

· 论 著 ·

芪骨胶囊治疗绝经后骨质疏松症的分子机制

张洁帆^{1,2} 许坤^{1,2} 陈元川^{1,2} 郭海玲^{1,2} 庞坚^{1,2*} 赵咏芳^{1,2}

1.上海中医药大学附属曙光医院石氏伤科医学中心,上海 200120

2.上海市中医药研究院骨伤科研究所,上海 200120

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021)08-1093-08

摘要: 目的 运用网络药理学的方法探究芪骨胶囊治疗绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)的活性成分与潜在分子机制。方法 从 BATMAN-TCM 数据库中获取芪骨胶囊的主要活性成分及其对应的靶点,在 GeneCards 数据库和 GEO 数据库中筛选 PMOP 疾病靶点,将药物靶点与疾病靶点取交集,运用 Cytoscape 软件构建“药物-成分-靶点”网络图,同时将交集靶点导入 String 在线软件构建蛋白互作网络,筛选出核心靶点进行 GO (gene ontology) 生物过程及 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路富集分析。结果 筛选获得 67 个活性成分,核心活性成分包括 24-羟基-11-脱氧甘草次酸、菊油环酮、 β -谷甾醇、 γ -谷甾醇等;获得交集靶点共 57 个,其中核心靶点有胰岛素(INS)、白介素-6(IL-6)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等。核心靶点 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析结果显示,GO 生物过程主要涉及女性怀孕、多细胞生物过程等,KEGG 通路主要涉及雌激素信号通路、卵巢甾体生成、流体剪切应力与动脉粥样硬化、白细胞介素 17 信号通路等。结论 对于芪骨胶囊治疗 PMOP 的作用机制可能与菊花、黄芪、肉苁蓉中的主要成分如 α -蒎烯、菊油环酮、 β -谷甾醇等有关,并可能通过雌激素、白细胞介素等信号通路作用于人体 INS、IL-6、IGF-1 等靶点发挥疗效。

关键词: 芪骨胶囊;绝经后骨质疏松症;网络药理学

Study on the mechanism of Qigu capsules in the treating postmenopausal osteoporosis

ZHANG Jiefan^{1,2}, XU Kun^{1,2}, CHEN Yuanchuan^{1,2}, GUO Hailing^{1,2}, PANG Jian^{1,2*}, ZHAO Yongfang^{1,2}

1. Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200120, China

2. Institute of Traumatology & Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200120, China

* Corresponding author: PANG Jian, Email: lidazul@126.com

Abstract: Objective To explore the active components and potential molecular mechanism of Qigu capsule in the treatment of postmenopausal osteoporosis (postmenopausal osteoporosis, PMOP) by means of network pharmacology. **Methods** The main active components and corresponding targets of Qigu capsule were obtained from BATMAN-TCM database. The disease targets of PMOP were screened in GeneCards database and GEO database. The drug targets and disease targets were intersected. The drug-component-target network was constructed by using Cytoscape software. At the same time, the intersection targets were introduced into String online software to construct protein interaction network. The core targets were selected for GO (gene ontology) biological process and KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) pathway enrichment analysis. **Results** 67 active components were obtained, including 24-hydroxy-11-deoxyglycyrrhetic acid, chrysanthemum oil cyclone, β -sitosterol, γ -sitosterol and so on. A total of 57 intersection targets were obtained, including insulin (INS), interleukin-6 (IL-6), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and so on. The result of core target GO biological process and KEGG pathway enrichment analysis show that GO biological process is mainly involved in female pregnancy, multicellular biological process and so on. KEGG pathway is mainly involved in estrogen signal pathway, ovarian steroid production, fluid shear stress and atherosclerosis, interleukin-17 signal pathway and so on. **Conclusion** The mechanism of Qigu capsule in treating PMOP may be related to the main components of chrysanthemum, astragalus and Cistanche deserticola, such as α -pinene, chrysanthemum oil cyclone, β -sitosterol, etc., and may act on human INS,

基金项目: 国家自然科学基金(81674003;81774342);上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划(ZY(2018-2020)-CCCX-2003-05);上海市浦东新区卫生系统重点学科群“老年骨骼疾病防治”(PWZxq2014-10);上海中医药大学预算内项目(2020LK046)

* 通信作者: 庞坚, Email: lidazul@126.com

IL-6, IGF-1 and other targets through estrogen and interleukin signal pathways.

