

不是很深入,这正是需要我们进一步挖掘。

LBP_s 直接口服具有吸收快、利用率低等缺点。我们将 LBP_s 与生物载体材料复合使用,不仅可以保护 LBP_s,而且可以延长 LBP_s 在胃肠道吸收时间,提高 LBP_s 吸收率。ALG-Na 来源广泛,在药物的控释中已经有了广泛的应用,ALG-Na 结构中的古罗糖醛酸(G 单元)能与 Mg、Al 等多种二、三价金属离子形成螯合结构。本研究采用静电悬滴法,以 LBP_s 为药物模型,将 ALG-Na 溶液通过微量注射泵滴加到钙离子溶液的凝固浴中,形成直径 1 mm 左右,具有良好的球形度和单分散性的 ALG-Ca/LBP_s 凝胶微球。ALG-Ca 凝胶微球具有生物相容性、可降解性等优点,而且还有抑制炎症、调节免疫力等功能^[14-15],在生物医药科研中显得尤为突出,ALG-Ca 凝胶微球对 LBP_s 充分包埋,延长胃肠道吸收药物的时间,稳定血药浓度,提高药物利用率。

摘除卵巢后的小鼠随着雌激素减少出现骨的形成与吸收失衡,骨微结构发生改变,从而造成骨质疏松。本实验采用检测骨代谢指标及骨微结构来推测 ALG-Ca/LBP_s 对小鼠骨质疏松的疗效。骨的病理形态学和骨形态计量学静态是检测骨微结构的两个重要评价,是客观直接反映骨质疏松组织形态状况的指标。在骨组织 HE 染色中,OVX+PBS 组小鼠摘除卵巢后,小鼠骨质丢失严重,骨微结构明显改变,从而表现出骨小梁变薄,连续性中断、间隙变大,出现骨质疏松状态,证明小鼠骨质疏松模型制备成功,而 OVX+ALG-Ca/LBP_s 组与 OVX+PBS 比较,骨小梁明显增粗,排列尚整齐并连接成网,部分区域骨小梁间隙略增大,这点在 Micro-CT 结果中也得到证实。小鼠股骨 Micro-CT 结果显示,OVX+PBS 小鼠去势后骨微结构破坏,骨密度下降,骨小梁稀疏,数量减少,小梁骨间距增大,与 OVX 组相比,骨质疏松严重。OVX+LBP_s 组与 OVX+PBS 组小鼠比较,BV/TV、Tb.N、Tb.Th 参数均升高,Tb.Sp 降低,差异具有统计学意义,表明骨质疏松状态得到改善,其中 OVX+ALG-Ca/LBP_s 组改善明显,说明 ALG-Ca/LBP_s 凝胶微球提高 LBP_s 生物利用率,从而改善骨组织的形态结构来防治骨质疏松。当发生骨质疏松时破骨细胞活性增强,成骨细胞活性减弱,造成骨代谢出现负平衡。BGP 是一种可以直接可以反映骨形成与重建的一种蛋白,BALP 是显示破骨细胞活性的良好指标,故骨质疏松下 BGP 及 BALP 的含量会显著升高。实验中 OVX+PBS 组的 BGP 及 BALP 均明显升高,反映小鼠处于骨代谢负平衡状

态。与 OVX+PBS 组对比,OVX+LBP_s、OVX+ALG-Ca/LBP_s 组 BGP、BALP 均有不同程度降低,提示 LBP_s 可以抑制破骨细胞的活性,降低骨转化率,使骨形成、重建加强。CTX-1 是成熟型胶原降解时产生的一部分产物,也是骨中唯一的胶原成分,常用来诊断代谢骨病及评价抗骨病药物的疗效。实验结果显示 OVX+LBP_s、OVX+ALG-Ca/LBP_s 均能降低小鼠的血清 CTX-1 水平,以 OVX+ALG-Ca/LBP_s 组降低明显,说明 ALG-Ca/LBP_s 凝胶微球能产生抑制骨吸收的效果,从而改善骨质疏松状态。其中 ALG-Ca 凝胶微球起到良好的药物载体作用,延缓药物在胃肠道的时间,稳定血药浓度,进而提高药效。

