

# 右归丸治疗骨质疏松性骨缺损的机制研究

胡中青<sup>1</sup> 汤样华<sup>1△</sup> 曾林如<sup>1</sup> 郑文杰<sup>1</sup> 岳振双<sup>1</sup> 熊振飞<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨右归丸介导  $\beta$ -链蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路调控骨髓基质干细胞(BMSCs)治疗骨质疏松性骨缺损的机制。方法:进行小鼠骨髓间充质干细胞分离和体外扩增,鉴定其生物学活性。选择 6 月龄小鼠,建立骨质疏松性骨缺损模型,并给予右归丸 $[(18.9 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d}))]$ 进行治疗 6 周。采用酶联免疫吸附法(Elisa)检测小鼠血清中碱性磷酸酶(ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2);采用免疫组织化学法检测  $\beta$ -Catenin 表达;采用实时 PCR 法检测骨钙素(Osteocalcin)、骨桥蛋白(Osteopontin)、成骨细胞特异性转录因子(Osterix)、骨细胞的特异转录因子(Runx2/Cbfa1)和  $\beta$ -Catenin mRNA 表达。结果:与模型组相比,右归丸组和右归丸+BMSCs 组小鼠  $\beta$ -Catenin 含量显著升高;ALP 和 TRAP 含量显著降低,BGP 和 E2 含量显著升高;Osteopontin 含量显著降低,Osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 和  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与右归丸组相比,右归丸+BMSCs 组  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,ALP 和 TRAP 含量显著降低,BGP 和 E2 含量显著升高;Osteopontin 含量显著降低,Osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 和  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: $\beta$ -Catenin 信号途径在骨质疏松性骨缺损骨愈合过程中具有重要的作用。右归丸是通过激活  $\beta$ -Catenin 促进 BMSCs 成骨分化,从而促进骨质疏松性骨缺损骨愈合。

**[关键词]** 右归丸; $\beta$ -链蛋白;调控骨髓基质干细胞;骨质疏松性骨缺损

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2018)07-0011-05

## Study on the Mechanism of Yougui Pill for Treating Osteoporosis Bone Defect

HU Zhongqing<sup>1</sup> TANG Yanghua<sup>1△</sup> ZENG Linru<sup>1</sup> ZHENG Wenjie<sup>1</sup>  
YUE Zhenshuang<sup>1</sup> XIONG Zhenfei<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hangzhou Xiaoshan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311201, China.

**Abstract Objective:** To investigate the mechanism of Yougui pill mediated  $\beta$ -catenin signaling pathway in the treatment of osteoporotic bone defect induced by BMSCs. **Methods:** Mouse bone marrow mesenchymal stem cells were isolated and expanded in vitro to identify their biological activity. Six-month-old mice were selected to establish an osteoporotic bone defect model and treated with Yougui pill $[(18.9 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d}))]$  for 6 weeks. Serum alkaline phosphatase (ALP), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), serum osteocalcin (BGP) and estradiol (E2) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa). The expression of  $\beta$ -catenin was detected by immunohistochemistry. The expression of osteocalcin, osteopontin, osterix, osteoclast-specific transcription factor (Runx2/Cbfa1) and  $\beta$ -catenin mRNA were detected by real-time PCR. **Results:** Compared with the model group, the content of  $\beta$ -catenin in two group was significantly increased, and ALP and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) were significantly decreased, while serum BGP and E2 levels were significantly increased. The contents of osteopontin, osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 and  $\beta$ -catenin were significantly decreased, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). Compared with Yougui pill group, the content of  $\beta$ -Catenin in Yougui pill and BMSCs group was significantly increased, the contents of ALP and TRAP were significantly decreased, and BGP and E2 contents were significantly increased. The contents of osteopontin, osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 and  $\beta$ -catenin were significantly decreased, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The  $\beta$ -catenin signaling pathway plays an important role in the process of osteogenesis of osteoporotic bone defects. Yougui pill promotes osteogenic differentiation of BMSCs by activating  $\beta$ -catenin and promotes bone healing of osteoporotic bone defects.

