P<0.05$)。去卵巢组大鼠骨组织 ER 蛋白表达较正常组显著降低($P<0.05$),骨化三醇组和葛根素组 ER 蛋白表达较去卵巢组均显著增高($P<0.05$),葛根素组 ER 蛋白表达较骨化三醇组均增高($P<0.05$)。去卵巢组骨皮质明显变薄,骨小梁稀疏纤细或断裂,排列紊乱,髓腔明显扩大,造血细胞明显减少。葛根素组骨皮质结构较完整,骨小梁数目增多,致密均匀粗壮,连接成网状,髓腔变小,造血细胞增多。**结论** 葛根素通过提高绝经后骨质疏松大鼠雌激素水平,调节骨代谢,提高骨量和骨密度,改善骨生物力学性能和骨形态学结构,起到抗 PMOP 的疗效和骨保护作用。

关键词: 葛根素;绝经后骨质疏松症;骨密度;骨生物力学;骨代谢

Effect of puerarin on bone metabolism, bone mineral density, and bone biomechanics in postmenopausal osteoporosis rats

YUE Haizhen*, CAI Jun, MA Xinqiang, WANG Yin

Department of Orthopedics, Liaocheng Traditional Chinese Medicine Hospital, Liaocheng 252000, Shandong, China

* Corresponding author; YUE Haizhen, Email: yuehz1985@163.com

Abstract: **Objective** To observe and study the effect of puerarin on bone metabolism, bone mineral density (BMD), and bone biomechanics in postmenopausal osteoporosis (PMOP) rats, and to explore the mechanism of Chinese herbal medicine in preventing and treatment of PMOP. **Methods** Forty-eight rats were randomly divided into the normal group, ovariectomized group, calcitriol group, and puerarin group, with 12 rats in each group. Rat model of postmenopausal osteoporosis was established and rats received different drugs for 8 weeks. Rats in the normal group and ovariectomized group received 5 mL/kg of 0.9% NaCl, ih, qd. Rats in puerarin group received 35 mg/kg of puerarin, ih, qd. Rats in calcitriol group received 0.25 μ g of calcitriol, po, qd. Drug administration was continued for 6 weeks. Serum bone metabolism indexes, BMD, BMC, and bone biomechanical indexes of rats were detected in each group. ER expression in bone tissue of each group was detected with SP method. morphological changes of bone tissue was observed with HE staining. **Results** The serum bone metabolism indexes, BMD and BMC of the lumbar spine and femur, and femoral bone biomechanical indexes of the ovariectomized rats were significantly lower than those of rats in the normal group ($P<0.05$). The above indexes in the ovariectomized group and puerarin group were significantly higher than those in the ovariectomized group ($P<0.05$). The above indexes in puerarin group were higher than in the calcitriol group ($P<0.05$). The expression of ER protein in bone tissue in ovariectomized group was significantly lower than that in the normal group ($P<0.05$). ER

* 通信作者: 岳海振, Email: yuehz1985@163.com

protein expression in the calcitriol group and puerarin group was significantly higher than that in the ovariectomized group ($P < 0.05$). The expression of ER protein in puerarin group was higher than in the calcitriol group ($P < 0.05$). In the ovariectomized group, the bone cortex was significantly thinner, the bone trabeculae were sparse, thin, or fractured, the arrangement was disordered, the medullary cavity was significantly enlarged, and the hematopoietic cells were significantly reduced. The structure of bone cortex in puerarin group was relatively complete, the number of bone trabeculae increased, the bone was dense, even, and strong, connected into a network, the medullary cavity became smaller, and the hematopoietic cells increased. **Conclusion** Puerarin improves the estrogen level of postmenopausal osteoporosis rats, regulates bone metabolism, improves bone mass and bone mineral density, improves bone biomechanical properties and bone morphological structure, and plays an anti-PMOP effect and bone protection role.

