

## · 论著 ·

煨肾汤调控 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 通路对骨质疏松骨保护的研究张鹏<sup>1</sup> 高莎<sup>1</sup> 魏浩洋<sup>1</sup> 王璐璐<sup>1</sup> 张洋<sup>1,2\*</sup>

1.徐州市中心医院 江苏 徐州 221009

2.徐州医科大学徐州临床学院 江苏 徐州 221009

中图分类号: R289.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2025)06-0806-06

**摘要:** 目的 探讨煨肾汤对快速老化骨质疏松小鼠(SAMP6)的骨保护作用及机制。方法 30只SAMP6小鼠随机分为SOP模型组、碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组,10只正常老化SAMR1小鼠作为正常对照组。煨肾汤组以煨肾汤浓煎液灌胃,碳酸钙+骨化醇组以碳酸钙D<sub>3</sub>、阿法骨化醇混悬液灌胃,SOP模型组和正常对照组予以同体积生理盐水。治疗3个月,取血清及股骨。检测小鼠骨密度、骨组织病理、骨代谢指标,TGF- $\beta$ 、Smad2通路蛋白,MAPK通路p-JNK、p-ERK、p38、NF- $\kappa$ B p65、p50蛋白。结果 与正常对照组相比,SOP模型组小鼠骨质紊乱、骨小梁减少,骨密度、钙(Ca)、磷(P)、骨碱性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)、I型胶原N-端前肽(P1NP)、信号通路TGF- $\beta$ 、Smad2、p-JNK、p-ERK、p38、p65、p50蛋白较正常对照组差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。与SOP模型组相比,煨肾汤组骨质结构改善,骨密度和骨代谢指标Ca、BALP、P1NP显著升高( $P<0.01$ ),TGF- $\beta$ 、Smad2、p-JNK、p-ERK、p38蛋白显著升高( $P<0.01$ ),P、TRACP显著降低( $P<0.01$ ),p65、p50蛋白显著降低( $P<0.01$ )。与碳酸钙+骨化醇组相比,煨肾汤组P1NP显著升高( $P<0.01$ ),TRACP降低( $P<0.01$ ),TGF- $\beta$ 、Smad2、p-JNK、p-ERK、p38蛋白显著升高( $P<0.01$ ),p65、p50显著降低( $P<0.01$ )。结论 煨肾汤可通过调节TGF- $\beta$ /Smad2与MAPK通路改善骨细胞活性,调节骨代谢,促进骨形成,改善骨密度。

**关键词:** 煨肾汤;老年性骨质疏松;TGF- $\beta$ /Smad2;SAMP6小鼠

**Study on the bone protection of osteoporosis by the regulation of TGF- $\beta$ /Smad2 and MAPK pathways**ZHANG Peng<sup>1</sup>, GAO Sha<sup>1</sup>, WEI Haoyang<sup>1</sup>, WANG Lulu<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>1,2\*</sup>

1. Xuzhou Central Hospital, Xuzhou, 221009, China

2. Xuzhou Clinical College, Xuzhou Medical University, Xuzhou, 221009, China

\* Corresponding author: ZHANG Yang, E-mail: lsfzywww@qq.com

**Abstract:** **Objective** To study the effect and mechanism of Weishen decoction on bone protection in senescence-accelerated mouse prone 6 (SAMP6). **Methods** Thirty SAMP6 mice were randomly divided into SOP model group, calcium carbonate + calcitol group and Weishen decoction group. Ten SAMR1 mice aged normally were used as normal control group. Weishen decoction group was given Weishen thick decoction, calcium carbonate + calcitol group was given calcium carbonate D<sub>3</sub> and alpha calcitol suspension, SOP model group and normal control group were given the same volume of normal saline. After 3 months of treatment, serum and femur were taken. Bone mineral density, bone histopathology, bone metabolism, TGF- $\beta$ , Smad2 pathway protein, MAPK pathway p-JNK, p-ERK, p38, NF- $\kappa$ B p65, p50 proteins were detected. **Results** Compared with the normal control group, the bone trabeculae of the mice with bone disorder in SOP model group were reduced. There were significant differences in bone mineral density, calcium (Ca), phosphorus (P), bone alkaline phosphatase (BALP), tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP), procollagen type I N-terminal propeptide (P1NP), signaling pathway TGF- $\beta$ , Smad2, p-JNK, p-ERK, p38, p65 and p50 proteins compared with normal control group ( $P<0.01$ ). Compared with SOP model group, the bone structure of Weishen decoction group was improved, bone mineral density and bone metabolism indexes Ca, BALP and P1NP were significantly increased