Key words: Qigu capsules; postmenopausal osteoporosis; network pharmacology

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是由于女性绝经后雌激素水平下降造成骨密度和骨量下降, 导致骨强度受损、骨折风险增加的全身代谢性骨病^[1]。调查^[2]显示, 我国 50 岁以上女性人群骨质疏松症患病率为 20.7%, 随着社会老龄化进程的不断加剧, 未来患病率可能会继续升高。目前指南推荐的一线药物并不十分符合临床预期, 尤其是药物的不良反应受到关注, 例如: 双膦酸盐类药物相关的胃肠道反应、肾脏毒性、下颌骨坏死、非典型股骨骨折等, 雌激素类药物可增加子宫内膜癌、乳腺癌、血栓发生等风险^[3]。因此, 新疗法、新制剂的研发仍是骨质疏松症研究领域的重要课题。

芪骨胶囊为上市中药制剂, 原名密骨胶囊、补肾方, 来源于石印玉教授治疗骨质疏松症的经验方^[4-5], 《中医药防治原发性骨质疏松症专家共识》推荐用于 PMOP 治疗^[6]。临床研究^[4,7-9]显示其可维持 PMOP 患者骨密度, 并改善腰背痛、腰膝酸软无力、头目眩晕等肝肾不足的临床症状, 基础研究^[10-14]显示其能抑制破骨细胞破骨功能并促进成骨细胞增殖与矿化能力, 但在分子水平的研究仍有待深入。在本研究中, 课题组尝试通过网络药理学方法, 探讨芪骨胶囊治疗 PMOP 的活性成分及具体分子机制, 以期为后续的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 筛选芪骨胶囊活性成分及相关靶点

本研究运用 BATMAN-TCM 数据库^[15], 分别以 “HESHOUWU” “SHIHU” “YINYANGHUO” “ROU CONGRONG” “HUANGQI” “GUSUIBU” “JUHUA” 为关键词进行检索, 再以 Score_cut off ≥ 35 且 Adjusted P -value < 0.05 为条件进行筛选, 获得芪骨胶囊的药物活性成分及其相对应的潜在靶点。

1.2 获取 PMOP 的疾病靶点

1.2.1 GEO 芯片分析 PMOP 的疾病靶点: 在 GEO 数据库中下载编号为 GSE7158 的基因芯片原始文件及平台数据, 该基因芯片是对 26 例峰值骨量 (PBM) 高低不同的中国女性的循环单核细胞进行全基因组基因差异表达研究, 其中低 PBM12 例, 高 PBM14 例。本研究运用 R 软件 (v4.0.0), 以 $P <$

0.05 且 $|\log_{10}FC| > 1$ 为条件, 对该基因芯片进行二次分析, 筛选出差异基因, 并绘制热图和火山图。

1.2.2 检索已知的 PMOP 疾病靶点: 本研究运用 GeneCards 数据库, 以 “postmenopausal osteoporosis” 为关键词, 搜索与 PMOP 相关的疾病靶点, 并将数据导出, 筛选出相关性得分 (Relevance score) 最高的前 300 个靶点。

1.3 获取“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点

运用 R 软件将 1.1 中筛选获得的芪骨胶囊药物活性成分对应的潜在靶点与 1.2 中获得的 PMOP 靶点取交集获得“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点。

1.4 绘制“药物-活性成分-靶点”网络图

将 1.1 中获得的芪骨胶囊的药物活性成分及其相对应的潜在靶点与 1.3 中所获得的“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点数据进行处理之后导入 Cytoscape 软件 (v3.7.0) 中, 绘制出“药物-活性成分-靶点”网络图。

1.5 构建“芪骨胶囊-PMOP”蛋白互作 (PPI) 网络

将 1.3 中获得的“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点导入 String 在线软件 (<https://string-db.org/>, v11.0), 选择物种为 “Homo sapiens”, 设置最小互作得分为 0.7, 构建出 PPI 网络图, 并导出数据。

1.6 筛选“芪骨胶囊-PMOP”核心靶点

对 1.5 中导出的数据进行处理, 将 PPI 网络中连接节点最多的前 30 个靶点筛选出来作为“芪骨胶囊-PMOP”核心靶点, 并绘制出核心靶点条形图。

1.7 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

为了进一步明确芪骨胶囊治疗 PMOP 的分子机制, 本研究运用 R 软件将 1.6 中获得的“芪骨胶囊-PMOP”核心靶点进行 GO (gene ontology) 功能和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路富集分析, 并根据富集程度选取排名前 20 的 GO 生物过程和 KEGG 通路分别绘制出条形图。

2 结果

2.1 筛选芪骨胶囊活性成分及相关靶点

本次研究通过检索 BATMAN-TCM 数据库, 共获得芪骨胶囊 89 个活性成分, 对 89 个活性成分进行靶点预测, 并剔除重复靶点后, 一共获得 558 个相关靶点, 见表 1、表 2。

