

• 实验研究 •

山茱萸通过转化生长因子- β 通路改善去卵巢大鼠骨质疏松症梁桂芳¹ 何智军¹ 林知毅¹ 刘锋^{1△}

[摘要] 目的:探讨山茱萸对去卵巢骨质疏松症大鼠骨的保护作用及机制。方法:将 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、雌激素组、山茱萸组和山茱萸+TGF- β 抑制剂组,每组 10 只。假手术组大鼠仅行腹部切开缝合术,其余四组大鼠均切除双侧卵巢建立去卵巢骨质疏松症大鼠模型。山茱萸组大鼠给予山茱萸灌胃,雌激素组大鼠采用炔雌醇灌胃,山茱萸+TGF- β 抑制剂组大鼠给予山茱萸灌胃及 TGF- β 腹腔注射,假手术组及模型组大鼠则予等量生理盐水灌胃。显微 CT(Micro CT)检测各组大鼠股骨小梁的微观结构(骨矿物质密度(BMD)、骨矿物质含量(BMC)、骨小梁体积分数(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb. Th)、骨表面体积比(BS/BV)和骨小梁分离度(Tb. Sp)),小动物骨密度仪和骨强度检测仪检测股骨骨质情况,Western Blot 法检测 TGF- β /Smad 通路和 I 型胶原蛋白的蛋白含量,酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清骨标志物(BALP、PINP、OCN 和 CTX-I)含量。结果:山茱萸可显著提高 BMD、BMC、BV/TV 和 Tb. Th,而显著降低 BS/BV 和 Tb. Sp($P<0.01$),同时增强骨密度和骨硬度。山茱萸还能下调模型组大鼠血清 BALP 和 CTX-I 水平,上调 PINP 和 OCN 水平($P<0.01$)。此外,进一步的机制探究显示,山茱萸可调节模型组大鼠股骨中的 TGF- β /Smad 信号通路和胶原蛋白水平。结论:山茱萸可改善模型组大鼠的股骨骨质,减轻骨质疏松严重程度,其机制可能与调节 TGF- β /Smad 通路和 I 型胶原蛋白有关。

[关键词] 山茱萸;绝经后骨质疏松症;转化生长因子- β 信号通路;I 型胶原蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)02-0001-07

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250201

Cornus Ameliorates Osteoporosis in Ovariectomized Rats through the TGF- β Signaling Pathway

LIANG Guifang¹ HE Zhijun¹ LIN Zhiyi¹ LIU Feng^{1△}

¹Panyu District Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangzhou 511400, China.

Abstract Objective: To investigate the protective effect and mechanism of Cornus on bone of ovariectomized osteoporosis rats. **Methods:** 50 SD rats were randomly divided into sham group, model group, estrogen group, Cornus group, and Cornus+TGF- β inhibitor group, with 10 rats in each group. The rats in the sham operation group only underwent abdominal incision and suture, and the other four groups underwent bilateral ovariectomy to establish ovariectomized osteoporosis model. Rats in the Cornus group were given Cornus by gavage, while rats in the estrogen group were given ethinyl estradiol by gavage. TGF- β inhibitor was injected intraperitoneally in the TGF- β inhibitor group, while rats in the sham groups were given the same amount of physiological saline by gavage. Micro CT was used to detect the microstructure of femoral trabeculae in each group (bone mineral density (BMD), bone mineral content (BMC), bone trabecular volume fraction (BV/TV), trabecular thickness (Tb. Th), bone surface-to-volume ratio (BS/BV), and trabecular separation (Tb. Sp)). The femoral bone quality was detected by small animal bone densitometer and bone strength tester. Western blot was used to detect the protein levels of TGF- β /Smad pathway and type I collagen, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serum bone markers (BALP, PINP, OCN, and CTX-I). **Results:** The results showed that Cornus could significantly increase BMD, BMC, BV/TV, and Tb. Th, while significantly reducing BS/BV and Tb. Sp ($P<0.01$), and enhancing bone density and bone stiffness. Cornus could also downregulate the serum levels of

基金项目:广东省中医药局科研项目(20241227)

¹广州市番禺区中医院(广州, 511400)

[△]通信作者 E-mail:15813358903@163.com

BALP and CTX- I in model rats and upregulate the levels of PINP and OCN ($P < 0.01$). Furthermore, the mechanism exploration showed that Cornus could regulate the TGF- β /Smad signaling pathway and collagen levels in the femoral bone of model rats. **Conclusion:** The results suggested that Cornus could improve femoral bone quality and reduce the severity of osteoporosis in model rats, which might be related to the regulation of TGF- β /Smad pathway and type I collagen.