本研究发现,ALG-Ca/LBP_s 可以降低骨吸收指标,改善骨的微观结构、从而对去势小鼠骨质疏松起到防治作用。可惜实验中 ALG-Ca/LBP_s 凝胶微球对于改善小鼠骨质疏松的具体机制尚不能完全明确,可能与 LBP_s 抗氧化、免疫调节等有关,这也有待我们以后研究中进一步发现,但是 ALG-Ca/LBP_s 凝胶微球在防治骨质疏松中或许是一个新突破点。

【参 考 文 献】

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(3):7-35.
- [2] 王彦明,王一农.枸杞多糖对去势雌性大鼠骨质疏松影响的研究[J].中国医药指南,2011,31(32):497-498.
- [3] 王彦明,王一农.枸杞多糖对去势雌性大鼠骨质疏松的作用[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(8):576-578.
- [4] 马进峰,王一农,金锐.枸杞多糖对骨质疏松大鼠血清 PICP、ICTP 及钙、磷、镁和碱性磷酸酶水平的影响[J].郑州大学学报(医学版),2012,47(2):247-249.
- [5] 王小敏,赵丽坤,刘新霞,等.枸杞多糖对糖皮质激素性骨质疏松大鼠钙吸收及生化指标的影响[J].中国预防医学杂志,2011,12(12):1004-1007.
- [6] 王杰,任萌萌,王雨,等.枸杞叶及枸杞多糖对去势雌性大鼠骨密度的影响[J].宁夏医科大学学报,2015,37(3):233-236.
- [7] 傅光涛,刘生,李长川,等.12 周是使用卵巢切除法建立雌性 C57/BL6J 成年小鼠绝经后骨质疏松模型的合适时机[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(5):582-587.
- [8] Qiu S, Chen J, Chen X, et al. Optimization of selenylation conditions for lycium barbarum polysaccharide based on antioxidant activity [J]. Carbohydr Polym, 2014, 103(1): 148-153.
- [9] Liu WJ, Jiang HF, Rehman FU, et al. Lycium barbarum polysaccharides decrease hyperglycemia-aggravated ischemic brain injury through maintaining mitochondrial fission and fusion balance[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(7):901-910.

(下转第 336 页)

· 论著 ·

GY4137 通过提高自噬水平和降低氧化应激来保护老年雌性大鼠骨量流失

陈军平* 王德伟 谭伟源 袁小洪 余杰锋

遵义医科大学第五附属(珠海)医院骨二科,广东 珠海 519100

中图分类号: R 36 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 03-0324-05

摘要: **目的** 观察 GY4137 对老年大鼠骨量影响以及对氧化应激水平和自噬水平的影响。**方法** 10 只年轻大鼠和 20 只老年雌性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 3 组,对照组(Con, 10 只年轻大鼠)、模型组(Mod, 10 只老年大鼠)和治疗组(Tre, 10 只老年大鼠),每组 10 只。在实验过程中,治疗组接受 GY4137 治疗。治疗 12 周后,检测血清氧化应激指标水平。治疗 12 周后使用影像学和组织学评估股骨骨量改变以及蛋白印迹(WB)检测自噬信号通路关键蛋白的改变。**结果** 治疗 12 周后,与 Mod 组相比,Tre 组大鼠血清 MDA 和 ROS 水平明显降低,GSH 和 SOD 水平明显升高,组间差异有统计学意义($P < 0.05$);和 Mod 组相比,Micro-CT 和组织学评估显示治疗组的骨小梁数量较多,具有较高的骨密度(BMD)、骨体积/总体积(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb.Th)及骨小梁数目(Tb.N),和较低的骨小梁分离度(Tb.Sp),差异比较有统计学意义($P < 0.05$)。WB 检测结果显示 H₂S 治疗后 Atg 5, LC3 和 Beclin1 表达明显高于对照组($P < 0.05$);而 p62 显著低于对照组($P < 0.05$)。**结论** GY4137 可以通过提高老年大鼠自噬水平和降低氧化应激来提高老年大鼠骨量和骨密度。

关键词: 骨量流失;GY4137;氧化应激;自噬

GY4137 protects bone loss in elderly female rats by increasing autophagy levels and reducing oxidative stress

CHEN Junping*, WANG Dewei, TAN Weiyuan, YUAN Xiaohong, YU Jiefeng

Department of Orthopedics, the Fifth Affiliated (Zhuhai) Hospital of Zunyi Medical University; Zhuhai 519100, Guangdong, China

