

· 综述 ·

益生菌/益生元调节骨代谢机制的研究进展

程引 张治国*

中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 03-0435-05

摘要: 近年来, 肠道微生物影响宿主骨代谢得到了深入研究, 特别是益生菌/益生元通过调节肠道微生物防治代谢性骨病的研究取得了长足的进步。本文基于相关文献, 从调节免疫功能、调节肠上皮屏障功能、调节短链脂肪酸代谢等方面, 对益生菌/益生元影响骨代谢、防止骨量丢失的机制进行综述, 以期对代谢性骨病的防治提供新思路、新方法。

关键词: 益生菌/益生元; 骨代谢; 免疫调节; 肠上皮屏障功能; 短链脂肪酸

Recent advances in the regulatory mechanism of probiotics and prebiotics in bone metabolism

CHENG Yin, ZHANG Zhiguo*

Institute of Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

* Corresponding author: ZHANG Zhiguo, Email: zzgtem@163.com

Abstract: In recent years, the regulatory effect of gut microbiota on the bone metabolism has been deeply studied. There is great progress in the research of protective effect of bone diseases with probiotics and prebiotics by regulating intestinal flora. This article reviews the regulatory mechanism of probiotics/prebiotics in bone metabolism (regulating immune function, intestinal epithelial barrier function, and short-chain fatty acid metabolism) based on the related literature. The aim of this review is to provide new ideas or method for the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: probiotics/prebiotics; osteoporosis; immunomodulation; intestinal epithelial barrier function; short-chain fatty acids

在整个生命周期中, 骨骼为保持其结构和功能的完整性, 需要不断地进行重建活动。在成年人的骨骼中, 每年更换原有骨骼的 5% 到 10%^[1]。骨重建活动主要由主导骨吸收的破骨细胞 (osteoclasts, OC) 和主导骨形成的成骨细胞 (osteoblasts, OB) 介导, 并受多种细胞因子、激素、生长因子和转录因子的调节^[2-3]。各种因素直接或间接影响骨重建, 导致骨吸收/骨形成失衡, 是骨代谢相关疾病的典型特征。其中骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种代谢性骨骼疾病, 以骨量降低、骨微观结构破坏、骨脆性增加, 易发生骨折为特征, 是骨吸收/骨形成失衡典型例子^[4]。有研究^[5]表明, 年龄 50 岁及以上的人群, 约有三分之一的女性和五分之一的男性会因骨质疏松症而发生骨折, 尤其是髋部骨折具有高致残率和致死率^[6]。随着人类微生物组学研究的不断

深入, 肠道微生物对于健康和疾病的影响成为热点, 而肠道微生物与骨代谢的关系也受到越来越多研究者的关注^[7-9]。

“微生物组” (microbiome) 一词由诺贝尔奖获得者 Josh Lederberg 最先提出, 是指微生物、微生物基因组以及它们在特定环境中的相互作用的集合^[10]。肠道微生物 (gut microbiota, GM) 是人体中数量最多、种类最丰富和作用机制最复杂的微生物群, 也是目前与机体疾病关联研究最多的微生物群。研究显示, GM 与炎症性肠病^[11]、结直肠癌^[12]、肥胖^[13]、糖尿病^[14]、骨质疏松症^[7-9]等相关, 甚至可能成为抗菌素耐药基因的储存库^[15]。Ohlsson 等^[16]提出“骨微生物学” (osteomicrobiology) 概念, 以强调二者密切的相互关系, 认为 GM 可能通过改变全身及骨髓的免疫状态调节 OC 生成进而影响骨代谢, 并指出 GM 可能成为治疗 OP 和预防骨折的一个新的治疗靶点。

既往关于 GM 影响骨代谢的动物实验主要基于三种模式, 给予益生菌和/或益生元干预, 使用广谱

基金项目: 国家自然科学基金 (81473450); 北京市自然科学基金 (7172148); 中国中医科学院自主选题项目 (YZ-1780); 全国中医药创新骨干人才培养项目 [国中医药人教函 (2019) 128 号]

