

· 综述 ·

力学信号对成骨细胞凋亡的影响

魏鹤翔¹ 张腾¹ 张永¹ 吴定² 张成俊^{2*}

1. 兰州大学第二临床医学院, 甘肃 兰州 730000

2. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730000

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 03-0421-05

摘要: **目的** 综述力学信号对成骨细胞凋亡的影响。**方法** 检索查阅近年来各种力学负荷对成骨细胞影响的基础研究与综述等相关文献, 并对其进行综合分析并总结。**结果** 成骨细胞的凋亡与众多骨疾病的发生发展相关, 其中具有代表性的疾病包括骨质疏松与各种原因导致的骨质流失等, 对成骨细胞凋亡的研究可能为这些疾病的治疗与康复提供新的思路。目前相关研究已经证实, 力学信号对成骨细胞的凋亡过程有着重要的调控作用, 这可能为临床治疗成骨细胞相关骨疾病提供新的思路。综合现有文献, 当前研究使用的力学负荷以流体剪切应力、牵张应力与静水压力3种应力为主, 主要研究方向包括各种应力对成骨细胞凋亡的抑制作用或促进作用, 应力加载的时间及强度对成骨细胞凋亡的影响及力学信号对成骨细胞凋亡影响的亚细胞水平机制等。**结论** 通过对相关文献的综合分析, 可以认为3种力学信号对成骨细胞的影响存在相似性, 且根据对研究数据的分析, 3种力学信号对于成骨细胞凋亡的作用均存在与时间和强度相关的多效性, 即抗凋亡-促凋亡转化现象。现有研究中, 使用流体剪切应力和牵张应力提供力学信号的研究较为完善, 使用静水压力进行的研究数量较少且尚不够完善, 有待于未来研究的补充。

关键词: 成骨细胞; 力学信号; 流体剪切应力; 牵张应力; 静水压力; 凋亡

Effect of mechanical signals on apoptosis of the osteoblast

WEI Hexiang¹, ZHANG Teng¹, ZHANG Yong¹, WU Ding², ZHANG Chengjun^{2*}

1. The Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 73000, China

2. The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 73000, China

* Corresponding author: ZHANG Chengjun, Email: zhangchj01@163.com

Abstract: **Objective** To review the effect of different stresses on apoptosis of the osteoblast. **Methods** The recent researches and reviews related to the effect of various stress loading on osteoblasts were searched and analyzed. Meanwhile, the comprehensive analysis and summary were carried out. **Results** Apoptosis of osteoblasts is related to the occurrence and development of many bone diseases which include osteoporosis and bone loss caused by various reasons. Studies on osteoblast apoptosis may provide new ideas for the treatment of these diseases. Relevant research has confirmed that mechanical signals play an important role in osteoblast apoptosis, which may provide new ideas for clinical treatment of osteoblast-related bone diseases. Based on the existing literature, the mechanical loads used in the current research are mainly fluid shear stress, stretch stress, and hydrostatic pressure. The main research directions include the inhibition or promotion of various stresses on osteoblast apoptosis, the effect of loading time and intensity on osteoblast apoptosis, and the subcellular mechanism of the effect of mechanical signals on osteoblast apoptosis. **Conclusion** Through a comprehensive analysis of related literature, it can be considered that the effect of the three mechanical signals on osteoblasts is similar. According to the analysis of the research data, the effect of the three mechanical signals on the osteoblast apoptosis exists with time and intensity, i.e., transformation phenomenon from anti-apoptotic to pro-apoptotic. In the current research, the use of fluid shear stress and tensile stress to provide mechanical signals is more complete, and the use of hydrostatic pressure type is less and incomplete, which needs to be supplemented in future research.

