

基于肠道菌群的骨碎补抗绝经后骨质疏松症的机制研究

王杰¹ 李琰² 石威¹ 金鑫² 李磊² 侯燕² 陈小鹏² 王志洲¹ 余昕² 姜红江^{1,2△}

[摘要] 目的:探讨骨碎补防治绝经后骨质疏松症(PMOP)的作用机制及其与肠道菌群的关系。方法:将 18 只 SPF 级雌性 SD 大鼠随机分为模型组(VOX 组)、假手术组(SHAM 组)和骨碎补组(OVXDF 组)。以手术方式构建绝经后骨质疏松症模型,持续灌胃 12 周。腹主动脉取血后处死,留取血清标本、双侧股骨、肠道粪便进行骨转化标志物检测及骨微结构分析,骨组织中 Wnt/ β -catenin 相关蛋白的表达水平测定及肠道菌群结构和多样性分析。结果:与 OVX 组相比,SHAM 组 Tb. N、Tb. Th、Tb. Sp、NTX-I、Wnt3a、 β -catenin、RUNX2、Faith-pd 指数、香农指数差异有统计学意义($P<0.01$),PINP、Faith-pd 指数、Chao1 指数差异有统计学意义($P<0.05$)。与 OVX 组相比,OVXDF 组 Tb. N、Tb. Th、Tb. Sp、PINP、NTX-I、Wnt3a、 β -catenin、RUNX2、香农指数差异有统计学意义($P<0.01$),Chao1 指数差异有统计学意义($P<0.05$),Faith-pd 指数差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:骨碎补可能是通过增加肠道菌群的丰度及多样性,调节肠道菌群结构并介导 Wnt/ β -catenin 信号通路,来减少绝经后骨质疏松症模型大鼠的骨量丢失。

[关键词] 绝经后骨质疏松症;肠道菌群;骨碎补;信号通路;作用机制

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)12-0007-08

Mechanism Study on Rhizoma Drynariae against Postmenopausal Osteoporosis Based on Intestinal Flora

WANG Jie¹ LI Yan² SHI Wei¹ JIN Xin² LI Lei² HOU Yan²
CHEN Xiaopeng² WANG Zhizhou¹ YU Xin² JIANG Hongjiang^{1,2△}

¹ The First Clinical School of Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

² Shandong Wendeng Osteopathic Hospital, Weihai 264400, Shandong China.

Abstract Objective: To explore the mechanism of rhizoma drynariae on the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis (PMOP) and its relationship with intestinal flora. **Methods:** 18 SPF female SD rats were randomly divided into model group (OVX group), sham operation group (SHAM group) and rhizoma drynariae group (OVXDF group). The PMOP model was constructed surgically and continued to be given by gavage for 12 weeks. Blood sample was got from abdominal aorta before SD rats were sacrificed. Serum samples, bilateral femurs and intestinal feces were collected for bone transformation marker detection, bone microstructure analysis, the expression levels of Wnt/ β -catenin-related proteins in bone tissue, and gut microbiota structure and diversity were analysed. **Results:** Compared with the OVX group, the SHAM group had significant differences in Tb. N, Tb. Th, Tb. Sp, NTX-I, Wnt3a, β -catenin, RUNX2 and Shannon index ($P<0.01$), and PINP, Chao1 index and Faith-pd index was statistically different ($P<0.05$). Compared with the OVX group, the Tb. N, Tb. Th, Tb. Sp, PINP, NTX-I, Wnt3a, β -catenin, RUNX2 and Shannon index of the OVXDF group were significantly different ($P<0.01$), Chao1 index was statistically different ($P<0.05$), Faith-pd index was not statistically different ($P>0.05$). **Conclusion:** Rhizoma drynaria may reduce bone loss in PMOP model rats by increasing the abundance and diversity of intestinal flora, regulating the structure of intestinal flora and mediating Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Keywords: postmenopausal osteoporosis; intestinal flora; rhizoma drynariae; signaling pathway; mechanism

基金项目:山东省中医药科技项目(Q-2022030)

山东省中医药科技发展计划项目(2019-0798)

¹ 安徽中医药大学第一临床医学院(合肥,230031)

² 山东省文登整骨医院

[△]通信作者 E-mail: boneman@163.com

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)是由于绝经后女性雌激素缺乏,出现骨皮质变

薄、骨小梁断裂^[1],并易发骨折的一种全身性骨病。据其症状可视其为中医疾病“骨痿”。骨碎补作为伤科要药,具备补肾壮骨、活血疗伤的功效^[2]。有研究表明,补肾健脾类中药可以通过维持肠道菌群的稳态影响骨代谢,来发挥防治骨质疏松的作用^[3]。肠道菌群构成人体内重要的微生态系统,在参与调节机体骨代谢中具有重要意义^[4]。本研究通过实验探讨骨碎补抗绝经后骨质疏松症作用机制及其与肠道菌群之间的关系。

1 材料和方法

1.1 实验动物及辅料

18只8周龄雌性大鼠(体重为220~250 g,许可证号为SCXK(鲁20190003))、玉米芯垫料、SPF级大小鼠繁殖饲料均购于济南朋悦。实验通过山东省文登整骨医院伦理委员会批准,批准号为LL2021052701。实验动物饲养于山东省文登整骨医院动物实验室,设置温度为22~28℃,相对湿度达40%~70%,12 h间隔照明模拟昼夜节律。提供灭菌纯水及饲料,自由进食饮水。