* Corresponding author: CHEN Junping, Email: 256251332@qq.com

Abstract: **Objective** To observe the effect of GY4137 on bone mass and bone mineral density (BMD) and autophagy in aged rats. **Methods** Ten young rats and twenty old female Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: control group (Con, 10 young rats), model group (Mod, 10 old rats), and treatment group (Tre, 10 old rats), with 10 rats in each group. During the experiment, rats in the treatment group received GY4137 treatment. After 12 weeks of treatment, serum oxidative stress indicators were measured. After 12 weeks, bone mass change was assessed using imaging and histology. Changes of key proteins in the autophagy signaling pathway were detected using Western blotting (WB). **Results** Compared with those in the Mod group, the serum MDA and ROS levels reduced significantly in the Tre group, and the GSH and SOD levels increased significantly after 12 weeks. The differences between the groups were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with those in the Mod group, there were more bone trabeculae, higher BMD, bone volume /total volume (BV /TV), trabecular thickness (Tb.Th), and the number of trabecular bones (Tb.N), and lower trabecular bone separation (Tb.Sp) in the treatment group, as evaluated with micro-CT and histology. The difference was statistically significant (all $P < 0.05$). WB test result showed that the expression of Atg 5, LC3, and Beclin1 after H₂S treatment was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), while p62 was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** GY4137 increases bone mass and BMD by increasing the level of autophagy and reducing the oxidative stress in aged rats.

Key words: bone mass loss; GY4137; oxidative stress; autophagy

* 通信作者: 陈军平, Email: 256251332@qq.com

骨质疏松症是一种普遍性的骨骼疾病,其特征是骨骼强度受损,骨骼数量和质量下降,通常导致脆

性骨折^[1]。随着全球人口的老齡化,骨质疏松症已成为严重的社会和公共卫生问题。日前,根据研究的人群,全世界约有 2 亿人患有骨质疏松症,其发病率已在所有常见疾病中跃升至第七位,患病率为 10%~58%。随着经济持续的发展,中国人口正在迅速老齡化^[2],并且由于年龄是骨质疏松症的主要危险因素之一,因此骨质疏松症对公共卫生的威胁在中国变得越来越重要^[3]。硫化氢(H_2S)是一种无色有毒气体,散发着腐烂鸡蛋的恶臭,是调节各种生理或病理细胞功能的重要气体递质^[4]。近年来的研究表明 H_2S 对骨量的维持有重要作用^[5-7]。GYY4137(一种 H_2S)可以通过调节钙通道中 Ca^{2+} 内流来控制干细胞的功能,而 GYY4137 的缺乏损害了干细胞的成骨分化^[5]。最近的研究表明,GYY4137 保护成骨细胞免受 H_2O_2 或糖皮质激素诱导的细胞损伤^[8]。然而,其对老年骨量流失的影响尚不清楚,需要进一步研究。本研究的目的是观察 GYY4137 对年龄引起的骨量流失的作用及可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组和治疗

3 月龄雌性 Sprague-Dawley 大鼠 10 只,体重 230~250 g 作为对照组(Con)及 24 月龄雌性 Sprague-Dawley 大鼠 20 只,体重 487~532 g 购于上海实验动物中心。大鼠饲养在室温(23 ± 2) $^{\circ}C$,12/12 h 光暗循环,喂食标准大鼠饲料和水。老年大鼠随机分为模型组(Mod, $n=10$)和治疗组(Tre, $n=10$)。所有大鼠适应性饲养 1 周后,Tre 组给予 100 $\mu g/kg$ 的剂量腹腔注射 GYY4137(GYY4137 购自 Santa Cruz Biotechnology, SC-224013)并用 0.9%生理盐水稀释,每 2 天 1 次,治疗 12 周,在治疗结束,在禁食 12 h 后对大鼠实施安乐死。

1.2 生化检测

在治疗结束通过颈椎脱臼处死大鼠。处死后从下腔静脉抽血,加入抗凝剂后,以 3 000 r/min 的速度离心 20 min 以提取血浆。将提取的血浆储存在 $-70^{\circ}C$ 备用。采用 MDA($\mu mol/mL$), GSH($\mu mol/mL$)和 SOD(U/L)试剂盒(南京建城,中国南京)按厂家说明书评价血清氧化应激活性。采用 ROS ELISA 试剂盒(中国上海联硕生物科技)检测血清 ROS(U/mL)水平。

