

## 参骨颗粒治疗绝经后骨质疏松的作用机制

薛慧芝<sup>1</sup> 曾家莹<sup>1</sup> 陈晓聪<sup>1</sup> 姚楠<sup>2,3</sup> 李伟举<sup>1,2</sup> 陈慧龙<sup>1</sup> 章雨童<sup>1</sup> 吕朝晖<sup>2△</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨参骨颗粒对去卵巢大鼠肠道菌群和炎症因子的影响,阐述其治疗绝经后骨质疏松症的作用机制。**方法:**将36只雌性大鼠随机均分为假手术组、模型组和参骨颗粒组。参骨颗粒溶液灌胃12周后, Micro-CT测量分析右侧股骨远端骨密度和骨微结构; ELISA法检测血清中骨转换标志物I型胶原氨基端前肽(PINP)、 $\beta$ -胶原特殊序列( $\beta$ -CTX)及炎症因子白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ); Western Blot法检测胫骨组织中破骨细胞抑制因子和核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(RANKL)的蛋白表达水平; 16S rRNA扩增及测序法检测肠道菌群。**结果:**与假手术组相比,参骨颗粒组大鼠的骨密度及BV/TV水平降低, Tb. Sp升高,结合骨微观结构,说明卵巢切除后大鼠骨结构呈骨质疏松样变。与模型组相比,参骨颗粒组大鼠PINP、IL-10、TGF- $\beta$ 及骨保护素(OPG)蛋白表达水平升高, $\beta$ -CTX、IL-17、TNF- $\alpha$ 及RANKL蛋白表达水平降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明参骨颗粒治疗可减少骨丢失,改善骨微结构。与模型组相比,参骨颗粒组大鼠肠道菌群的群落多样性提高、群落组成改善,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明参骨颗粒可以减轻骨质疏松引起的肠道菌群失调。**结论:**参骨颗粒能够改善绝经后骨质疏松,其机制可能与肠道菌群和炎症因子介导的RANKL/OPG通路有关。

**[关键词]** 参骨颗粒; 肠-骨轴; 绝经后骨质疏松症; 肠道菌群; 炎症因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2026)03-0016-07

**DOI:** 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.260303

## Exploring the Mechanism of Shengu Granules in Treating Postmenopausal Osteoporosis

XUE Huizhi<sup>1</sup> ZENG Jiaying<sup>1</sup> CHEN Xiacong<sup>1</sup> YAO Nan<sup>2,3</sup> LI Weiju<sup>1,2</sup>  
CHEN Huilong<sup>1</sup> ZHANG Yutong<sup>1</sup> LÜ Zhaohui<sup>2△</sup>

<sup>1</sup> The Fifth Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;

<sup>2</sup> Guangdong Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;

<sup>3</sup> Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China.

**Abstract Objective:** The effect of Shengu granules on intestinal microflora and inflammatory factors in ovariectomized rats was studied based on the gut-bone axis to reveal its mechanism in treating postmenopausal osteoporosis. **Methods:** Thirty-six female rats were randomly divided into three groups: Sham group, model group, and Shengu granules-treated group.

After 12 weeks of oral gavage with Shengu granule solution, bone mineral density (BMD) and bone microstructures were measured by Micro-CT, and bone turnover markers (PINP,  $\beta$ -CTX) and inflammatory cytokines (IL-10, IL-17, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) were detected by ELISA. The protein expression levels of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) were detected by Western Blot, and the intestinal microbiota was analyzed by 16S rRNA amplification and sequencing. **Results:** Compared with the Sham group, the Shengu granules-treated group exhibited

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目  
(2025A1515010409)

广东省中医药局科研项目(20251020)

广东省第二中医院科研创新基金项目

(SEZYY2023A08)

<sup>1</sup> 广州中医药大学第五临床医学院(广州, 510095)

<sup>2</sup> 广东省第二中医院

<sup>3</sup> 广东省中医药研究开发重点实验室

△通信作者 E-mail: zhaohuilv@163.com

decreased BMD and BV/TV levels and increased Tb, Sp; combined with bone microstructure analysis, these findings indicate that ovariectomized rats developed osteoporotic-like bone changes. Compared with the model group, the Shenggu granules-treated group showed significantly higher protein expression levels of PINP, IL-10, TGF- $\beta$ , and OPG, as well as significantly lower expression levels of  $\beta$ -CTX, IL-17, TNF- $\alpha$ , and RANKL. All these differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ), indicating that Shenggu granules treatment reduces bone loss and improves bone microstructure in the Shenggu granules-treated group. Furthermore, compared with the model group, the Shenggu granules-treated group demonstrated increased gut microbiota community diversity and improved community composition ( $P < 0.05$ ), suggesting that Shenggu granules can alleviate gut microbiota dysbiosis associated with osteoporosis. **Conclusion:** Shenggu granules can improve postmenopausal osteoporosis, and the underlying mechanism may be related to the RANKL/OPG pathway mediated by gut microbiota and inflammatory factors.