1.2 药品和试剂

骨碎补饮片来自山东省文登整骨医院,I型原胶原N端前肽(INP)试剂盒(ml-E793)、I型胶原N端肽交联(NTX-I)试剂盒(ml-E6404)均购于上海酶联生物,BCA蛋白定量试剂盒(P0012S)、骨蛋白提取试剂盒(P0013M)、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(P0012A)均购于上海碧云天,抗体Wnt3a(K000328P)、 β -catenin(K20022M)、RUNX2(K003506P)、 β -actin(K200058M)、兔二抗(SA232)均购于北京索莱宝,苯巴比妥钠注射液(批号为2103071,天津金耀)。0.9%氯化钠注射液(批号为2101010523,辰欣药业),75%乙醇(批号为210107,山东利尔康)。

1.3 实验仪器

超纯水仪(Smart2Pure,赛默飞,德国),Micro CT(型号为NMC-100,平生医疗),离心机(型号为Sorvall ST 16R,赛默飞,德国),电泳仪(Mini-Protean TetraCell,美国伯乐生命),转印槽(TRANS-blot),全自动核酸纯化仪(KingFisher Duo Prime,赛默飞,新加坡),酶标仪(Multiskan GO, Thermo公司,美国),PCR扩增仪(Simp Liamp,赛默飞,德国),荧光定量PCR仪(7500,赛默飞,新加坡),Novaseq 6000测序仪(Illumina,美国)。

1.4 方法

1.4.1 分组与造模 18只雌鼠经7 d适应性喂养,然后按随机数字表法分成假手术组(SHAM组),模型组(OVX组),骨碎补组(OVXDF组),各6只。通过腹腔注射方式对各组大鼠用苯巴比妥钠麻醉,成功后予术区备皮消毒,经背侧腰椎旁入路各做一纵切口,长约1.5 cm,切除OVX组和OVXDF组大鼠双侧卵巢及SHAM组卵巢周围等量脂肪。术后单笼饲养,麻醉苏

醒后活动状态良好,各组大鼠均未使用抗生素,切口按时消毒,定期更换垫料,预防感染。术后2周切口完全愈合,无死亡情况。

1.4.2 药物制备与给药 骨碎补100 g置于锅中,加三蒸水浸渍60 min,调整液面,大火煮沸,继续用小火熬煮30 min,滤出煎液,锅中再次加入水,二煎,火候控制同前,时长20 min,同前滤出煎液,与头煎汤液混合,继续文火蒸馏至100 mL,获得骨碎补药液(1 g/mL),4℃储存备用。术后继续饲养2周后给药,剂量按人鼠等效剂量换算方法计算^[5]。成人取标准体重60 kg,给药前大鼠平均体重约300 g,得到OVXDF组灌胃剂量(6.1 g/kg),其余各组每天灌胃相应生理盐水。1次/d,持续12周,每14 d调整剂量。

1.4.3 标本采集 灌胃结束后,全部大鼠依次麻醉,经腹主动脉采血,留取血清并分离双侧股骨备用。解剖大鼠腹腔,分离肠道,切开回盲部,取出肠管内适量粪便存入无菌冻存管中,迅速转移至-80℃备用。

1.4.4 Micro-CT扫描分析 Micro-CT扫描大鼠右侧股骨,并使用自带软件分析股骨近端骨小梁数量(Trabecular Number, Tb. N)、骨小梁厚度(Trabecular Thickness, Tb. Th)、骨小梁分离度(Trabecular Separation, Tb. Sp)。

1.4.5 血清骨代谢指标检测 血清样本取出解冻混匀,按ELISA检测试剂盒操作说明书检测血清中PINP及NTX-I含量。

1.4.6 Western Blot检测 将大鼠左侧股骨于液氮中充分研磨,加细胞裂解液。蛋白定量后,变性上样,凝胶电泳,转膜封闭2 h,加入一抗4℃孵育过夜,更换二抗,室温孵育2 h。化学发光显色、分析。

1.4.7 肠道菌群检测分析 以提取样本的总DNA为模板,采用细菌16S rRNA(V3+V4)区域引物^[6]加以扩增及纯化。通过软件QIIME2中的DADA2插件对样品的初始序列进行质控、去噪、拼接并且去嵌合体^[7-9],最终对获得的数据信息进行划分操作分类单元(OTU),样本分度及多样性指数分析,样本组内及组间差异性比较,肠道菌群群落结构分析。

1.5 统计学方法

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。采用两独立样本 t 检验,数据经SPSS25.0统计软件处理。取显著性 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组样本股骨微结构变化

与SHAM组相比,OVX组Tb. N、Tb. Th及Tb. Sp差异有统计学意义($P < 0.01$)。与OVX组相比,OVXDF组Tb. N、Tb. Th、Tb. Sp差异有统计学意义($P < 0.01$),见表1。