**Keywords:** Yougui pill;  $\beta$ -catenin; bone mesenchymal stem cells; osteoporotic bone defect

基金项目:浙江省杭州市卫生计生科技计划项目(2017B21)

<sup>1</sup> 杭州市萧山区中医院(杭州, 311201)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail: tangyanghua168@163.com

骨质疏松(Osteoporosis, OP)是由于多种原因导致的骨密度和骨质量下降,主要以不断减少的骨矿成分和骨基质,骨小梁数量,破坏的骨微结构和骨质变薄等因素,导致的机体骨强度下降和脆性增加为特征的一种全身骨代谢障碍的疾病,患者常易伴随出现骨质疏松性骨缺损<sup>[1-4]</sup>。目前,临床上针对于骨质疏松性骨缺损患者的有效治疗药物较少,而自体骨移植的植取骨量有限,供区疼痛、失血、感染和功能受损等并发症较多,不仅增加了患者新的创伤痛苦和手术次数,而且骨质疏松患者的自体骨移植本身的骨诱导能力也会明显减弱<sup>[5,6]</sup>。随着临床医疗技术的发展,骨髓基质干细胞(BMSCs)在治疗骨质疏松和修复骨缺损的再生医学中扮演着十分重要的角色。BMSCs是一种能够进行自我更新和多向分化的成体干细胞,可作为诱导分化为成骨细胞的源头,具有促进机体成骨的作用<sup>[7]</sup>。此外,BMSCs还具有容易获取、低免疫原性和修复能力较好等生物学特性<sup>[8]</sup>。本实验通过构建骨质疏松性骨缺损模型并给予右归丸和 BMSCs 移植治疗,旨在探讨右归丸调控 BMSCs 治疗骨质疏松性骨缺损的机制及  $\beta$ -Catenin 信号通路在此过程中发挥的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级别 6 月龄雄性 BALB/c 小鼠 50 只,体质量 18~22 g,中位数 19.68 g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号 SYXK(京)2015-0007。

### 1.2 实验药物及试剂

仲景右归丸购自河南省宛西制药股份有限公司(国药准字 Z41022170,产品编号 C14003185091); $\beta$ -Catenin 购自美国 Abcam 生物技术有限公司(ab63175);碱性磷酸酶(ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2)试剂盒购于美国 R&D 公司(编号 DCC270, DCDL40, DSTCN0, KGE004B)。

### 1.3 实验仪器

ABI-7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), SDS-PAGE 电泳设备及转膜仪(美国 Bio-rad 公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 小鼠骨质疏松性骨缺损模型的建立** 选择 6 月龄去双侧卵巢小鼠骨质疏松模型,在此疾病模型建立的基础上,再建立股骨骨缺损模型。小鼠经腹腔注射 0.1 g/kg 氯胺酮麻醉后,无菌操作下钝性分开腰部筋膜、腹膜和肌肉,分离结扎输卵管和周围血管,行卵巢同侧和对侧摘除术,逐层缝合腹膜与皮肤。术后给予  $2.5 \times 10^4$  U/kg 青霉素常规肌肉注射,以预防感染。

饲养 3 个月后成功建立骨质疏松模型。骨质疏松性骨缺损模型的建立:骨质疏松小鼠给予 10% 水合氯醛腹腔注射(3 mL/kg)行全身麻醉,于大腿中段外侧暴露肌肉组织,行肌群肌间隙钝性分离,于显露出的股骨干应用慢速直流电钻钻取一直径为 2 mm 的圆柱形贯通性形的骨缺损区域,逐层缝合腹膜与皮肤。术后给予  $2.5 \times 10^4$  U/kg 青霉素常规肌肉注射,以预防感染。

**1.4.2 小鼠骨髓间充质干细胞分离、培养、鉴定** 小鼠经麻醉后脱颈椎处死,无菌状态下分离股骨并剪除两端暴露出骨髓腔,从骨髓腔一端缓慢注入高糖  $\alpha$ -MEM 细胞培养基冲出骨髓腔内的骨细胞(10% FBS, 100 U/mL 青-链霉素)。轻柔吹打数次,40  $\mu$ m 过滤器过滤,得到单细胞悬液。骨髓细胞以  $1 \times 10^7$  个/孔的密度接种在 6 孔板培养板上,置于 37  $^{\circ}$ C, 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。3 d 换液 1 次。培养 7 d 和 14 d 后,利用流式细胞仪和细胞免疫组化染色进行骨髓间充质干细胞分子标志鉴定。

