

• 实验研究 •

益骨汤调控巨噬细胞集落刺激因子信号轴干预
骨质疏松大鼠破骨细胞分化的实验研究陈华¹ 闫坤² 李瑞杰³ 吴连国¹ 徐铮青² 陈智能² 姚新苗²

[摘要] 目的:观察益骨汤对骨质疏松大鼠骨组织巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)信号轴的影响,探讨益骨汤通过干预破骨细胞分化治疗骨质疏松症的机制。方法:取12周龄SD雌性大鼠40只,随机分为假手术组、模型组、雌激素组和益骨汤组。药物干预3个月后处死并取双侧股骨,分别进行骨密度测定、生物力学测试、苏木精-伊红(HE)染色观察骨小梁变化,并用Western Blot法和qPCR法检测M-CSF、c-Fms和Grb2表达量的变化。结果:与模型组比较,雌激素组和益骨汤组骨小梁结构较为完整,连续性较好,骨密度均有所升高,差异有统计学意义($P<0.01$);弯曲载荷、弹性模量、刚性明显提高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与假手术组比较,模型组大鼠股骨c-Fms、Grb2、PI3K蛋白的表达增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,益骨汤组大鼠股骨组织c-Fms、PI3K蛋白表达明显下降,差异有统计学意义($P<0.01, P<0.05$);雌激素组c-Fms蛋白表达明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。假手术组、雌激素组和益骨汤组c-Fms mRNA的表达降低,差异有统计学意义($P<0.01$);雌激素组PI3K mRNA的表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$);益骨汤组Grb2 mRNA的表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:益骨汤可通过调控巨噬细胞集落刺激因子信号轴抑制骨质疏松大鼠破骨细胞分化,减少骨吸收,提高大鼠骨强度。

[关键词] 益骨汤;骨质疏松症;巨噬细胞集落刺激因子信号轴;破骨细胞

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2024)04-0008-05

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.240402

Experimental Study on the Efficacy of Yigu Decoction Regulating
M-CSF Signal Axis on Osteoclast Differentiation in Osteoporosis RatsCHEN Hua¹ YAN Kun² LI Ruijie³ WU Lianguo¹XU Zhengqing² CHEN Zhineng² YAO Xinmiao²

¹The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China;

²The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China;

³Affiliated Hospital of Shaoxing University of Arts and Sciences, Shaoxing 312099, Zhejiang China.

Abstract Objective: To observe the efficacy of Yigu decoction on macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) signal axis in bone tissue of osteoporosis rats, and to explore the mechanism of Yigu decoction in treating osteoporosis by intervening osteoclast differentiation. **Methods:** Forty 12-week-old female SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, estrogen group and Yigu decoction group. Rats were killed and bilateral femurs were taken after 3 months of drug intervention. The bone mineral density were measured, the biomechanics were tested, the changes of bone trabeculae were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the expressions of M-CSF, c-Fms and Grb2 were detected by Western Blot and qPCR. **Results:** Compared with the model group, the bone trabecular structure of estrogen group and Yigu decoction group was more complete, the continuity was better, the bone mineral density increased ($P<0.01$),

and the bending load, elastic modulus and rigidity increased significantly ($P<0.01$). Compared with the sham operation group, the expression of c-Fms, Grb2 and PI3K protein in the femur of the model group increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the expression of c-Fms and PI3K protein in the femur of the Yigu decoction group decreased sig-

基金项目:浙江省自然科学基金项目(LY17H270005)

浙江省中医药现代化专项项目(2021ZX009)

¹浙江中医药大学附属第二医院(杭州, 310005)

²浙江中医药大学附属第三医院

³绍兴文理学院附属医院

nificantly ($P<0.01$, $P<0.05$), and the expression of c-Fms protein in the estrogen group decreased significantly ($P<0.01$). The expression of c-Fms mRNA decreased in sham operation group, estrogen group and Yigu decoction group ($P<0.01$), PI3K mRNA decreased in estrogen group ($P<0.05$), and Grb2 mRNA decreased in Yigu decoction group ($P<0.05$). **Conclusion:** Yigu decoction can inhibit osteoclast differentiation, reduce bone resorption and improve bone strength in osteoporosis rats by regulating M-CSF signal axis.