Keywords: Cornus; postmenopausal osteoporosis; TGF- β signaling pathway; type I collagen

绝经后妇女雌激素水平下降,易引发骨质疏松症^[1-2]。中药在治疗骨质疏松症中扮演重要角色,其中山茱萸作为传统药材,具有补益肝肾、固脱收涩等功效^[3]。现代药理学研究显示,山茱萸含环烯醚萜类、黄酮类及多糖类等成分,具有调节骨代谢、抗氧化、抗炎等药理作用^[4]。尤其在改善绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)方面,山茱萸表现出潜在疗效,但其分子机制尚不明确。本研究旨在通过构建去卵巢骨质疏松症(Ovariectomized Osteoporosis, OVX)大鼠模型,探究山茱萸治疗骨质疏松症的潜在分子机制,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验采用成年雌性 SD 大鼠(6 周龄,体重为 180~220 g),购自华阜康生物公司(北京)。购入后进行适应性饲养 1 周,大鼠被饲养在标准 SPF 级动物房中,饲养环境为恒温 23℃,相对湿度 65%±5%,明暗交替(12 h 光照/12 h 黑暗),小鼠可自由获得食物和清洁饮水。动物实验按照《国家实验动物使用和护理准则实验动物的使用和护理指南》进行,并经医院动物伦理委员会批准。

1.2 实验药物及试剂

山茱萸(湖南春可回中药饮片有限公司,批号为 191201),TGF- β 抑制剂 SB431542 (HY-10431, MedChemExpress, 美国),炔雌醇 (HY-B0216, MedChemExpress, 美国),麻醉剂(戊巴比妥钠,北鱼生物科技,南京)。一抗:anti-COL1A1 抗体(sc-293182, Santa Cruz Biotechnology),anti-COL1A2 抗体(sc-393573, Santa Cruz Biotechnology),anti-TGF- β 抗体(1:2 000, CST, 美国),anti-p-Smad2 抗体(ab188334, Abcam),anti-Smad2 抗体(ab40855, Abcam),anti-p-Smad3 抗体(ab51177, Abcam),anti-Smad3 抗体(Tyr705)(1:1 000, CST, 美国),anti-BMP2 抗体(ab51177, Abcam),anti- β -actin 抗体(1:5 000, Abways, 中国)。二抗为 HRP 偶联二抗(AS014, ABclonal)。ELISA 试剂盒、骨碱性磷酸酶(BALP)试剂盒(上海酶联生物,ml003415)、I 型前胶原氨基端肽(Amino-terminal Propeptide of Type I Procollagen, PINP)试剂盒(上海酶联生物,ml058997)、

骨钙素(Osteocalcin, OCN)试剂盒(上海酶联生物,ml002883)和 I 型胶原 C 末端肽(C-terminal Telopeptide of Type I Collagen, CTX-I)试剂盒(上海酶联生物,ml059217)。RIPA 裂解液(北京索莱宝, R0010),BCA 试剂盒(北京索莱宝,PC0020)。

1.3 实验仪器

INVEON 小动物 CT(德国西门子),使用安装有数码相机(Eclipse600,日本尼康)的光学显微镜(DXM1200F,日本尼康)拍摄组织切片图像,小动物骨密度仪(RZ000024,美国 InAlyzer 公司),小动物骨骼强度仪(BW-YLS-16A,上海软隆)。

1.4 方法

1.4.1 动物分组及模型制备 动物分组:大鼠被随机分为 5 组:假手术组、模型组、雌激素组、山茱萸组、山茱萸+TGF- β 抑制剂组(抑制剂为 SB431542),每组 10 只。

模型制备:参考既往研究构建去卵巢大鼠骨质疏松模型^[5]。在正式手术前,所有大鼠均禁食 12 h,随后通过腹腔注射 2%戊巴比妥钠进行麻醉。大鼠的角膜反射消失且失去意识后,将其四肢固定为仰卧位,并对手术区域进行皮肤消毒。

在操作过程中选择距阴道口 3.5 cm 处的白线作为手术切口,并用手术刀纵向切开皮肤约 1.5~2.0 cm。随后采用钝性剥离技术来分离皮下组织,进一步切开肌层和腹膜,以便暴露腹腔内的器官。除了假手术组外,其余四组大鼠均进行卵巢摘除手术。在摘除卵巢后,对手术区域进行常规消毒处理,并仔细缝合手术切口。为确保大鼠术后不被感染,术后连续 3 d 对大鼠肌肉注射青霉素 G。

1.4.2 干预方法 模型建立后对各组大鼠进行如下处理:所有药物均采用灌胃方式给药,假手术组和模型组大鼠给予等量生理盐水;山茱萸组给予 2.76 g/kg 山茱萸溶液(盐山茱萸颗粒剂 2 袋,溶解于蒸馏水);雌激素组给予炔雌醇 10 μ g/kg;山茱萸+TGF- β 抑制剂组,其中 SB431542 给予 2.5 mg/kg^[6],每两天 1 次,共 4 周,干预周期结束后取各组股骨及血清作进一步指标检测。

1.4.3 样本采集与储存 采用抗凝管从大鼠眼眶取血,在 4℃预冷离心机中 3 000 r/min 离心 10 min,随

后取上清液储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱。采用造模时相同的手术入路切开关节,切取完整的双膝关节,部分直接冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱以便提取蛋白质,部分在4%多聚甲醛溶液中保存。