1.3 组织学和影像学检查

治疗结束处死大鼠后取下右侧股骨,使用高分

辨率 Micro-CT 扫描系统(GE Locus SP)以标准分辨率模式扫描股骨远端。从生长板远端 0.2 mm 开始的中心区域的 $15 mm^2$ 区域进行骨测量,以评估骨质量、密度和小梁的微结构。兴趣量(VOI, $29 \mu m \times 29 \mu m \times 29 \mu m$)使用半自动轮廓法选择。生成一系列平面横向灰度值图像。所有图像都用于重建三维图像。使用 Micro-CT 系统中的软件来计算 VOI 内的参数:骨密度(BMD)、骨体积/总体积(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁数目(Tb.N)和骨小梁分离度(Tb.Sp)。

在 Micro-CT 扫描后,清除附着的结缔组织后,将股骨浸入梯度酒精(70%、95%和 100%乙醇,每种情况下 3 d)以进行组织脱水。将骨样品包埋在含有甲基丙烯酸甲酯的树脂中。用装备有碳化钨制成的刀片(型号 RM2255;Leica Nussloch,德国)的半自动旋转切片机对树脂包埋的样品进行纵向切片。用 Goldner 三色染色剂对厚度为 7 μm 的骨切片进行染色,并在光学显微镜下(日蚀 Ni-U 型;尼康)使用 OsteoMeasure 系统(版本 4.10;OsteoMetrics,乔治亚州亚特兰大)进行分析。

1.4 蛋白印迹(WB)分析

使用细胞裂解试剂盒(Beyotime, Jangsu, China)提取股骨远端总蛋白,并转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。PVDF 膜与特异性抗体孵育,并使用 ECL 检测试剂盒(Beyotime, 江苏 中国)进行检测。使用 Image Lab Version 2.1(Bio-Rad)软件通过密度分析量化蛋白质表达。

1.5 统计学处理

采用 Mann-Whitney U 检验比较各组大鼠血清各指标。用 Friedman 分析评价各组指标的变化。采用 Wilcoxon 秩和检验对参数进行分析。采用卡方检验比较各组的组织学参数。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

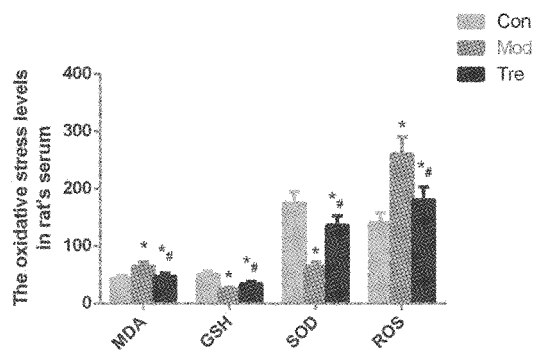
2 结果

2.1 氧化应激指标比较

与 Con 组相比,Mod 组大鼠血清丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)水平明显升高,谷胱甘肽(GSH)水平和超氧化物歧化酶(SOD)明显降低;Tre 组大鼠血清 MDA 和 ROS 水平明显降低,GSH 和 SOD 水平明显升高,组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 组织学分析

股骨干骺端骨小梁结构如图 2 所示,Con 组大鼠股骨干骺端骨小梁致密,骨小梁网状结构正常。



注:与 Con 组相比, * $P < 0.05$; 与 Mod 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠血清氧化应激指标水平

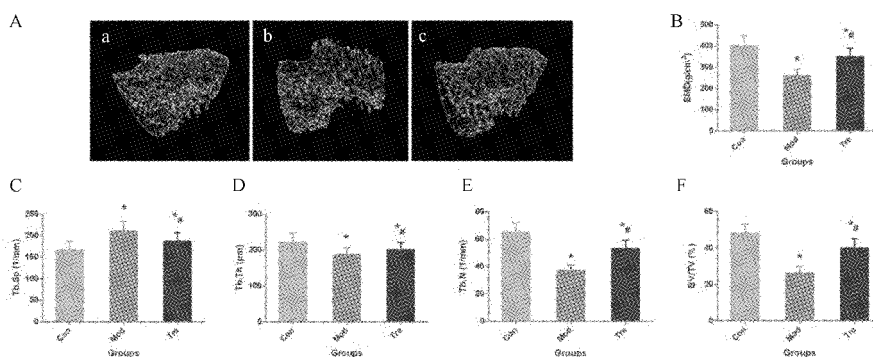
Fig.1 Serum oxidative stress index levels in each group of rats