**1.4.3 干预方法** 明确小鼠成功建立骨质疏松性骨缺损动物模型后,给予右归丸[18.9 g/(kg  $\cdot$  d)]进行治疗 6 周。右归丸药物制备:熟地黄 24 g、炒山药 12 g、枸杞子 12 g、山茱萸 12 g、鹿角胶 12 g、菟丝子 12 g、当归 9 g、肉桂 6 g、杜仲 9 g、附子 6 g,将上述方药制备成水煎剂,浓缩成含生药量为 1 g/mL,给药剂量依据小鼠与人体临床等效剂量的关系进行换算确定。给予右归丸[18.9 g/(kg  $\cdot$  d)]灌胃治疗 6 周后,进行相关指标检测。

**1.4.4 苏木精-伊红染色** 小鼠用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,留取股骨组织常规脱水、透明及石蜡包埋,切片(5  $\mu$ m/张)。常规进行苏木精和伊红液染色,观察股骨切片骨形态与骨病理,行骨质疏松骨缺损的苏木精-伊红病理组织形态学检查。

**1.4.5 免疫组织化学法检测  $\beta$ -Catenin 蛋白表达** 取股骨组织石蜡切片标本,室温封闭 40 min(5% 血清),加入单克隆抗体  $\beta$ -Catenin 碱性磷酸酶二抗 4  $^{\circ}$ C 孵育。PBS 清洗后加入 SP 和 DAB 恒温显色液显色,中性树脂胶封片。用 10 倍、40 倍显微镜观察。 $\beta$ -Catenin 的主要阳性表达表现为棕黄色颗粒在股骨细胞内出现。计算股骨组织中 BBMP-2 和  $\beta$ -Catenin 蛋白表达的平均光密度。

**1.4.6 Elisa 检测小鼠血清中 ALP, TRAP, BGP 和 E2** 采集小鼠腹腔静脉血 6 mL,低温 2 000 r/min 离心 15 min,常规分离血清,备用待测。采用酶联免疫吸附法(Elisa 法)测定小鼠血清内血清中碱性磷酸酶(ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2),按照试剂盒的操作说明严格进行。

**1.4.7 实时 PCR 检测 mRNA 的表达** Trizol 法提

取大鼠股骨组织内总 RNA,按照试剂盒说明书逆转录合成 cDNA 并进行实时荧光定量实时 PCR 分析。每个实验骨钙素、骨桥蛋白、成骨细胞特异性转录因子、骨细胞的特异转录因子、骨形态发生蛋白-2、 $\beta$ -Catenin 至少重复 3 次。分析:通过计算骨钙素、骨桥蛋白、成骨细胞特异性转录因子(Osterix)、骨细胞的特异转录因子、 $\beta$ -Catenin 得到循环阈值 CT 值来确定基因的表达量。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理,对数据行正态性和方差齐性检验,符合正态分布的计量资料结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用单因素方差分析和  $t$  检

验。计数资料采用例数(%)表示,组间差异采用卡方检验, $P<0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BMSCs 分离鉴定

原代培养的大鼠骨髓间充质干细胞较为分散,以克隆集落的方式逐渐增殖。镜下可见贴壁细胞胞体明显增大舒展,表面颗粒少,并开始分裂增殖,呈纤维梭形或纺形(见图 1)。BMSCs 细胞分裂增殖后胞质丰富,贴壁呈网状、鱼群状或辐射状排列。培养的 BM-SCs 细胞表型具有 CD29(96.72%),CD44(98.53%) 和 CD105(98.99%) 的阳性特征。流式结果表明收获的高纯度 BMSCs 可用于下一步实验,见图 1。