表 1 各组骨微结构分析($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	Tb. N	Tb. Th/ μm	Tb. Sp/ μm
假手术组	6	3.075 \pm 0.215	110.083 \pm 7.165	312.750 \pm 25.436
模型组	6	1.963 \pm 0.167 ¹⁾	58.768 \pm 6.199 ¹⁾	460.088 \pm 20.761 ¹⁾
骨碎补组	6	2.477 \pm 0.142 ²⁾	90.678 \pm 7.120 ²⁾	416.462 \pm 23.190 ²⁾
t_1		10.017	13.267	10.992
P_1		<0.001	<0.001	<0.001
t_2		5.736	8.279	3.433
P_2		<0.000	<0.001	0.006

注： t_1 , P_1 表示模拟组与假手术组比较； t_2 , P_2 表示骨碎补组与模型组比较。1)与假手术组相比, $P<0.01$; 2)与模型组相比, $P<0.01$ 。

2.2 各组样本血清 PINP 及 NTX-I 含量

与 SHAM 组相比, OVX 组 PINP 差异有统计学意义 ($P<0.05$), NTX-I 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 与 OVX 组相比, OVXDF 组 PINP、NTX-I 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见表 2。

表 2 各组骨代谢指标分析($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g/L}$)

组别	鼠数/只	PINP	NTX-I
假手术组	6	0.770 \pm 0.486	13.598 \pm 0.958
模型组	6	0.860 \pm 0.057 ¹⁾	20.418 \pm 1.128 ²⁾
骨碎补组	6	1.025 \pm 0.111 ³⁾	17.152 \pm 0.982 ³⁾
t_1		2.935	11.293
P_1		0.015	<0.001
t_2		3.241	5.351
P_2		0.009	<0.001

注： t_1 , P_1 表示模拟组与假手术组比较； t_2 , P_2 表示骨碎补组与模型组比较。1)与假手术组相比, $P<0.05$; 2) $P<0.01$; 3)与模型组相比, $P<0.01$ 。

2.3 各组样本骨组织蛋白表达水平

与 SHAM 组相比, OVX 组 Wnt3a、 β -catenin、RUNX2 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。与 OVX 组相比, OVXDF 组 Wnt3a、 β -catenin、RUNX2 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见表 3 及图 1。

2.4 各组样本菌群分析

2.4.1 各组菌群的分类单元分析 OVX 组含有 1 932 个分类单元数据, SHAM 组含有 2 163 个分类单元数据, OVXDF 组含有 2 037 个分类单元数据, 三组共同含有 700 个分类单元数据, 见图 2。

2.4.2 各组样本菌群的多样性指数分析 Chao1、Faith-pd 和香农指数用于衡量群落丰度及多样性, 数值越大表示群落的丰度及多样性越大。本研究发现, 与 SHAM 组相比, OVX 组 Chao1 指数、Faith-pd 指数和香农指数均降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 与

表 3 各组骨组织蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	Wnt3a	β -catenin	RUNX2
假手术组	6	1.005 \pm 0.112	1.007 \pm 0.097	1.000 \pm 0.108
模型组	6	0.755 \pm 0.062 ¹⁾	0.543 \pm 0.048 ¹⁾	0.507 \pm 0.084 ¹⁾
骨碎补组	6	0.947 \pm 0.047 ²⁾	0.803 \pm 0.034 ²⁾	0.767 \pm 0.036 ²⁾
t_1		4.779	10.478	8.873
P_1		0.001	<0.001	<0.001
t_2		6.053	10.714	6.993
P_2		<0.001	<0.001	<0.001

注： t_1 , P_1 表示模拟组与假手术组比较； t_2 , P_2 表示骨碎补组与模型组比较。1)与假手术组相比, $P<0.01$; 2)与模型组相比, $P<0.01$ 。

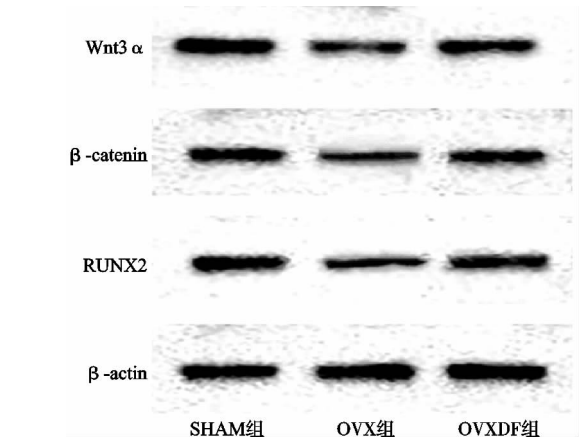


图 1 Western Blot 检测结果

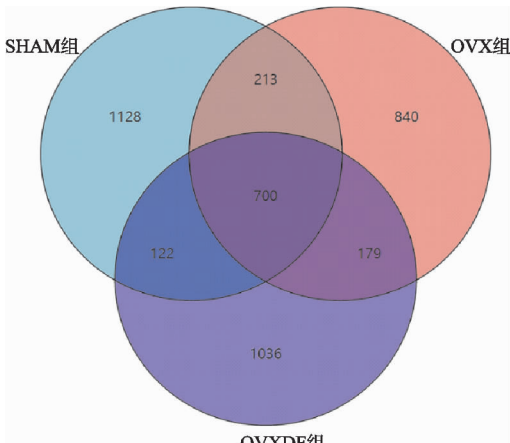


图 2 各组样本菌群分类单元维恩图

OVX 组相比,OVXDF 组 Chao1 指数和香农指数均显著提高($P<0.05$),Faith-pd 指数升高但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 各组菌群多样性指数分析($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	Chao1 指数	Faith_pd 指数	香农指数
假手术组	6	686.568±43.444	40.417±3.436	6.114±0.344
模型组	6	619.284±42.294 ¹⁾	36.052±2.118 ¹⁾	4.947±0.527 ²⁾
骨碎补组	6	673.531±30.188 ³⁾	37.615±1.74 ⁴⁾	5.997±0.198 ⁵⁾
t_1		2.718	2.649	4.546
P_1		0.022	0.024	0.001
t_2		2.557	1.396	4.572
P_2		0.029	0.193	0.001