Mod 组大鼠骨小梁变薄,导致骨小梁间隙变宽。Tre 组大鼠骨小梁数量和连接增加明显,骨小梁结构大都恢复。



图 2 三组股骨的组织病理学(10×)

Fig.2 Histopathology of the femurs in the three groups(10×)



注:与 Con 组相比, * $P < 0.05$; 与 Mod 组相比, ** $P < 0.05$ 。

图 3 三组大鼠股骨干骺端 Micro-CT 检测结果

Fig.3 Results of micro-CT in the femoral metaphysis in the three groups of rats

3 讨论

本研究使用年龄诱导骨量流失大鼠作为研究模型,通过 GYY4137 治疗 12 周后,检测大鼠骨量和氧化应激指标丙二醛和超氧化物歧化酶、髓过氧化物酶和活性氧水平改变;同时检测股骨远端自噬状态

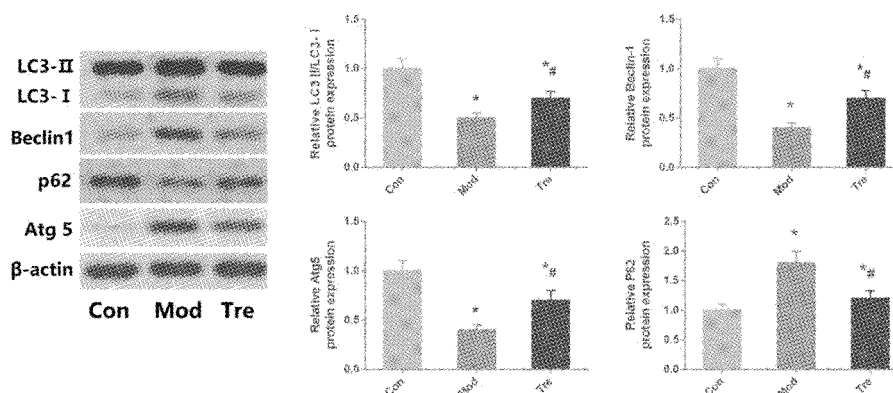
2.3 Micro-CT 检测结果

每组中的大鼠股骨干骺端微结构如图 3 A 所示,股骨干骺端的微观参数如图 3 B~F 所示。Mod 组左侧股骨 BMD、BV/TV、Tb.N 和 Tb.Th 较 Con 组明显降低,而 Tb.Sp 则明显升高 ($P < 0.05$)。Tre 组左侧股骨 BMD、BV/TV、Tb.N 和 Tb.Th 均明显高于 Mod 组 ($P < 0.05$),而 Tb.Sp 则明显低于 Mod 组 ($P < 0.05$)。

2.4 蛋白印迹结果

治疗 12 周后,三组股骨均进行 Atg 5、LC3-II/LC3-I、Beclin1 和 p62 蛋白表达检测,结果显示 Tre 组 Atg 5、LC3-II/LC3-I 和 Beclin1 的蛋白表达明显高于 Mod 组 ($P < 0.05$),而 p62 显著低于 Mod 组 ($P < 0.05$),见图 4。

的重要标志蛋白的表达情况;结果表明在 GYY4137 治疗 12 周后,大鼠股骨骨密度及骨小梁微观参数显著改善;同时发现大鼠的氧化应激水平下降以及自噬水平降低;本研究表明 GYY4137 可能通过影响自噬水平和氧化应激状态来改善老年大鼠的骨量和骨密度。



注:与 Con 组相比, * $P < 0.05$; 与 Mod 组相比, ** $P < 0.05$ 。

图 4 WB 分析示 Atg 5、PLC3-II/LC3-I、Beclin1 和 p62 的蛋白表达

Fig.4 Protein expressions of Atg 5, LC3-II/LC3-I, Beclin1, and p62 analyzed with Western blotting