表 1 芪骨胶囊成分靶点数量
Table 1 Target quantity of Qigu capsules

中药名称	成分数量	靶点数量
何首乌	12	87
石斛	4	46
淫羊藿	6	60
肉苁蓉	17	669
黄芪	21	197
骨碎补	7	82
菊花	28	639

表 2 芪骨胶囊主要活性成分表

Table 2 Main active ingredients of Qigu capsules

序号	成分	所属中药	靶点数量	序号	成分	所属中药	靶点数量
1	24-Hydroxy-11-Deoxyglycyrrhetic Acid	石斛	9	35	Tetrahydroxytaxadiene	何首乌	3
2	Chrysanthenone	菊花	8	36	Thymol	菊花	3
3	Beta-Sitosterol	黄芪	7	37	1,8-Cineole	菊花	2
4	Gamma-Sitosterol	骨碎补、何首乌、肉苁蓉、黄芪	7	38	2,6-Bis(1,1-Dimethylethyl)-4-Methyl Phenol	肉苁蓉	2
5	Polygalacic Acid	何首乌	7	39	Astragaloside I	黄芪	2
6	Alpha-Pinene	菊花	6	40	Astragaloside II	黄芪	2
7	Linoleyl Acetate	淫羊藿	6	41	Betaine	黄芪	2
8	Phenylalanine	肉苁蓉	6	42	Canavanine	黄芪	2
9	Stigmasterol	骨碎补	6	43	Chrysanthemol	菊花	2
10	Alpha-Terpineol	菊花	5	44	Chrysanthetriol	菊花	2
11	Campesterol	骨碎补	5	45	Naringenin	骨碎补	2
12	Farnesol	菊花	5	46	Nerolidol	菊花	2
13	Heneicosanic Acid	肉苁蓉	5	47	Uridine	黄芪	2
14	Lupeol	黄芪	5	48	1-Heptadecanol	肉苁蓉	1
15	Nonadecanoic Acid	肉苁蓉	5	49	2,4-Dihydroxyacetophenone	菊花	1
16	Polygodial	何首乌	5	50	3',4'-Dihydroxyacetophenone	菊花	1
17	Stachydrine	菊花	5	51	3,5-Dimethoxystilbene	黄芪	1
18	26-Chloro-26-Deoxycryptogenin	菊花	4	52	Borneol	菊花	1
19	Resveratrol	何首乌	4	53	Camphor	菊花	1
20	Soyasapogenol B	黄芪	4	54	Chamazulene	菊花	1
21	Tubulosine	肉苁蓉	4	55	Choline	黄芪	1
22	1-Methyl-4-Isoallyl-Cyclohexane	肉苁蓉	3	56	Chrysarobin	何首乌	1
23	6-Methyl Indole	肉苁蓉	3	57	Chrysazin	何首乌	1
24	Adenine	菊花、黄芪	3	58	Chrysophanol	何首乌	1
25	Alpha-Humulene	菊花	3	59	Dendrine	石斛	1
26	Alpha-Terpinene	菊花	3	60	Dendrobine	石斛	1
27	Alpha-Terpinolene	菊花	3	61	Emodin	何首乌	1
28	Beta-Pinene	菊花	3	62	Emodin Anthrone	何首乌	1
29	Camphene	菊花	3	63	Guanosine	黄芪	1
30	Caryophyllene	菊花	3	64	N-Triacontanol	肉苁蓉	1
31	D-Mannose	肉苁蓉	3	65	P-Cymene	菊花	1
32	Myrcene	菊花	3	66	Soyasaponin I	黄芪	1
33	Sabinene	菊花	3	67	Stearin	肉苁蓉、淫羊藿	1
34	Sucrose	黄芪	3				

2.2 获取 PMOP 的疾病靶点

2.2.1 GEO 芯片分析 PMOP 的疾病靶点:本研究运用通过使用 R 软件 limma 包对编号为 GSE7158 的基因芯片进行二次分析,共得到差异基因 479 个(上调基因 232 个,下调基因 247 个),选取前 40 个差异基因绘制出火山图和热图,见图 1、图 2。