1.5 实验室指标测定

1.5.1 股骨微结构检测 用骨显微计算机断层扫描(Micro CT)检测各组大鼠股骨小梁的微观结构。收集大鼠股骨,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用4%多聚甲醛(PFA)固定48 h,然后用三维全景断层扫描系统进行分析。用软件分析仪进行二维和三维分析,在感兴趣区进行骨微结构分析,确定骨矿物质密度(Bone Mineral Density, BMD)、骨矿物质含量(Bone Mineral Content, BMC)、骨小梁体积分数(Bone Volume/Tissue Volume, BV/TV)、骨小梁厚度(Trabecular Thickness, Tb. Th)、骨表面体积比(Bone Surface/Bone Volume, BS/BV)和骨小梁分离度(Trabecular Separation, Tb. Sp)。

1.5.2 骨组织形态学检测 根据试剂盒说明书,五组大鼠的股骨在室温下脱钙4周,然后脱水并石蜡包埋,制备厚度为 $4\text{ }\mu\text{m}$ 的切片用于苏木精-伊红(HE)染色及Masson染色。

1.5.3 骨质检测 骨质检测量化方法为骨密度检测和压碎力检测:分别在造模前和给药4周后,用小动物骨密度仪对大鼠右侧股骨近端的骨密度进行检测,然后检测股骨质量;最后将股骨头放入YLS-16A骨强度检测仪中,检测骨骼压碎力。

1.5.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 将大鼠的血液收集到采血管中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 $1\text{ }000\text{g}$ 离心15 min。用移液管分离血清,进行后续检测。按照ELISA试剂盒的说明书进行大鼠血清中的骨碱性磷酸酶(BALP)、I型原胶原氨基端肽(PINP)、骨钙素(OCN)和I型胶原C末端肽(CTX-I)的含量检测。

1.5.5 Western Blot 法检测 根据RIPA裂解液的使用说明书,在冰上提取各组大鼠股骨组织蛋白,用BCA试剂盒检测蛋白质浓度。 $25\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白经DS-PAGE凝胶电泳后,将目标蛋白转移到PVDF膜上,用蛋白快速封闭液封闭30 min,然后加入相应一抗在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱摇床上孵育过夜。用TBST冲洗3次,5 min/次,随后加入二抗在室温下再孵育1 h。最后用增强型化学发光试剂(ECL)显色液显色,并拍照存档。用ImageJ软件计算条带灰度值,并以 β -actin蛋白作为内参分析目标蛋白的相对表达水平。

1.6 统计学方法

计量资料数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,两组之间的差异比较用 t 检验,若多组数据符合正态分布,则采用单因素方差分析(ANOVA),若数据不符合正态分布,则选

用独立样本非参数检验。采用SPSS 24.0软件进行统计分析, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