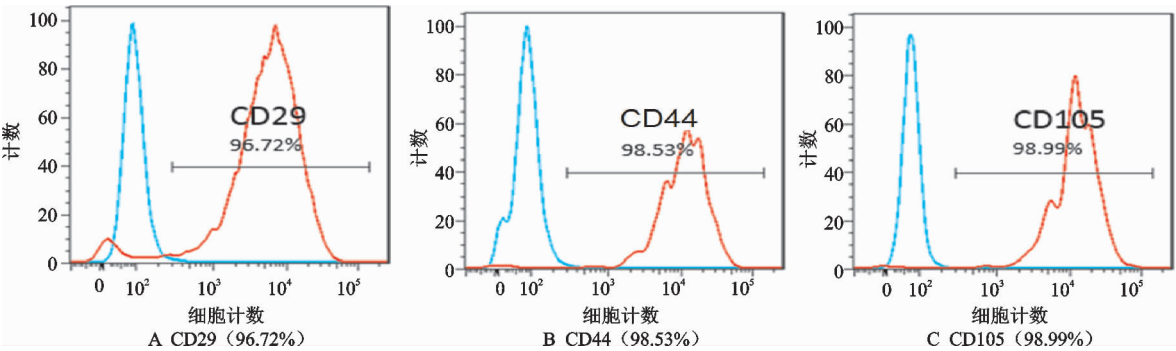


图 1 BMSCs 分离鉴定

2.2 苏木精-伊红染色病理组织检测

对照组可见小鼠的骨小梁排列紧密规则,形态完整,骨髓腔腔隙较小,呈网状。模型组小鼠的骨小梁结构散乱稀疏,连接缺少,出现大量骨小梁断端,骨髓腔

增大,排列不规则,总量明显减少。给药右归丸治疗 6 周后,骨小梁的连接和排列形态显著改善,数目增多,骨小梁结构变宽,骨髓腔明显缩小。右归丸联合 BM-SCs 组效果更加明显,见图 2。

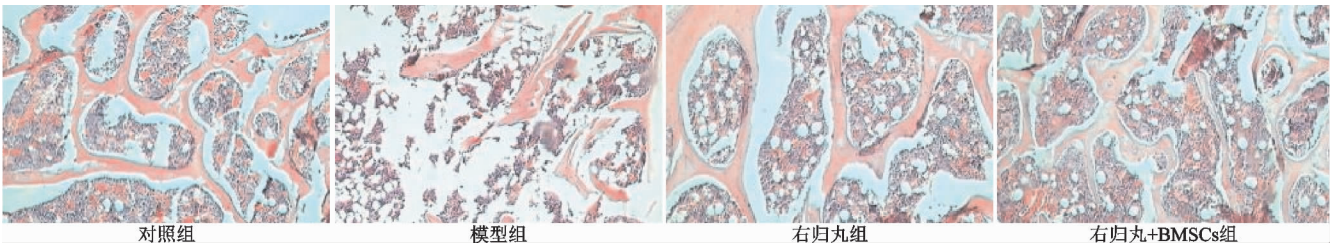


图 2 苏木精-伊红染色病理组织检测(200×)

2.3 小鼠  $\beta$ -Catenin 含量表达

与对照组相比,模型组、右归丸组和右归丸 + BMSCs 组  $\beta$ -Catenin 含量显著降低;与模型组相比,右归丸

组和右归丸 + BMSCs 组小鼠  $\beta$ -Catenin 含量显著升高;与右归丸组相比,右归丸 + BMSCs 组  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,差异有统计学意义( $F=604.8, P<0.05$ ),见图 3-4。

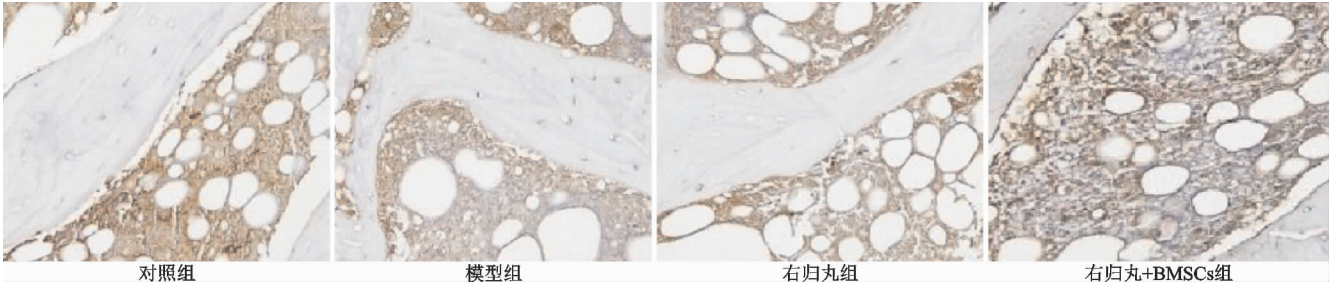


图 3 免疫组化染色结果(400×)