**Keywords:** Shenggu granules; gut-bone axis; postmenopausal osteoporosis; intestinal microbiota; inflammatory factors

绝经后骨质疏松(PMOP)是由于雌激素缺乏引起全身骨转化失衡,骨量减少,骨微结构被破坏的慢性疾病<sup>[1]</sup>。肠道菌群失调可通过诱发全身慢性炎症反应,激活破骨细胞介导的骨吸收,抑制成骨细胞活性,破坏骨平衡,从而导致骨质疏松的发生发展<sup>[2]</sup>。已证实参骨颗粒能改善骨质疏松患者血清中钙及 I 型胶原氨基端前肽(PINP)水平<sup>[3]</sup>,其中槲皮苷等活性成分可通过作用于白细胞介素(IL-1 $\beta$ )、IL-17 及肿瘤坏死因子(TNF)等信号通路<sup>[4]</sup>,改善骨质疏松。本研究旨在从肠-骨轴角度探讨参骨颗粒治疗绝经后骨质疏松症的机制,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

无特定病原体(SPF)级雌性 SD 大鼠 36 只,6~8 周龄,体重为(200 $\pm$ 20)g,购于广东省医学实验动物中心,实验动物使用许可证编号为 44007200100399。饲养过程中保持以下标准实验室条件:温度(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度 50% $\pm$ 5%,每笼 4 只,自由摄食和饮水。本实验已通过广东省第二中医院实验动物中心伦理委员会审查批准(批号为 048982)。

### 1.2 药物与试剂

参骨颗粒组成:党参、白术、茯苓、薏苡仁、续断、骨碎补、鳖甲、延胡索、山茱萸、牛膝、牡丹皮各 10 g,黄柏、苍术各 5 g,颗粒剂由广东一方制药厂提供。ELISA 试剂盒测定血清中的骨转换标志物 PINP(货号为 E-EL-R1414c)和  $\beta$ -胶原特殊序列( $\beta$ -CTX,货号为 E-EL-R1405c,Elabscience Biotechnology)。ELISA 试剂盒测定血清中的炎症标志物 TNF- $\alpha$ (货号为 E-EL-R2856c)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ ,货号为 E-EL-R1015c)、IL-10(货号为 E-EL-R0016c)、IL-17(货号为 E-EL-R0566c,Elabscience Biotechnology)、骨保护素(OPG)蛋白一抗(货号为 11534-1-AP)、核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体(RANKL)蛋白一抗(货号为 23408-1-AP)、 $\beta$ -Actin 蛋白一抗(货号为 20536-1-AP,Proteintech)。16S rDNA 基因测序法分析粪便中肠道菌

群组成:MagPure Soil DNA LQ Kit(货号为 D6356-02, Magen), Qubit dsDNA HS Assay Kit(货号为 Q32854, Life Technologies), Tks Gflex DNA Polymerase(货号为 R060B, Takara)。

### 1.3 主要仪器

Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪(Thermo Fisher), SkyScan 1076 型 micro-CT (Bruker), 5418 台式高速离心机(Eppendorf), C1000 Touch PCR 仪(Bio-rad), 2500 凝胶成像仪(Tanon), 2100 生物分析仪(Agilent), NanoDrop 2000(Thermo Fisher)。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 分组、建模及给药

36 只雌性大鼠随机均分为假手术组、模型组和参骨颗粒组。模型组和参骨颗粒组行双侧卵巢切除术,假手术组保留卵巢,切除其周围等量脂肪组织。参骨颗粒组予参骨颗粒溶液灌胃,假手术组及模型组等体积蒸馏水灌胃。大鼠给药剂量以体重为 70 kg 的成年人的 6.3 倍来换算<sup>[5]</sup>,灌胃体积 1 mL/100 g。12 周后,用 3%戊巴比妥溶液(2 mg/L)进行腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉采血,采血完毕后处死,取大鼠新鲜粪便、血清、股骨和胫骨等进行下一步研究。

#### 1.4.2 指标检测

##### 1.4.2.1 Micro-CT 检测骨量和骨微结构

用 Micro-CT 扫描右侧股骨远端局部骨密度和骨显微结构,重构右侧股骨远端结构图。相关计量指标包括反映骨矿物质含量的骨密度(BMD);评价皮质骨和松质骨骨量的骨体积分数(感兴趣区域内骨组织体积(BV)/总组织体积(TV)),能够间接反映骨代谢状况,该值增大说明骨合成大于骨分解,骨量增加;评估骨小梁空间结构变化的骨小梁数量(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)及骨小梁分离度(Tb. Sp),发生骨质疏松时,骨微结构发生改变,具体改变为骨小梁由板状变为杆状,骨小梁数量减少、厚度缩小、分离度增大。