Keywords: Yigu decoction; osteoporosis; M-CSF signal axis; osteoclast

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种老年人群多发的骨退化疾病,已成为全球性健康问题之一。骨骼生长过程中的骨骼建模以及整个生命中的矿物质稳态和骨骼重塑与成骨细胞和破骨细胞密切相关,破骨细胞的过度吸收是骨质疏松症发生的重要机制之一^[1]。巨噬细胞集落刺激因子(Macrophage Colony-Stimulating Factor, M-CSF)是破骨细胞分化过程中的重要因子^[2], M-CSF 信号轴(M-CSF/c-Fms/Grb2)与破骨细胞形成、分化关系密切^[3]。中药治疗骨质疏松症能够明显改善患者骨密度,具有很好的发展前景,然而其机制研究仍有不足,需进一步深入探索,以期为中医药防治骨质疏松症提供更有力的数据证明^[4-5]。本研究通过中药益骨汤干预骨质疏松大鼠,观察骨密度、生物力学性能、骨小梁及 M-CSF 信号轴相关因子的变化,探讨益骨汤对骨质疏松症的影响及其作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雌性 SD 大鼠 40 只,12 周龄,体重为 180~200 g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,在浙江中医药大学实验动物中心饲养,大鼠自由饮水和获取食物,饲养环境具备良好的通风和空气过滤系统,12 h/12 h 明暗交替循环。所有动物实验都遵循动物实验和研究伦理规范(ZSL-2017-184)。

1.2 主要药物

益骨汤水提液由浙江中医药大学中药标准化研究实验室完成,方由补骨脂 10 g,骨碎补 15 g,生地 15 g,仙灵脾 15 g,山药 15 g,丹参 30 g 组成,含生药 2.0 g/mL;红丽来结合雌激素片(国药准字 H20090172),每克含雌激素 0.625 mg,1 片溶于 100 mL 纯水中,水溶液浓度为 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3 主要试剂和仪器

抗 M-CSFR 抗体(Abcam, ab271294),抗 PI3K 抗体(CST, 4292),抗 Grb2 抗体(Abcam, ab32037),抗 β -actin 抗体(Abcam, ab20272),山羊抗兔抗体(Abcam, ab97200),逆转录试剂盒(日本 TaKaRa, RR047A),BCA protein assay kit(美国 Thermol Fisher, 23228),实时荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD),DPX-L 型双能 X 线骨密度仪(美国 Hologic),LAS4010 凝胶成像

仪(美国 GE),超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物公司),高速低温组织研磨仪(武汉塞维生物公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组及干预 将大鼠随机分为假手术组、模型组、雌激素组和益骨汤组,每组 10 只。各组大鼠选择背侧切口法,模型组、雌激素组和益骨汤组大鼠均手术去除双侧卵巢,假手术组仅找到双侧卵巢后逐层缝合;术后腹腔注射青霉素 3 d 以防感染。从第 13 周起开始每天给药,模型组以纯水灌胃,雌激素组以红丽来水溶液灌胃,益骨汤组以益骨汤水提液灌胃,各组剂量均为 10 mL/kg。药物干预 3 个月后处死大鼠,取双侧股骨,并于一 80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。通过双能 X 线骨密度测量仪测量获得大鼠股骨骨密度值,与假手术组比较,模型组大鼠骨密度明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$),说明建模成功。

1.4.2 生物力学测试 取各组股骨,用万能电子材料试验机做整骨三点弯曲试验,最大载荷 20 kg,两端跨距 20 mm,加载速度 2 mm/min,检测过程由计算机自动描记各组大鼠股骨的载荷-变形曲线^[6]。

1.4.3 苏木精-伊红(HE)染色 股骨于室温脱钙 30 d,在病理实验室进行自动脱水 16 h,然后将二甲苯与无水乙醇 1:1 混合透明 30 min \rightarrow 二甲苯 I 透明 10 min \rightarrow 二甲苯 II 透明 5 min \rightarrow 石蜡 I 浸蜡 20 min(58~60 $^{\circ}\text{C}$) \rightarrow 石蜡 II 浸蜡 20 min(58~60 $^{\circ}\text{C}$)。待石蜡完全凝固后切成 4 μm 厚的脱钙骨切片,切好后 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烤片 120 min。二甲苯 I 后二甲苯 II 各 5~10 min 脱蜡处理,再经不同浓度的乙醇水化,其次进行染色、脱水,二甲苯浸润后用中性树胶封固,正置显微镜(MoticAE 2000)摄片观察。