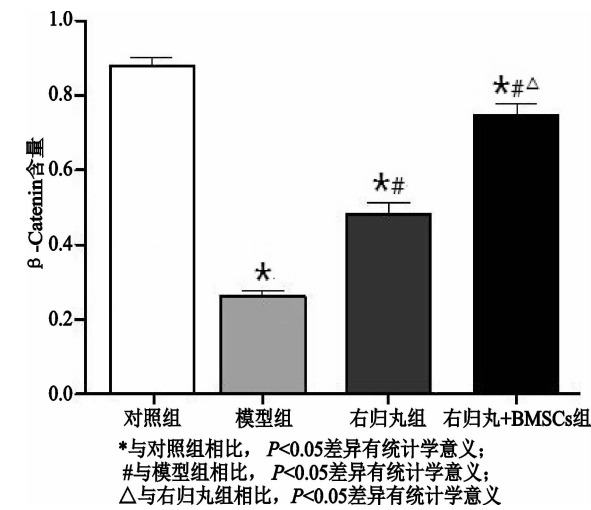


图 4 免疫组化染色分析结果

表 1 Elisa 检测小鼠血清中 ALP,TRAP,BGP 和 E2( $\bar{x}\pm s$ )

组别	ALP(U/L)	TRAP( $\mu\text{g/mL}$ )	BGP( $\mu\text{g/L}$ )	E2( $\text{ng/L}$ )
对照组	3.54±0.68	14.19±1.36	5.76±0.41	15.36±1.20
模型组	6.23±1.15 <sup>1)</sup>	18.85±1.29 <sup>1)</sup>	3.17±0.35 <sup>1)</sup>	8.14±1.05 <sup>1)</sup>
右归丸组	4.86±0.54 <sup>1)2)</sup>	17.23±1.38 <sup>1)2)</sup>	4.26±0.44 <sup>1)2)</sup>	12.59±1.15 <sup>1)2)</sup>
右归丸+BMSCs 组	4.14±0.49 <sup>1)2)3)</sup>	15.51±1.28 <sup>1)2)3)</sup>	4.83±0.45 <sup>1)2)3)</sup>	13.42±1.24 <sup>1)2)3)</sup>
F	69.51	70.06	205.18	207.20
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与模型组相比, $P<0.05$ ;3)与右归丸组相比, $P<0.05$ 。ALP: $t_{\text{对照组-模型组}}=13.69, t_{\text{对照组-右归丸组}}=6.72, t_{\text{对照组+BMSCs组}}=3.05, t_{\text{模型组-右归丸}}=6.97, t_{\text{模型组-右归丸+BMSCs组}}=10.64, t_{\text{右归丸-右归丸+BMSCs组}}=3.67$ 。TRAP: $t_{\text{对照组-模型组}}=13.59, t_{\text{对照组-右归丸组}}=8.87, t_{\text{对照组+BMSCs组}}=3.85, t_{\text{模型组-右归丸}}=4.72, t_{\text{模型组-右归丸+BMSCs组}}=9.74, t_{\text{右归丸-右归丸+BMSCs组}}=5.02$ 。BGP: $t_{\text{对照组-模型组}}=24.21, t_{\text{对照组-右归丸组}}=14.02, t_{\text{对照组+BMSCs组}}=8.69, t_{\text{模型组-右归丸}}=10.19, t_{\text{模型组-右归丸+BMSCs组}}=15.52, t_{\text{右归丸-右归丸+BMSCs组}}=5.33$ 。E2: $t_{\text{对照组-模型组}}=24.06, t_{\text{对照组-右归丸组}}=9.23, t_{\text{对照组+BMSCs组}}=6.47, t_{\text{模型组-右归丸}}=14.83, t_{\text{模型组-右归丸+BMSCs组}}=17.60, t_{\text{右归丸-右归丸+BMSCs组}}=2.77$ 。

2.5 实时 PCR 检测 mRNA 的表达

与对照组相比,模型组、右归丸组和右归丸+BMSCs 组小鼠血清内骨桥蛋白含量显著升高,成骨细胞特异性转录因子、骨形态发生蛋白-2、骨细胞的特异转录因子和  $\beta$ -Catenin 含量显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与模型组相比,右归丸组和右归丸+