Key words: osteoblast; mechanical signal; fluid shear stress; stretch stress; hydrostatic pressure; apoptosis

基金项目: 兰州大学大学生创新创业行动计划(20190050003); 兰州大学第二医院“萃英学子科研培育”计划(CYXZ2019-03); 兰州市科技发展计划项目(2016-3-121)

* 通信作者: 张成俊, Email: zhangchj01@163.com

骨骼是一种自适应性器官,可以通过调整和改变自身结构来适应外部的应力环境^[1]。成骨细胞作为骨形成的主要介质,其增殖与凋亡对骨的生长发育和骨创伤的修复有关键的影响^[2]。成骨细胞的凋亡与多种疾病密切相关,如骨质疏松症、航空飞行及长期卧床导致的骨质流失等^[3-5]。对成骨细胞凋亡的研究可能给上述几种疾病的预防、治疗与康复提供新的思路与方法。

力学信号是影响成骨细胞凋亡的重要因素之一,在骨形成和骨重塑过程中起着重要的调节作用。力学信号可刺激成骨细胞主导的骨形成过程从而增加骨量;而力学信号的缺失则可减少骨形成并通过刺激破骨细胞主导的骨吸收过程使骨量减少^[6]。早期关于应力对骨组织影响的理论主要以1892年提出的Wolff定律为代表,该定律提出的应力影响骨骼形成的这一基本观点得到了广泛的认同^[7]。在此基础上,Frost提出了“机械稳定器理论”,该理论定义了骨骼生物学中构建和重塑这两个基本过程,并初步探讨了骨骼的功能适应性^[7-8]。目前,有关应力对骨组织影响的研究还在不断深入进行。

目前,关于力学信号的研究最具代表性的为流体剪切应力、机械应力与静水压力3种力学负荷^[4]。这3种应力不仅是当前研究的焦点,且均对成骨细胞的凋亡过程存在重要影响。现针对这3种应力加载对成骨细胞凋亡的影响作一综述。

1 流体剪切应力与成骨细胞凋亡

流体剪切应力(fluid shear stress, FSS)可以模拟人体在运动时骨组织内组织液对成骨细胞的影响。体内骨组织中有着复杂的孔隙结构,组织液会随着各种原因导致的骨组织形变在这些孔隙结构形成的微管中流动,从而对细胞施加流体剪切应力^[2,9]。目前研究证明,流体剪切应力是生理条件下对成骨细胞影响最大的因素之一,缺乏流体剪切应力可直接引起骨细胞和成骨细胞凋亡^[10]。目前的流体剪切应力研究采用的加载应力有单向流体剪切应力与振荡流体剪切应力之分,其中振荡流体剪切应力被认为最具有生理学意义^[11]。

许多研究认为一定强度的流体剪切应力可抑制细胞凋亡,目前研究公认强度为10~12 dyne/cm²(即1~1.2 Pa)的流体剪切应力抑制细胞凋亡的作用最明显^[12]。如Pavalko等^[11]的研究中使用12 dyne/cm²的流体剪切应力作用于成骨细胞4 h后,由TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡可以被显著抑制,他

们的研究还发现抑制PI3激酶可以阻断流体剪切应力对TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡的抑制作用,说明流体剪切应力可通过激活PI3激酶和抑制凋亡相关蛋白caspase-3表达抑制TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡。而在Wang等^[10]的研究中发现,振荡流体剪切应力可以通过抑制TNFR I的表面表达、抑制caspase-8的活化等方式抑制TNF- α 介导的成骨细胞凋亡,且这种作用与此前发现的一些凋亡抑制因子如MPK、NO等无关,在他们的研究中,12 dyne/cm²的流体剪切应力作用5 min即可显著抑制TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡,而流体剪切应力加载2 h可以几乎完全消除成骨细胞的凋亡形态学征象。

同时,部分研究指出强度过大的流体剪切应力的流体剪切应力具有促进成骨细胞凋亡的作用。研究指出,流体剪切应力作用1 h以上时,成骨细胞形态开始改变,细胞脱落增多,随作用时间延长,成骨细胞凋亡趋势更加明显,当流体剪切应力作用4 h以上时,成骨细胞形态全部改变,大部分细胞出现凋亡征象^[12]。Liu等^[13]的研究发现,当流体剪切应力强度不超过2 Pa时,成骨细胞中凋亡抑制蛋白bcl-2和凋亡相关蛋白caspase-3的表达量均随加载流体剪切应力的强度增大而明显增大,成骨细胞凋亡情况也没有出现明显的变化;而当应力强度超过3 Pa时,bcl-2水平转而随应力强度增大而下降,细胞出现大量凋亡。