##### 1.4.2.2 ELISA 检测血清指标

收集大鼠的全血样本,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,过滤除菌,放

置于-80℃冰箱保存备用。检测时按照试剂盒说明书,在酶标仪上依次测定各孔吸光度,收集整理数据,绘制标准曲线,计算血清中骨转化标志物 PINP、 $\beta$ -CTX 和炎症因子 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、IL-10、IL-17 的水平。

**1.4.2.3 Western Blot 实验检测胫骨组织中 OPG、RANKL 的蛋白表达水平** 取大鼠胫骨组织,通过裂解、离心、分离、转膜后提取目标蛋白,以  $\beta$ -Actin 作为内参,加入一抗后在 4℃ 下孵育过夜,接着加入二抗在室温下孵育 1 h,随后在曝光仪中进行曝光、显影、定影处理,将所得胶片用凝胶图像处理系统进行检测、分析,绘制目标蛋白的免疫印迹检测图。

**1.4.2.4 微生物群测序分析** 采集大鼠新鲜粪便,采用 16S rDNA 基因测序法分析 3 组肠道菌群组成,引物区域为 V3V4 前端引物(343F TACGGRAGGCAG-CAG)和后端引物(798R AGGGTATCTAATCCT),将 Illumina MiSeq 平台中获得的原始序列在 QIIME2 软件中进行质控、去噪、连接、嵌合后得到代表序列。

**1.5 统计学方法**

用 SPSS 27.0 软件进行数据统计分析,计量资料

均以  $\bar{x} \pm s$  形式表示。采用单因素方差分析,用 Tukey 检验分析统计学差异。用皮尔逊相关性分析显示参数之间的关系。 $P < 0.05$  差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 参骨颗粒对去卵巢大鼠骨密度和骨显微结构的影响**

与假手术组比较,模型组大鼠骨密度、BV/TV、Tb. Th 和 Tb. N 水平均显著降低,Tb. Sp 显著升高,说明卵巢切除后大鼠骨量减少;参骨颗粒治疗 12 周后,与模型组比较,参骨颗粒组大鼠 Tb. N 和骨密度、BV/TV、Tb. Th 水平均显著升高,Tb. Sp 明显下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );假手术组骨小梁结构紧密、粗细均匀、网状结构正常,而模型组骨微观结构遭到破坏,骨小梁结构疏松、粗细不等,部分网状结构连接出现断裂和缺失;参骨颗粒组与模型组相比,骨微结构破坏程度相对较轻,骨小梁结构较紧密,说明参骨颗粒可以提高去卵巢大鼠的骨量,改善其骨显微结构。股骨远端二维纵切面和横切面见图 1。股骨远端骨密度及骨微结构参数见表 1。