1.4.4 Western Blot 法检测蛋白表达差异 将股骨称重后放置在含液氮的研钵中,均匀地研磨骨组织成细小的碎片,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,利用蛋白标准曲线计算样品蛋白浓度。规范制备合适浓度的分离胶及 5% 浓缩胶,进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳完成后,半干转印待电泳(20 V, 1.3 A, 20 min)。将条带放入 5% 脱脂奶粉中,室温下慢速封闭孵育 1 h,分别用稀释好的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜(16~18 h),然后用 TBST 洗膜 3 \times 10 min,结合二抗 2 h 后洗膜 3 \times 10 min。显色并处理条带数据,用 Image J 软件计算

条带的灰度值,统计时以 β -actin 为对照。

1.4.5 qPCR 检测基因差异 Trizol 法提取总 RNA,取 1 μ L 样品经微量核酸蛋白分析仪测量浓度及纯度,OD260/OD280 应在 1.8~2.0 之间。利用试剂盒使用说明书体系进行 RNA 转录和扩增。确定孔数→稀释引物→稀释 cDNA→配制并分装预混液→将 cDNA 加入预混液→加板(96 孔板/384 孔板),每组反应设 3 个复孔并标准化为 β -actin 基因表达。将孔板放入 PCR 仪进行反应,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行分析^[7]。引物序列见表 1。

1.5 统计学方法

用 SPSS 26.0 统计学软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,所有数据首先进行方差齐性检验。多组间比较,方差不齐时采用非参数检验,方差齐则用单因素方差分析。 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

表 2 各组大鼠股骨三点弯曲指标($\bar{x}\pm s$)

组别	弯曲载荷/N	弹性模量/(N·mm ⁻²)	刚性/(N·mm ⁻¹)
假手术组	180.2±15.5 ¹⁾	535.1±62.4 ¹⁾	163.5±11.8 ¹⁾
模型组	157.6±7.5	407.3±50.5	119.1±6.2
雌激素组	186.9±14.0 ¹⁾	522.9±72.6 ¹⁾	161.3±10.1 ¹⁾
益骨汤组	187.0±13.0 ¹⁾	518.8±45.1 ¹⁾	161.0±4.2 ¹⁾

注:1)与模型组比较, $P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠股骨的 HE 染色结果

假手术组骨小梁连接紧密,边缘一致;模型组有骨小梁发生断裂,厚薄不均匀,骨分离度增加,细胞间隙增加,说明骨质疏松症模型制备成功;益骨汤组、雌激素组骨小梁结构较为完整,连续性较好,见图 1。

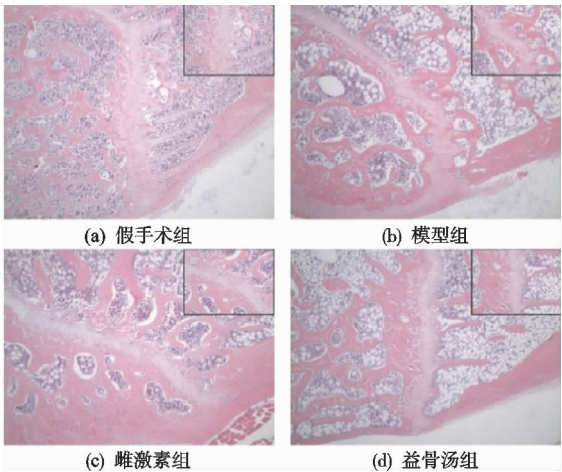


图 1 大鼠股骨组织 HE 染色图($\times 10$)

2.3 各组大鼠股骨组织 M-CSF 信号轴蛋白表达

与假手术组比较,模型组大鼠股骨 c-Fms、Grb2、PI3K 蛋白的表达增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,益骨汤组大鼠股骨组织

表 1 引物序列

基因	序列	产物长度/bp
PI3K	F CAGAACACGGCATCCACAGAAG	104
	R CTCCATGCTGCTGCTGACACTC	
MCSF-R	F CCGCCTGCCTGTAAAGTGGATG	94
	R CCAGAGGAGGATGCCGTAGGAC	
Grb2	F GGACATAGAACAGGTGCCACAGC	103
	R AATGAAGTCTCCTCGGCGAAAGC	
β -actin	F CAGGAGTCGTCTGAGTTGGA	111
	R CAAGAGATTTGGCTGGAACA	