上述研究的结果说明,流体剪切应力的作用存在明显的抗凋亡-促凋亡转化现象,即一定强度流体剪切应力可抑制细胞凋亡,但超出阈值强度的流体剪切应力可促进细胞凋亡,与Frost的机械稳定器理论相符合^[7]。而同样根据Frost的机械稳定器理论推导,过长时间的流体剪切应力加载对于成骨细胞也应存在促进凋亡的作用,由于目前针对此方面的研究较少,还不能得出确切结论。

2 牵张应力与成骨细胞凋亡

牵张应力可模拟在骨骼受压形变时对成骨细胞的牵张作用。由于成骨细胞在完成骨形成后大部转为骨细胞并被包裹入骨基质,未转化的成骨细胞主要位于骨组织边缘和骨膜附近,因此骨骼受到外力形变时成骨细胞会随之受到牵张力的影响^[15]。加载牵张应力的研究常将细胞接种至专用硅胶弹性膜上,并进行周期性牵拉。牵张应力的强度以该强度下细胞的形变量表示,并通常以百分率方式

表示^[16-17]。

目前,有关牵张应力的研究已经比较完善。如 Chen 等^[15]的研究对不同强度和不同加载时间下成骨细胞的凋亡情况均进行了实验,实验证明,牵张应力导致形变在 6 % 且作用时间小于 4 h 时,加载牵张应力可显著抑制成骨细胞凋亡;而形变在 12 % 时,只有应力加载时间在 2 h 以内时可起到较弱抑制凋亡作用。所有强度的应力加载均会在一定时间后转而促进成骨细胞凋亡,且该时间随加载强度与最适强度数值的差值增大而增大。而 Li 等^[16]则进一步研究了不同强度牵张应力作用时成骨细胞内凋亡相关蛋白的表达情况。在他们的研究中,拉伸 6 % 时牵张应力可降低 caspase-3 和 caspase-8 的活性并增强 bcl-2 表达,从而抑制由血清饥饿引起的成骨细胞凋亡;而当应力强度增强至拉伸 12 % 时, caspase-3 表达反而被促进, caspase-8 和 Bax 的表达随之上升,从而促进成骨细胞凋亡。因此,可以认为 bcl-2/bax 蛋白家族在牵张应力调控成骨细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用,由于该家族蛋白的含量与比例在牵张应力作用下随加载时间延长而发生变化,进而导致牵张应力作用下的成骨细胞出现与时间相关的抗凋亡-促凋亡作用转化现象。同时, Liu 等^[18]在他们的研究中指出,12 % 循环拉伸应力可上调成骨细胞中微小 RNA(miRNA) 的表达,从而有效抑制成骨细胞中 Smad5 的表达,进而对骨形成过程产生积极影响。

对上述研究内容进行综合分析,可以认为牵张应力信号与流体剪切应力信号对于成骨细胞的影响相似,同样存在多效性,主要的影响因素均包括力学信号的强度,由于以时间为变量的研究较少,牵张应力的加载时间对于成骨细胞凋亡的影响尚难以量化。

3 静水压力与成骨细胞凋亡

静水压力(hydrostatic pressure, HP)可模拟骨组织直接承受压力时成骨细胞受到的力作用。骨内骨液的加压在骨力学中起着至关重要的作用,因为它提供了静水压力,并迫使间质液和骨髓分别流经腔隙-小管系统(LCS)和髓腔内,同时向骨细胞和成骨细胞施加流体剪切应力^[19]。有研究指出,静水压力可均匀地施加于所有细胞,因此培养基流动所导致的养分迁移等因素对静水压力研究的影响要小于上述两种负荷相关的研究^[20]。而成骨细胞对静水压力的敏感性要大于对流体剪切应力的敏感性^[21]。

由于任何使用培养基进行的应力加载研究都无法完全去除静水压力的作用,因此,使用静水压力的细胞研究有着重要的意义。

目前,对于静水压力与成骨细胞凋亡间关系的研究相对较少。现有的静水压力研究主要包括直接对培养细胞的培养基加载压力和外加气压以间接加载压力两种^[17,22],为模拟生理条件下静水压力对骨组织的作用情况,当前实验研究多采用循环静水压力^[2,22]。Takai 等^[17]的研究给小梁骨外植体模型施加动态静水压,然后通过骨组织形态计量学方法证明,在加载第 8 天,动态静水压显著增强了成骨细胞活性,但该研究同时指出,该作用与模型中活骨细胞的数量存在关联性,故难以确定静水压力对于单独存在的成骨细胞具有类似作用。Gardinier 等^[23]的研究及上述研究都认为,静水压力对细胞的作用与细胞间及细胞内的信号蛋白如 NF- κ B、磷脂酶 C 等相关,而非对单个细胞的独立作用。因此,静水压力研究往往使用立体模型进行。然而由于缺乏有效的技术手段,对生理静水压力的直接测量及其在体内的效果评估仍然受到限制^[24]。