Key words: puerarin; postmenopausal osteoporosis; bone mineral density; bone biomechanics; bone metabolism

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是指绝经后妇女卵巢功能衰退, 雌激素分泌下降, 成骨细胞性骨形成减少, 破骨细胞功能性骨吸收增强, 骨吸收大于骨形成, 出现以骨量减少、骨强度降低、骨显微结构退变, 骨脆性增加为特征的一种代谢性骨疾病^[1]。PMOP 又称为 I 型骨质疏松症, 雌激素缺乏是 PMOP 的主要原因^[2]。雌激素替代疗法 (estrogen replacement therapy, ERT) 已被广泛证实能有效地预防 PMOP, 但长期应用 ERT 也引发了一些副作用, 如阴道流血、静脉血栓、乳腺癌和子宫内膜癌等肿瘤性疾病^[3]。葛根素 (puerarin, Pue) 属于植物雌激素, 具有雌激素样活性, 具有促进成骨细胞增殖、分化和矿化, 抑制破骨细胞性骨吸收和分化, 同时具有改善骨代谢, 减少骨吸收, 促进骨形成, 增加骨密度作用^[4]。本实验观察研究葛根素对绝经后骨质疏松大鼠骨密度、骨生物力学和骨代谢的影响, 探索其潜在的作用机制, 旨在为临床运用葛根素防治 PMOP 提供新方法和新思路。

1 资料与方法

1.1 实验动物、试剂与材料

SPF 级 16 周龄雌性 SD 大鼠 55 只, 体重 320 ~ 350 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SYXK (京) 2019-0005。葛根素注射液 (100 mg/支, 陕西安康制药厂), 骨化三醇软胶囊 (盖三淳, 0.25 $\mu\text{g} \times 10 \text{ s}$, 正大制药青岛有限公司)。核因子- κB 受体活化因子配体 (RANKL)、I 型原胶原分子 N 端前肽 (PINP)、人抗酒石酸酸性磷酸酶 5b (TRACP5b) 和骨钙素 (BGP) 试剂盒均购于美国 CUSABIO 公司, 雌激素受体 (ER) 多克隆抗体购于美国 R & D 公司, SP 试剂盒购于武汉博士德公司。LunariDXA 型双能 X 射线骨密度检测仪购于美国 GE 公司, MTS-858 型骨生物力学实验机购于美国 MA 公司。

1.2 方法

1.2.1 绝经后骨质疏松大鼠动物模型: 参考“双侧卵巢摘除手术方法”构造骨质疏松大鼠动物模型^[5]。严格无菌操作于大鼠背部正中中线做长约 3 cm 纵向切口, 钝性分离, 逐层进入腹腔, 找到双侧菜花状卵巢, 结扎切除, 彻底止血后间断缝合, 术后青霉素 5 万 U/d 预防感染, 1 周后拆线。

1.2.2 分组及药物处理: 术后 8 周评估造模成功率, 成功造模评价标准: 骨密度 (BMD) 峰值减少 $\geq 2.5 \text{ SD}$ (标准差)。SD 大鼠造模成功 48 只, 造模成功率 87%。按随机数字表法分为正常组、去卵巢组、葛根素组、骨化三醇组。参考《药理实验方法学》(第 4 版): 人与动物体表面积等效剂量比值, 换算成大鼠的给药剂量给予不同药物干预 6 周^[6]。正常组和去卵巢组: 5 mL/kg 0.9% NaCl, ih, qd; 葛根素组: 葛根素 35 mg/kg, ih, qd; 骨化三醇组: 0.25 μg , po, qd, 连续给药 6 周。

1.2.3 标本取材: 药物干预结束后, 采用急性大失血法处死大鼠, 取血 8 ~ 10 mL, 高速离心, 3 000 r/min $\times 10 \text{ min}$, EP 管收集血清 1 ~ 2 mL, -20°C 保存备用。逐层剥离 L4 腰椎和双侧股骨, 无菌生理盐水湿纱布包裹, 20°C 保存。另留取椎体 10% 甲醛溶液固定, 15% 乙二胺四乙酸 (EDTA-2Na) 脱钙 14 d, 制备石蜡切片, 保存备用。