注: t_1,P_1 表示模拟组与假手术组比较; t_2,P_2 表示骨碎补组与模型组比较。与假手术组相比,1) $P<0.05$,2) $P<0.01$;与模型组相比,3) $P<0.05$,4) $P>0.05$,5) $P<0.01$ 。

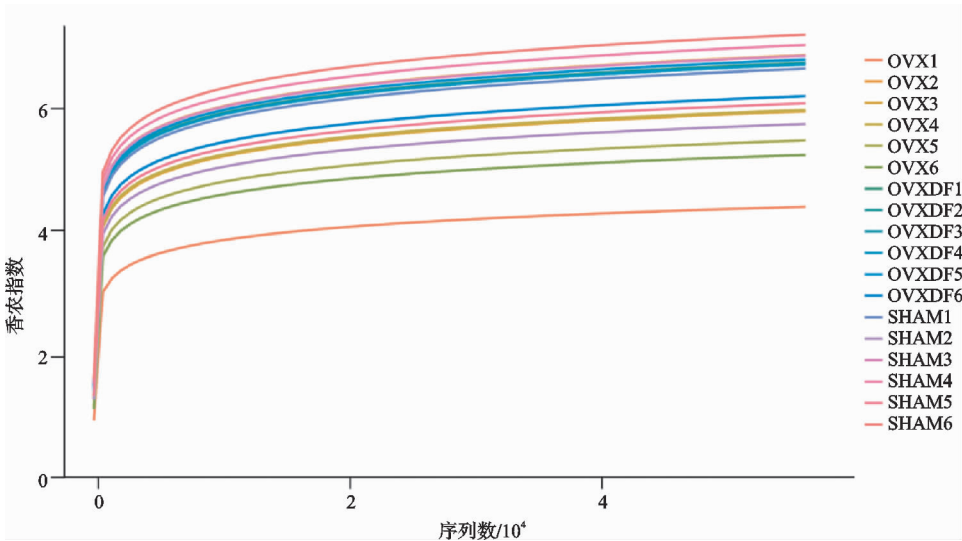


图 3 香农指数曲线图

2.4.4 各组样本菌群 NMDS 分析 无度量多维标定法(NMDS)是一种根据样本的分布情况用以分析比较不同样本组内及组间微生物群落结构差异的研究方法。由图 4 可见:各组内样本距离较近,表示样本组内差异较小;OVX 组与 SHAM 组、OVXDF 组组间距离较远,表示样本组间差异较大。

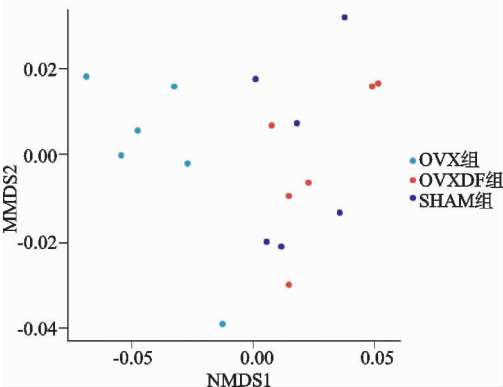


图 4 NMDS 分析

2.4.5 各组菌群群落结构分析 各组菌群在门水平上超过 95% 为厚壁菌门、疣微菌门和拟杆菌门。

2.4.3 各组样本香农指数曲线 香农曲线在指数为 5~6 时趋于平坦,说明测序深度已基本包含样本中所有菌群,见图 3。

SHAM 组与 OVX 组、OVX 组与 OVXDF 组在厚壁菌门和疣微菌门差异有统计学意义($P<0.01$),拟杆菌门虽有变化但差异无统计学意义($P>0.05$)。在属水平上,各组样本在组成上有一定的差异。与 SHAM 组相比,OVX 组苏黎世杆菌属、嗜黏蛋白阿克曼菌属差异有统计学意义($P<0.01$),乳杆菌属虽有增加趋势但差异无统计学意义($P>0.05$)。与 OVX 组相比,OVXDF 组乳杆菌属差异有统计学意义($P<0.05$),苏黎世杆菌属、嗜黏蛋白阿克曼菌属差异有统计学意义($P<0.01$),见表 5 和表 6 及图 5 和图 6。

3 讨论

随着我国老龄人口不断增加,因骨质疏松所造成的病理性骨折的发生率逐年升高,尤其是绝经后女性更为严重^[10],绝经后女性雌激素明显减少是绝经后骨质疏松症的首要发病原因^[11]。众所周知,氧化应激可以造成机体组织损伤,是衰老和疾病的重要诱因^[12]。研究认为雌激素可以作为抗氧化剂发挥对骨组织的保护作用,使骨组织破坏减少^[13]。绝经后女性因体内雌