基金项目: 徐州市科技重点研发项目(KC22176);江苏省中医科技发展面上项目(MS2023078、MS2023077)

\* 通信作者: 张洋, Email: lsfzywww@qq.com

( $P < 0.01$ ), and the protein expressions of TGF- $\beta$ , Smad2, p-JNK, p-ERK and p38 were significantly increased ( $P < 0.01$ ). P and TRACP were decreased ( $P < 0.01$ ), p65 and p50 proteins were decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with calcium carbonate + calcitol group, P1NP was significantly increased ( $P < 0.01$ ), TRACP was decreased ( $P < 0.01$ ), TGF- $\beta$ , Smad2, p-JNK, p-ERK and p38 proteins were significantly increased ( $P < 0.01$ ), and p65 and p50 proteins were decreased ( $P < 0.01$ ) in Weishen decoction group.

**Conclusion** Weishen decoction can improve bone cell activity, regulate bone metabolism, promote bone formation and increase bone density by regulating TGF- $\beta$ /Smad2 and MAPK pathways.

**Key words:** Weishen decoction; senile osteoporosis; TGF- $\beta$ /Smad2; SAMP6

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是以骨量低下,骨组织微结构破坏,导致骨脆性明显增加,易发生骨折为特征的全身性骨病<sup>[1]</sup>,并且随着年龄增长发病率升高。在我国 60 岁以上老年人约占总人口的 20%, 65 岁以上老年人骨质疏松患病率达到了 32%<sup>[2]</sup>,因骨质疏松导致的脆性骨折,将使 20% 的患者 1 年内死亡,50% 的患者残疾<sup>[3]</sup>。因此骨质疏松症严重影响着老年患者的身体健康,并随着人口的老齡化,老年性骨质疏松(senile osteoporosis, SOP)也成为社会不可忽视的重要问题。

骨质疏松症中医一般属“骨痿”范畴,病名出自《素问·痿论》:“肾主身之骨髓……腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”,发病机制为阴阳气血失调,骨枯髓减、骨失滋养,肾精亏虚是本病发生的根本病机<sup>[4]</sup>。煨肾汤出自《素问病机气宜保命集》,主“肝损及脾损,纳谷不化,腰痛不起者”,《景岳全书》论此方可治“肝肾虚损,骨痿不能起床,筋弱不能收持”,肝脾不足,气血亏虚,肾精耗损,骨骼失于濡养发为骨痿,见腰痛不能起床及收持。本方以补益肝脾肾为原则,治疗虚劳亏损之骨痿筋弱,临床上常用于治疗老年骨质疏松伴腰酸乏力等肾虚症状,但该方治疗 SOP 的作用机制仍无相关研究。

文献表明, TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 信号通路在骨质疏松的骨代谢中发挥着重要的作用,尤其在调节成骨细胞和破骨细胞活性方面<sup>[5-8]</sup>。因此,本研究以自发快速老化 SAMP6 骨质疏松小鼠为研究对象,探究通过 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 信号通路对其骨代谢的调节,从而发挥骨保护作用,为临床应用提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

5 月龄 SPF 级雄性自发快速老化 SOP 模型小鼠(SAMP6) 30 只,同月龄正常老化小鼠(SAMR1) 10 只,由华阜康生物实验公司提供[许可证编号:

SCXK(京) 2019-0008], 体质量( $28 \pm 5$ ) g, 饲养于南京中医药大学动物实验中心,实验单位许可证编号:SYXK(苏) 2018-0049。饲养环境 SPF 级实验室, 12 h 正常光暗, 温度 22~26 °C, 湿度 46%~50%, 自由饮食进水。

