

温肾阳颗粒对去卵巢骨质疏松模型小鼠骨量及骨强度的影响

刘韩森^{1,2,3} 金镇雄^{1,2,3} 沈鹏^{1,2,3} 李强^{1,2} 施杞^{1,2,3} 王拥军^{1,2,3} 唐德志^{1,2,3△}

[摘要] 目的:观察温肾阳颗粒对去卵巢骨质疏松模型小鼠骨量及骨强度的影响。方法:选取3个月龄SPF级C57BL/6品系雌性小鼠60只,采用随机数字表法分为正常对照组、模型组、温肾阳颗粒低剂量组、温肾阳颗粒中剂量组、温肾阳颗粒高剂量组,每组12只。正常对照组仅切除卵巢周围脂肪组织,模型组、温肾阳颗粒各剂量组切除双侧卵巢,饲养8周后,正常组及模型组给予蒸馏水灌胃,温肾阳颗粒各剂量组给予相应剂量的温肾阳颗粒汤剂灌胃8周后取材,分别进行血清骨代谢指标检测、Micro-CT检测和病理组织学染色以及生物力学检测。结果:子宫大小称量结果显示,与模型组比较,温肾阳颗粒中剂量组小鼠子宫质量显著增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清骨代谢指标显示,温肾阳颗粒各剂量组体内 E_2 水平上升,特别是中剂量组升高明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。Micro-CT结果显示,温肾阳颗粒中剂量组提高骨量最为明显;温肾阳颗粒中剂量组腰椎骨小梁体积/样本体积(BV/TV)和骨小梁厚度(Tb. Th)及骨小梁数目(Tb. N)显著高于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$),骨小梁间距(Tb. Sp)显著低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。病理组织学染色结果显示,温肾阳颗粒对去卵巢小鼠的骨髓腔脂肪含量、骨小梁结构得到显著改善,骨小梁断裂的数量明显少于模型组,骨小梁密度增加,厚度变厚,间隙减小。股骨生物力学检测结果显示,与模型组比较,温肾阳中剂量组明显提高最大载荷和最大应力及弹性模量,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:温肾阳颗粒能促进骨形成,抑制骨吸收,提高骨量和骨强度,从而起到改善骨质疏松的作用。

[关键词] 骨质疏松症;去卵巢;温肾阳颗粒;骨量;骨强度

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2023)11-0008-04

DOI:10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 231102

Observation of Wen-Shenyang Granule on the Bone Mass and Bone Strength of Mice with Ovariectomized Osteoporosis

LIU Hansen^{1,2,3} JIN Zhenxiong^{1,2,3} SHEN Peng^{1,2,3} LI Qiang^{1,2}
SHI Qi^{1,2,3} WANG Yongjun^{1,2,3} TANG Dezhi^{1,2,3△}

¹Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China;

²Institute of Spine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China;

³Key Laboratory of Ministry of Education for Theory and Treatment of Bones and Muscles, Shanghai 200032, China.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973883)

上海市人才发展基金资助项目(沪人社专〔2020〕447号)

上海中医药大学“杏林百人”计划项目(上中医人字〔2020〕23号)

国家中医药传承创新团队项目(ZYYCXTD-C-202202)

¹上海中医药大学附属龙华医院(上海,200032)

²上海中医药大学脊柱病研究所

³筋骨理论与治法教育部重点实验室

△通信作者 E-mail: dztang702@126. com

Abstract Objective: To observe the curative efficacy of Wen-Shenyang granule on ovariectomized mice. **Methods:** 60 female mice, 3-months-old SPF, grade C57BL/6 strain, were selected. The mice were randomly divided into 5 groups: control group, model group, Wen-Shenyang granule low, middle and high doses group, with 12 in each group. The control group only resected the adipose tissue around the ovary, and the model group and Wen-Shenyang granule groups resected both ovaries. After 8 weeks of feeding, the normal group and the model group were given distilled water by gavage, and each dose group of Wen-Shenyang granule was given the corresponding dose of Wen-Shenyang granule decoction by