* 通信作者: 张治国, Email: zzgtem@163.com

抗生素治疗,以及在无菌条件下培养^[17]。益生菌被定义为在给予足够量时对健康有益的活性微生物^[18],而益生元是促进有益微生物生长和/或促进微生物代谢物质有益变化的不可消化的可发酵食品成分^[19]。国内外多项研究论述了益生菌/益生元补充剂可通过改变肠道菌群状态影响骨代谢,且在多种益生菌菌株和不同疾病的实验动物模型中得到证实^[20-22]。本文结合相关文献试从调节免疫功能、肠上皮屏障功能、短链脂肪酸代谢产物等几个方面阐述益生菌/益生元影响骨代谢的机制。

1 调节免疫功能

前人的研究证实,GM可在生理或疾病状态下通过CD4⁺T细胞等炎症细胞因子的表达来调节骨生成或骨量丢失,从而影响小鼠的骨量^[23-24]。由于GM数量庞大、种类庞杂,对于其具体作用机制的阐述尚不充分,然而越来越多的研究证明益生菌/益生元可能是GM调节骨量的主要机制之一^[25]。

Ohlsson等^[26]从小鼠去卵巢前2周开始,给其饮用副乳杆菌DSM13434和副乳杆菌DSM13434、植物乳杆菌DSM-15312、DSM-15313的混合制剂,6周后发现这些益生菌均改变了小鼠的免疫状态,抑制了去卵巢(ovariectomized, OVX)诱导的骨吸收。Britton等^[27]以12周龄的OVX小鼠为研究对象,发现罗伊氏乳杆菌(*L. reuteri*)治疗能够抑制CD4⁺T淋巴细胞的增加和肿瘤坏死因子信号的分泌从而抑制OC的产生,阻止了OVX诱导的RANKL水平的增加,也降低了破骨细胞标志物TRAP5 mRNA水平。Collins等^[28]使用Rag1基因敲除(缺乏成熟T和B淋巴细胞)小鼠进行实验,同样发现淋巴细胞在介导*L. reuteri*6475抑制骨量丢失中起着关键作用;用肠系膜淋巴结和CD3⁺T细胞进行的体外研究发现,*L. reuteri*6475以浓度依赖的方式增加IL-10和干扰素 γ 的表达;其分泌的因子还可增强MC3T3-E1成骨细胞中的转录因子Osterix的表达。T细胞各亚型都能够影响骨细胞,尤其是调节性T细胞(regulatory cells, Treg)和辅助性T细胞17(Th17细胞),Treg细胞抑制OC生成,Th17细胞诱导OC生成,二者的动态平衡在人体内各种炎症条件下十分重要^[29]。研究发现嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, LA)可升高OVX小鼠体内Treg细胞数量,降低Th17细胞数量,通过调节Treg-Th17细胞平衡增加骨量;此外,LA还可抑制促进骨吸收的细胞因子(IL-6、IL-17、RANKL、TNF- α)表达,并诱导抑

制骨吸收的细胞因子(IL-10和IFN- γ)表达,进而防止OVX导致的骨量丢失^[30]。这些研究表明益生菌/益生元通过影响免疫功能或抑制骨吸收、或促进骨形成、或二者兼之,最终起到调节骨代谢,延缓OP发生发展的作用。

2 调节肠道上皮屏障功能

肠上皮屏障功能受损是GM介导继发性骨质疏松症及绝经后骨质疏松症发生的一个重要环节。肠上皮是宿主和肠道微生物之间的屏障,肠道通过细胞旁间隙控制肠腔和上皮黏膜下层之间的分子运输。在生理条件下,细胞旁间隙阻止半径大于1.5 nm的分子通过^[31]。病理情况下,如OVX小鼠性激素缺乏可导致肠道缝隙连接蛋白(如Claudin 2、3和以及JAM3)等分子的转录水平降低,肠道通透性增加从而造成骨量丢失^[32]。而相关研究发现益生菌/益生元在维持肠道屏障功能,预防骨质疏松症方面有着令人惊喜的效果。