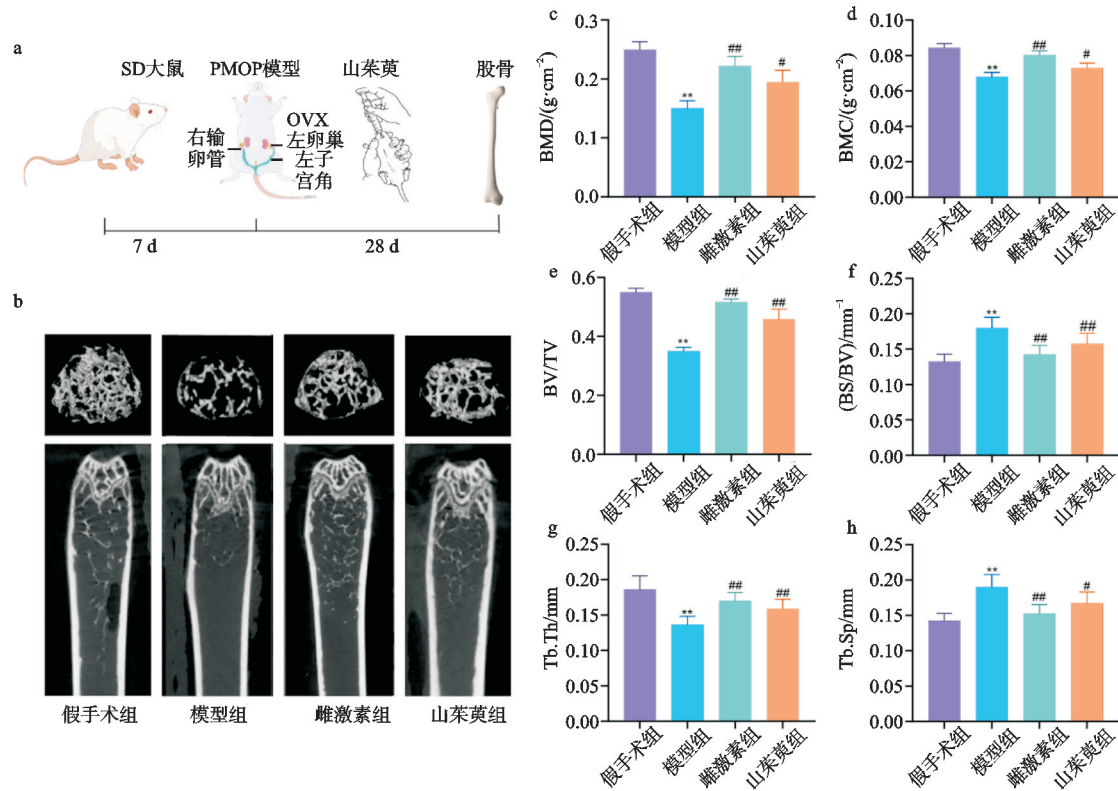
2 结果

2.1 山茱萸对骨质疏松症大鼠股骨微结构的影响

建立去卵巢骨质疏松症大鼠模型,并将山茱萸和雌激素作为阳性对照药物进行28 d的治疗(见图1a)。用显微CT检测山茱萸对模型组大鼠骨质流失的影响,代表性的二维和三维显微CT图像(见图1b)结果显示,山茱萸可改善模型组大鼠广泛的骨量丢失。此外,山茱萸对模型组大鼠股骨微结构的影响还通过检测BMD、BMC、BV/TV、Tb. Th、BS/BV和Tb. Sp等指标来评估,结果显示与假手术组相比,模型组大鼠的BMD、BMC、BV/TV和Tb. Th显著降低,差异有统计学意义(见图1c-h, $P<0.01$),但BS/BV和Tb. Sp明显升高(见图1, $P<0.01$),这表明卵巢切除成功地构建了骨质疏松症大鼠模型。此外,给予雌激素能显著增加去卵巢大鼠股骨的BMD、BMC、BV/TV和Tb. Th,降低BS/BV和Tb. Sp,差异有统计学意义(见图1c-h, $P<0.01$);给予山茱萸干预后,与模型组相比有明显改善,即BMD、BMC、BV/TV和Tb. Th升高,BS/BV和Tb. Sp下降,差异有统计学意义(见图1c-h, $P<0.05$)。上述结果表明山茱萸可以缓解去卵巢大鼠的骨质疏松症状。

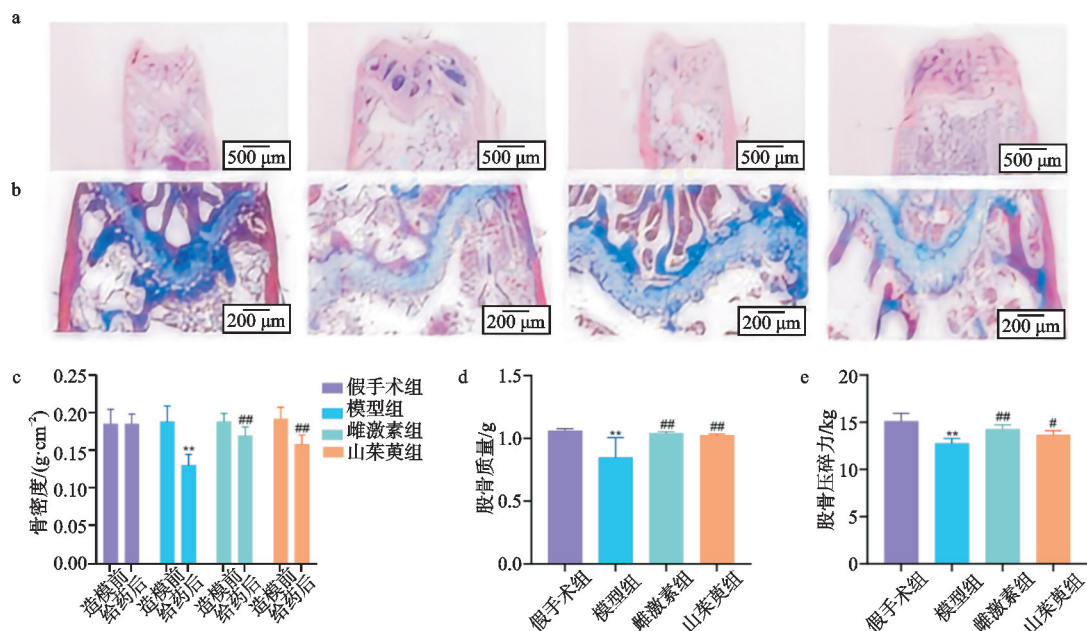
2.2 山茱萸对去卵巢骨质疏松症大鼠股骨远端骨小梁组织和骨质的影响

采用苏木精-伊红(HE)染色和Masson染色对股骨远端进行组织学分析(见图2a、b)。HE染色显示:与假手术组相比,模型组股骨远端体积更大,骺端小梁排列相对紊乱;与模型组相比,雌激素组和山茱萸组骨小梁数量增加,股骨远端体积减小,干骺端小梁排列相对有序。Masson染色显示模型组蓝色胶原纤维较假手术组明显减少;与模型组相比,雌激素组和山茱萸组生长板和骨小梁中出现大量蓝色胶原纤维。为了检测山茱萸对去卵巢大鼠股骨骨质的影响,分别检测了造模前和干预4周后各组大鼠的骨密度,从图2c可以看出,在造模前各组大鼠骨质发育良好,平均骨密度无明显差异。在切除卵巢及给予药物干预4周后,模型组大鼠骨密度较假手术组明显降低(见图2c, $P<0.01$),山茱萸组和雌激素组大鼠骨密度明显高于模型组(见图2c, $P<0.01$)。在股骨质量和骨压碎力方面,模型组大鼠股骨质量和压碎力较假手术组明显减小,山茱萸组和雌激素组大鼠股骨质量和压碎力高于模型组大鼠(见图2d, $P<0.01$;图2e, $P<0.05$)。上述结果表明山茱萸可以改善模型组大鼠的股骨骨质情况。