gavage for 8 weeks. The samples were taken for serum bone metabolism index detection, Micro-CT detection, histopathological staining and biomechanical detection respectively. **Results:** The results of weighing uterus showed that compared with the model group, the weight of uterus in the middle dose group of Wen-Shenyang granule increased significantly ($P < 0.05$). Serum bone metabolism index showed that the E_2 level of Wen-Shenyang granule increased in each dose group, especially in the middle dose group ($P < 0.05$). Micro-CT results showed that the middle dose group of Wen-Shenyang granule improved bone mass most obviously. The BV/TV and Tb. Th in lumbar vertebrae were significantly higher in Wen-Shenyang middle-dose group than that in model group ($P < 0.05$), and Tb. Sp in Wen-Shenyang middle-dose group significantly lower than that in model group ($P < 0.05$). The results of histopathological staining showed that Wen-Shenyang granules significantly improved the bone marrow cavity fat content and trabecular structure in ovariectomized mice. The number of osseointegration fractures was significantly less than that of the model group. The density of trabecular bone increased, the thickness became thicker, and the gap decreased. The results of bone biomechanics showed that compared with the model group, the maximum load, maximum stress, and elastic modulus in the middle dose Wen-Shenyang granule group was significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Wen-Shenyang granule can enhance bone mass, increase bone strength, and thus play an important role in osteoporosis.

Keywords: osteoporosis; ovariectomize; Wen-Shenyang granule; bone mass; bone strength

骨质疏松症 (Osteoporosis, OP) 是一种常见全身性骨骼疾病,其特征是骨强度降低、骨量低和骨骼脆弱,这便增加了骨折的风险^[1-2]。骨质疏松症的发病率不断上升,以绝经后女性及老年患者居多^[3],目前骨质疏松症尚无理想的西药治疗方法^[4-5],而中医药治疗方法具有辨证论治、整体调节的效果^[6]。国医大师施杞教授传承、创新了石氏伤科的学术思想和理论特色,将“脏腑为本,筋骨并重”充分应用于骨科疾患的诊治中,温肾阳颗粒是其多年来用于治疗本病的临床经验方,具有较好临床疗效^[7]。本实验旨在探索该方改善去卵巢骨质疏松模型小鼠的疗效机制,为指导临床应用提供全面、可靠的科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选取 3 个月龄 SPF 级 C57BL/6 品系雌性小鼠 60 只,购自上海斯莱克公司,常规饲养于上海中医药大学实验动物中心。

1.2 实验药物

温肾阳颗粒浸膏粉由上海中医药大学中药学院制备,方由淫羊藿 9 g,女贞子 9 g,骨碎补 9 g,牛膝 9 g,独活 6 g 组成。1 g 浸膏粉相当于 3.17 g 生药。

1.3 实验试剂及仪器

E_2 、Ca、P 试剂盒(上海酶联生物),甲状旁腺激素(PTH, BD 公司),反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(TAKARA),苏木精染液(南京建成科技有限公司,批号为 20140902),伊红染液(南京建成科技有限公司,批号为 20140621),乙二醇四乙酸(上海国药集团化学试剂有限公司,批号为 20140829)。组织脱水机(德国 LEICA,型号为 TP1020),轮转式切片机(德国 LEICA,型号为 RM2135),摊片机(德国 LEICA,型号为

H11210);烘片机(德国 LEICA,型号为 H11220),光学显微镜(日本 Olympus,型号为 BX-50),孵育温箱(日本 EYELA,型号为 SLI-700);Micro-CT (scanco,型号为 vivaCT80)。

1.4 药物配制方法

小鼠给药体积为 0.2 mL/10 g,体重按 30 g 算,人体重按 70 kg 算,中剂量小鼠和人给药剂量按等效剂量比为 9:1 进行折算。低剂量和高剂量小鼠剂量分别为中剂量的 1/4 和 4 倍。计算中剂量组 70 kg 体重人 1 d 服药量为 6.37 g 生药,12 只小鼠 1 d 服药量为 0.033 g 生药,给药 60 d 共需 2.0 g 生药。30 g 体重小鼠给药体积为 0.6 mL,12 只给药 60 d 共计 432 mL,浓度为 2.0 g 生药/432 mL(相当于 0.63 g 浸膏粉/432 mL)。中剂量药液制备可取出 1.46 g 浸膏粉溶解到 1 000 mL 水中;低剂量药液制备可取出 0.37 g 浸膏粉溶解到 1 000 mL 水中;高剂量药液制备可取出 5.84 g 浸膏粉溶解到 1 000 mL 水中。

1.5 方法

1.5.1 随机分组 去卵巢骨质疏松小鼠模型的制备按照随机数字表法分组原则,将 60 只小鼠随机分为正常对照组、模型组、温肾阳颗粒低剂量组、温肾阳颗粒中剂量组、温肾阳颗粒高剂量组,每组 12 只。