2.4 Elisa 检测小鼠血清中 ALP,TRAP,BGP 和 E2

与对照组相比,模型组、右归丸组和右归丸+BMSCs 组小鼠血清内碱性磷酸酶(ALP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)含量显著升高,血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2)含量显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与模型组相比,右归丸组和右归丸+BMSCs 组小鼠血清内碱性磷酸酶(ALP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)含量显著降低,血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2)含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与右归丸组相比,右归丸+BMSCs 组小鼠血清内碱性磷酸酶(ALP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)含量显著降低,血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2)含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

BMSCs 组小鼠血清内 Osteopontin 含量显著降低, Osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 和  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与右归丸组相比,右归丸+BMSCs 组小鼠 Osteopontin 含量显著降低, Osterix, BMP-2, Runx2/Cbfa1 和  $\beta$ -Catenin 含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 5。

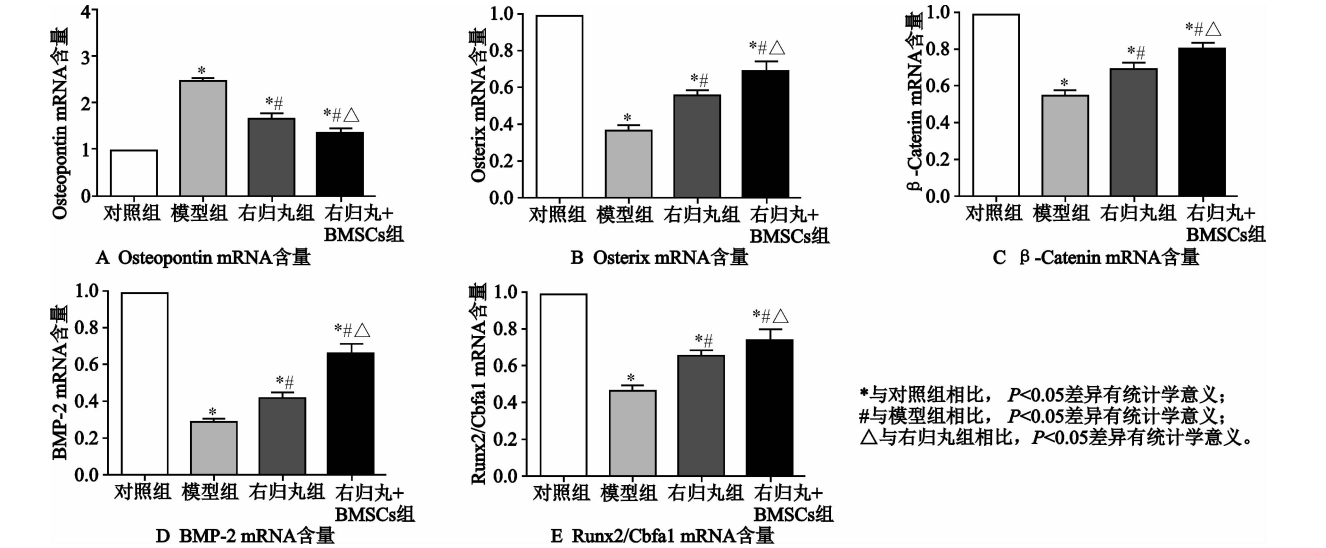


图 5 实时 PCR 检测 mRNA 的表达结果

### 3 讨论

骨质疏松是多种原因引起的一组骨病,骨组织有正常的钙化,钙盐与基质呈正常比例,以单位体积内骨组织量减少为特点的代谢性骨病变。在多数骨质疏松症中,骨组织的减少主要由于骨质吸收增多所致,以骨骼疼痛、易于骨折为特征。原发性骨质疏松症又分为绝经后骨质疏松症(I型)、老年性骨质疏松症(II型)和特发性骨质疏松症(包括青少年型)三种,骨质疏松已成为严重的公共健康问题<sup>[3,4]</sup>。研究表明年龄、女性绝经、性腺功能低下、吸烟、过度饮酒、咖啡及碳酸饮料等、体力活动缺乏、制动、饮食中营养失衡、蛋白质摄入过多或不足、血脂异常、钙和(或)维生素D缺乏等均可影响骨代谢和骨密度而导致患者出现骨质疏松。骨质疏松障碍时,机体出现破骨细胞的功能亢进和成骨细胞的功能丧失,导致骨代谢异常并且诱发机体出现骨质疏松性骨折;同时,骨质疏松性骨折的受损骨骨质愈合及再生能力均下降,破骨细胞活性大于成骨细胞,自身修复出现骨缺损区修复不佳导致骨折延迟愈合,极易出现骨质疏松性骨缺损<sup>[3,4]</sup>。本实验旨在探讨右归丸调控 BMSCs 治疗骨质疏松性骨缺损的机制及  $\beta$ -Catenin 信号通路在此过程中发挥的作用。