表 5 各菌群在门水平上的平均相对丰度(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	Firmicutes	Verrucomicrobia	Bacteroidetes
假手术组	6	73.347±4.236	17.375±5.304	6.622±2.465
模型组	6	48.647±7.192 ¹⁾	39.665±9.840 ¹⁾	8.305±3.272 ²⁾
骨碎补组	6	72.665±5.340 ³⁾	15.670±5.034 ³⁾	8.732±1.917 ⁴⁾
t_1		7.249	4.883	1.006
P_1		<0.001	0.001	0.338
t_2		6.568	5.316	0.276
P_2		<0.001	<0.001	0.788

注： t_1 , P_1 表示模拟组与假手术组比较； t_2 , P_2 表示骨碎补组与模型组比较。与假手术组相比,1) $P<0.01$,2) $P>0.05$ ；与模型组相比,3) $P<0.01$,4) $P>0.05$ 。

表 6 各菌群在属水平上的平均相对丰度(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	Akkermansia	Lactobacillus	Turicibacter
假手术组	6	17.379±5.306	13.600±8.515	11.094±3.530
模型组	6	39.662±9.846 ¹⁾	8.856±3.061 ²⁾	3.348±1.507 ¹⁾
骨碎补组	6	15.671±5.033 ³⁾	14.297±3.667 ⁴⁾	10.770±3.151 ³⁾
t_1		4.880	1.284	4.938
P_1		0.001	0.228	0.001
t_2		5.315	2.790	5.205
P_2		<0.001	0.019	<0.001

注： t_1 , P_1 表示模拟组与假手术组比较； t_2 , P_2 表示骨碎补组与模型组比较。与假手术组相比,1) $P<0.01$,2) $P>0.05$ ；与模型组相比,3) $P<0.01$,4) $P<0.05$ 。

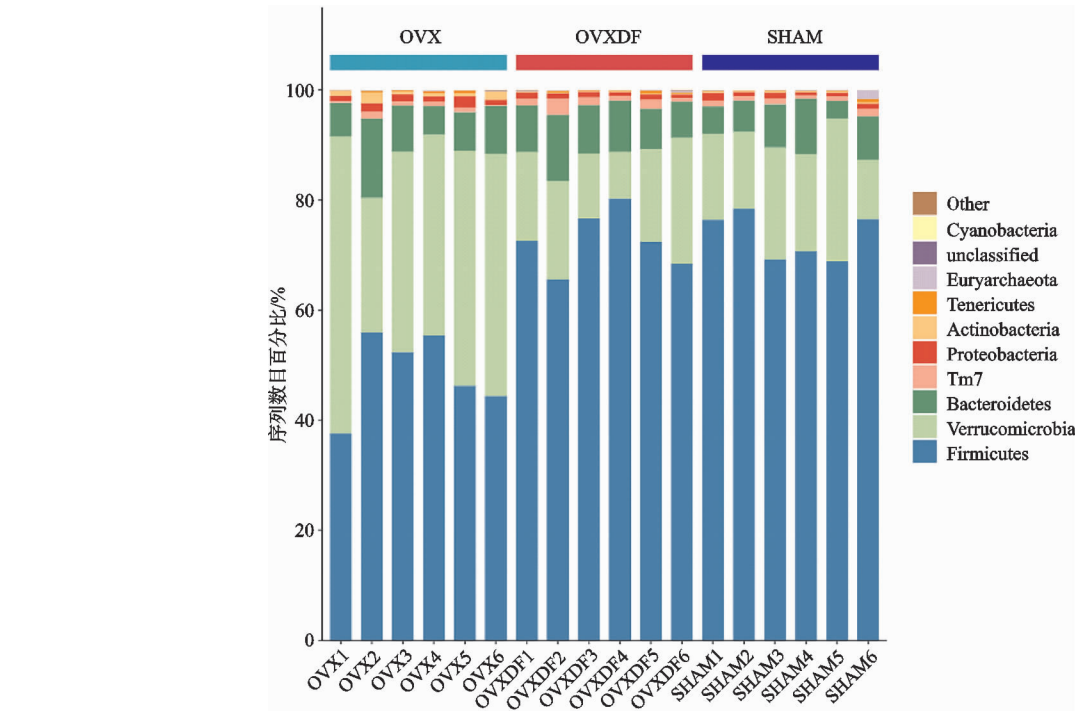


图 5 门水平菌群组成柱状图

激素水平降低从而抗氧化能力减退,引起骨质流失增加^[14]。

目前治疗绝经后骨质疏松症的方法主要是通过药物升高雌激素水平,补充钙剂,促进钙吸收,刺激成骨和抑制破骨等^[15]。但其疗效均欠佳,且具有诱发乳腺癌、增加心脑血管疾病发病风险和诱发静脉血栓等副作用而一直未能取得较大进展。中医药具有数千年的

历史,在治疗伤科骨病等方面具有不可替代的地位。既往研究已证实,骨碎补具备良好的抗骨质疏松作用和促进骨折愈合的作用^[16-17]。

肠道菌群作为人体微生态系统的重要组成部分,可通过参与食物消化吸收、释放代谢产物、维护黏膜屏障功能,在促进人体健康中扮演重要角色^[18]。肠道菌群的稳态是机体保持正常功能的重要保障,其稳态破