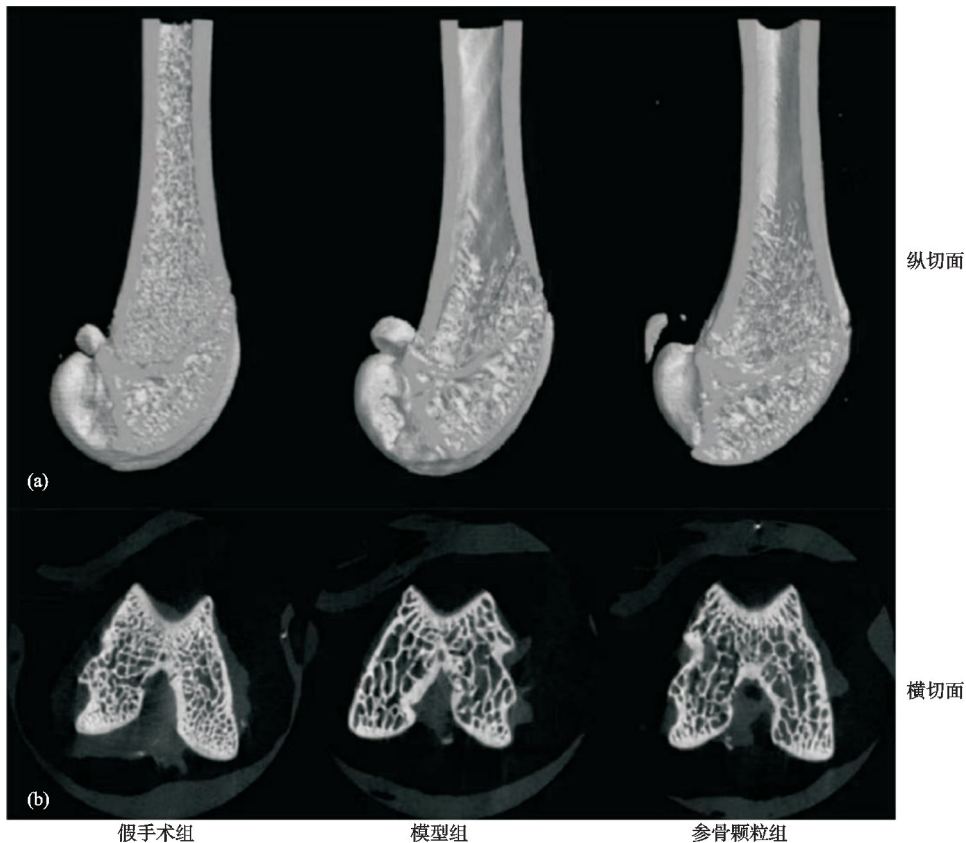


图 1 股骨远端二维纵切面和横切面

表 1 股骨远端骨密度及骨微结构参数比较( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

组别	骨密度/( $g \cdot cm^{-3}$ )	(BV/TV)/%	Tb. Th/mm	Tb. Sp/mm	Tb. N/ $mm^{-1}$
假手术组	$0.86 \pm 0.03$	$36.55 \pm 9.36$	$0.13 \pm 0.02$	$0.21 \pm 0.04$	$3.45 \pm 0.54$
模型组	$0.65 \pm 0.02^{1)}$	$7.96 \pm 1.14^{1)}$	$0.07 \pm 0.01^{1)}$	$1.16 \pm 0.03^{1)}$	$0.96 \pm 0.37^{2)}$
参骨颗粒组	$0.79 \pm 0.01^{1)3)}$	$21.98 \pm 1.97^{1)3)}$	$0.09 \pm 0.01^{2)3)}$	$0.69 \pm 0.15^{1)4)}$	$1.94 \pm 0.23^{1)4)}$

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

2.2 参骨颗粒对去卵巢大鼠血清中骨转化标志物及炎症因子的影响

2.2.1 参骨颗粒对去卵巢大鼠血清中骨转化标志物的影响 测定骨转化标志物(见表 2)以进一步证实参骨颗粒抗绝经后骨质疏松症的疗效。与假手术组相比,模型组血清中 PINP 显著降低、 $\beta$ -CTX 显著升高;与模型组相比,参骨颗粒组大鼠 PINP 表达升高, $\beta$ -CTX 表达降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明参骨颗粒可改善促进绝经后骨质疏松症大鼠的骨形成,抑制骨吸收。

表 2 各组大鼠血清 PINP、 $\beta$ -CTX 水平比较( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	PINP/(ng · mL <sup>-1</sup> )	$\beta$ -CTX/(ng · L <sup>-1</sup> )
假手术组	3 363.64 ± 328.21	20.98 ± 2.23
模型组	1 766.90 ± 207.10 <sup>1)</sup>	35.09 ± 2.88 <sup>1)</sup>
参骨颗粒组	2 985.32 ± 266.70 <sup>1)2)</sup>	25.90 ± 2.38 <sup>1)2)</sup>

注:1)与假手术组相比, $P < 0.01$ ;2)与模型组相比, $P < 0.01$ 。

表 3 各组大鼠血清中炎症细胞因子(IL-17、TGF、IL-10、TNF)水平比较( $n = 12, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$ )

组别	IL-17	TNF- $\alpha$	IL-10	TGF- $\beta$
假手术组	28.07 ± 0.76	295.31 ± 15.88	54.70 ± 0.34	492.02 ± 35.62
模型组	32.84 ± 2.67 <sup>1)</sup>	438.76 ± 18.56 <sup>2)</sup>	45.40 ± 2.11 <sup>2)</sup>	335.40 ± 52.07 <sup>2)</sup>
参骨颗粒组	23.32 ± 2.31 <sup>1)3)</sup>	260.75 ± 39.69 <sup>2)3)</sup>	51.02 ± 1.30 <sup>1)3)</sup>	414.77 ± 30.03 <sup>2)4)</sup>

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

表 4 各组大鼠股骨中 OPG 和 RANKL 蛋白水平比较( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	OPG	RANKL	OPG/RANKL
假手术组	0.83 ± 0.02	0.64 ± 0.42	1.30 ± 0.07
模型组	0.37 ± 0.20 <sup>1)</sup>	0.79 ± 0.20 <sup>1)</sup>	0.48 ± 0.04 <sup>1)</sup>
参骨颗粒组	0.46 ± 0.25 <sup>1)2)</sup>	0.54 ± 0.26 <sup>1)2)</sup>	0.85 ± 0.14 <sup>2)3)</sup>

注:与假手术组相比,1) $P < 0.05$ ,2) $P < 0.01$ ;与模型组相比,3) $P < 0.05$ 。

表 5 各组大鼠肠道内菌群的 Alpha 多样性指标( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	Chao 1 指数	Shannon 值	Observed Species 指数
假手术组	412.70 ± 78.11	6.53 ± 0.38	434.77 ± 36.71
模型组	307.95 ± 41.20 <sup>1)</sup>	5.25 ± 0.73 <sup>1)</sup>	320.96 ± 54.42 <sup>1)</sup>
参骨颗粒组	418.44 ± 47.83 <sup>1)2)</sup>	6.97 ± 0.43 <sup>1)2)</sup>	423.02 ± 42.87 <sup>1)2)</sup>