(a) 山茱萸在去卵巢骨质疏松症大鼠中抗骨质疏松症的方法示意图; (b) 具有代表性的2D和3D Micro CT图像显示山茱萸改善去卵巢诱导的骨质流失; (c)-(h) Micro CT测量骨矿物质密度(BMD)、骨矿物质含量(BMC)、骨小梁体积分数(BV/TV)、骨表面积(BS/BV)、骨小梁厚度(Tb.Th)和骨小梁分离度(Tb.Sp)。与假手术组比较, $^{**}P<0.01$; 与模型组比较, $^{##}P<0.01$

图1 山茱萸对去卵巢骨质疏松大鼠股骨微结构的影响



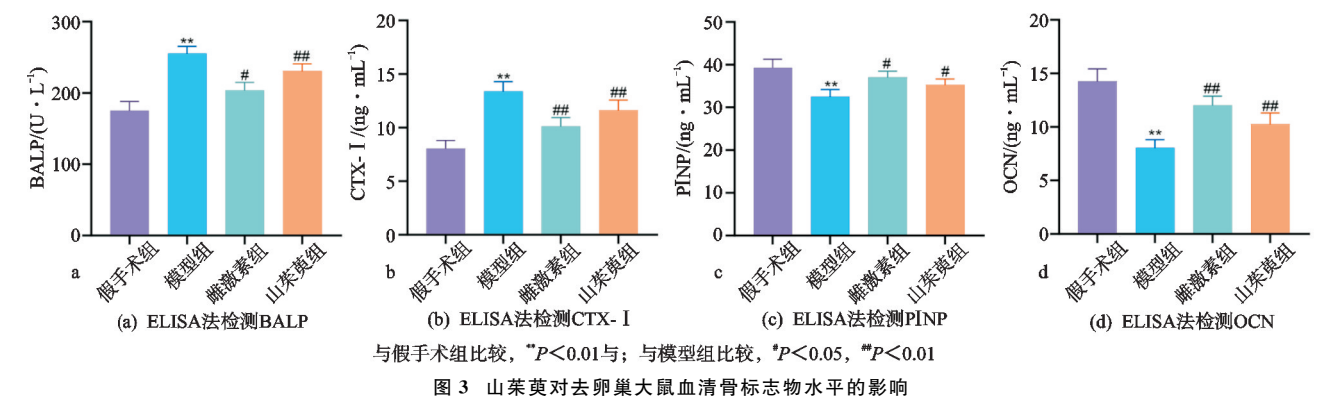
(a) 股骨远端组织HE染色; (b) 股骨远端组织Masson染色; (c) 股骨骨质测量(骨密度); (d) 股骨骨质测量(股骨质量); (e) 股骨骨质测量(股骨压碎力)。与假手术组比较, $^{**}P<0.01$; 与模型组比较, $^{##}P<0.01$

图2 山茱萸对模型组大鼠股骨远端骨小梁组织和骨质的影响

2.3 山茱萸对去卵巢骨质疏松症大鼠血清中骨标志物水平的影响

BALP、PINP、OCN 和 CTX-I 等骨转换标志物通常用于监测骨质疏松症^[7], 本研究检测了不同组大鼠血清中 BALP、PINP、OCN 和 CTX-I 的水平, 结果显示: 与假手术组相比, 模型组 BALP 和 CTX-I 的水平

明显升高, 差异有统计学意义 (见图 3a、b, $P<0.01$), 而 PINP 和 OCN 的水平显著降低, 差异有统计学意义 (见图 3c, $P<0.05$; 图 3d, $P<0.01$); 与模型组相比, 山茱萸组和雌激素组血清中 BALP 和 CTX-I 水平明显降低, 而 PINP 和 OCN 水平显著升高, 差异有统计学意义 (见图 3c, $P<0.05$; 图 3d, $P<0.01$)。