### 1.2 药物及试剂

煨肾汤组成: 杜仲 12 g, 怀牛膝 12 g, 萆薢 12 g, 白蒺藜 12 g, 防风 12 g, 菟丝子 12 g, 葫芦巴 12 g, 补骨脂 12 g, 肉桂 6 g。碳酸钙 D<sub>3</sub>(惠氏制药), 阿法骨化醇(南通华山药业), 药物均购自南京中医药大学附属医院。中药为饮片剂型, 自动煎药机煎药, 恒温水浴箱浓缩, 低温冷藏备用; 阿法骨化醇原为胶囊剂型, 置于蒸馏水中, 稍加热震荡, 制备成混悬液剂型。实验试剂: 骨碱性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)试剂盒(上海吉凯科技, 货号 GOSV0250663、GOSL0258475), TGF- $\beta$  抗体(Perprotech, 货号 21898-I-AP), Smad2 抗体(Perprotech, 货号 12570-I-AP), JNK 抗体(Perprotech, 货号 17572-I-AP)、ERK 抗体(Perprotech, 货号 11257-I-AP), p38 抗体(Perprotech, 货号 14064-I-AP)、NF- $\kappa$ B(p65/p50) 抗体(Perprotech, 货号 10745-I-AP), BCA 蛋白测定试剂盒(碧云天, 货号 P0012), TBST 缓冲液(索莱宝, 货号 T1085-500 mL), 苏木精(索莱宝, 货号 H8070-5g)。

### 1.3 实验仪器

全自动生化分析仪(ADVIA 2400 Chemistry System, SIEMENS 公司); 酶标仪(EnVision 型, PerkinElmer 公司); 小动物双能 X 线骨密度仪(InAlyzer 型, Medikors 公司); 生物组织脱水机(Vip6 型, 樱花公司); 石蜡切片机(HM340E 型, Thermo 公司); 凝胶成像系统(5300 型, 上海天能公司)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 分组:** 30 只 5 月龄雄性自发快速老化骨质疏松 SAMP6 小鼠模型, 以随机数字表法分为 SOP

模型组、碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组,10 只/组。同月龄正常老化 SAMR1 小鼠 10 只作为正常对照组。

1.4.2 给药: 各组小鼠适应性喂养 1 周后,按照人体与小鼠体表面积换算的等效剂量,煨肾汤治疗组按 20.5 g(生药)/(kg.d)的煨肾汤浓煎液灌胃。碳酸钙+骨化醇组以碳酸钙 D<sub>3</sub> 剂量 200 mg/(kg.d)、阿法骨化醇 0.1 μg/(kg.d) 混悬液灌胃。SOP 模型组和正常对照组以同体积生理盐水灌胃。每日给药,连续 3 个月。

1.4.3 取材: 末次给药后禁食 8~12 h,将小鼠麻醉后腹主动脉采血,采血完毕后切开小鼠腿部组织取股骨。血液标本静置 1 h 后 3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清至 EP 管中,-80 ℃ 保存。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 骨密度检测: 取各组小鼠左侧股骨,动物双能 X 线骨密度分析仪检测各样本股骨的骨密度值,以骨矿物含量表示(g/cm<sup>2</sup>)。

1.5.2 骨组织 HE 染色: 取各组大鼠右侧股骨,甲醛固定液冲洗,硝酸溶液脱钙,流水冲洗过夜,脱水后常规浸蜡、包埋、切片,HE 染色,显微镜下观察骨组织。

1.5.3 骨代谢指标: 小鼠血清 Ca、P 采用全自动生化分析仪检测。ELISA 法检测小鼠血清 BALP、TRACP、P1NP。

1.5.4 TGF-β/Smad2 和 MAPK 通路相关蛋白: 取小鼠股骨捣碎在液氮中研磨,裂解液裂解后混匀,离心提取蛋白,聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜后脱脂奶粉封闭,一抗孵育,再 TBST 漂洗,二抗孵育,洗净后进行染色,曝光成像,Image J 软件分析。

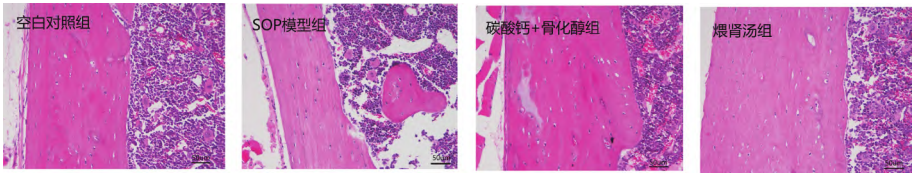


图 1 各组小鼠股骨组织病理学( HE 染色 200×)  
Fig.1 Histopathology of femur in each group( HE ,200×)