1.5.2 建立骨质疏松模型 正常对照组仅从两侧卵巢旁边切除少许脂肪组织,不做卵巢摘除;其他 4 组均进行双侧卵巢切除手术。手术时于背部剪毛,形成约 3 cm×5 cm 的去毛区,以碘酊消毒后,用 2% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。其后沿腰部正中线下做纵行切口,长约 2~3 cm,切开皮肤后即可见位于两侧肾外下方呈粉红色的卵巢及紧密相连的子宫角,结扎并切断子宫角,将卵巢摘除,缝合背部肌肉及皮肤。常规饲

养,1 个月后各组给予对应治疗。2 个月后对所有小鼠进行摘眼球取血,收集子宫并称重,左侧胫骨、腰椎福尔马林固定,右侧股骨全长用盐水纱布包裹置于-20 ℃冰箱保存。

1.5.3 血清骨代谢指标 E₂、PTH、CA、P 检测步骤均按照试剂说明书进行。

1.5.4 检测骨密度及骨微结构 应用 Micro-CT80 显微 CT 统一定位第四腰椎进行三维扫描,获得重建图像后进行定量分析,获取骨密度(BMD)和骨微结构参数(骨小梁体积/样本体积(BV/TV)、骨小梁数目(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)和骨小梁间距(Tb. Sp))。

1.5.5 骨组织病理学变化 固定左侧胫骨,14% EDTA 脱钙 2 周后常规石蜡包埋、切片后行 ABHO/G 染色,显微镜(日本 Olympus)下观察骨小梁结构的变化。

1.5.6 骨生物力学指标检测 取右侧股骨全长在电子万能材料试验机(INSTRON-5543,美国,精度为 0.04%,测量范围为 10~1 100 N,温度为 23 ℃,湿度

为 60%~70%,速率为 10.0 mm/min)的三点弯曲装置(跨度为 10 mm)上测试股骨的最大载荷、最大应力和弹性模量。

1.6 统计学方法

所有数据采用 SPSS24.0 统计分析,各组计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。两组间比较采用独立样本 *t* 检验,方差不齐的资料用非参数检验;多组间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA),方差齐时用 Dunnett 检验,方差不齐时用 Dunnett's T₃ 检验;*P*<0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 温肾阳颗粒对子宫的影响

与正常对照组比较,模型组子宫大小和质量明显减小(*P*<0.05);与模型组比较,温肾阳颗粒各动物子宫质量都有一定的增加,温肾阳颗粒中剂量组差异有统计学意义(*P*<0.05),但明显小于空白组,见表 1。

表 1 温肾阳颗粒对子宫质量的影响($\bar{x} \pm s, n=12, g$)

正常对照组	模型组	温肾阳低剂量组	温肾阳中剂量组	温肾阳高剂量组
0.108±0.006	0.023±0.001 ¹⁾	0.025±0.001 ¹⁾	0.032±0.001 ¹⁾²⁾	0.026±0.002 ¹⁾

注:1)与正常对照组比较,*P*<0.05;2)与模型组比较,*P*<0.05。

2.2 对血清骨代谢指标的影响

与正常对照组比较,模型组 E₂ 水平下降,温肾阳各剂量组体内 E₂ 水平上升,特别是温肾阳中剂量组升高明显,差异有统计学意义(*P*<0.05);与正常对照组比较,模型组血钙水平下降,用药后血清钙水平趋于升高,但与模型组比较差异无统计学意义(*P*>0.05);与正常对照组比较,模型组血清磷水平

明显升高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。与模型组比较,温肾阳颗粒中、高剂量组血清磷水平明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05);与正常对照组比较,模型组血清甲状旁腺激素含量明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。与模型组比较,温肾阳颗粒中、高剂量组血清 PTH 水平明显升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

表 2 温肾阳颗粒对血清骨代谢指标的影响($\bar{x} \pm s$)

代谢指标	正常对照组	模型组	温肾阳低剂量组	温肾阳中剂量组	温肾阳高剂量组
E ₂ /(μg·L ⁻¹)	13.82±2.717	8.63±1.776 ¹⁾	9.95±2.776 ¹⁾	11.01±1.604 ¹⁾²⁾	9.37±1.531 ¹⁾
Ca/(mmol·L ⁻¹)	2.432±0.165	2.273±0.148 ¹⁾	2.216±0.209 ¹⁾	2.340±0.205	2.501±0.207
P/(mmol·L ⁻¹)	2.967±0.238	3.963±0.535 ¹⁾	3.422±0.550 ¹⁾	3.040±0.260 ²⁾	2.895±0.757 ²⁾
PTH/(pg·mL ⁻¹)	147.143±18.566	44.286±14.506 ¹⁾	85.857±16.413 ¹⁾	118.357±28.432 ²⁾	127.714±27.000 ²⁾