近年来通过临床验证,右归丸可用于治疗肾阳不足的性功能减退、精子缺乏症、骨质疏松症、肾病综合征等疾病。右归丸为补益剂,具有温补肾阳,填精止遗之功效。右归丸以“益火之源,以培右肾之元阳”为制方之基,以“善补阳者,必于阴中求阳,则阳得阴助而生化无穷”为立方理论,用于肾阳不足,命门火衰,腰膝酸冷,精神不振,怯寒畏冷,阳痿遗精,大便溏薄,尿频而清<sup>[9,10]</sup>。方中以具有温补肾阳、填精补髓功效的附子、肉桂、鹿角胶为君药,和滋阴益肾、养肝补脾的熟地黄、枸杞子、山茱萸、山药滋为臣药。佐以补阳益阴、固精缩尿的菟丝子,补益肝肾、强筋壮骨的杜仲,养血和血的当归和以补养精血的助鹿角胶。补阳而不伤阴,且阴阳相济,有“阴中求阳”之功,阳气得阴相助,诸药配合,化生无穷,共奏温补肾阳、填精止遗之功。在附子、肉桂等辛温助阳药中加入大补阴精、滋培肾水的熟地、山药、枸杞等大辛大热之品<sup>[11,12]</sup>。

BMSCs 的中医药研究主要集中于促进 BMSCs 成骨分化和抑制 BMSCs 成脂分化这两方面,其中,左归丸、右归丸、左归饮、右归饮和接骨中药方等可以有效促进 BMSCs 的成骨分化<sup>[13]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 经典信号通路在成骨细胞生成、成熟、分化和骨形成等方面起到了重要的作用。 $\beta$ -catenin 作为 Wnt 信号通路的中枢性因子,当 Wnt 蛋白与 Frz 和 LRP5/6 共受体结合时,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路激活, $\beta$ -catenin 的降解复合体解散,稳定的  $\beta$ -catenin 转移积累入核,并且激

活细胞内 T 细胞因子/淋巴增强结合因子(TCF / LEF) 相互作用,诱导下游相关成骨基因的表达和转录<sup>[14,15]</sup>。同时,在骨髓间质干细胞向成骨细胞的分化过程中,Runx2 与 Osterix 是两个十分重要的转录因子,Runx2 作为骨形成的关键基因,只在骨组织或者成骨细胞中能被检测到,是骨髓间质干细胞成骨分化和骨发育所必需。Osterix 是一种其位于成骨细胞分化路径中 Runx2 的下游调控成骨细胞的生成的转录因子,在骨形成和骨吸收中起到重要的作用<sup>[16,17]</sup>。

本研究表明:给予骨质疏松性骨缺损的小鼠右归丸联合 BMSCs 治疗后,可以有效缓解小鼠病理的骨质疏松和骨性缺损,改善其骨小梁的连接和排列形态,增加骨小梁的数目增多,缩小骨髓腔,说明右归丸可以有效促进 BMSCs 的成骨分化,加速改善骨髓间充质干细胞的移植情况。本研究结果显示:右归丸联合 BMSCs 治疗可以有效改善成骨细胞的特异性因子如碱性磷酸酶(ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、血清骨钙素(BGP)和雌二醇(E2)等的含量,促进 BMSCs 向成骨细胞的分化,并且有效修复和改善骨质疏松性骨缺损。同时,免疫组化结果显示:右归丸联合 BMSCs 治疗可以有效促进细胞内  $\beta$ -catenin 的表达,加速诱导 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活,进而促进下游转录因子 Runx2 与 Osterix 的表达,加速促进 BMSCs 向成骨细胞的分化和发育,有效改善骨质疏松性骨缺损。综上所述, $\beta$ -catenin 信号通路在右归丸调控 BMSCs 成骨分化,治疗和缓解小鼠骨质疏松性骨缺损的过程中具有重要的作用和意义,可以为临床上骨髓间充质干细胞移植和治疗提供实验基础。