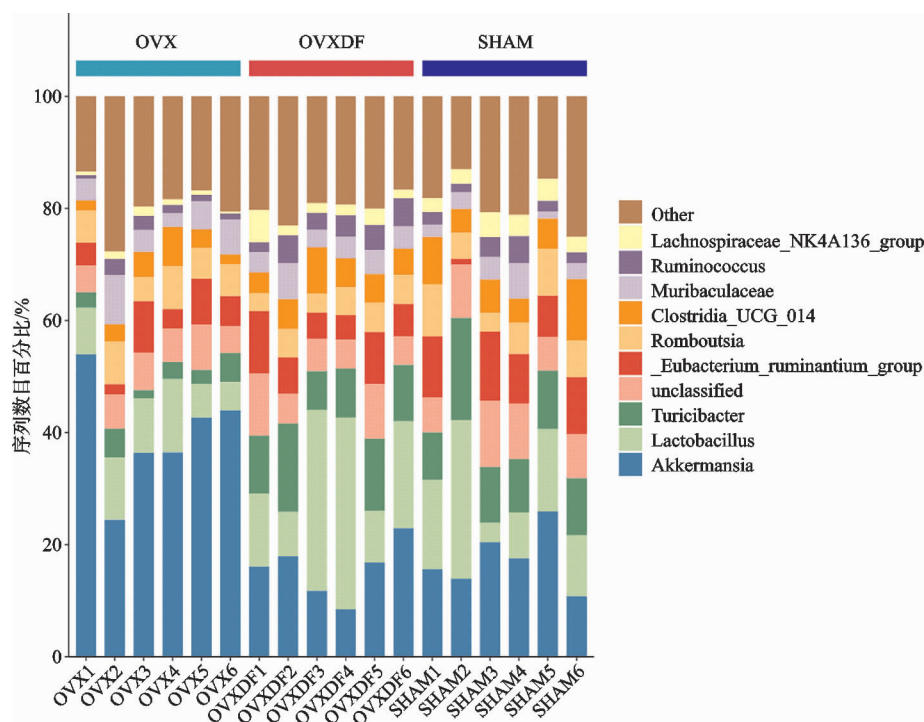


图6 属水平菌群组成柱状图

坏能够导致神经系统疾病、肠道疾病及肥胖、骨质疏松症等代谢相关疾病^[19-20]。如今,研究者们逐渐关注肠道微生态和骨代谢的联系,尤其是近年来发现,肠道菌群可直接或间接通过代谢产物影响人体成骨和破骨的功能平衡^[21],还可通过 Th17s、Tregs、NOD 等信号通路^[22]影响骨代谢,与人体的骨微结构破坏及骨质疏松的发病紧密相关^[23]。还有研究证实,肠道菌群可以介导 OPG/RANKL/RANK、Wnt/ β -catenin 和 IGF-1/IGF-1R 等信号途径,调节成骨和破骨功能,从而改善骨骼健康^[24]。

绝经后女性由于机体雌激素缺乏,导致肠道菌群组成结构改变及生物多样性降低,从而启动一系列炎症免疫反应,引发疾病^[25]。研究显示一些厚壁菌门细菌具有免疫系统调节作用^[26],而雌激素下降可引起肠道厚壁菌门细菌丰度减少^[27]。实验结果显示 OVX 组大鼠分类单元数量最少,菌群多样性指数结果提示 OVXDF 组肠道菌群丰度及多样性比 OVX 组显著增加,在门水平以厚壁菌门增加为主而疣微菌门下降,在属水平乳杆菌属、苏黎世杆菌属增加,嗜黏蛋白阿克曼菌属减少。一些肠道中的益生菌(如厚壁菌门的乳酸杆菌、丁酸梭菌等)在代谢过程中能够产生以短链脂肪酸为主的代谢产物^[28]。有研究证实短链脂肪酸能提高小鼠的骨骼密度及强度^[29],说明骨碎补可能通过调节去卵巢骨质疏松大鼠的肠道菌群丰度及多样性,增加有益菌群的比例及数量,发挥减少骨量丢失,改善骨健康的作用。

骨质疏松症患者初期多无明显症状,但常伴随着

骨量减少及骨小梁微结构破坏,常易造成骨折^[30]。本研究 Micro-CT 结果分析显示,骨碎补可在一定程度上改善绝经后骨质疏松症大鼠的骨质量,保护骨微结构不被破坏。

PINP 和 NTX-I 作为反映骨代谢情况的敏感指标,血清 PINP 可以反映成骨细胞活性,Wei 等^[31]发现 PINP 在女性绝经过渡期增加明显,在绝经后随着年龄增加出现波动甚至降低,但其水平与绝经前相比总体上是增加的。血清 NTX-I 水平则反映了骨吸收的速率^[32],Cauley 等^[33]发现围绝经期女性 NTX-I 水平较高者,骨折率显著上升。研究结果表明:OVX 组大鼠血清 PINP、NTX-I 较 SHAM 组均升高,而与 OVX 组相比,OVXDF 组血清 PINP 水平显著升高且血清 NTX-I 水平显著降低,说明骨碎补可以促进绝经后骨质疏松症大鼠的成骨功能,同时抑制破骨功能,缓解骨质疏松情况。