1.2.4 检测各组血清骨代谢指标: 取出上清液, 所有操作严格参照试剂盒说明书进行操作, 检测各组血清 RANKL、PINP、TRACP5b 和 BGP 水平。

1.2.5 检测各组骨组织骨密度 (BMD) 和矿物含量 (BMC): 取出待测大鼠 L4 腰椎和右股骨, 在 LUNAR 双能 X 线吸收扫描仪扫描, 采用小物体 Discovery Wi 扫描模式, 用仪器选定兴趣区, 以 2.0 mm $\times$ 2.0 mm 为中心区域, 应用软件分析计算 BMD 和 BMC 值。

1.2.6 检测各组骨生物力学指标: 取出右侧股骨, 游标卡尺测量股骨长度, 将置于电子万能生物力学

材料试验机进行三点弯曲力学试验,固定骨标本位置,保持标本上下水平,支点跨距 20 mm,最大量程 1 000 N,加载速度 1 mm/min,计算机记录仪记录载荷-变形曲线。

1.2.7 免疫组织化学染色法(SP 法)检测各组骨组织 ER 表达:参照 SP 法进行操作,脱蜡水化, H_2O_2 封闭内源性过氧化酶,高温高压修复抗原,血清封闭特异性蛋白,加 ER 抗体孵育 50 μ L(1:200),4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,添加二抗(IgG,1:200)室温下孵育,DAB 显色,复染脱水,透明封片,显微镜下观察,高倍镜每个标本随机选取 10 个视野,取其均值。

1.2.8 HE 染色观察各组骨组织形态学变化:参照 HE 染色法操作步骤,二甲苯、无水乙醇脱蜡水化,苏木精染/伊红染色,梯度乙醇脱水,甲苯透明后封

片,显微镜观察染色效果。

1.3 统计学分析

研究数据采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 22.0 软件进行分析,统计学分析采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠骨代谢相关生化指标

去卵巢组血清 RANKL、PINP、TRACP5b 和 BGP 水平较正常组均显著增高($P < 0.05$),骨化三醇组和葛根素组血清 RANKL、PINP、TRACP5b 和 BGP 水平较去卵巢组均显著降低($P < 0.05$),葛根素组血清水平较骨化三醇组均降低($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清骨代谢指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum bone metabolism markers between each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	RANKL/(ng/L)	PINP/(μ g/L)	TRACP5b/(ng/L)	BGP/(μ g/L)
正常组	12	265.30 $\pm$ 25.07	10.73 $\pm$ 2.02	2.26 $\pm$ 0.25	0.80 $\pm$ 0.06
去卵巢组	12	324.75 $\pm$ 35.32 [*]	18.08 $\pm$ 3.26 [*]	2.75 $\pm$ 0.35 [*]	1.28 $\pm$ 0.13 [*]
骨化三醇组	12	307.13 $\pm$ 30.01	15.76 $\pm$ 3.08	2.57 $\pm$ 0.30	1.13 $\pm$ 0.10
葛根素组	12	279.73 $\pm$ 26.55 [#]	12.30 $\pm$ 2.52 [#]	2.33 $\pm$ 0.31 [#]	0.92 $\pm$ 0.08 [#]

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与去卵巢组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠骨组织 BMD 和 BMC

去卵巢组腰椎和股骨 BMD 和 BMC 较正常组显著降低($P < 0.05$),骨化三醇组和葛根素组 BMD 和

BMC 较去卵巢组均增高($P < 0.05$),葛根素组 BMD 和 BMC 较骨化三醇组均增高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠腰椎和股骨 BMD 和 BMC 比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of BMD and BMC in the lumbar spine and femur between each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	腰椎		股骨	
		BMD/(g/cm^2)	BMC/g	BMD/(g/cm^2)	BMC/g
正常组	12	0.312 $\pm$ 0.050	1.535 $\pm$ 0.150	0.220 $\pm$ 0.032	1.257 $\pm$ 0.186
去卵巢组	12	0.220 $\pm$ 0.037 [*]	0.758 $\pm$ 0.093 [*]	0.165 $\pm$ 0.027 [*]	0.574 $\pm$ 0.109 [*]
骨化三醇组	12	0.247 $\pm$ 0.041	1.003 $\pm$ 0.126	0.180 $\pm$ 0.030	0.763 $\pm$ 0.140
葛根素组	12	0.295 $\pm$ 0.043 [#]	1.404 $\pm$ 0.133 [#]	0.207 $\pm$ 0.035 [#]	1.165 $\pm$ 0.161 [#]