由于缺乏其他类似研究佐证,上述研究的结论仅具有学术上的指导意义。目前,静水压力对成骨细胞凋亡具体影响的量化研究仍较少。现有研究仅能确定较低强度静水压力对成骨细胞有积极作用^[25]。然而,根据流体剪切应力对成骨细胞作用影响与牵张应力对成骨细胞作用影响的相似性,可以猜想静水压力与上述两种应力对成骨细胞的作用也存在着一定的相似性,即与时间和强度相关的抗凋亡-促凋亡转化现象,但这种猜想仍有待于未来研究的证实。

4 讨论

综合看来,目前应力相关研究主要围绕着一个基本问题,即力学负荷对成骨细胞造成影响的具体机制。如大多数关于流体剪切应力的研究都指出,流体剪切应力可以抑制 TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡^[11]。除此之外,ERK5 信号通路^[26-27]、PI3K/AKT 途径^[28]等均与应力加载抑制或促进成骨细胞凋亡有关。因此,可以认为力学负荷对成骨细胞凋亡的影响是多途径并受多种信号因子调控的。

根据上述研究综合分析,可以推测某些力学信号对于成骨细胞的影响存在与时间和强度相关的多效性,即抗凋亡-促凋亡转化现象,主要表现为:①当应力类型与作用时间均不变时,低于最适强度的流

体剪切应力可抑制成骨细胞凋亡,而高于最适强度的流体剪切应力则会促进成骨细胞凋亡,实际加载强度与最适存活强度相差越大,其抑/促凋亡作用就越强^[14];②当应力类型与加载强度不变时,随作用时间延长,流体剪切应力抗成骨细胞凋亡的作用逐渐增强,并在特定时间点达到峰值,在该时间点之后,流体剪切应力抗凋亡的作用随作用时间延长而减弱,反而会出现随时间增强的促凋亡作用^[11-13]。机械牵张应力与流体剪切应力相似,存在加载强度不同导致的多效性,但由于长时间高强度加载的研究较少,因此仍需要未来研究验证^[16-17]。静水压力有很大可能同样存在类似的抗凋亡-促凋亡转化现象,有待未来研究证实。

5 研究现状与展望

受限于研究条件,当前的相关研究大多仅针对一种应力,甚至一种应力的一种特殊类型,而且目前大多数研究针对单一种类细胞的研究,难以模拟较为复杂的生理状况下受力模式及信号传导情况^[29]。对于多种应力作用于不同类型细胞间的比较研究较少。因此,对不同力学负荷加载进行比较可能是未来的研究方向。在机体生理条件下,力学信号主要作用于骨组织整体,而目前研究多针对某一单独的细胞,未来研究应着重模拟骨细胞、破骨细胞与成骨细胞作为整体对力学信号的反应^[30]。

根据现有的研究,可以发现各种应力对成骨细胞的影响具有相似性^[14,16-17]。亚细胞水平的研究也证明,各种应力影响成骨细胞凋亡的信号通路等存在重合,如流体剪切应力与牵张应力均可通过 bcl-2/bax 蛋白家族调控成骨细胞的凋亡过程^[14,17]。因此,未来对于应力加载与成骨细胞凋亡关系的研究应更多地着眼于各种应力加载影响的共同点以及多种力学负荷共同作用对成骨细胞的影响。或许可根据各不同力学负荷间的共同点提出一个包括多种力学信号和细胞内信号通路在内的统一性理论。而与力学信号加载时间和强度相关的抗凋亡-促凋亡转化现象很有可能是这个统一性理论的突破口。同时,由于大多数研究为体外细胞研究,成果难以转化用于临床,未来研究应更加注重力学负荷在以原发性骨质疏松为代表的相关疾病的治疗中可能起到的作用^[31]。

【参 考 文 献】

[1] Zedong Y, Pan W, Junjie W, et al. Fluid shear stress improves

morphology, cytoskeleton architecture, viability and regulates cytokine expression in a time-dependent manner in MLO-Y4 cells [J]. Cell Biol Int, 2018,42(10):1410-1422.