β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路中骨形成的关键因子,其表达增加不仅能够调节骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,同时可以降低破骨细胞活性起到调节骨量的作用,Chen 等^[34]借助动物实验发现,敲除 β -catenin 小鼠的成骨能力小于破骨能力,引发骨量减少。李琰等^[35]研究显示,骨碎补煎液可以抑制去势雌鼠骨髓间充质干细胞成脂分化,提高骨密度,其机制可能与调控 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。也有研究显示,骨碎补总黄酮能够提高 β -catenin 在 Wnt/ β -catenin 信号通路中的表达,从而增加转录因子 RUNX2 的表达以保护骨质不被破坏^[36]。实验中 OVXDF 组

Wnt3a、 β -catenin、RUNX2 蛋白表达均较 OVX 组增加,结果与上述研究结论一致。

综合上述研究结果,肠道菌群稳态失衡是引发绝经后骨质疏松症的主要原因之一,中药能够调节肠道菌群结构增加菌群多样性从而减少骨质丢失。因此,笔者推测骨碎补可能是基于改善肠道菌群结构、增加其丰度和多样性并介导 Wnt/ β -catenin 信号通路来实现防治绝经后骨质疏松症的作用。但由于中药成分较多,肠道菌群及其代谢产物的复杂性和多样性,肠道菌群与疾病的关系及中药对它的调控机制仍需要进一步探索。继续探究中药对肠道菌群及其代谢产物的调节作用机制以及肠道菌群与疾病的关系,将为中药防治疾病提供新的靶点和研究思路。

参考文献

- [1] 陈天鹏,丰杰,何才剑,等.沙棘治疗绝经后骨质疏松症研究进展[J].中国中医骨伤科杂志,2022,30(3):85-88.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [3] 唐亨方,姚啸生,戚晓楠.补肾健脾类中药改善肠道菌群治疗骨质疏松症的机制分析[J].实用中医内科杂志,2021,35(3):1-4.
- [4] 肖延成,徐波,张力,等.碘乙酸钠诱导的大鼠膝关节炎模型肠道菌群变化及其潜在影响[J].中国中医骨伤科杂志,2020,28(4):1-5.
- [5] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等.药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J].中国临床药理学与治疗学,2004(9):1069-1072.
- [6] FANG S,XIONG X,SU Y,et al. 16S rRNA gene-based association study identified microbial taxa associated with pork intramuscular fat content in feces and cecum lumen[J]. BMC Microbiol,2017,17(1):162-171.
- [7] CALLAHAN B J,MCMURDIE P J,ROSEN M J,et al. DADA2:high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nature Methods,2016,13(7):581-583.
- [8] BALVOCIUTE M,HUSON D H,SILVA,RDP,Greengenes,NCBI and OTT-how do these taxonomies compare? [J]. BMC Genomics,2017,18(2):114.
- [9] CAPORASO J G,KUCZYNSKI J,BITTINGER K,et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods,2010,7(3):335-336.
- [10] LIN X,XIONG D,PENG Y Q,et al. Epidemiology and management of osteoporosis in the People's Republic of China:current perspectives[J]. Clin Interv Aging,2015,10:1017-1033.
- [11] 严坚强,吴俊哲,苏培基,等.二仙汤治疗肝肾不足型绝经后骨质疏松症的临床研究[J].中国中医骨伤科杂志,2020,28(10):17-19.
- [12] ZHOU Q,ZHU L,ZHANG D,et al. Oxidative stress-

related biomarkers in postmenopausal osteoporosis:a systematic review and meta-analyses[J]. Dis Markers,2016,2016:7067984.

- [13] BONACCORSI G,PIVA I,GRECO P,et al. Oxidative stress as a possible pathogenic cofactor of post-menopausal osteoporosis:existing evidence in support of the axis oestrogen deficiency-redox imbalance-bone loss[J]. Indian J Med Res,2018,147(4):341-351.
- [14] 雷欣东,于慧,龙琼,等.绝经后骨质疏松症发病机制研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2021,27(11):1681-1684.
- [15] 易生辉,招文华,任辉,等.中西医结合治疗绝经后骨质疏松症的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(5):274-282.
- [16] 杨同岗,王晓英,郝延科,等.骨碎补抗骨质疏松作用机理的研究进展[J].陕西中医,2017,38(5):135.
- [17] 李晋玉,赵学千,孙旗,等.骨碎补总黄酮的实验及临床研究概况[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(10):1357-1364.
- [18] CANI P D. Human gut microbiome:hopes,threats and promises[J]. Gut,2018,67(9):1716-1725.
- [19] 梁仙志,廖旻晶,王宏波,等.肠道微生物群与部分人类疾病的研究进展[J].基因组学与应用生物学,2020,39,(12):5874-5880.
- [20] 陈晨,王邦茂,冯淑芝,等.肠道菌群对骨代谢影响的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(12):1640-1643.
- [21] CRISTINA P,BERDINE R M,GEORGE P M,et al. Dietary calcium requirements do not differ between Mexican-American boys and girls[J]. The Journal of Nutrition,2014,144(8):1167-1173.
- [22] D'Amelio P,Sassi F. Gut Microbiota,Immune System,and Bone[J]. Calcif Tissue Int,2018,102(4):415-425.
- [23] GOULET O. Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease[J]. Nutr Rev,2015,73(1):32-40.
- [24] 袁志发,张通,蔡金池,等.肠道菌群、IGF-1 与骨代谢联系机制的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2021,27(4):599-604.
- [25] 贾小玥,郑黎薇,袁泉,等.肠道菌群:绝经后骨质疏松防治新靶点[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(3):392-401.
- [26] NAGANO Y,ITOH K,HONDA K. The induction of Treg cells by gut indigenous clostridium[J]. Current Opinion in Immunology,2012,24(4):392-397.
- [27] FUHRMAN B J,FEIGELSON H S,FLORES R,et al. Associations of the fecal microbiome with urinary estrogens and estrogen metabolites in postmenopausal women[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism,2014,99(12):4632-4640.
- [28] 陈晨,王邦茂,冯淑芝,等.肠道菌群对骨代谢影响的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(12):1640-1643.
- [29] LUCAS S,OMATA Y,HOFMANN J,et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss[J]. Nature Communication,2018,9