2.1 各组大鼠股骨的生物力学测试结果

相较于模型组,假手术组、益骨汤组和雌激素组弯曲载荷、弹性模量、刚性明显提高,差异有统计学意义($P<0.01$);假手术组、益骨汤组和雌激素组之间相互比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明服用益骨汤可增强骨质疏松大鼠的股骨强度,见表 2。

c-Fms、PI3K 蛋白表达明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$);雌激素组 c-Fms 蛋白表达明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$);PI3K 蛋白变化不明显,两组 Grb2 蛋白下降不明显,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3 及图 2。

表 3 各组大鼠股骨组织 c-Fms、PI3K、Grb2 蛋白相对表达量比较($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	c-Fms	Grb2	PI3K
假手术组	0.77±0.17	0.86±0.07	0.55±0.23
模型组	1.13±0.10 ¹⁾	1.28±0.17 ²⁾	1.03±0.01 ¹⁾
雌激素组	0.78±0.02 ³⁾	1.06±0.03	0.55±0.29
益骨汤组	0.55±0.16 ³⁾	1.09±0.07	0.64±0.29 ⁴⁾

注:与假手术组比较,1) $P<0.05$,2) $P<0.01$ 。与模型组比较,3) $P<0.01$,4) $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠股骨组织 M-CSF 信号轴基因表达

与模型组比较,各组 c-Fms、PI3K 和 Grb2 mRNA 的表达均有下降趋势,假手术组、雌激素组和益骨汤组 c-Fms mRNA 的表达降低($P<0.01$),雌激素组 PI3K mRNA 的表达降低($P<0.05$),益骨汤组 Grb2 mRNA 的表达降低($P<0.05$),见表 4。基因表达水平的变化更好地说明了益骨汤在体内对于股骨中 M-CSF 信号轴的作用。

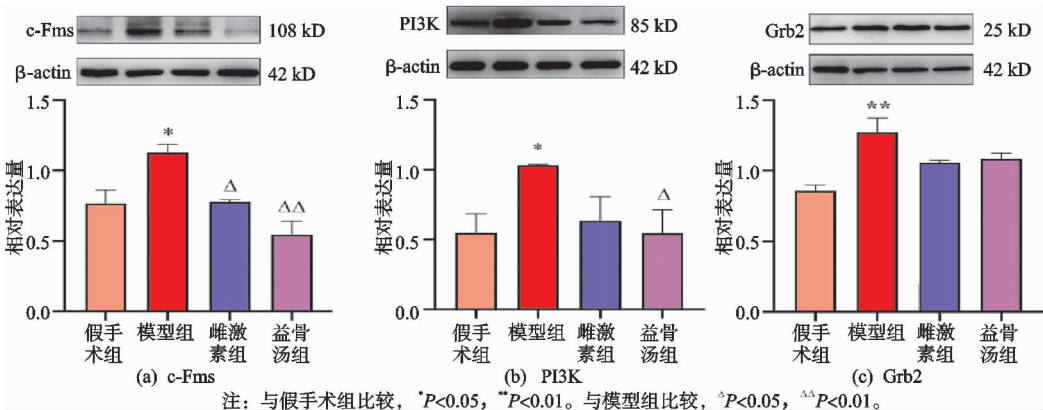


图 2 各组股骨组织 c-Fms、Grb2、PI3K 蛋白相对表达量比较

表 4 各组股骨组织 c-Fms、PI3K、Grb2 mRNA 相对表达量比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	c-Fms	Grb2	PI3K
假手术组	0.68±0.28	0.59±0.12	0.87±0.20
模型组	1.45±0.35 ¹⁾	1.72±0.50 ²⁾	1.42±0.34
益骨汤组	0.64±0.19 ³⁾	0.93±0.44 ⁴⁾	0.82±0.33
雌激素组	0.40±0.14 ³⁾	1.26±0.65	0.76±0.11 ⁴⁾