[2] Zhang Jing, Wan Qilong, Yu Xin, et al. Low-dose nicotine reduces the homing ability of murine BMSCs during fracture healing[J]. Am J Transl Res, 2018,10(9):2796-2809.

[3] Liu L, Li H, Cui Y, et al. Calcium channel opening rather than the release of ATP causes the apoptosis of osteoblasts induced by overloaded mechanical stimulation [J]. Cell Physiol Biochem, 2017,42(2):441-454.

[4] Tian X, Cong F, Guo H, et al. Downregulation of Bach1 protects osteoblasts against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in vitro by enhancing the activation of Nrf2/ARE signaling[J]. Chem Biol Interact, 2019,309:108706.

[5] Chen JC, Jacobs CR. Mechanically induced osteogenic lineage commitment of stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4(5):107.

[6] Li Xuehua, Han Li, Nookaew Intawat, et al. Stimulation of Piezo1 by mechanical signals promotes bone anabolism [J]. Elife, 2019,8:e49631.

[7] Hughes JM, Petit MA. Biological underpinnings of Frost's mechanostat thresholds: The important role of osteocytes [J]. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2010, 10(2):128-135.

[8] 王大维,王浩,董福生.不同应力刺激对成骨细胞影响的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(5):652-656.

[9] Bakker A, Klein-Nulend J, Burger E. Shear stress inhibits while disuse promotes osteocyte apoptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 320(4):1163-1168.

[10] Wang H, Young SR, Gerard-O' Riley R, et al. Blockade of TNFR1 signaling: A role of oscillatory fluid shear stress in osteoblasts [J]. J Cell Phys, 2011, 226(4):1044-1051.

[11] Pavalko FM, Gerard RL, Ponik SM, et al. Fluid shear stress inhibits TNF-alpha-induced apoptosis in osteoblasts: A role for fluid shear stress-induced activation of P13-kinase and inhibition of caspase-3 [J]. J Cell Phys, 2010, 194(2):194-205.

[12] 张成俊,夏亚一,王常德,等.流体切应力下 SIVA-1 凋亡诱导因子促成骨细胞增殖分化的双向调节作用 [J]. 中国微创外科杂志, 2009, 15(8):741-746.

[13] Liu Jin-Song, Ma Jian-Feng, Wang Qi, et al. Effects of fluid shear stress on apoptosis of osteoblasts and expression of bcl-2, Bax and caspase-3 [J]. Shanghai Kou Qiang Yi Xue, 2008, 17(5):501-504.

[14] Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, et al. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(5):793-802.

[15] Chen Xi, Guo Jianmin, Zou Jun. The effect of mechanical strain on differentiation and apoptosis of osteoblasts in mice [J]. Chin J Sports Med, 2018,37(6):491-495.

[16] Li X, Zhang XL, Shen G, et al. Effects of tensile forces on serum deprivation-induced osteoblast apoptosis: expression analysis of caspases, Bcl-2, and Bax [J]. Chin Med J, 2012, 125(14):2568.