氧化应激,由于过度产生活性氧损害细胞成份,研究认为氧化应激在骨质疏松发生发展过程中起到重要的作用^[9]。本研究中老年大鼠体内的氧化应激指标丙二醛和髓过氧化物酶、超氧化物歧化酶在 GYY4137 治疗后出现显著降低;表明治疗后老年大鼠体内氧化应激水平降低。自噬是一种重要的细胞应激反应机制,除了细胞凋亡外,自噬是一种细胞保护机制,也是细胞程序性死亡的另一种方式。先前的研究^[10]表明,骨细胞中存在自噬,当骨细胞在体外受到缺氧或糖皮质激素的干预时时,自噬起到了保护作用。目前,研究普遍认为活性氧物种诱导自噬^[11],而自噬在几种病理条件下起到减少氧化损伤的作用^[12]。抗氧化剂的减少可能与多种原因有关;E2 缺乏症,清除自由基的能力下降,白介素 6 和肿瘤坏死因子 α 升高^[13]。Melville 等^[14]首先报道骨细胞自噬,通过清除氧自由基对氧化应激具有保护作用^[12]。在成骨细胞特异性雌激素受体基因敲除小鼠中观察到成骨细胞自噬水平升高。本研究的发现与早期报道一致, H_2S 产量降低可能会增强骨骼中氧化应激的作用^[8]。

GYY4137 是一种缓慢释放的 H_2S 供体,已被广泛用于研究 H_2S 在生物过程中的作用^[8]。我们使用 GYY4137 治疗来预防年龄引起的骨质流失。GYY4137 可以恢复了游离 H_2S 的水平,并通过经典 Wnt 信号通路、Erk 信号通路防止了股骨干骺端骨小梁丢失和骨密度降低^[5-7]。与该发现一致的是,本研究表明老年大鼠骨细胞的自噬增加。本研究表明老年大鼠骨骼中 Atg5、LC3 和 Beclin1 蛋白质水平在 H_2S 治疗后明显降低,而 p62 的水平明显增加。这些数据表明自噬可能是骨量流失条件下对急性炎

症和应激的反应机制。此外,本研究自噬水平下降而抗氧化生物标志物(髓过氧化物酶活性)出现提高。本研究结果表明自噬对氧化应激具有保护作用,这与多项研究^[14]一致。抗氧化作用的可能机制是自噬可以去除氧化的蛋白质,活性氧和受损的线粒体^[15]。此外,我们的研究表明 GYY4137 治疗后出现自噬水平降低,而骨量和 BMD 出现升高。这些发现与以前的研究表明自噬与骨远端骨密度显著相关一致^[16]。在本研究中,由于老年大鼠体内雌激素显著降低,导致骨组织中抗氧化生物标志物的减少和自噬水平的提高,而 GYY4137 处理可以部分逆转这种作用。这表明是自噬不仅受雌激素的调节,还受其他细胞因子、氧自由基等的调节。

考虑到自噬与氧化应激状态、骨质流失的关系, GYY4137 治疗后出现骨量增加,表明 GYY4137 是骨代谢的潜在候选者, GYY4137 可以通过改善自噬和氧化应激水平来预防年龄引起的骨质流失,后期会进一步探索可能的机制。

【参 考 文 献】

- [1] 张悦,李运峰. 骨质疏松症动物模型研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(1): 152-156.
- [2] 张奇,蔡菁,靳勇,等. 中老年女性血清 25 羟维生素 D 水平与骨密度、体质量指数的调查研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(3): 328-332.
- [3] 王玉珏,邹倩,郭声敏,等. 绝经后女性骨密度与骨代谢生化指标的相关性分析 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(3): 378-381.
- [4] Lefer JD. A new gaseous signaling molecule emerges: Cardioprotective role of hydrogen sulfide [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 104(46): 17907-17908.
- [5] Liu Yi, Yang Ruili, Liu Xibao, et al. Hydrogen sulfide maintains