注:1)与假手术组相比, $P < 0.05$ ;2)与模型组相比, $P < 0.05$ 。

2.4.2 Beta 多样性分析 主坐标分析(PCoA)显示,PCoA2 是假手术组和模型组的主要分开因素,其贡献率为 10.12%;PCoA1 是模型组和参骨颗粒组的主要分开因素,其贡献率为 12.5%,表明卵巢切除会导致大鼠肠道菌群结构分布发生改变,经参骨颗粒治疗后,参骨颗粒组和模型组大鼠肠道菌群结构分布差异有统计学意义( $R = 0.3635, P < 0.05$ ),见图 2。

2.4.3 肠道菌群结构及差异分析 本研究从门和属水平研究了参骨颗粒对大鼠肠道菌群种类和丰度的影响。菌群门水平的组成如图 3(a)所示,Bacteroidetes 和 Firmicutes 为各组肠道优势菌门,其比值 Firmicutes/Bacteroidetes(F/B)的升高通常反映肠道菌群

2.2.2 参骨颗粒对去卵巢大鼠血清中炎症因子水平的影响 相比于假手术组,模型组大鼠血清中促炎细胞因子 IL-17 和 TNF- $\alpha$  水平上升,抗炎细胞因子 IL-10 和 TGF 水平下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );相较于模型组,参骨颗粒组大鼠的 IL-17、TNF- $\alpha$  水平显著下降,IL-10 和 TGF- $\beta$  水平明显上升,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明参骨颗粒治疗可减轻绝经后骨质疏松症大鼠的炎症反应,见表 3。

2.3 参骨颗粒对去卵巢大鼠股骨中 OPG 和 RANKL 蛋白水平表达的影响

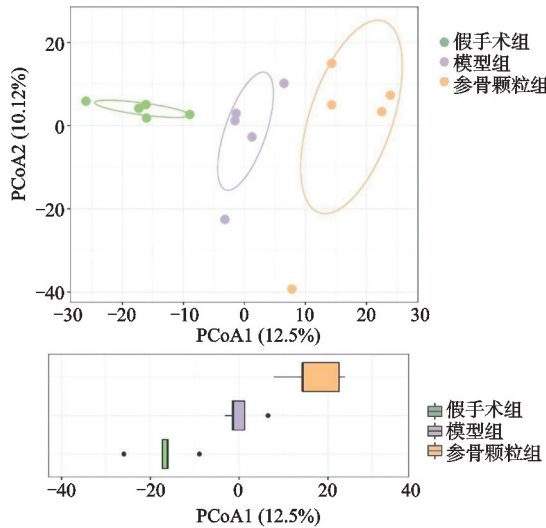
与假手术组相比,模型组 RANKL 蛋白表达水平升高,OPG 蛋白表达水平降低,OPG/RANKL 比值降低;与模型组相比,参骨颗粒组 OPG 表达升高,RANKL 表达降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明参骨颗粒可抑制骨吸收,调节骨代谢,见表 4。

2.4 参骨颗粒对去卵巢大鼠肠道菌群的影响

2.4.1 Alpha 多样性分析 与假手术组相比,模型组大鼠肠道菌群的物种丰度明显降低,均匀度变差,Observed Species 指数、Chao 1 指数及 Shannon 值降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组相比,参骨颗粒组 Observed Species 指数、Chao 1 指数、Shannon 值均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),物种丰度和均匀度得到了改善,见表 5。

紊乱,结果发现参骨颗粒组优势菌门变化趋势与假手术组相同,与参骨颗粒组相比,模型组的 F/B 值明显更高,证明切除大鼠卵巢会导致肠道菌群失调,参骨颗粒可以改善绝经后骨质疏松症大鼠的菌群结构。

肠道菌群属水平的分布见图 3(b),与假手术组相比,模型组大鼠肠道菌群中 Muribaculaceae、[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group、Lactobacillus 相对丰度下降,Lachnospiraceae\_NK4A136\_group、Escherichia-Shigella 相对丰度升高;与模型组相比,参骨颗粒组 Muribaculaceae、Lactobacillus、[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group 相对丰度升高,Escherichia-Shigella、Colidextribacter 相对丰度下降。Lactobacillus