2.3 各组小鼠骨代谢指标比较

小鼠骨代谢指标与正常对照组相比 SOP 模型组 Ca、BALP、P1NP 均有明显下降,P、TRACP 有明显升高( $P<0.01$ )。与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组小鼠 Ca、P1NP 有明显升高( $P<0.01$ );煨肾汤组 BALP 有明显升高( $P<0.05$ ),碳酸

1.6 统计学处理

采用 SPSS 24.0 统计软件分析数据,计量资料以均数±标准偏差表示,多样本检验采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法,不符合正态资料采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠骨密度比较

与正常对照组相比,SOP 模型组小鼠骨密度明显降低( $P<0.01$ );与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组小鼠骨密度有明显升高( $P<0.01$ ),两治疗组之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 各组小鼠体质量及骨密度比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of body mass and BMD in each group( $\bar{x}\pm s$ )

组别	体质量/(g)	骨密度/(g/cm <sup>2</sup> )
正常对照组	30.50±1.78	0.068±0.002
SOP 模型组	30.90±2.02	0.055±0.004**
碳酸钙+骨化醇组	31.20±2.15	0.066±0.003##
煨肾汤组	31.70±1.89	0.067±0.003##

注:与正常对照组比较,\*\* $P<0.01$ ;与 SOP 模型组比较,## $P<0.01$ 。

2.2 各组小鼠骨组织病理学比较

小鼠股骨切片 HE 染色,正常对照组小鼠骨小梁均匀致密,形态结构完整;SOP 模型组小鼠皮质变薄、纹理紊乱,骨小梁结构减少断裂,骨髓腔细胞增多间隙增大;与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组小鼠股骨骨皮质增厚,骨小梁排列更加致密,骨髓腔形态结构完整,骨质结构改善。

钙+骨化醇组 BALP 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组 P、TRACP 有明显下降( $P<0.01$ )。两治疗组间比较,煨肾汤组 P1NP 升高,TRACP 降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 2。

表 2 各组小鼠骨代谢标志物比较(  $\bar{x}\pm s$  )

Table 2 Comparison of bone metabolism markers in each group(  $\bar{x}\pm s$  )

组别	Ca/( mmol/L)	P/( mmol/L)	BALP/( ng/mL)	TRACP/( ng/mL)	PINP/( ng/mL)
正常对照组	2.45±0.04	2.85±0.16	1.83±0.18	11.14±2.43	80.48±9.36
SOP 模型组	2.27±0.06**	3.32±0.22**	1.16±0.30**	26.97±5.51**	41.96±4.88**
碳酸钙+骨化醇组	2.46±0.05##	2.98±0.24##	1.32±0.21	19.38±2.79##	59.71±6.63##
煨肾汤组	2.41±0.06##	3.01±0.27##	1.46±0.24#	14.60±3.61##	71.22±8.74##

注:与正常对照组比较, \*\* $P<0.01$ ;与 SOP 模型组比较, # $P<0.05$ , ## $P<0.01$ 。

2.4 各组小鼠 TGF-β/Smad2 和 MAPK 通路蛋白表达的比较

各组小鼠 TGF-β/Smad2 通路蛋白表达,与正常对照组相比, SOP 模型组 TGF-β、Smad2 蛋白显著降

低(  $P<0.01$  );与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组 TGF-β、Smad2 蛋白表达升高(  $P<0.01$  );与碳酸钙+骨化醇组相比,煨肾汤组 TGF-β、Smad2 蛋白表达升高(  $P<0.01$  )。见图 2。