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与去卵巢组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠骨生物力学指标

去卵巢组股骨最大载荷、最大应力、最大位移和刚度较正常组均显著降低($P < 0.05$),骨化三醇组和

葛根素组骨生物力学指标较去卵巢组均显著增高($P < 0.05$),葛根素组骨生物力学指标较骨化三醇组均增高($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠股骨生物力学指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of biomechanical indexes of the femur between each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	最大载荷/N	最大应力/MPa	最大位移/mm	刚度/(N/mm)
正常组	12	165.80 $\pm$ 28.62	186.34 $\pm$ 16.40	0.927 $\pm$ 0.08	230.53 $\pm$ 30.30
去卵巢组	12	106.36 $\pm$ 15.17 [*]	134.10 $\pm$ 11.26 [*]	0.605 $\pm$ 0.05	155.10 $\pm$ 23.35 [*]
骨化三醇组	12	123.39 $\pm$ 24.35	150.88 $\pm$ 15.35	0.687 $\pm$ 0.06	179.73 $\pm$ 26.09
葛根素组	12	149.53 $\pm$ 24.82 [#]	170.90 $\pm$ 12.70 [#]	0.855 $\pm$ 0.05 [#]	218.82 $\pm$ 27.26 [#]

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与去卵巢组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠骨组织 ER 表达

ER 蛋白主要表达于成骨细胞和破骨细胞胞核,阳性反应呈棕黄色颗粒状。正常组、去卵巢组、骨化三醇组、葛根素组分别为(ER 阳性细胞数/个): 2.02 ± 0.36 、 0.97 ± 0.23 、 1.34 ± 0.25 、 1.86 ± 0.30 。去卵巢组 ER 蛋白表达较正常组均显著降低($P < 0.05$),骨化三醇组和葛根素组 ER 蛋白表达较去卵巢组均显著增高($P < 0.05$),葛根素组 ER 蛋白表达较骨化三醇组均增高($P < 0.05$)。见图 1。

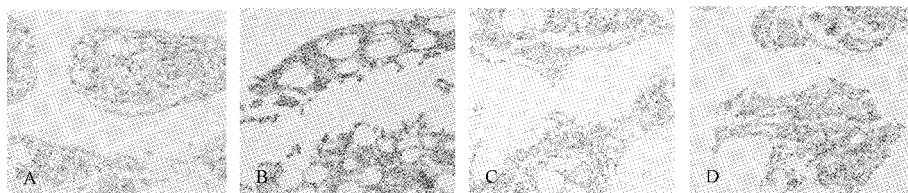


图 1 免疫组化检测各组大鼠骨组织 ER 表达(10×40)

A: 正常组; B: 去卵巢组; C: 骨化三醇组; D: 葛根素组

Fig.1 Immunohistochemical detection to observe the ER expression in bone tissue of rats in each group (10×40)

A: Normal group; B: Ovariectomized group; C: Calcitriol group; D: Puerarin group

2.5 各组大鼠腰椎骨形态学改变

正常组骨皮质结构致密完整,骨小梁饱满粗大,排列密集有序,髓腔小。去卵巢组骨皮质明显变薄,骨小梁稀疏纤细或断裂,排列紊乱,髓腔明显扩大,空泡样脂肪细胞增多。骨化三醇组骨皮质变厚,骨小梁数量稍增多,排列尚规则,网状结构略微修复,骨髓腔稍小,造血细胞数量稍多。葛根素组骨皮质结构较完整,小梁数目明显增多,致密均匀粗壮,骨髓腔变小,造血细胞数量较多。见图 2。