注:1)与正常对照组比较,*P*<0.05;2)与模型组比较,*P*<0.05。

2.3 骨密度

Micro-CT 检测,模型组腰椎骨密度较正常对照组显著下降(55%),差异有统计学意义(*P*<0.05)。温肾阳颗粒低剂量、中剂量、高剂量治疗后,腰椎骨密度较模型组分别提高 19%,34%和 10.7%,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 3。三维重建图像结果显示:与正常对照组相比,模型组股骨及腰椎骨小梁连续性下降、数量减少,温肾阳颗粒治疗后,骨小梁结构较模型组得到显著改善,见图 1。

2.4 骨微结构定量分析

Micro-CT 检测小鼠腰椎(L₄)骨小梁结构显示:模

型组骨小梁 BV/TV、Tb. N、Tb. Th 都显著低于正常对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05);Tb. Sp 显著高于正常对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。给予温肾阳颗粒治疗后,温肾阳中剂量组腰椎 BV/TV、Tb. N、Tb. Th 都显著高于模型组,差异有统计学意义(*P*<0.05);Tb. Sp 显著低于模型组,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 3。

2.5 骨组织病理学指标

与正常对照组相比较,模型组骨小梁密度降低、连续性下降,骨小梁厚度变薄,间隙增宽。温肾阳颗粒治疗后,骨髓腔脂肪含量、骨小梁结构得到显著改善,骨

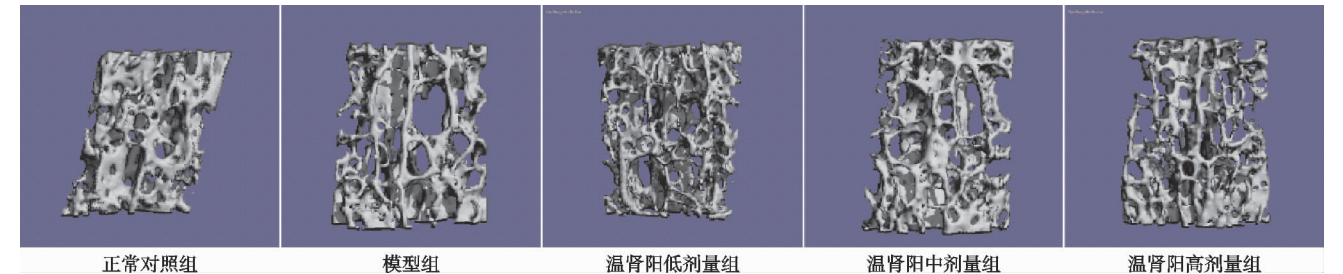


图 1 腰椎 Micro-CT 三维重建图(×100)

表 3 温肾阳颗粒对腰椎骨小梁骨微结构影响的定量分析(±s)

组别	例数/例	骨体积分数	骨小梁数目/mm ⁻¹	骨小梁厚度/mm	骨小梁分离度/mm	骨密度/(mg·cm ⁻³)
正常对照组	12	0.317±0.040	4.397±0.192	0.068±0.002	0.213±0.010	240.4±12.050
模型组	12	0.165±0.003 ¹⁾	3.357±0.115 ¹⁾	0.047±0.004 ¹⁾	0.299±0.010 ¹⁾	114.4±22.009 ¹⁾
温肾阳低剂量组	12	0.192±0.013 ¹⁾	3.502±0.519 ¹⁾	0.054±0.001 ¹⁾	0.280±0.011 ¹⁾	136.0±8.729 ¹⁾
温肾阳中剂量组	12	0.213±0.013 ¹⁾²⁾	3.816±0.091 ¹⁾²⁾	0.057±0.001 ¹⁾²⁾	0.249±0.011 ¹⁾²⁾	153.7±8.845 ¹⁾²⁾
温肾阳高剂量组	12	0.180±0.005 ¹⁾	3.705±0.093 ¹⁾	0.053±0.001 ¹⁾	0.258±0.071 ¹⁾	126.7±3.745 ¹⁾