注：横、纵坐标轴的刻度是相对距离，越相似的样本在图中的距离越近

图2 各组大鼠肠道内菌群的 Beta 多样性分析图

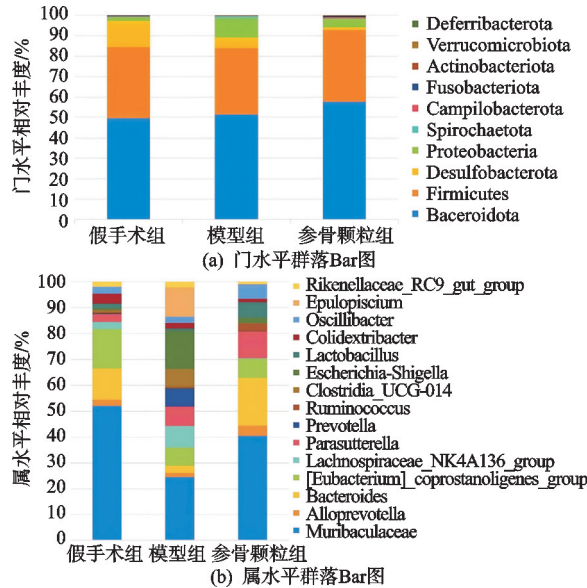
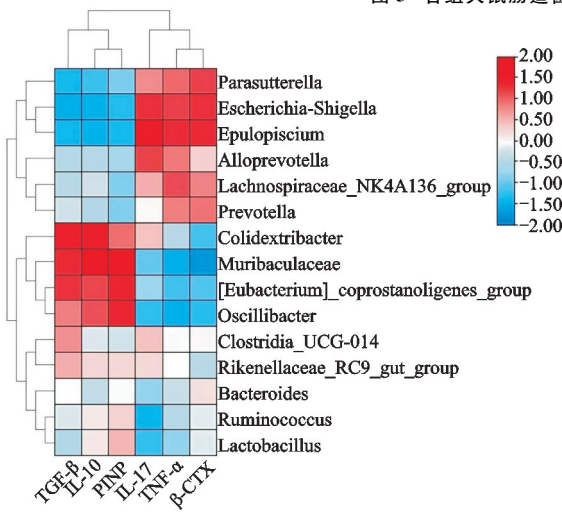


图3 各组大鼠肠道菌群门水平和属水平的相对丰度对比



注：此图显示骨质疏松生物学标志物与肠道菌群的相关系数值，红色代表正相关，蓝色代表负相关；颜色越深，相关性越强。

图4 骨质疏松生物学指标与肠道菌群的相关性

可促进短链脂肪酸(SCFAs)分泌,促进钙吸收,抑制条件致病菌<sup>[6]</sup>。[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group 属于厚壁菌门,是肠道微生物群的核心菌属之一,其产物丁酸等短链脂肪酸在免疫调节和肠道炎症抑制中起着关键作用<sup>[7]</sup>。

**2.4.4 骨质疏松相关生物学指标与肠道菌群及炎症因子的相关性分析** 为全面分析骨质疏松与肠道菌群的关系,选取关键菌群与炎症因子、骨转换标志物进行 Pearson 相关性分析验证。由图 4 可知,在属水平上, Colidextribacter、Muribaculaceae、[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group、Oscillibacter 与 IL-10、TGF-β、PINP 呈较强正相关( $|R| \geq 0.5$ ),而 Parasutterella、Escherichia-Shigella、Alloprevotella、Lachnospiraceae\_NK4A136\_group 与 IL-17、TNF-α、β-CTX 呈较强正相关( $|R| \geq 0.5$ )。Escherichia-Shigella 等

肠道致病菌能触发炎症反应,导致肠黏膜屏障被破坏<sup>[8]</sup>,Oscillibacter 相对丰度增多能改善炎症反应,减轻骨质疏松<sup>[9]</sup>,表明参骨颗粒可以促进去卵巢大鼠 [Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group 等益生菌的生长,促进肠道微生态平衡,抑制条件致病菌在肠道的定殖与繁殖,改善肠道菌群。

### 3 讨论

绝经后骨质疏松症的临床表现主要为骨痛和肢体痿软无力,与“骨痿”“骨极”等中医病名相符<sup>[10]</sup>,与脾肾密切相关<sup>[11]</sup>。正如《医述》所言“善于补肾者,当于脾胃求之”,治疗骨痿,除补肾强骨外,健脾亦是关键。现代研究表明,脾虚表现为消化系统的消化和吸收功能下降,导致钙、磷、维生素等吸收减少,引起骨代谢异常<sup>[12]</sup>,肠道发挥着尤为关键的作用,其功能改变往往与肠道菌群失调密切相关<sup>[13]</sup>。

参骨颗粒由参苓白术散合四妙散加减而成,具有健脾益骨、祛湿通络的功效,方中党参补脾胃之气,白术、茯苓祛湿健脾、固护中焦脾胃,苍术、薏苡仁渗湿助运,黄柏清下焦湿热,三者共同清利关节的湿热之邪,骨碎补、续断、牛膝、山茱萸、龟甲补益肝肾、强筋壮骨,延胡索、牡丹皮祛久病之瘀血、通阻滞之经络,消一身上下之疼痛。