注：与假手术组比较，1) $P<0.01$ ，2) $P<0.05$ 。与模型组比较，3) $P<0.01$ ，4) $P<0.05$ 。

3 讨论

骨质疏松症类似于中医学“骨痿”“骨枯”“骨极”等，《素问·痿论》中的“皮毛虚弱急薄”“胫纵而不任地”“肌肉不仁”“枢折挈”“腰脊不举”“骨枯而髓减”“足不任身”等均描述出骨痿疼痛及活动受限的状态，与骨质疏松症状相似。《景岳全书·痿证》曰“肾者，水脏也，今水不胜火，则骨枯而髓虚，故足不任身，发为骨痿”，指出“肾”在该病过程中的重要作用^[8]。《难经·论经脉十四难》又进一步指出“五损损于骨，骨痿不能起于床”，表明骨痿与五脏皆相关^[9-10]，其发生与五脏虚损皆相关，其病变部位在筋脉肌骨，与肝肾、脾胃最为密切，证候以虚为本，或虚实错杂。益骨汤是由姚新苗教授基于“亏痿致痿”理论继承和发挥^[11]，应用补肾健脾活血法提炼出的治疗骨质疏松症的临床经验方，方由补骨脂、骨碎补、仙灵脾、丹参、山药、生地组成，兼顾“从瘀论治”“健脾为要”和“补肾为本”三个方面，具有补脾肾、强筋骨、活血化瘀止痛的综合功效^[12-13]。笔者前期的动物实验和临床试验证实益骨汤抗骨质疏松效果明显^[14-19]，此次动物实验进一步探索了益骨汤干预破骨细胞分化的抗骨质疏松机制。

3.1 益骨汤可提高骨质疏松大鼠骨强度

作为一种临床常见疾病，骨质疏松症影响了近三分之一的女性。女性雌激素缺乏会导致快速的骨质流失，这在绝经后的 2~3 年内最为严重^[20]，骨密度是临床上识别有骨折风险的骨质疏松症患者、做出治疗决定和监测治疗的宝贵工具。研究表明益骨汤组骨密度较模型组显著提高^[11]，提示卵巢摘除后

骨质疏松症大鼠骨代谢失衡；但骨密度并不能完全反映骨的强度，骨小梁的微结构变化是影响骨强度最重要的因素^[21]，相较于模型组，假手术组、益骨汤组和雌激素组弯曲载荷、弹性模量、刚性明显提高；大鼠股骨经 HE 染色后，能清楚地显现出骨小梁的位置，颜色均匀，容易区分。模型组有骨小梁发生断裂，厚薄不均匀，骨分离度增加，细胞间隙增加，进一步说明了骨质疏松症模型制备成功；益骨汤组、雌激素组骨小梁结构较为完整，连续性较好。由此可见益骨汤能提高大鼠骨强度，保持/改善骨小梁结构，与本课题组前期研究结果一致^[22-23]。

3.2 益骨汤的抗骨质疏松作用可能与调控 M-CSF 信号轴有关

骨重塑受到骨形成成骨细胞和骨吸收破骨细胞之间的相互作用的严格调节^[24]，M-CSF/c-Fms/Grb2 信号轴与破骨细胞形成、分化关系密切^[3]。M-CSF 是破骨细胞分化的重要信号之一，是破骨细胞生成支持细胞（如成骨细胞和骨细胞）表达的膜结合因子，主要促进破骨前体细胞的增殖和存活，通过结合和激活其同源受体 c-Fms 发挥作用^[25]，其酪氨酸残基(Y697 和 Y974)募集生长因子受体结合蛋白 2(Growth Factor Receptor-Binding Protein, Grb2)，Grb2 与 Gab1 结合，进而参与磷酸肌醇 3-激酶(Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(Protein Kinase B, Akt)途径^[26-27]，由此促进破骨细胞前体的存活。本研究中相较于模型组，益骨汤和雌激素可以下调 c-Fms、Grb2、PI3K 的表达，且益骨汤在 PI3K 的蛋白表达和 Grb2 mRNA 基因表达上优于雌激素，提示益骨汤抗骨质疏松的机制可能与抑制 M-CSF/c-Fms/Grb2 信号轴的激活，进而抑制破骨细胞生成，减少骨吸收有关。

综上所述，益骨汤能提高大鼠骨强度，保持/改善骨小梁结构，其作用机制可能与抑制 M-CSF 信号轴的激活，进而抑制破骨细胞的生成，减少骨吸收有关。本课题组下一步将继续进行体外细胞实验，以进一步验证益骨汤对该通路的调控作用。