注:1)与正常对照组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$ 。

小梁断裂的数量明显少于模型组,骨小梁密度增加,厚度变厚,间隙减小,见图 2。

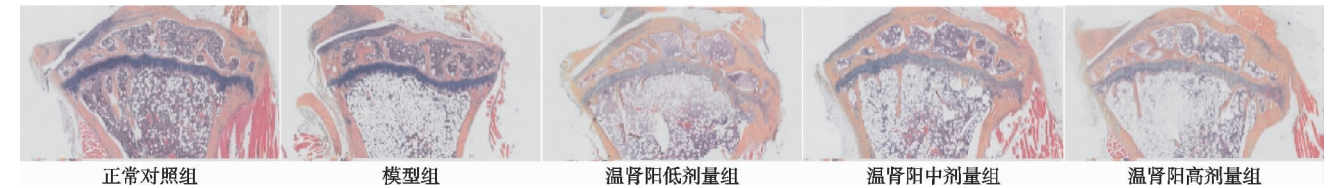


图 2 胫骨 ABH/OG 染色(×100)

2.6 骨生物力学参数

模型组股骨的最大载荷、最大应力和弹性模量较正常对照组明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。

温肾阳颗粒治疗后,最大载荷、最大应力和弹性模量均有提高,其中中剂量组最大载荷和最大应力差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 温肾阳颗粒对股骨生物力学参数的影响(±s)

参数	正常对照组	模型组	温肾阳低剂量组	温肾阳中剂量组	温肾阳高剂量组
最大载荷/N	17.32±4.20	9.33±4.23 ¹⁾	11.36±3.23 ¹⁾²⁾	14.67±4.11 ¹⁾²⁾	12.78±3.69 ¹⁾²⁾
最大应力/MPa	139.18±47.65	79.00±23.79 ¹⁾	96.10±13.39 ¹⁾²⁾	106.46±43.32 ¹⁾²⁾	95.55±33.69 ¹⁾²⁾
弹性模量/GPa	6.37±2.52	3.76±1.99 ¹⁾	4.26±1.63 ¹⁾	5.11±1.78 ²⁾	4.76±1.34 ¹⁾²⁾

注:1)与正常对照组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

《素问》所云:“肾主骨,生髓。”《医经精义》记载:“肾藏精,精生髓,髓生骨,故骨者肾之合也。”现代研究探析肾-骨-骨髓之间的生理关系,发现补肾中药可促进骨髓间充质干细胞(Marrow Stromal Cells, MSCs)的成骨细胞分化,调控骨的生长发育修复^[8-9]。补肾中药可有效降低骨转化率、缓解疼痛、预防骨折后骨量的丢失、提高骨密度等临床症状。其可能机制^[10-11]是通过调控 Runx-2 或 β -catenin 等信号通路,促进成骨细胞分化及矿化、钙盐沉积和骨形成、钙磷代谢,同时可抑制骨量丢失,从而明显增加骨密度。基于中医经典理论,国医大师施杞教授带领团队开展了针对骨质疏松症的临床实践和基础研究,应用补肾益精法进行治疗。施杞教授强调了肾脏在人体骨骼的生长和发育中的主导作用,特别是骨骼与人体肾精盛衰之间的密切

关系,认为人体骨骼的状态由肾精的充盛与否决定。旋杞教授认为肾精亏虚可能导致骨骼失去养分,从而引发骨质疏松症。施杞教授在临床实践中提倡从肾的角度治疗骨质疏松症,并确立了补肾益精法和调和阴阳法等临床治疗原则。文献^[12]进一步揭示了这些治疗方法背后的内在规律和分子机制,以验证其临床疗效。现代药理学研究表明,温肾阳颗粒有效成分被证实可以在抑制骨吸收方面发挥作用,其中淫羊藿苷、骨碎补总黄酮、女贞苷可以通过调控 β -catenin 通路,促进骨保护素表达,抑制破骨细胞活性^[10,13]。通过多中心、双盲、安慰剂随机对照研究发现温肾阳颗粒治疗后可显著改善疼痛和生活质量^[14],可见温肾阳颗粒可以改善骨质疏松症状,其作用机制有待进一步探究。

2018,26(4):12-17.