骨质疏松和炎症反应的密切关联已成为该领域的中药研究方向<sup>[14]</sup>。研究证实多种促炎因子可直接或间接参与骨代谢调控,加速骨丢失<sup>[15]</sup>。绝经后骨质疏松症发病,雌激素缺乏可激活 CD4<sup>+</sup> T 细胞,促进 IL-17、TNF- $\alpha$  等炎症因子分泌,进一步加剧骨丢失。相反,抗炎因子(如 TGF- $\beta$  和 IL-10),不仅能够抑制炎症反应,还可促进成骨细胞增殖与分化,对骨形成具有保护作用<sup>[16-17]</sup>。

RANKL/OPG 是连接免疫与骨代谢的核心通路,RANKL 通过结合破骨细胞上的核因子- $\kappa$ B 受体激活因子(RANK)激活破骨细胞,而 OPG 作为其天然拮抗剂,有效抑制骨吸收<sup>[18-19]</sup>。T 细胞亚群(如 Th17 和 Treg)在免疫调节中发挥关键作用:Th17 细胞通过分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-17 上调 RANKL/OPG 比值,促进破骨细胞分化;Treg 细胞则通过产生 TGF- $\beta$  和 IL-10,抑制炎症反应,促进 OPG 表达,从而维持骨稳态<sup>[20-21]</sup>。

本研究表明参骨颗粒可显著改善去卵巢大鼠的骨质疏松样变,具体机制包括:提升血清抗炎因子(IL-10、TGF- $\beta$ )水平,降低促炎因子(IL-17、TNF- $\alpha$ )表达;调节 RANKL/OPG 平衡,抑制破骨细胞活性,同时促进成骨指标 PINP 的表达,抑制破骨指标  $\beta$ -CTX 的表达。这些结果提示参骨颗粒可能通过多靶点调控炎症-骨代谢网络,从而延缓骨丢失。

近年来,肠-骨轴理论为骨质疏松的治疗提供了新视角。肠道菌群通过代谢产物(如短链脂肪酸)调控全身炎症反应和免疫应答,进而影响骨密度和骨微结构<sup>[22-23]</sup>。本研究显示参骨颗粒可显著调节去卵巢大鼠肠道菌群结构,降低 F/B 比值,该值与骨体积负相关<sup>[24]</sup>。此外,参骨颗粒可促进 Muribaculaceae、[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group 和 Ruminococcus 等有益菌的生长,抑制 Escherichia-Shigella 和 Clostridia\_UCG-014 等条件致病菌的增殖,从而改善肠道屏障功能、减轻系统性炎症,最终促进骨稳态恢复<sup>[25-26]</sup>。

本研究从肠-骨轴角度系统阐述了参骨颗粒治疗绝经后骨质疏松症的多机制协同作用,结合动物实验与多组学分析,为中药复方多靶点、整体性作用特点提供了科学依据,也为临床防治绝经后骨质疏松症提供

了新的思路。在临床实践中,除传统的补充钙剂、维生素 D 及抗骨吸收药物治疗外,还应重视肠道健康在维持骨稳态中的作用,可通过饮食干预或中医药调理等方式改善肠道微生态,从而改善微生物-免疫-骨骼网络,综合防治骨质疏松。此外,炎症因子水平及肠道菌群结构的动态变化,有望成为骨质疏松疗效和预后评估的生物标志物,推动骨质疏松的个体化与精准治疗,具有重要的临床转化价值。

本研究具有多项优势:首先,从肠-骨轴角度系统阐述了参骨颗粒治疗绝经后骨质疏松症的作用机制,揭示了中药复方通过调节肠道微生态进而影响骨代谢的潜在机制;其次,研究采用动物实验结合多组学分析的方法,观察了参骨颗粒对去卵巢大鼠骨量和骨微结构的作用,检测了肠道菌群的变化,初步阐明了其与炎症因子及骨代谢指标之间的相关性,增强了研究的系统性和说服力。

本研究还存在一定局限性:首先,实验分组设计尚不完善,仅设置空白组、模型组及实验组,缺乏阳性药物对照组以及参骨颗粒不同剂量干预组,导致无法全面评估其量效关系及与标准治疗的疗效差异;其次,未能通过 Western Blot 等实验对 RANKL/OPG 等关键信号通路中相关蛋白的表达变化进行验证,对药物作用机制的探讨不够深入。在后续研究中,拟通过增设阳性药物对照组和多剂量梯度组,并结合蛋白水平的功能验证,系统、全面地阐明参骨颗粒治疗绝经后骨质疏松症的药效及分子机制。

综上所述,参骨颗粒能够通过调节去卵巢大鼠的肠道菌群结构与多样性,增强肠道黏膜屏障功能,减少促炎因子释放并增加抗炎因子表达,进而调控骨组织中 RANKL/OPG 信号通路,抑制破骨细胞介导的骨吸收,提高成骨细胞活性,最终提高骨密度、改善骨微结构,延缓骨质疏松进程。