- [17] Takai E, Mauck RL, Hung CT, et al. Osteocyte viability and regulation of osteoblast function in a 3D trabecular bone explant under dynamic hydrostatic pressure [J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(9):1403-1410.
- [18] Liu MY, Sun F, Feng YX, et al. MicroRNA-132-3p represses Smad5 in MC3T3-E1 osteoblastic cells under cyclic tensile stress [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 458(1-2):143-157.
- [19] Stavenschi E, Corrigan MA, Johnson GP, et al. Physiological cyclic hydrostatic pressure induces osteogenic lineage commitment of human bone marrow stem cells: a systematic study [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):276.
- [20] Sande MAJVD, Judith VMG Bovée, Domselaar MV, et al. Successful disinfection of femoral head bone graft using high hydrostatic pressure [J]. *Cell Tissue Bank*, 2018, 19(3):333-340.
- [21] Evans CE, Mylchreest S, Andrew JG. Age of donor alters the effect of cyclic hydrostatic pressure on production by human macrophages and osteoblasts of sRANKL, OPG and RANK [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2006, 7:21.
- [22] Henstock JR, Rotherham M, Rose JB, et al. Cyclic hydrostatic pressure stimulates enhanced bone development in the foetal chick femur in vitro [J]. *Bone*, 2013, 53(2):468-477.
- [23] Gardinier JD, Gangadharan V, Wang L, et al. Hydraulic pressure during fluid flow regulates purinergic signaling and cytoskeleton organization of osteoblasts [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2014, 7(2):266-277.
- [24] Ren Li, Yang Pengfei, Wang Zhe, et al. Biomechanical and biophysical environment of bone from the macroscopic to the pericellular and molecular level [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2015, 50:104-122.
- [25] Scheiner S, Pivonka P, Hellmich C. Poromicromechanics reveals that physiological bone strains induce osteocyte-stimulating lacunar pressure [J]. *Biomech Model Mechanobiol*, 2016, 15(1):9-28.
- [26] Geng Bin, Wang Cuifang, Zhang Bo, et al. Fluid shear stress inhibits TNF- α -induced osteoblast apoptosis via ERK5 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 466(1):117-123.
- [27] Ding N, Geng B, Li Z, et al. Fluid shear stress promotes osteoblast proliferation through the NFATc1-ERK5 pathway [J]. *Connect Tissue Res*, 2019, 60(2):107-116.
- [28] Kennedy OD, Lendhey M, Mauer P, et al. Microdamage induced by in vivo Reference Point Indentation in mice is repaired by osteocyte-apoptosis mediated remodeling [J]. *Bone*, 2017, 95:192-198.
- [29] Zeng Q, Wang Y, Gao J, et al. miR-29b-3p regulated osteoblast differentiation via regulating IGF-1 secretion of mechanically stimulated osteocytes [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24:11.
- [30] Riquelme MA, Cardenas ER, Xu H, et al. The role of connexin channels in the response of mechanical loading and unloading of bone [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3):1146.
- [31] Wang X, He Y, Tian S, et al. Fluid shear stress increases osteocyte and inhibits osteoclasts via downregulating receptor-activator of nuclear factor κ B (RANK)/osteoprotegerin expression in myeloma microenvironment [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:5961-5968.

(收稿日期: 2020-02-29;修回日期: 2020-06-27)

(上接第 420 页)

- [6] 梁祖建, 吴春飞, 张百挡, 等. 补肾调肝方治疗高龄原发性骨质疏松症 32 例临床观察 [J]. *中医杂志*, 2013, 8(54):681-683.
- [7] 于海洋, 汪海燕, 徐克武, 等. 补肾固本方治疗绝经后骨质疏松的临床研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(4):509-513.
- [8] 万雷, 黄宏兴, 蔡桦, 等. 补肾健脾活血方对老年女性骨质疏松患者疼痛和血清 β -CTx、N-MID、T-PINP 的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2015, 42(9):1690-1692.
- [9] 仇宋明. 左归丸治疗原发性骨质疏松症的 Meta 分析 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [10] 刘振涛, 张怡元, 林煜, 等. 二至丸促进围绝经期妇女成骨细胞增殖的分子机制 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(4):524-529.
- [11] 徐岩, 宋囡, 任艳玲. 左、右归丸对大鼠骨髓间充质干细胞成骨及成脂诱导的研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 21(8):946-948.
- [12] 宋囡, 何文智, 王智民, 等. 左、右归丸及其拆方对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(7):1268-1274.
- [13] 葛心慈, 徐岩, 任艳玲. 左归丸、右归丸及其拆方对去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞成脂诱导的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(21):99-103.
- [14] 张静, 孙振双, 郭海英. 温肾固疏方对 PMOP 大鼠骨密度及细胞因子表达的影响 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(1):53-59.
- [15] 朱媛媛, 郭海英, 孙振双, 等. 温肾固疏方对去势大鼠骨组织中 I 型胶原及组织蛋白酶 K 表达的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(4):533-538.

(收稿日期: 2020-06-02;修回日期: 2020-06-27)