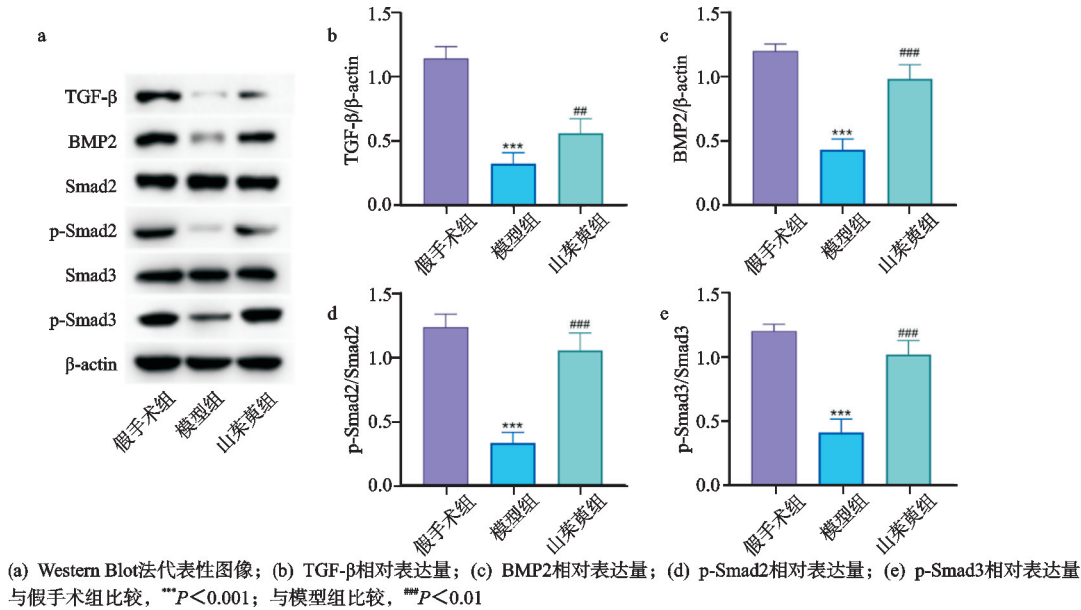
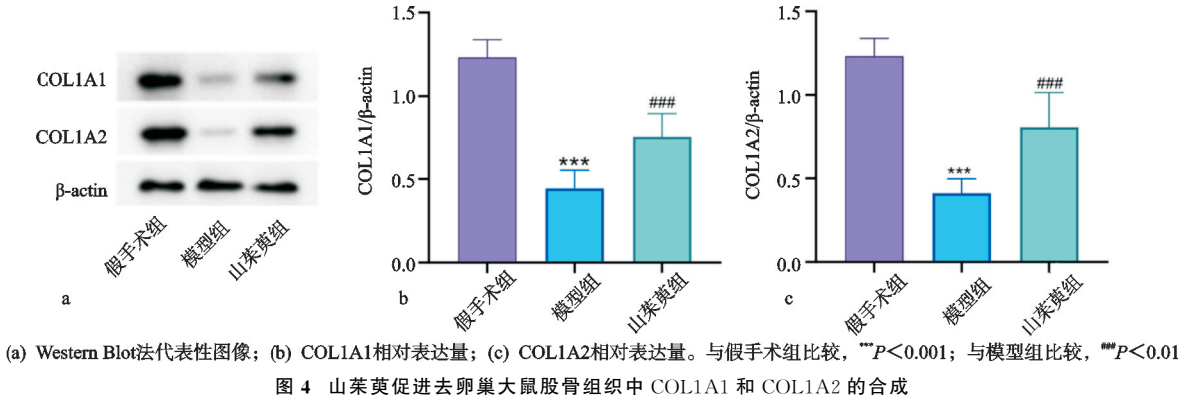
2.4 山茱萸促进胶原蛋白的合成

骨质主要由钙和胶原蛋白组成,胶原蛋白的流失和缺乏会降低补钙吸收效果,使补钙难以达到最科学状态,只有在保证体内胶原物质充实有效的前提下,骨骼健康问题才可以得到真正的改善^[8]。检测造模和给药后胶原蛋白水平见图 4,模型组大鼠体内 COL1A1 和 COL1A2 蛋白水平降低,而山茱萸干预后则升高,差异有统计学意义(见图 4b、c, $P <$

0.001)。

2.5 山茱萸对 TGF- β /Smad 信号通路的影响

有研究表明 TGF- β /Smad 通路在成骨分化过程中被激活^[9],在骨质疏松进展过程中被抑制^[10]。如图 5 所示,模型组大鼠股骨组织中 TGF- β 、BMP2、p-Smad2 及 p-Smad3 蛋白水平均受到抑制,而山茱萸干预显著提高了模型组大鼠股骨组织中 TGF- β 、BMP2、p-Smad2 及 p-Smad3 蛋白水平。