Li等^[21]的研究发现无菌(germ free, GF)小鼠性激素缺乏不会导致骨量丢失,说明了GM在介导骨量丢失中的重要作用。而常规喂养的去势小鼠被分别饲喂鼠乳糖李杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)和VSL#3TM后,可导致肠道通透性降低,延缓去卵巢引起的骨量丢失。另一项研究发现,普通小鼠经抗生素干预导致肠道微生态失衡,肠道通透性显著增加,引发骨小梁破坏和骨量丢失;经饲喂*L. reuteri*可降低抗生素治疗后厚壁菌/拟杆菌的比例,防止肠上皮屏障破坏,并减少股骨和椎骨小梁的骨量丢失^[33]。益生菌/益生元除降低肠道通透性、改变肠道菌群比例外,还可通过其他通路调节肠上皮屏障功能,预防OP发生。如提高肠上皮细胞紧密连接相关分子水平^[34];调控肠上皮黏膜表观遗传及矿物质吸收信号通路^[35]。

3 调节短链脂肪酸代谢

短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)是由食物中不可消化的碳水化合物(主要是膳食纤维)经肠道细菌发酵而产生。现有研究表明,SCFAs通过多种作用机制影响骨代谢过程,如直接抑制OC分化^[36],通过Treg细胞促进OB分化^[37]以及降低肠道pH值促进钙的吸收^[38]等。肠道中SCFAs的类型和含量不仅取决于所摄取食物纤维的类型和肠道消化食物的持续时间,还取决于肠道微生物群的组成和活性,如乙酸由许多类型的细菌产生的,而丙

酸和丁酸只由有限的几种细菌产生^[39-40]。益生元/益生菌主要通过改变肠道微生物的菌群结构来调节 SCFAs 的含量和类型,从而影响骨代谢。

Tyagi 等^[41]给予常规饲养的 10 周龄雌性小鼠口服 LGG 4 周,发现补充 LGG 不仅改变肠腔内微生物多样性,还可增加梭状芽孢杆菌的比例,使小肠组织和血清中丁酸水平升高,骨形成标志物也随之增加。另一项研究表明,低聚果糖(fructooligosaccharide, FOS)和低聚半乳糖(galactooligosaccharides, GOS)等益生元增加动物骨密度的机制主要是调节肠道中双歧杆菌的比例,从而提高 SCFAs 的含量以及有效成分的利用率^[42]。Rodrigues 等^[43]的研究结果佐证了这一观点,FOS 或长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*, *B. longum*)喂养大鼠 4 周后,大鼠盲肠总厌氧菌数、盲肠重量、盲肠内及外周血丙酸浓度以及骨质量、骨强度均高于对照组。虽然补充不同种类的益生菌/益生元发酵

后产生不同类型、不同浓度的 SCFAs^[44],但其最终都可正向调节骨代谢,促进骨吸收/骨形成平衡,有效防治 OP。

4 其他机制

既往诸多研究已证实,益生菌/益生元在矿物质代谢中起到重要作用。无论在生理或病理状态下,益生菌/益生元均可增强啮齿动物和人类的钙吸收^[45];菊粉提高骨矿物质含量的作用在动物实验和临床研究中均得到了证实^[46];经 FOS 干预的胃切除大鼠钙吸收增加^[47];菊糖和果寡糖都可增加 OVX 大鼠的钙吸收^[48];雪莲果粉和长双歧杆菌喂养的大鼠胫骨钙、磷、镁含量显著高于对照组,从而起到预防 OP 的作用^[43]。另外,研究发现长双歧杆菌可以通过上调 SPARC 和 BMP-2 基因的表达来促进成骨过程,增加骨密度^[49]。

益生菌/益生元调节骨代谢机制见表 1。

表 1 益生菌/益生元调节骨代谢机制
Table 1 The regulatory mechanism of probiotics and prebiotics in bone metabolism