- mesenchymal stem cell function and bone homeostasis via regulation of Ca(2+) channel sulfhydration [J]. *Cell Stem Cell*, 2014,15(1): 66-78.
- [6] Ma Jun, Shi Changgui, Liu Zhongyang, et al. Hydrogen sulfide is a novel regulator implicated in glucocorticoids-inhibited bone formation [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11 (18): 7537-7552.
- [7] Zhong-Shi Xu, Feng Dai, Ji Chen, et al. Experimental research into the potential therapeutic effect of GYY4137 on Ovariectomy-induced osteoporosis [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018,23: 47.
- [8] Xu Zhong-Shi, Wang Xin-Y, Xiao De-Ming, et al. Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H₂O₂-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50 (10): 1314-1323.
- [9] Yu Y, Shen X, Luo Z, et al. Osteogenesis potential of different titania nanotubes in oxidative stress microenvironment [J]. *Biomaterials*, 2018,167: 44.
- [10] Nollet M, Santucci-Darmanin S, Breuil V, et al. Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis [J]. *Autophagy*, 2014,10(11): 1965-1977.
- [11] Azad MB, Chen Y, Gibson SB. Regulation of autophagy by reactive oxygen species (ROS): implications for cancer progression and treatment [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009,11 (4): 777-790.
- [12] Sun Kai, Xie Xuqin, Liu Yan, et al. Autophagy lessens ischemic liver injury by reducing oxidative damage [J]. *Cell Biosci*, 2013,3(1): 26.
- [13] Oh Yoen Kim, Jey Sook Chae, Jean Kyung Paik, et al. Effects of aging and menopause on serum interleukin-6 levels and peripheral blood mononuclear cell cytokine production in healthy nonobese women [J]. *Age (Dordr)*, 2012,34(2): 415-425.
- [14] Melville KM, Kelly NH, Khan SA, et al. Female mice lacking estrogen receptor-alpha in osteoblasts have compromised bone mass and strength [J]. *J Bone Miner Res*, 2009,24(2): 370-379.
- [15] Haberkant P, Hill BG. Oxidized lipids activate autophagy in a JNK-dependent manner by stimulating the endoplasmic reticulum stress response [J]. *Redox Biol*, 2013,1(1): 56-64.
- [16] Zhang Lishu, Guo Yan-Fang, Liu Yao-Zhong, et al. Pathway-based genome-wide association analysis identified the importance of regulation-of-autophagy pathway for ultradistal radius BMD [J]. *J Bone Miner Res*, 2010,25(7): 1572-1580.

(收稿日期: 2020-03-04;修回日期: 2020-06-18)

(上接第 318 页)

- [15] Guo Y, Wang L, Ma R, et al. JiangTang XiaoKe granule attenuates cathepsin K expression and improves IGF-1 expression in the bone of high fat diet induced KK-Ay diabetic mice [J]. *Life Sci*, 2016,148:24-30.
- [16] 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.
- [17] 刘舵, 杨永利, 雷婷, 等. 枸杞子乙酸乙酯提取物急性毒性及对切除卵巢大鼠骨质疏松的防治作用 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016,22(4):396-401.
- [18] 刘元, 王立恒, 伊璠. 基于 BGP、TGF- β 1 的表达探究蛇床子素对去卵巢致骨质疏松大鼠的作用 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020,18(5):99-101.
- [19] 李小林, 武密山, 朱紫薇, 等. 地黄对去卵巢骨质疏松大鼠腰椎骨组织整合素 β 1 mRNA 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2015,35(9):2319-2322.
- [20] 胡英勇, 尹耀庭, 刘月平. 巴戟天提取物对去卵巢大鼠骨质疏松症的防治作用 [J]. *湖南中医杂志*, 2019, 35 (11): 139-141.
- [21] 李晓曦, 陈宇恒, 唐秀凤, 等. 基于雌激素作用的淫羊藿女贞子配伍对绝经后骨质疏松症大鼠的影响研究 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2019,27(9):1-6.
- [22] Almeida M, O'Brien C A. Basic biology of skeletal aging: role of stress response pathways [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2013,68(10):1197-1208.
- [23] Chen JR, Lazarenko OP, Zhao H, et al. Nox4 expression is not required for OVX-induced osteoblast senescence and bone loss in mice [J]. *JBM Plus*, 2020,4(8):e10376.
- [24] 吴石磊. 不同浓度淫羊藿苷对成骨细胞铁过载损伤的保护及机制研究 [D]. 武汉:华中科技大学, 2017.
- [25] 张秀丽. 梓醇对 D-半乳糖衰老小鼠的神经保护作用研究 [D]. 大连:大连理工大学, 2008.
- [26] 王丽丽, 马如风, 于娜, 等. 丹酚酸 B 通过抗氧化作用改善高脂饮食小鼠牙槽骨骨质疏松的实验研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017,23(3):281-285.
- [27] 陈洋, 平键, 张晶, 等. 淫羊藿苷提高 SIRT6 酶活性及抑制小鼠 NF- κ B 炎症信号通路的实验研究 [J]. *老年医学与保健*, 2012,18(6):338-341, 346.
- [28] 王凯. 益肾胶囊对糖尿病肾病大鼠肾组织 SIRT6、podocin 表达的影响 [D]. 太原:山西医科大学, 2020.

(收稿日期: 2020-11-09;修回日期: 2020-12-03)