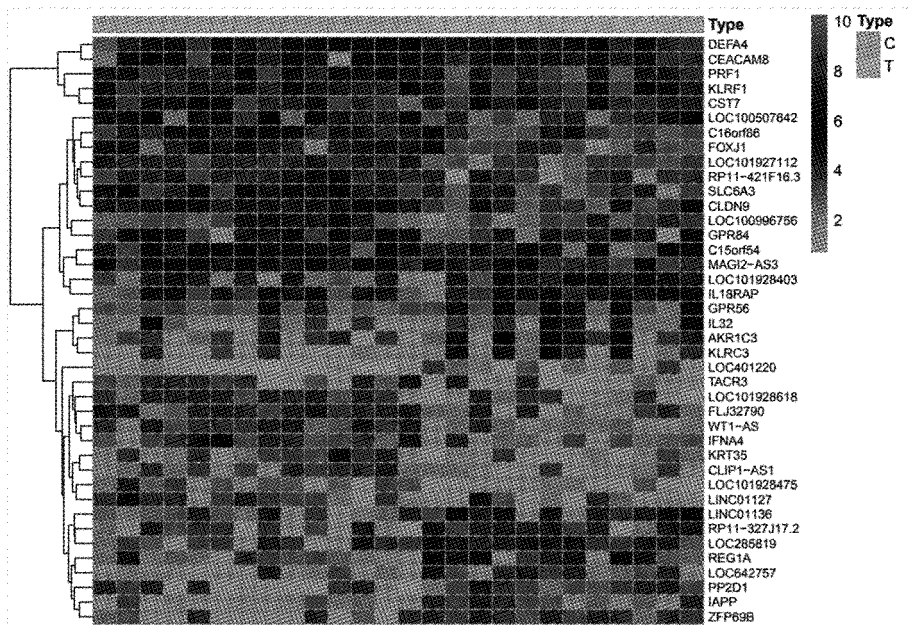


图 1 差异基因热图

Fig.1 Heat map of differential genes

注:红色方块表示高表达的基因,绿色方块表示低表达的基因。

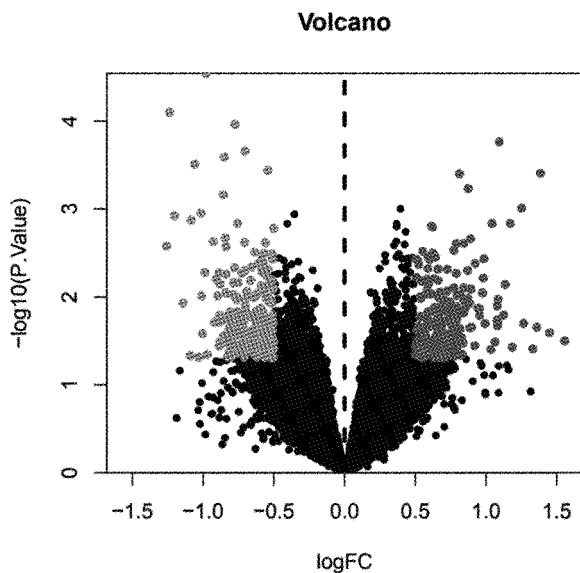


图 2 差异基因火山图

Fig.2 Volcanogram of differential genes

注:黑色圆点表示在低 PBM 和高 PBM 组中无差异表达的基因,红色圆点表示在低 PBM 组中高表达的基因,绿色圆点表示低 PBM 组中低表达的基因。

2.2.2 检索已知的 PMOP 疾病靶点:在 GeneCards 数据库中,以“postmenopausal osteoporosis”为关键词,搜索与 PMOP 相关的疾病靶点,共获得 PMOP 疾病靶点 1 073 个,筛选出相关性得分最高的前 300 个靶点。

2.3 获取“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点

将 2.2.1 和 2.2.2 中获得的靶点进行汇总并剔

除重复靶点后,与 2.1 中获得的芪骨胶囊相关靶点取交集,最后得到 57 个“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点。

2.4 绘制“药物-活性成分-靶点”网络图

通过对芪骨胶囊的药物活性成分及其相对应的潜在靶点与“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点数据进行处理,结果显示 57 个“芪骨胶囊-PMOP”交集靶点共涉及 67 个活性成分。使用 Cytoscape 软件绘制出“药物-活性成分-靶点”网络图,见图 3。

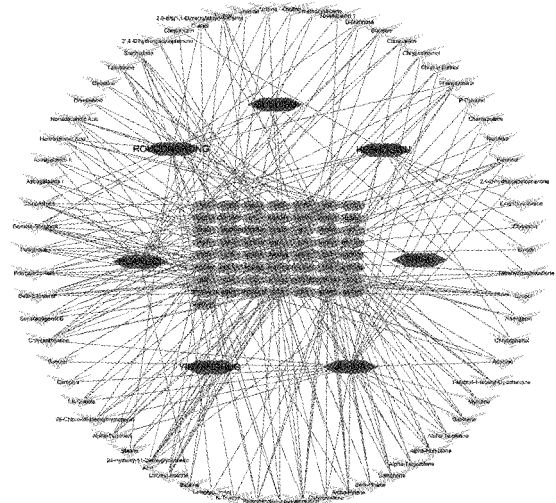


图 3 “药物-成分-靶点”网络图

Fig.3 Network of “drug-component-target”