- [17] 余翔,金志超,梁德,等.急性踝关节扭伤的中医药治疗进展[J].中国中医急症,2017,26(12):2169-2172.
- [18] 胡劲松.魏氏伤科李飞跃治伤医案集[M].上海:上海科学技术出版社,2021.
- [19] 林定坤,杨海韵,刘金文.骨伤科专病中医临床诊治[M].北京:人民卫生出版社,2000.
- [20] 苏维霞.跌打损伤奇效良方[M].北京:人民军医出版社,2008.
- [21] 钱雅妮,尹巧英,王石柳,等.刺络拔罐结合温针灸治疗急性外侧踝关节扭伤的临床研究[J].中医药导报,2022,28

(9):80-83.

- [22] 王永铭,马群莹,涂世玉,等.弹性固定配合正骨理筋手法治疗急性踝关节扭伤 114 例[J].中国中医骨伤科杂志,2016,24(12):42-45.
- [23] 徐常珂,张成博,杨金萍,等.中药栀子本草考证[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(16):183-191.
- [24] 梁子毅,陈心敏,林梓凌,等.基于网络药理学的“桃仁-红花”治疗股骨颈骨折的作用机制探究[J].中医药导报,2019,25(23):28-36.

(收稿日期:2023-04-15)

(上接第 11 页)

本研究发现温肾阳颗粒能够改善去卵巢骨质疏松小鼠的腰椎骨小梁结构,增加腰椎骨密度,提高骨体积分数,增加骨小梁数目和骨小梁厚度,降低骨小梁分离度;增加骨生物力学强度,提高最大载荷、最大应力和弹性模量;能改善血清骨代谢水平,降低骨折发生率;并通过补肾壮阳,温煦经脉,增强机体对中药有效成分的充分吸收,从而促进骨质疏松性骨折的愈合,具有较好的临床推广价值。

参考文献

- [1] ALLEN T, HOLLINGHAM Z, MACWHIRTER J, et al. Inter-rater reliability of DartfishTM movement analysis software for measuring maximum flexion and extension at the hip and knee in older adults with osteoporosis and osteopenia[J]. Physiotherapy Theory & Practice, 2019, 35(6):577-585.
- [2] 沈霖,杨艳萍,谢晶,等.国人原发性骨质疏松症诊断标准研究[J].中国中医骨伤科杂志,2003,11(2):3-6.
- [3] 石玉梅,李诗哲,耿佃涛,等.围绝经期及绝经后女性血红蛋白和血脂与骨质疏松的相关性[J].中国骨质疏松杂志,2023,29(2):195-198.
- [4] SILVERMAN S. Individualizing osteoporosis medications[J]. Menopause: the Journal of the North American Menopause Society, 2014, 21(3):306-308.
- [5] AIHARA S, YAMADA S, OKA H, et al. Hypercalcemia and acute kidney injury induced by eldecacitol in patients with osteoporosis: a case series of 32 patients at a single facility[J]. Physiotherapy Theory and Practice, 2019, 41(1):88-97.

- [6] 笪巍伟,赵永见,兰儒贤,等.健脾补肾方增加 β -catenin、Runx-2 表达而促进骨质疏松性骨折愈合的疗效观察[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(6):719-726.
- [7] 王拥军,梁倩倩,唐德志,等.施杞防治慢性筋骨病学术思想与研究[J].上海中医药杂志,2017,51(4):1-5.
- [8] 王斌,胡年宏,罗毅文.从中医“肾主骨”“髓生骨”理论出发防治骨质疏松[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(3):3-4.
- [9] 原淳淳,黄晨,赵东峰,等.“调和肾阴、肾阳”防治原发性骨质疏松症研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2023,29(2):221-225.
- [10] TANG D Z, HOU W, ZHOU Q, et al. Osthole stimulates osteoblast differentiation and bone formation by activation of β -catenin-BMP signaling[J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(6):1234-1245.
- [11] MING L G, ZHOU J, CHENG G Z, et al. Osthol: a coumarin isolated from common enidium fruit, enhances the differentiation and maturation of osteoblasts in vitro[J]. Pharmacology, 2011, 88(2):33-43.
- [12] 王拥军,施杞.施杞防治骨代谢疾病的学术思想研究[J].上海中医药杂志,2017,51(7):1-5.
- [13] TANG D Z, YANG Z, CHENG S, et al. Osthole inhibits osteoclast formation through activation of β -Catenin-OPG signaling[J]. Bone, 2010, 47(Suppl3):S369.
- [14] YANG F, TANG D Z, CUI X J, et al. Classic Yin and Yang tonic formula for osteopenia: study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2011, 12(1):187.

(收稿日期:2023-06-02)