为进一步探究山茱萸与 TGF- β /Smad 信号通路的关系,用 TGF- β 抑制剂 SB431542 处理小鼠,可见

SB431542 明显抑制了山茱萸诱导的 TGF- β /Smad 通路的激活,见图 6。

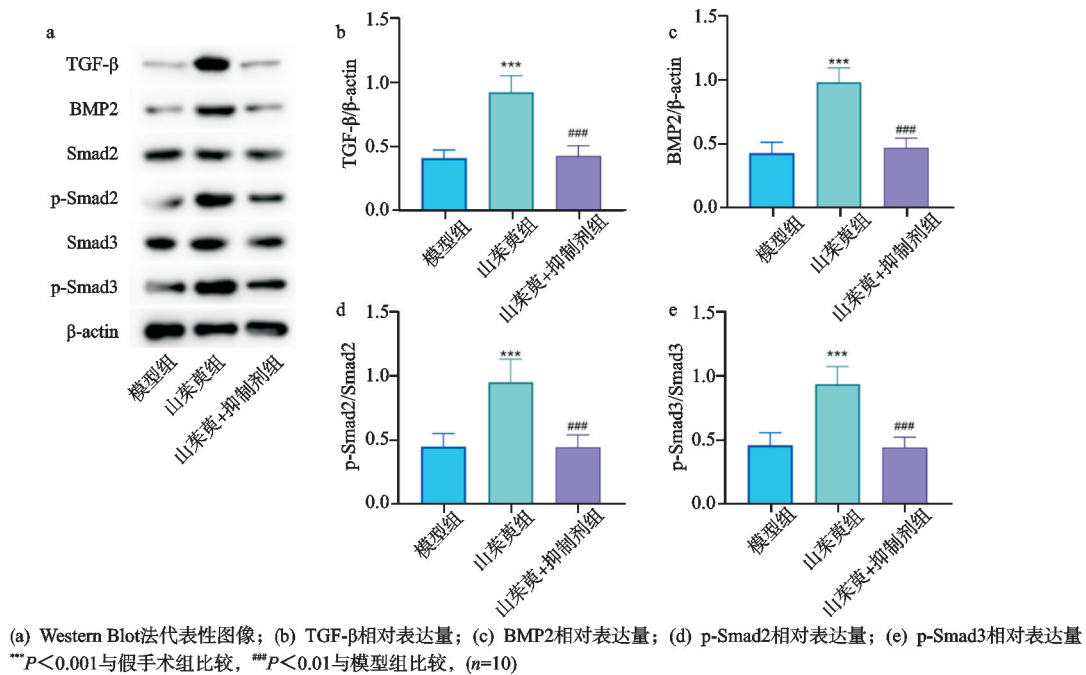


图6 山茱萸对SB431542抑制TGF-β/Smad通路的影响

3 讨论

近年来骨质疏松症的发病率呈现显著的上升趋势,其影响广泛,已不容忽视。更为严重的是由骨质疏松引起的骨折,其导致的死亡率高达15%~30%^[11],这无疑为公众健康敲响了警钟。这种由骨质疏松引发的骨折,不仅极大地增加了患者的致残风险,更是直接导致发病率和死亡率的升高,对人们的健康和生活质量构成了严重威胁。由于骨质疏松症的性质和目前治疗方法的副作用,因此人们更加关注天然药用植物治疗骨质疏松症。

骨质疏松症在中医学领域被归类为“骨痿”“骨痹”及“骨枯”等范畴,其历史长远且内涵丰富^[12]。参考《2015年中医药防治原发性骨质疏松症专家共识》及近期相关文献^[13],可以发现骨质疏松症的发病机制多涉及肾精的亏虚,这一认识为中医药治疗骨质疏松症提供了深厚的理论基础。山茱萸作为中医传统中用于补益肝肾的药物,其在治疗骨质疏松症方面的作用已经历数千年的临床验证。有研究证实山茱萸新苷在促进成骨细胞分化方面效果显著^[14],在这一过程中与成骨细胞活动密切相关的基因与蛋白表达,例如Wnt2、BMP2等均呈现出明显的上升趋势。李绍烁等^[15]的动物实验亦提供了有力的证据,表明山茱萸的有效成分山茱萸总甙,能够通过调控瞬时感受器电位离子通道蛋白香草酸亚型(TRPVs)蛋白通路的表达,进而在骨重建过程中提升成骨功能,抑制破骨功能,最终实现提高骨密度、防治骨质疏松症的目标。这些发现不仅验证了中医药在治疗骨质疏松症方面的独特优势,也为未来的临床研究提供了新的思路与方向。本研究观察到山茱萸治疗

后,去卵巢骨质疏松症大鼠的骨密度、骨量和骨强度均得到显著改善。这一结果与山茱萸在传统中药学中的“补益肝肾,收涩固脱”功效相吻合,进一步证实了其在现代医学研究中的实际应用价值。特别是山茱萸对于肝肾功能的补益作用,可能通过调节内分泌系统影响骨代谢的平衡,从而改善骨质疏松症的症状。

越来越多的研究表明,I型胶原蛋白在骨稳态中起着至关重要的作用,是骨细胞外基质的主要组成部分^[16-17]。I型胶原的合成、形态和稳定性的改变与骨质疏松症的进展密切相关^[18-19],TGF-β影响I型胶原的合成和代谢^[20]。TGF-β细胞因子是一种由非实质细胞释放的多功能蛋白,与细胞增殖、分化、血管生成等多种细胞过程密切相关^[21]。TGF-β与细胞表面相应受体结合,进而诱导Smad通路。越来越多的研究表明TGF-β/Smad通路与骨质疏松症的进展密切相关,例如MOTS-c通过TGF-β/Smad通路促进骨质疏松症骨髓间充质干细胞成骨分化^[22]。此外,最近的一项研究表明,MOTS-c通过TGF-β/Smad7信号通路依赖的方式提升COL1A1和COL1A2的水平,从而缓解骨质疏松症的发生^[19]。本研究揭示了山茱萸激活TGF-β/Smad3通路,抑制TGF-β/Smad3通路可恢复山茱萸对骨质疏松症大鼠骨质的影响,表明山茱萸通过TGF-β/Smad3通路对去卵巢骨质疏松症大鼠骨质疏松症发挥保护作用。