注:六边形表示芪骨胶囊中所含的中药,箭头表示每味中药的主要活性成分,椭圆表示芪骨胶囊主要活性成分和 PMOP 的共同靶点。

2.5 构建“芪骨胶囊-PMOP”PPI 网络,筛选核心靶点

通过 String 在线软件构建得到“芪骨胶囊-PMOP”PPI 网络(图 4),图中节点表示芪骨胶囊和 PMOP 的交集靶点,节点之间的连线表示靶点之间

的相互作用关系,连线越多,则该节点在 PPI 网络中的相互作用关系越强。将该 PPI 网络中相互作用关系最强的前 10 个靶点筛选为“芪骨胶囊-PMOP”核心靶点,见图 5。

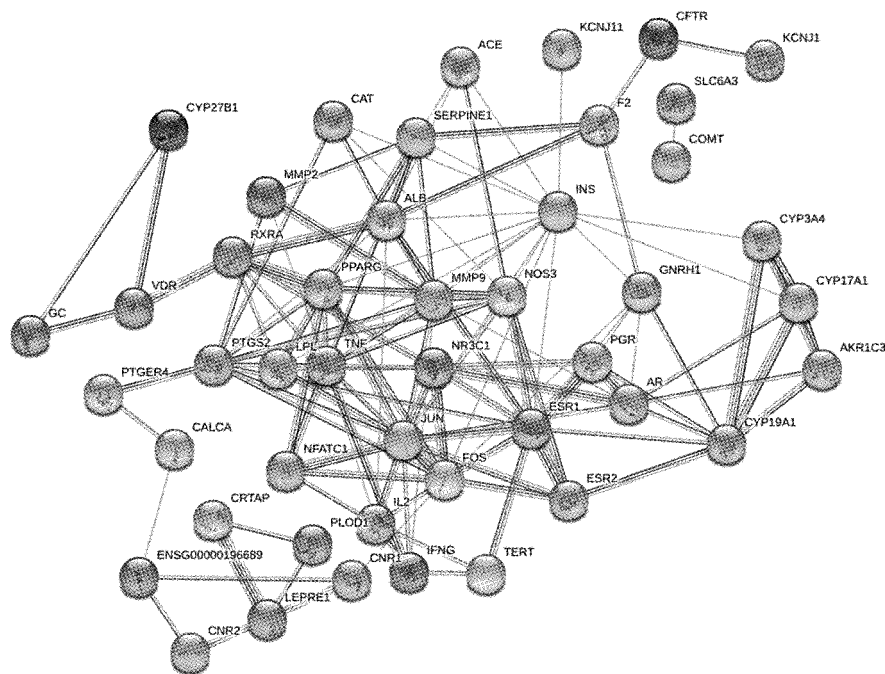


图 4 “芪骨胶囊-PMOP”交集靶点 PPI 网络图

Fig.4 PPI network of target at the intersection of “Qigu capsules-PMOP”

注:节点表示芪骨胶囊和 PMOP 的交集靶点,节点之间的连线表示靶点之间的相互作用关系。

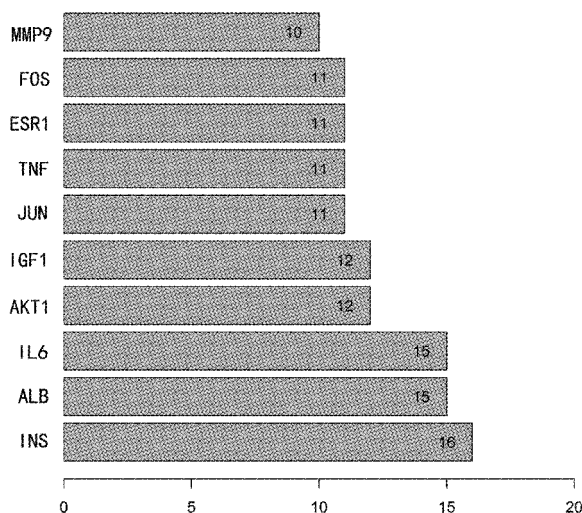


图 5 核心靶点条形图

Fig.5 The bar chart of the core targets

注:纵坐标表示核心靶点,横坐标表示 degree 值,degree 值越大,则该靶点在 PPI 网络中越重要。

2.6 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

将芪骨胶囊治疗 PMOP 的潜在靶点进行 GO 生

物过程和 KEGG 通路富集分析,根据 $P < 0.05$ 进行筛选,结果得到芪骨胶囊治疗 PMOP 的作用机制可能与女性怀孕 (female pregnancy)、多细胞生物过程 (multi-multicellular organism process) 等多个生物过程相关,见图 6。且这些潜在靶点显著富集于雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway)、卵巢甾体生成 (ovarian steroidogenesis)、流体剪切应力与动脉粥样硬化 (fluid shear stress and atherosclerosis)、白细胞介素 17 信号通路 (IL-17 signaling pathway) 等通道,见图 7。