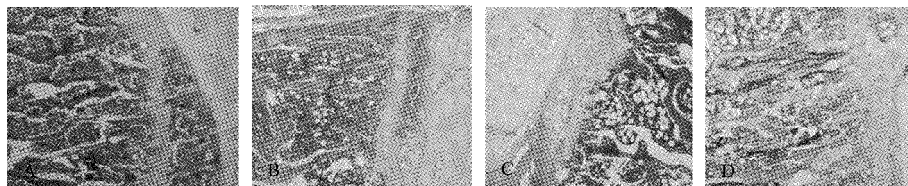


图 2 HE 染色观察各组腰椎骨组织形态学变化(10×40)

A: 正常组; B: 去卵巢组; C: 骨化三醇组; D: 葛根素组

Fig.2 HE staining to observe the morphological changes of the lumbar vertebrae in each group (10×40)

A: Normal group; B: Ovariectomized group; C: Calcitriol group; D: Puerarin group

3 讨论

PMOP 已成为中老年妇女的常见病和多发病,列为“世纪慢性隐性疾病”,骨折是 PMOP 的常见并发症,严重危害中老年人健康生活^[7]。女性卵巢功能衰竭所致雌激素分泌下降是 PMOP 发病的主要

原因^[8]。雌激素通过与成骨细胞受体结合,直接促进成骨细胞的增殖、分化及其基质蛋白合成,通过与破骨细胞的受体结合,抑制破骨细胞的溶骨性骨吸收功能^[9]。当雌激素水平下降,其对破骨细胞的抑制作用减弱,溶骨破骨功能增强,破骨与成骨明显失衡,骨吸收大于骨形成,导致骨质逐渐丢失^[10]。ERT 可以减少或预防雌激素不足引起的骨量丢失,并能防治 PMOP。ERT 曾被认为是治疗 PMOP 的首选方案,但其副作用、危险性突出,限制了其临床上

治疗 PMOP^[11]。因此寻找探索更安全有效、副作用更少的药物代替 ERT 是一项迫在眉睫的任务。研究表明植物雌激素可替代治疗 PMOP^[12]。

Pue 是从天然植物豆科植物野葛根中提取分离出的一种异黄酮类化合物,属于植物雌激素,与雌激素结构类似,药理作用广泛,具有多种药理活性作用^[13]。近年来,其在防治骨质疏松方面日益受到关注。研究发现 Pue 能与内源性雌激素受体结合,对骨产生雌激素样作用,不仅能促进成骨细胞的增殖、

分化及矿化功能,直接抑制破骨细胞性骨吸收和分化,改善骨代谢;而且还能增加骨矿密度和骨强度含量,改善骨生物力学,使其有抗骨吸收、促进骨形成的作用^[14]。

本研究结果提示葛根素组大鼠血清骨代谢指标、腰椎和股骨 BMD 和 BMC、股骨骨生物力学指标

较去卵巢组显著升高 ($P < 0.05$), 葛根素组骨组织 ER 阳性细胞数较去卵巢组显著增加 ($P < 0.05$)。葛根素组骨皮质结构较完整, 骨小梁数目增多, 致密均匀粗壮, 连接成网状, 髓腔变小, 造血细胞数量较多。说明葛根素通过提高绝经后骨质疏松大鼠雌激素水平, 调节维持骨代谢, 增加骨密度和骨强度, 提高骨生物力学性能, 改善骨组织病态结构。所以作者推测葛根素预防 PMOP 的主要作用机制可能是通过作用于骨细胞雌激素受体, 发挥雌激素样生理效应, 调节骨代谢, 增加骨量骨强度, 改善骨结构, 起到抗骨质疏松作用。黄彤等^[15]研究表明葛根素可增加去卵巢大鼠骨矿含量、骨密度和骨强度作用, 改善骨质疏松的生物学效应。大量体外细胞学研究表明葛根素能够促进成骨细胞的增殖、分化及矿化功能, 促进骨形成, 并呈浓度依赖性^[16-17]。临床研究表明葛根素明显改善绝经后女性骨质疏松患者骨密度、VAS、活动能力等方面的临床症状, 且安全性高^[18-19]。