(1);55.

- [30] 杨士彩,潘东,王爱国,等. 骨折的生物医学工程评价方法研究进展[J]. 山西中医药大学学报, 2020, 21(3): 230-233.
- [31] WEI X, ZHANG Y L, XIANG X H, et al. Exploring the relationship of bone turnover markers and bone mineral density in community-dwelling postmenopausal women[J]. Dis Markers, 2021; 6690095.
- [32] 韩学明,孙忠良,徐建华,等. 老年人血清炎症因子与骨密度变化及骨吸收相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(2): 221-226.
- [33] CAULEY J A, DANIELSON M E, GREENDALE G A, et al. Bone resorption and fracture across the menopausal:

the study of women's health across the nation[J]. Menopause, 2012, 19(11): 1200-1207.

- [34] CHEN J Q, LONG F X. β -catenin promotes bone formation and suppresses bone resorption in postnatal growing mice[J]. J Bone Miner Res, 2013, 28(5): 1160-1169.
- [35] 李琰,李志航,陈云刚,等. 骨碎补水煎液经 Wnt/ β -catenin 通路对去卵巢骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞成脂分化的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 279-284.
- [36] 史岩,马秋野,喻一东,等. 骨碎补总黄酮促进骨质疏松性骨折愈合中参与 Wnt/ β -catenin 信号通路的初步研究[J]. 中医药学报, 2018, 46(2): 49-52.

(收稿日期:2022-05-01)

(上接第6页)

- [12] 姜杨,侯继野,张晓东,等. 低氧环境下 PLGA/胶原纤维支架对小鼠骨髓间充质干细胞增殖及成肌腱分化影响[J]. 中外医疗, 2020, 39(31): 1-5.
- [13] 侯婧瑛,郭天柱,于萌蕾,等. 缺氧预处理通过激活 MALAT1 靶向抑制 miR-195 促进骨髓间充质干细胞的生存和血管形成[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(7): 1005-1011.
- [14] 王诗琦,张金生. 中医药调控缺血缺氧微环境对骨髓间充质干细胞增殖、分化及衰老的影响[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(7): 1129-1134.
- [15] 王雅芬,苏静波,王雨生. 缺氧条件下骨髓间充质干细胞对血管内皮细胞迁移和管腔形成的影响[J]. 国际眼科杂志, 2020, 20(1): 16-20.
- [16] 宋慧芳,谈佳音,刘阳,等. 低氧预处理通过激活低氧诱导因子 1 α 增强老年人骨髓间充质干细胞促血管新生能力[J]. 解剖学报, 2022, 53(1): 35-41.
- [17] 陈海燕,张秋菊. 低氧条件下 BMSCs 来源外泌体激活 HIF-1 α /VEGF/JNK 通路促进血管再生的机制研究[J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 31(14): 33-37.
- [18] 胡继宏,贾佳,路娟,等. 低氧下血管内皮细胞生长因子转染人骨髓间充质干细胞向血管内皮样细胞的分化[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(9): 1352-1356.

- [19] 左新慧,李君,韩祥祯,等. 低氧诱导因子-1 α 对骨髓间充质干细胞成骨分化与血管生成相关因子的影响[J]. 口腔疾病防治, 2021, 29(7): 449-452.
- [20] 刘红,俞小芳,滕杰,等. 低氧预处理对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖、凋亡和坏死的影响[J]. 复旦学报(医学版), 2012, 39(6): 558-564.
- [21] 黄晓雄,陈维凯,刘滔,等. 低氧预处理改善去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞的成骨分化潜能[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(13): 2130-2135.
- [22] 汪仵骁,吴恒鹏,万雪,等. miR-30b 在低氧环境中调控兔骨髓间充质干细胞成软骨分化[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(24): 3113-3118.
- [23] 张磊,龚跃昆,尹勇. OGP 对低氧环境中小鼠 BMSCs 成脂分化影响的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(5): 670-674.
- [24] 王诗琦,惠小珊,张金生,等. 补肾化瘀生新方对缺血缺氧微环境下骨髓间充质干细胞生存率及凋亡率的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(8): 1259-1264.
- [25] 张宝霞,张金生,惠小珊. 补肾化瘀生新方改善缺血缺氧性微环境延缓骨髓间充质干细胞衰老的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(16): 87-92.

(收稿日期:2022-07-05)