3 讨论

芪骨胶囊由七味药组成,其用药精简,配伍严密。通过对芪骨胶囊活性成分及靶点的筛选,笔者发现肉苁蓉、菊花、黄芪的 degree 值高于其它成分,进一步检索后获得 67 个主要活性成分与 PMOP 相关,主要活性成分来源中菊花、黄芪、肉苁蓉的药物靶点数依然位居前三。据韩国植物资源研究所报道^[16],菊花提取物中主要成分 α -蒎烯 (alpha-

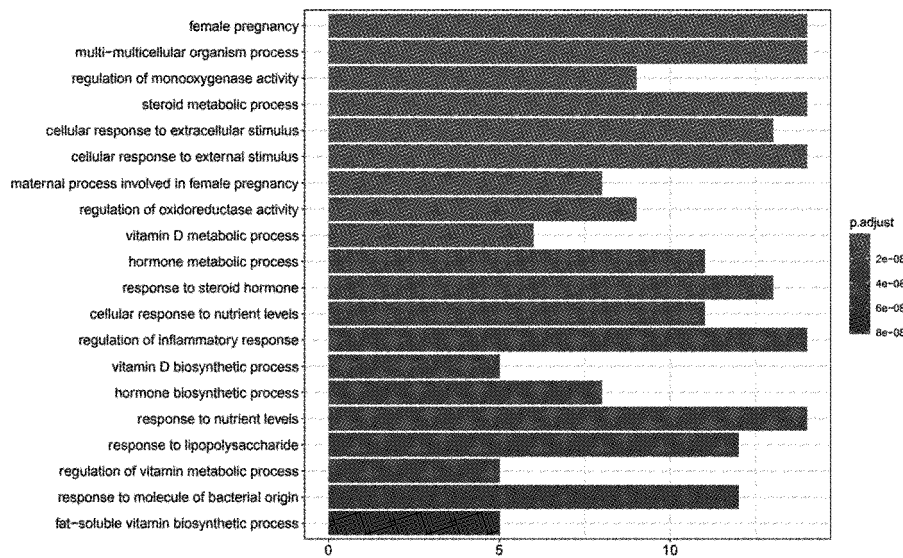


图 6 GO 生物过程富集分析

Fig.6 Enrichment analysis of GO biological processes

注:条形颜色越红,表示校正后的 P 值越小;条形越长,表示该生物过程中富集的基因越多。

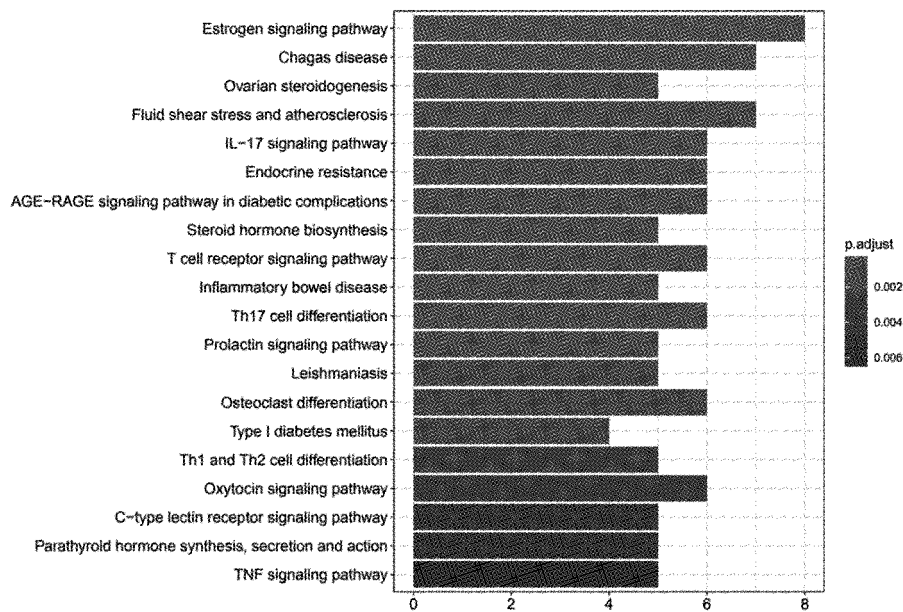


图 7 KEGG 通路富集分析

Fig.7 Enrichment analysis of KEGG pathway

注:条形颜色越红,表示校正后的 P 值越小;条形越长,表示该通路中富集的基因越多。

pinene)、菊油环酮(chrysanthenone)是有着挥发性香气的化合物,具有增强成骨细胞碱性磷酸酶活性和促进细胞胶原合成及钙沉积的作用。来源于黄芪的 β -谷甾醇(beta-sitosterol)、 γ -谷甾醇(gamma-sitosterol)均属于甾醇类化合物,具有雌激素样活性,能与机体内的雌激素受体结合产生雌激素样作用^[17]。苯丙氨酸(phenylalanine)作为人体必需氨基酸之一,是合成代谢苯乙醇苷(phenylethanoid