## 参考文献

- [1] The North American Menopause Society. Management of osteoporosis in postmenopausal women: the 2021 position statement of The North American Menopause Society [J]. Menopause, 2021, 28(9): 973-997.
- [2] 郑修竹,朱春雨,梁彦博,等. 冬凌草甲素对绝经后骨质疏松小鼠肠道菌群的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2025, 31(6): 799-805.
- [3] 陈晓聪,吕朝晖,曾家莹,等. 参骨方对脾虚湿困型老年骨质疏松性骨折患者术后疗效影响研究[J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(2): 348-353.
- [4] 段小云,仲瑞雪,吴传红,等. 基于数据挖掘和网络药理学探讨中医药治疗骨质疏松症的用药规律及机制[J]. 中国医院用药评价与分析, 2023, 23(2): 162-168.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 202-204.

- [6] RAVESCHOT C, COUTTE F, FRÉMONT M, et al. Probiotic *Lactobacillus* strains from Mongolia improve calcium transport and uptake by intestinal cells in vitro[J]. *Food Research International*, 2020, 133:109201.
- [7] LI W, ZHANG L, XU Q B, et al. Taxifolin alleviates DSS-induced ulcerative colitis by acting on gut microbiome to produce butyric acid[J]. *Nutrients*, 2022, 14(5):1069.
- [8] MALESZA I J, MALESZA M, WALKOWIAK J, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review [J]. *Cells*, 2021, 10(11):3164.
- [9] DENG L, YANG Y, XU G S. Empagliflozin ameliorates type 2 diabetes mellitus-related diabetic nephropathy via altering the gut microbiota[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2022, 1867(12):159234.
- [10] 曹盼举, 张晓刚, 王志鹏, 等. 中医古籍对骨质疏松症病因病机及治则的认识探析[J]. *中医药信息*, 2018, 35(5):31-34.
- [11] 安国俊, 张起. 中医药治疗骨质疏松症研究进展[J]. *光明中医*, 2023, 38(18):3662-3666.
- [12] 盛彤, 谢培凤, 王新祥, 等. 骨质疏松症中医脾虚病机认识的现代医学基础[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2013, 19(5):509-513.
- [13] DE VOS W M, TILG H, VAN HUL M, et al. Gut microbiome and health; mechanistic insights[J]. *Gut*, 2022, 71(5):1020-1032.
- [14] FISCHER V, HAFFNER-LUNTZER M. Interaction between bone and immune cells; implications for postmenopausal osteoporosis[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2022, 123:14-21.
- [15] WU D, CLINE-SMITH A, SHASHKOVA E, et al. T-cell mediated inflammation in postmenopausal osteoporosis[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12:687551.
- [16] CLINE-SMITH A, AXELBAUM A, SHASHKOVA E, et al. Ovariectomy activates chronic low-grade inflammation mediated by memory T cells, which promotes osteoporosis in mice[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2020, 35(6):1174-1187.
- [17] ZHANG Z D, ZHANG X Z, ZHAO D W, et al. TGF- $\beta$ 1 promotes the osteoinduction of human osteoblasts via the PI3K/AKT/mTOR/S6K1 signalling pathway[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2019, 19(5):3505-3518.
- [18] TAKAYANAGI H. RANKL as the master regulator of osteoclast differentiation[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2021, 39(1):13-18.
- [19] UDAGAWA N, KOIDE M, NAKAMURA M, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2021, 39(1):19-26.
- [20] ONO T, HAYASHI M, SASAKI F, et al. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond[J]. *Inflammation and Regeneration*, 2020, 40(1):2.
- [21] JANN J, GASCON S, ROUX S, et al. Influence of the TGF- $\beta$  superfamily on osteoclasts/osteoblasts balance in physiological and pathological bone conditions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20):7597.
- [22] LI S H, HE Y C, ZHANG H O, et al. Formulation of traditional Chinese medicine and its application on intestinal flora of constipated rats [J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1):212.
- [23] CHENG M, TAN B, WU X J, et al. Gut microbiota is involved in alcohol-induced osteoporosis in young and old rats through immune regulation[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11:636231.
- [24] MCCABE L R, PARAMESWARAN N. Advances in probiotic regulation of bone and mineral metabolism[J]. *Calcified Tissue International*, 2018, 102(4):480-488.
- [25] 王欣, 朱敏, 董思晶, 等. 芍药苷对结肠炎小鼠肠道菌群及胆汁酸代谢的调节作用[J]. *药学报*, 2021, 56(7):1811-1819.
- [26] MUKHERJEE A, LORDAN C, ROSS R P, et al. Gut microbes from the phylogenetically diverse genus *Eubacterium* and their various contributions to gut health[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1):1802866.

(收稿日期:2025-08-06)