参考文献

- [1] ATHANASOU N A. The osteoclast: what's new? [J]. *Skeletal Radiol*, 2011, 40(9): 1137-1140.
- [2] KUROTAKI D, YOSHIDA H, TAMURA T. Epigenetic and transcriptional regulation of osteoclast differentiation [J]. *Bone*, 2020, 138(9): 1154-1171.
- [3] 孟庆阳, 郑荣, 朱阳, 等. 破骨细胞分化因子及其信号转导通路[J]. *国际口腔医学杂志*, 2015, 42(2): 189-193.
- [4] 杜丽坤, 李佳睿. 骨质疏松症的中医认识及防治[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(2): 296-299.
- [5] 彭斯伟, 宋敏, 范凯, 等. 单味中药治疗肾虚型骨质疏松症机制研究状况[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(1): 76-80.
- [6] 姚新苗, 徐禄基, 冷涛, 等. 益骨口服液对去势大鼠骨密度与骨生物力学的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2010, 34(2): 142-143.
- [7] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [8] 范星华. 骨痿骨折的中医病机探讨[J]. *中医正骨*, 2022, 34(9): 67-68.
- [9] 梁伟乔, 钟诚, 李宇明. 骨质疏松症的中医病因病机认识与治疗进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(1): 135-139.
- [10] 李泽, 于冬冬. 中药调节 PMOP 成骨与成脂分化平衡的研究进展[J]. *中国处方药*, 2022, 20(1): 186-187.
- [11] 闫坤, 陈华, 张瑞坤, 等. 益骨汤对去卵巢骨质疏松大鼠核因子 κB 受体活化因子配体信号通路的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2022, 30(9): 1-6.
- [12] 陈华, 陈智能, 姚新苗. 姚新苗教授防治骨质疏松症的学术思想略谈[J]. *浙江中医药大学学报*, 2019, 43(5): 413-417.
- [13] 唐晶, 陈铁武, 姚新苗. 姚新苗运用补肾活血法治疗原发性骨质疏松症经验介绍[J]. *新中医*, 2021, 53(11): 226-228.
- [14] 何帮剑, 朱胤晟, 应建伟, 等. 益骨汤含药血清通过经典 wnt 信号通路促进成骨细胞增殖分化的研究[J]. *新中医*, 2017, 49(3): 10-13.
- [15] 李桂锦, 姚新苗. 益骨汤对骨质疏松大鼠成骨细胞相关基因表达的实验研究[J]. *浙江中医杂志*, 2018, 53(10): 727-729.
- [16] 李宁, 姚新苗, 龚怡辰. 基于 PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路探讨益骨汤对去势大鼠骨质疏松的作用[J]. *中国中医药科技*, 2021, 28(5): 708-711.
- [17] 谢丽丽, 姚新苗, 陈智能, 等. 益骨汤对绝经后骨质疏松患者雌激素水平及情志的影响[J]. *中国中医药科技*, 2017, 24(6): 690-693.
- [18] 陈智能, 谢丽丽, 陈华, 等. 基于网络药理学探讨益骨汤防治骨质疏松症的靶标和机制研究[J]. *中华全科医学*, 2021, 19(9): 1578-1583.
- [19] 徐铮青, 姚新苗, 何帮剑, 等. 益骨汤加减治疗老年骨质疏松症的多中心随机对照临床研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2016, 40(4): 253-257.
- [20] GOSSET A, POUILLÈS J M, TRÉMOLLIÈRES F. Menopausal hormone therapy for the management of osteoporosis[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2021, 35(6): 1015-1051.
- [21] 王维学, 陈希跃, 丰景斌, 等. 龙胆苦苷通过 MAPK 信号通路对骨质疏松大鼠骨吸收的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(3): 352-358.
- [22] 李威, 姚新苗, 李晓亚, 等. 益骨汤对骨质疏松大鼠骨密度及 BMP-2 信号通路的影响[J]. *云南中医学院学报*, 2016, 39(6): 5-9.
- [23] 林晓芳, 姚新苗, 李威, 等. 益骨汤对去势大鼠骨组织 wnt/ β -catenin 经典信号通路的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2018, 42(2): 97-104.
- [24] KIM J M, LIN C, STAVRE Z, et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2073.
- [25] MUN S H, PARK P S U, PARK-MIN K H. The M-CSF receptor in osteoclasts and beyond [J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(8): 1239-1254.
- [26] BELOV A A, MOHAMMADI M. Grb2, a double-edged sword of receptor tyrosine kinase signaling [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(249): pe49.
- [27] FENG X, TEITELBAUM S L. Osteoclasts: new insights [J]. *Bone Res*, 2013, 1(1): 11-26.

(收稿日期: 2023-10-07)