glycosides, PhGs)的重要原料。PhGs 是肉苁蓉的主要活性成分^[18],其中以松果菊苷为指标性成分^[19]。在去卵巢大鼠的实验研究^[20]中观察到松果菊苷能改善大鼠股骨骨密度及骨微结构,同时可显著提高骨保护素(OPG)水平,以及降低 RANKL 受体激活水平,可以有效预防去卵巢诱导的大鼠骨质疏松。在 MC3T3-E1 细胞体外研究中也显示松果甘油能通过增加 OPG/RANKL 比值促进骨再生^[21]。

对药物作用靶点进一步聚焦后发现,胰岛素(INS)、白介素-6(IL-6)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等 10 个靶点是芪骨胶囊治疗 PMOP 的核心靶点,这表明芪骨胶囊可能是通过以上靶点产生治疗 PMOP 的作用。INS 是人体内分泌的一种可以降低血糖的蛋白质激素,多项研究^[22-24]表明 INS 的使用会导致骨折风险增加、骨密度降低。IL-6 是重要的炎症细胞因子,在骨质疏松中起着关键作用^[25]。有研究^[26]表明炎症是导致 PMOP 的重要因素之一,IL-6 等细胞因子可通过作用于成骨细胞上的受体间接刺激骨吸收。De 等^[27]通过研究发现 IL-6 过表达的转基因小鼠表现出骨质减少,骨微结构改变,成骨细胞减少、破骨细胞数量和活性增加等骨质疏松特征。IGFs 是骨基质中含量最丰富的生长因子,是维持骨生长的重要调节因子^[28],IGF-1 水平的下降会导致骨量降低^[29]。课题组以往研究显示^[13],芪骨胶囊含药血清对成骨细胞 IGF-1 的分泌有促进作用,同时会增加成骨细胞的增值率、碱性磷酸酶以及矿化结节数,这可能与芪骨胶囊调控细胞因子 IGF-1 的表达与分泌有关。上述结果与本研究结果基本一致,凸显了芪骨胶囊通过多靶点调节骨代谢治疗 PMOP 的特点。

GO 生物过程富集分析结果显示,芪骨胶囊治疗 PMOP 的分子机制与与女性怀孕、多细胞生物过程、维生素 D 代谢过程、激素氧代谢过程等生物过程相关。KEGG 通路富集分析结果显示,潜在靶点主要富集在:雌激素信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化信号通路、白细胞介素 17 信号通路。以上研究报道与本研究结果相一致,表明芪骨胶囊通过多通路治疗 PMOP 的结果具有一定的可靠性。

通过对“药物-成分-靶点-通路”的分析比较,芪骨胶囊治疗 PMOP 的作用机制可能与菊花、黄芪、肉苁蓉中的主要有效成分如 α -蒎烯、菊油环酮、 β -谷甾醇、 γ -谷甾醇、苯乙醇苷等有较强相关性,并通过雌激素、白细胞介素等信号通路作用于人体 INS、ALB、IL-6、AKT-1、IGF-1 等靶点发挥疗效。通过该研究,可为芪骨胶囊治疗 PMOP 在分子层面提供新的研究方向和思路,对治疗 PMOP 的用药进行方剂优化及新药研发的理論指导。本次研究基于生物信息学方法探讨了芪骨胶囊治疗 PMOP 可能的分子机制,但由于网络数据库和所涉及的工具算法等有着一一定的局限性,因此具体的分子机制还需要通过严谨周密的实验进行验证。