项目	骨形成	骨吸收
调节免疫功能	①增强成骨细胞转录因子 Osterix 的表达; ②调节 Treg-Th17 细胞平衡,促进骨形成	①降低 RANKL/OPG 比值; ②抑制骨髓 CD4 ⁺ T 淋巴细胞增殖,减少破骨细胞的产生; ③抑制 IL-6、IL-17、RANKL、TNF- α 等促进骨吸收的因子
调节肠道上皮屏障功能	改变肠道菌群构成,下调可诱导肠屏障破坏的菌群	诱导肠紧密连接蛋白的表达,维持肠屏障功能以抑制骨吸收
调节短链脂肪酸代谢	①调节 Treg 细胞促进成骨细胞分化; ②降低肠道 PH 值促进钙的吸收; ③提高丁酸、丙酸水平促进骨形成	①直接抑制破骨细胞分化; ②提高丁酸、丙酸水平抑制骨吸收
其他	①直接调节钙、磷、镁等骨矿物质的吸收; ②上调 SPARC 和 BMP-2 基因的表达	

5 展望

骨微生物学是指有关微生物和微生物群在健康和疾病中的作用以及微生物群调节出生后骨发育、骨老化和病理性骨量丢失的机制的调查^[16]。肠道微生物作为人体最大的微生物群体,在既往研究中大多采用两类方法研究其对骨代谢的作用,①调节微生物数量(通过抗生素干预或使用无菌小鼠);②调节微生物种类(通过添加益生元或益生菌)。由于肠道微生物群的个体间差异较大,益生菌的来源、数量、种类、功能也难以一致,且以往大多数研究都基于动物模型,若要设计进行规范、标准、成规模的临床研究具有一定难度。

本文从调节免疫功能、调节肠上皮屏障功能、调节短链脂肪酸代谢等方面综述了益生菌/益生元影

响骨代谢的机制。不难发现这些机制之间有一定关联,同一种益生菌可能发挥不同的功能,同一机制也可由不同的益生菌介导。在未来,除进一步发现筛选菌株和探索相关机制,多菌株的联合使用以实现调节骨代谢功能的优化应是一个研究方向。

【参考文献】

- [1] Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone [J]. Nat Rev Rheumatol, 2009, 5(12): 667-676.
- [2] Takayanagi H. New immune connections in osteoclast formation [J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1192:117-123.
- [3] Long F. Building strong bones: molecular regulation of the osteoblast lineage [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 13(1): 27-38.
- [4] 秦洁斌,宋洁富,薛旭红. 原发性骨质疏松症的病因学研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2016, 22(4):511-514.