综上所述, 中医药在防治绝经后骨质疏松症有着悠久的历史, 葛根素通过提高绝经后骨质疏松大鼠雌激素水平, 调节骨代谢, 增加骨密度和骨强度, 改善骨生物力学性能和骨组织形态学结构, 起到抗骨质疏松疗效和骨保护作用。葛根素因其毒副作用小, 安全有效, 给绝经后妇女带来了福音, 但还需进一步做大量的基础和临床研究。中草药是我国传统医学的巨宝库, 期待进一步在分子水平上更深入的研究, 提高其生物利用度及药物的靶向作用, 使其能充分发挥药理活性, 提高药物的临床疗效。

【参 考 文 献】

- [1] Felicia Cosman. Long-term treatment strategies for postmenopausal osteoporosis[J]. Curr Opin Rheumatol, 2018, 30(4): 420-426.
- [2] JA Kanis, Cooper C, Rizzoli R, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women[J]. Osteoporos Int, 2019, 30(1): 3-44.
- [3] Richard Eastell, Pawel Szulc. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2017, 5(11): 908-923.
- [4] 杨勇晖, 陈平洋. 葛根素防治骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(3): 376-378.
- [5] 祁珊珊, 王永吉, 辛薇. SD 大鼠绝经后骨质疏松疾病动物模型的构建[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(1): 49-52.
- [6] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学(第4版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1439-1442.
- [7] Radojka Bijelic, Snjezana Milicevic, Jagoda Balaban. Risk factors for osteoporosis in postmenopausal women[J]. Med Arch, 2017, 71(1): 25-28.
- [8] Luigi Gennari, Stefano Rotatori, Simone Bianciardi, et al. Treatment needs and current options for postmenopausal osteoporosis[J]. Expert Opin Pharmacother, 2016, 17(8): 1141-1152.
- [9] Levin VA, Jiang X, Kagan R. Estrogen therapy for osteoporosis in the modern era[J]. Osteoporos Int, 2018, 29(5): 1049-1055.
- [10] Vladimira Mondockova, Maria Adamkovicova, Martina Lukacova, et al. The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in slovak postmenopausal women[J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1): 174.
- [11] Li W, Zhu HM, Xu HD, et al. CRNDE impacts the proliferation of osteoclast by estrogen deficiency in postmenopausal osteoporosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(18): 5815-5821.
- [12] Marco Gambacciani, Nicoletta Biglia, Angelo Cagnacci, et al. Menopause and hormone replacement therapy: The 2017 recommendations of the Italian Menopause Society[J]. Minerva Ginecol, 2018, 70(1): 27-34.
- [13] 周吴楠, 陈远明. 葛根素防治绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. 广西医学, 2019, 41(7): 878-883.
- [14] 丁聚贤, 谢兴文, 许伟, 等. 葛根素治疗骨质疏松症相关分子机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(8): 1172-1175.
- [15] 黄彤, 金邦荃, 孙桂菊, 等. 葛根素对去卵巢大鼠骨密度和骨强度的改善[J]. 现代预防医学, 2010, 37(20): 3894-3896.
- [16] 王昌, 汤旭磊, 陈克明, 等. 葛根素在体外对成骨细胞增殖和分化的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(33): 6102-6106.
- [17] 孙玉敏, 许晓琳, 杨怡, 等. 葛根素可促进老年女性骨质疏松症患者成骨细胞的增殖[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(29): 4593-4597.
- [18] 孙玉明, 王培民, 查炜, 等. 葛根对原发性骨质疏松症患者临床症状影响的研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2008, 16(4): 14-16.
- [19] 罗琳. 葛根素联合阿仑膦酸钠治疗绝经后骨质疏松症的效果观察[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(7): 930-933.

(收稿日期: 2020-05-12; 修回日期: 2020-05-26)