【参 考 文 献】

- [1] Diab DL, Watts NB. Postmenopausal osteoporosis [J]. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity, 2013, 20: 501-509.
- [2] 中国健康促进基金会骨质疏松防治中国白皮书编委会.骨质疏松症中国白皮书[J].中华健康管理学杂志,2009,(3): 148-154.
- [3] 夏维波,章振林,林华,等.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):281-309.
- [4] 王和鸣,葛继荣,朱汉民,等.芪骨胶囊治疗原发性骨质疏松症临床试验总结[J].中国中医骨伤科杂志,2010,18(8): 12-15.
- [5] 郭海玲,杨光月,商海滨,等.密骨胶囊对去卵巢大鼠骨内血管内皮生长因子及其受体表达的影响[J].老年医学与保健,2019,25(4):441-445.
- [6] 葛继荣,郑洪新,万小明,等.中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015)[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(9): 1023-1028.
- [7] 石印玉,张戈,郑昱新,等.密骨胶囊治疗绝经后原发性骨质疏松症的两年临床研究[J].医学研究通讯,2004,4:53-54.
- [8] 周敏,赵咏芳,郑昱新,等.密骨胶囊对原发性骨质疏松症患者中医证候疗效的随机对照研究[J].中华中医药杂志,2009,24(9):1210-1213.
- [9] 周敏,李国文,郑昱新,等.密骨胶囊延缓原发性骨质疏松症骨量丢失的Ⅲ期临床试验[J].上海中医药杂志,2009,43(5):28-31.
- [10] 詹红生,石印玉,赵咏芳,等.密骨胶囊含药血清对骨吸收陷窝面积和深度的影响[J].中国骨伤,2004,3:5-7.
- [11] 苟海昕,詹红生,赵咏芳,等.密骨胶囊对自然衰老雄性大鼠血清 BALP 及股骨生物力学性能的影响[J].上海中医药杂志,2014,48(9):77-79.
- [12] 王翔,郭海玲,缪锦浩,等.密骨胶囊对骨 I 型胶原代谢影响的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,2016,24(1):13-17.
- [13] 赵咏芳,詹红生,徐宇,等.补肾益精中药调控体外培养成骨细胞 IGF-I 分泌与表达的研究[J].上海中医药杂志,2006,12: 4-6.
- [14] 詹红生,赵咏芳,石印玉.补肾益精方对 ODF、OPG、RANK mRNA 表达水平的影响[J].中华内分泌代谢杂志,2001,6: 36-37.
- [15] Liu ZY, Guo FF, Wang Y, et al. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J].Scientific Reports, 2016, 6: 21146.
- [16] Chang KM, Choi EM, Kim GH. Chemical constituents of chrysanthemum indicum l. flower oil and effect on osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. Food Science & Biotechnology, 2010, 19(3):815-819.
- [17] 王冬生,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):632-640.
- [18] 谢峻,刘燕,柯江英,等.苯乙醇苷合成的研究进展[J].中草药,2019,50(20):5109-5116.
- [19] 颜贵贞,田金虎,龙本文,等.肉苁蓉中苯乙醇苷类成分的研究

- 进展[J].中南药学,2012,10(9):692-695.
- [20] Yang X, Li F, Yang Y, et al. Efficacy and safety of echinacoside in a rat osteopenia model [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 926928.
- [21] Li F, Yang YN, Zhu PP, et al. Echinacoside promotes bone regeneration by increasing OPG/RANKL ratio in MC3T3-E1 cells [J]. Fitoterapia, 2012, 83: 1443-1450.
- [22] Ruppert K, Cauley J, Lian Y et al. The effect of insulin on bone mineral density among women with type 2 diabetes: a SWAN pharmacoepidemiology study [J]. Osteoporos International, 2018, 29: 347-354.
- [23] Losada GE, Hawley S, Soldevila B, et al. Insulin use and excess fracture risk in patients with type 2 diabetes: A propensity-matched cohort analysis[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 3781.
- [24] Wallander M, Axelsson KK, Nilsson AG, et al. Type 2 diabetes and risk of hip fractures and non-skeletal fall injuries in the elderly: A study from the fractures and fall injuries in the elderly cohort (FRAILCO) [J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2017, 32: 449-460.
- [25] Ji YF, Jiang XS, Li W, et al. Impact of interleukin-6 gene polymorphisms and its interaction with obesity on osteoporosis risk in Chinese postmenopausal women [J]. Environ Health and Preventive Med, 2019, 24: 48.
- [26] Al-Daghri NM, Aziz I Yakout S, et al. Inflammation as a contributing factor among postmenopausal Saudi women with osteoporosis[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96: e5780.
- [27] De BF, Rucci N, Del FA, et al. Impaired skeletal development in interleukin-6-transgenic mice: a model for the impact of chronic inflammation on the growing skeletal system[J]. Arthritis and Rheumatism, 2006, 54: 3551-3563.
- [28] Lindsey RC, Rundle CH, Mohan S. Role of IGF1 and EFN-EPH signaling in skeletal metabolism [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2018, 61: T87-T102.
- [29] Cannarella R, Barbagallo F, Condorelli RA, et al. Osteoporosis from an endocrine perspective: the role of hormonal changes in the elderly[J]. Journal of Clinical Medicine, 2019, 8(10): 1564.

(收稿日期: 2020-08-11; 修回日期: 2020-11-19)