### 参考文献

- [1] 王三杏,谢雍,董矜,等. 成人骨密度与慢性炎症的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2016,23(7):717-721.
- [2] 卢建华,卢烨超,金红婷,等. 红曲对去卵巢大鼠骨质疏松模型血清 ALP,TRAP 及骨组织 TNF- $\alpha$ ,RANK 表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2017,25(9):5-8.
- [3] 姚洪春,吴世军,刘正,等. 骨代谢标志物的测定在老年骨质疏松脊柱脆性骨折中的意义[J]. 检验医学与临床,2017,14(20):3079-3081.
- [4] 刘新梅,常红. 经皮椎体成形术治疗骨质疏松椎体压缩性骨折两种护理方法的随机对照研究[J]. 检验医学与临床,2016,13(16):2261-2263.
- [5] 黄成校,余化龙,高超,等. 骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的聚乳酸聚乙醇酸对骨质疏松大鼠骨缺损的影响[J]. 安徽医药,2017,21(4):618-622.
- [6] 黄旭,罗道文,王雷,等. 大鼠骨质疏松伴颅骨极量缺损模型的建立[J]. 中国组织工程研究,2017,21(8):1236-1240.

- [7] 颜学亮,曹奇,陈小明. 小剂量骨水泥经皮椎体成形术治疗老年性骨质疏松症多节段跳跃性脊柱压缩性骨折的疗效分析[J]. 中南医学科学杂志,2016,44(4):368-370.
- [8] 孟玥,任艳玲,孙月娇,等. 左归丸、右归丸及其拆方对去卵巢骨质疏松症模型大鼠肾脏碱性磷酸酶、骨钙素表达的影响[J]. 中医杂志,2016,57(5):423-427.
- [9] 阳松威,孙晓峰,贺又舜,等. 左归丸对化疗致卵巢早衰小鼠卵巢功能的影响[J]. 中成药,2016,38(4):717-722.
- [10] 孙千惠,任艳玲,吴琼,等. 左、右归丸对去卵巢大鼠 BMSCs 成骨、成脂分化后 Caspase-3/Bcl-2 的影响[J]. 中成药,2017,39(10):2004-2008.
- [11] 李凌汉,麦培根,陈宝红. 右归丸对原发性骨质疏松症患者骨密度、骨代谢及脆性骨折发生率的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2017,26(19):2088-2090.
- [12] 雷宁波,彭冉东,邓强,等. 依降钙素联合损伤胶囊对骨质疏松性椎体压缩骨折 PKP 术后早期临床疗效观察[J]. 中国中医骨伤科杂志,2017,25(5):9-12.
- [13] 张添昊,任艳玲,艾思羽,等. 左归丸和右归丸对去卵巢大鼠股骨骨髓 PPAR $\gamma$ 、C/EBP $\beta$ 、C/EBP $\alpha$  蛋白表达的影响[J]. 中医杂志,2017,58(6):511-515.
- [14] 王君化. HER2 和  $\beta$ -catenin 在食管癌中表达的临床病理意义[J]. 中南医学科学杂志,2016,44(5):531-535.
- [15] 张哲,徐秀娟,刘欣,等. 老鹳草素通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路影响小鼠骨髓基质干细胞的增殖和成骨分化[J]. 中华中医药学刊,2017,35(1):215-218.
- [16] 韦国雨,陈清雄,唐永亮,等. 基于 Wnt- $\beta$ -catenin 信号调控 BMP-2 表达探讨当归四逆汤防治类风湿性关节炎临床研究[J]. 中华中医药学刊,2017,35(1):243-246.
- [17] 刘兴振,范洁,李甲,等. 骨关节炎关节软骨自然退变过程中 Dvl2 及  $\beta$ -catenin 表达变化[J]. 中国现代应用药学,2016,33(11):1355-1358.

(收稿日期:2017-12-15)