本研究揭示了山茱萸通过依赖TGF-β/Smad3通路增加I型胶原蛋白的合成对骨质疏松症大鼠的保护作用,这些发现可为寻找治疗骨质疏松症的新策略提供理论依据。

参考文献

- [1] HUANG W, GUO Y, HAN X, et al. Effect and mechanisms of puerarin on the treatment of postmenopausal osteoporosis: a preliminary pre-clinical study[J]. *Asian J Surg*, 2023, 46(3): 1332-1333.
- [2] ZHANG C, WANG Y, ZHANG C L, et al. Prioritization of candidate metabolites for postmenopausal osteoporosis using multi-omics composite network[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4): 3155-3161.
- [3] 周迎春, 张廉洁, 张燕丽. 山茱萸化学成分及药理作用研究新进展[J]. *中医药信息*, 2020, 37(1): 114-120.
- [4] 贾羲, 苏成福, 董诚明. 山茱萸提取物抗肿瘤作用及机制探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(20): 117-121.
- [5] TAO L, WANG J, WANG K, et al. Exerkine FNDC5/irisin-enriched exosomes promote proliferation and inhibit ferroptosis of osteoblasts through interaction with Caveolin-1[J]. *Aging Cell*, 2024, 23(8): e14181.
- [6] INMAN G J, NICOLAS F J, CALLAHAN J F, et al. SB-431542 is a potent and specific inhibitor of transforming growth factor- β superfamily type I activin receptor-like kinase (ALK) receptors ALK4, ALK5, and ALK7 [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(1): 65-74.
- [7] MIGLIORINI F, MAFFULLI N, SPIEZIA F, et al. Biomarkers as therapy monitoring for postmenopausal osteoporosis: a systematic review[J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16(1): 318.
- [8] CAO C K, REN Y S, BARNETT A S, et al. Increased Ca^{2+} signaling through CaV1. 2 promotes bone formation and prevents estrogen deficiency-induced bone loss[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(22): e95512.
- [9] YU J M, XU L Z, LI K, et al. Zinc-modified calcium silicate coatings promote osteogenic differentiation through TGF- β /Smad pathway and osseointegration in osteopenic rabbits[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3440.
- [10] LI H L, FAN J F, FAN L Y, et al. MiRNA-10b reciprocally stimulates osteogenesis and inhibits adipogenesis partly through the TGF- β /SMAD2 signaling pathway[J]. *Aging Dis*, 2018, 9(6): 1058-1073.
- [11] GIERLOTKA M, ZDROJEWSKI T, WOJTYNIAK B, et al. Incidence, treatment, in-hospital mortality and one-year outcomes of acute myocardial infarction in Poland in 2009 — 2012: nationwide AMI-PL database[J]. *Kardiol Pol*, 2015, 73(3): 142-158.
- [12] 杨志鹏, 魏成建, 龚双全. 骨质疏松症的中医治疗研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(11): 1381-1384.
- [13] 中国老年学学会骨质疏松委员会中医药与骨病学科组. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015)[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(9): 1023-1028.
- [14] 黄佳纯, 林燕平, 陈桐莹, 等. 山茱萸新苷 I 对成骨细胞的增殖及成骨分化的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(1): 1-5.
- [15] 李绍烁, 赵京涛, 何昌强, 等. 山茱萸总甙干预骨质疏松模型大鼠骨代谢: TRPV6、TRPV5 通路的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(11): 1749-1754.
- [16] REUTER M S, SCHWABE G C, EHLERS C, et al. Two novel distinct COL1A2 mutations highlight the complexity of genotype-phenotype correlations in osteogenesis imperfecta and related connective tissue disorders[J]. *Eur J Med Genet*, 2013, 56(12): 669-673.
- [17] JONES C A, LIANG L, LIN D, et al. The spatial-temporal characteristics of type I collagen-based extracellular matrix[J]. *Soft Matter*, 2014, 10(44): 8855-8863.
- [18] XIA G, ZHAO Y, YU Z, et al. Phosphorylated peptides from antarctic krill (*euphausia superba*) prevent estrogen deficiency induced osteoporosis by inhibiting bone resorption in ovariectomized rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(43): 9550-9557.
- [19] CHE N, QIU W, WANG J K, et al. MOTs-c improves osteoporosis by promoting the synthesis of type I collagen in osteoblasts via TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(8): 3183-3189.
- [20] RAHIMI R A, LEOF E B. TGF- β signaling: a tale of two responses[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 102(3): 593-608.
- [21] YAN J, BAO H, FAN Y J, et al. Platelet-derived microvesicles promote endothelial progenitor cell proliferation in intimal injury by delivering TGF- β 1[J]. *FEBS J*, 2020, 287(23): 5196-5217.
- [22] HU B T, CHEN W Z. MOTs-c improves osteoporosis by promoting osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via TGF- β /Smad pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(21): 7156-7163.

(收稿日期: 2024-09-02)