- [5] Tatangelo G, Watts J, Lim K, et al. The cost of osteoporosis, osteopenia, and associated fractures in Australia in 2017 [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(4):616-625.
- [6] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025 [J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(3):465-475.
- [7] Yan J, Herzog JW, Tsang K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(47):E7554-E7563.
- [8] Guss JD, Horsfield MW, Fontenele FF, et al. Alterations to the Gut Microbiome Impair Bone Strength and Tissue Material Properties [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(6):1343-1353.
- [9] Zaiss MM, Jones RM, Schett G, et al. The gut-bone axis: how bacterial metabolites bridge the distance [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(8):3018-3028.
- [10] Jones RM, Mülle JG, Pacifici R. Osteomicrobiology: The influence of gut microbiota on bone in health and disease [J]. *Bone*, 2018, 115:59-67.
- [11] Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(3):382-392.
- [12] Zhu Q, Gao R, Wu W, et al. The role of gut microbiota in the pathogenesis of colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3):1285-1300.
- [13] Nicolai E, Boem F, Russo E, et al. The gut-brain axis in the neuropsychological disease model of obesity: a classical movie revised by the emerging director "microbiome" [J]. *Nutrients*, 2019, 11(1):156.
- [14] Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control [J]. *Nature*, 2013, 498(7452):99-103.
- [15] Penders J, Stobberingh EE, Savelkoul PH, et al. The human microbiome as a reservoir of antimicrobial resistance [J]. *Front Microbiol*, 2013, 4:87.
- [16] Ohlsson C, Sjögren K. Effects of the gut microbiota on bone mass [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2015, 26(2):69-74.
- [17] Charles JF, Ermann J, Aliprantis AO. The intestinal microbiome and skeletal fitness: Connecting bugs and bones [J]. *Clin Immunol*, 2015, 159(2):163-169.
- [18] 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌的科学共识 (2020年版) [J]. *中国食品学报*, 2020, 20(5):303-307.
- [19] Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, et al. Expert consensus document: The International scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(8):491-502.
- [20] Zhang J, Motyl KJ, Irwin R, et al. Loss of bone and Wnt10b expression in male type 1 diabetic mice is blocked by the probiotic *Lactobacillus reuteri* [J]. *Endocrinology*, 2015, 156(9):3169-3182.
- [21] Li JY, Chassaing B, Tyagi AM, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6):2049-2063.
- [22] Collins FL, Irwin R, Bierhalter H, et al. *Lactobacillus reuteri* 6475 Increases Bone Density in Intact Females Only under an Inflammatory Setting [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0153180.
- [23] Sjögren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(6):1357-1367.
- [24] Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(4):403-440.
- [25] McCabe L, Britton RA, Parameswaran N. Prebiotic and probiotic regulation of bone health: role of the intestine and its microbiome [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13(6):363-371.
- [26] Ohlsson C, Engdahl C, Fåk F, et al. Probiotics protect mice from ovariectomy-induced cortical bone loss [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e92368.
- [27] Britton RA, Irwin R, Quach D, et al. Probiotic *L. reuteri* treatment prevents bone loss in a menopausal ovariectomized mouse model [J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229(11):1822-1830.
- [28] Collins FL, Rios-Arce ND, Schepper JD, et al. Beneficial effects of *Lactobacillus reuteri* 6475 on bone density in male mice is dependent on lymphocytes [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):14708.
- [29] McGovern JL, Nguyen DX, Notley CA, et al. Th17 cells are restrained by Treg cells via the inhibition of interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis responding to anti-tumor necrosis factor antibody therapy [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(10):3129-3138.
- [30] Dar HY, Shukla P, Mishra PK, et al. *Lactobacillus acidophilus* inhibits bone loss and increases bone heterogeneity in osteoporotic mice via modulating Treg-Th17 cell balance [J]. *Bone Rep*, 2018, 8:46-56.
- [31] König J, Wells J, Cani PD, et al. Human Intestinal Barrier Function in Health and Disease [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7(10):e196.
- [32] Fasano A. Leaky gut and autoimmune diseases [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2012, 42(1):71-78.
- [33] Schepper JD, Collins FL, Rios-Arce ND, et al. Probiotic *Lactobacillus reuteri* prevents postantibiotic bone loss by reducing intestinal dysbiosis and preventing barrier disruption [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(4):681-698.
- [34] Anderson RC, Cookson AL, McNabb WC, et al. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation [J]. *BMC Microbiol*, 2010, 10:316.
- [35] Weaver CM. Diet, gut microbiome, and bone health [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13:125-130.
- [36] Kim DS, Kwon JE, Lee SH, et al. Attenuation of rheumatoid inflammation by sodium butyrate through reciprocal targeting of HDAC2 in osteoclasts and HDAC8 in T cells [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1525.
- [37] Arpaia N, Campbell C, Fan X, et al. Metabolites produced by

- commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation [J]. *Nature*, 2013, 504(7480):451-455.
- [38] 宋学文,黄晋,李宁,等. 肠道菌群代谢产物及酶对骨代谢的影响机制初探[J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31(10):1227-1231.
- [39] Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism [J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(3):189-200.
- [40] Reichardt N, Duncan SH, Young P, et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota [J]. *ISME J*, 2014, 8(6):1323-1335.
- [41] Tyagi AM, Yu M, Darby TM, et al. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via T regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression [J]. *Immunity*, 2018, 49(6):1116-1131.
- [42] Scholz-Ahrens KE, Ade P, Marten B, et al. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure [J]. *J Nutr*, 2007, 137(3 Suppl 2):838S-846S.
- [43] Rodrigues FC, Castro AS, Rodrigues VC, et al. Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats [J]. *J Med Food*, 2012, 15(7):664-670.
- [44] 刘露,张雁,邓媛元,等. 肠道益生菌利用山药低聚糖体外发酵产短链脂肪酸的研究[C]. 中国食品科学技术学会(Chinese Institute of Food Science and Technology).中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集,2018:164-165.
- [45] 李路娇,李梅. 肠道菌群与骨骼代谢[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(3):317-322.
- [46] 刘小杰,赵允,童纪峰. 菊粉与骨健康的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2008(S1):151-153.
- [47] Zafar TA, Weaver CM, Zhao Y, et al. Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats [J]. *J Nutr*, 2004, 134(2):399-402.
- [48] Weaver CM, Martin BR, Nakatsu CH, et al. Galactooligosaccharides improve mineral absorption and bone properties in growing rats through gut fermentation [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(12):6501-6510.
- [49] Parvaneh K, Ebrahimi M, Sabran MR, et al. Probiotics (*Bifidobacterium longum*) Increase Bone Mass Density and Upregulate Sparc and Bmp-2 Genes in Rats with Bone Loss Resulting from Ovariectomy [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:897639.

(收稿日期: 2020-04-03;修回日期: 2020-06-29)

(上接第 412 页)

- [4] Thiebaud D, Seclerc RJ. Selective estrogen receptor modulators: mechanism of action and clinical experience. Focus on raloxifene [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2001, 13(4):331-336.
- [5] McClung M, Harris ST, Miller PD, et al. Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday [J]. *Am J Med*, 2013, 126(1):13-20.
- [6] Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease[J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(2):155-192.
- [7] Inzerillo AM, Zaidi M, Huang CL. Calcitonin: physiological actions and clinical applications[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2004, 17(7):931-940.
- [8] Tashjian AH Jr, Gagel RF. Teriparatide [human PTH(1-34)]: 2.5 years of experience on the use and safety of the drug for the treatment of osteoporosis[J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(3):354-365.
- [9] Miller PD, Hattersley G, Riis BJ, et al. Effect of abaloparatide vs placebo on new vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2016, 316(7):722-733.
- [10] Zhao Guoyang, Zhao Liping, He Yinfeng, et al. A comparison of the biological activities of human osteoblast hFOB1.19 between iron excess and iron deficiency[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2012, 150(1-3):487-495.
- [11] 付殷,孙贵才,欧阳玉龙,等. 氯化锂联合淫羊藿苷对成骨细胞增殖分化的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(9):1221-1225.
- [12] 王长梅,景莉君,市英杰,等. 利用斑马鱼模型评价川续断皂苷 V 和 VI 的抗骨质疏松活性[J]. *中国药科大学学报*, 2014, 45(1):88-91.
- [13] 杨国柱,段涛,卢丽,等. 桃红四物汤对泼尼松诱导斑马鱼骨质疏松的治疗作用[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(8):1007-1021.
- [14] He Hanliang, Wang Chunqing, Tang Qifeng, et al. Possible mechanisms of prednisolone-induced osteoporosis in zebrafish larva [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101:981-987.
- [15] 穆树林,张柳,田发明,等. 甲状旁腺激素 1-34、阿仑膦酸钠、辛伐他汀治疗大鼠骨质疏松效果的比较[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(46):6854-6860.
- [16] Xie Zhongjie, Weng Sheji, Li Hang, et al. Teriparatide promotes healing of critical size femur defect through accelerating angiogenesis and degradation of β -TCP in OVX osteoporotic rat model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96:960-967.
- [17] 张文韬,陈勋,宋涛,等. 缺氧诱导因子抑制剂对去卵巢大鼠骨质疏松症治疗效果的研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(12):1601-1605.
- [18] Liu Feixiang, Feng Tana, Tong Weiwei, et al. Effect of Zuoguiwan on osteoporosis in ovariectomized rats through RANKL/OPG pathway mediated by β 2AR [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103:1052-1060.
- [19] 药物单次给药毒性研究技术指导原则[S]. <http://www.cde.org.cn/zdzyz.do?method=largePage&id=189>.

(收稿日期: 2020-05-08;修回日期: 2020-06-24)