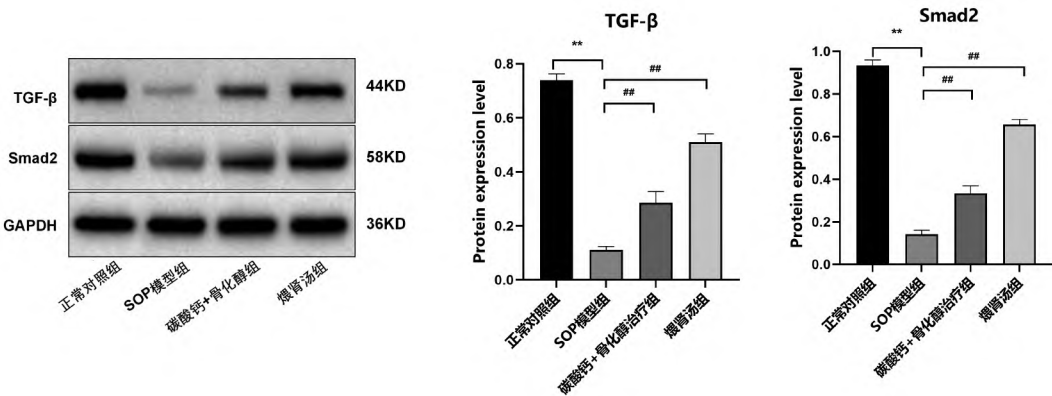


图 2 各组小鼠骨组织 TGF-β/Smad2 通路蛋白表达

Fig.2 Expression of TGF-β/Smad2 pathway protein in bone tissue in each group

注:与正常对照组比较, \*\* $P<0.01$ ;与 SOP 模型组比较, ## $P<0.01$ 。

各组小鼠 MARK 通路蛋白表达,与正常对照组相比, SOP 模型组 p-JNK、p-ERK、p38 蛋白显著降低(  $P<0.01$  ), p65、p50 蛋白显著升高;与 SOP 模型组相比,碳酸钙+骨化醇组、煨肾汤组 p-JNK、p-ERK、p38 蛋白表达升高(  $P<0.01$  ), p65、p50 蛋白表达降低(  $P<0.01$  );与碳酸钙+骨化醇组相比,煨肾汤组 p-JNK、p-ERK、p38 蛋白表达升高(  $P<0.01$  ), p65、p50 蛋白表达降低(  $P<0.01$  )。见图 3。

3 讨论

老年骨质疏松症的发病机制复杂,增龄是重要原因。中医认为随着年龄增长肝肾不足,以肾精亏损,骨弱髓减为本,以气滞血瘀、骨络失荣为标。在发病过程中阴阳衰减、气血不通夹杂,表现在骨肉形体终致骨痿、骨痹,骨量减少、骨质疏松<sup>[4-9]</sup>。煨肾汤组方杜仲、怀牛膝、菟丝子、萆薢、白蒺藜、防风、葫芦巴、补骨脂、肉桂。其中杜仲、怀牛膝、菟丝子补肝肾强筋骨;葫芦巴、补骨脂、肉桂性温热,补肾温阳;萆薢、白蒺藜、防风 3 味药祛风活血止痛,改善痹痛

症状。组方有补肾强骨治其本,也有活血止痛祛其标。文献研究中,煨肾汤为治疗腰痛骨弱重要方剂<sup>[10]</sup>,其中组方中有多种单味药治疗骨质疏松的既往研究。研究表明,杜仲可改善去卵巢骨质疏松小鼠骨代谢<sup>[11-12]</sup>,临床上治疗老年骨质疏松增加骨密度,改善腰痛症状等<sup>[13]</sup>。牛膝多种成分能够作用于 NF-κB 及 ALS 通路等,促进骨髓干细胞分化以及成骨细胞活性,同时提高肌肉质量等<sup>[14-15]</sup>。菟丝子中菟丝子黄酮以及多糖能够上调骨形成标志物如 BGP、BALP,下调骨吸收标志物 RANKL 等,提高股骨和腰椎 BMD<sup>[16]</sup>。补骨脂中二氢黄酮类、香豆素类、萜酚等能够抑制 AKT、p65 的磷酸化,联合 RANKL 诱导破骨细胞分化,起到抗骨质疏松作用<sup>[17-18]</sup>。肉桂中肉桂醛、肉桂酸乙酯能够抑制 TNF、白介素等炎性因子,增加骨小梁数量厚度,起到骨保护作用<sup>[19-20]</sup>。

正常骨骼处在一个骨重建的平衡当中,由成骨细胞、破骨细胞和骨细胞共同维持骨形成与骨吸收,随着老年人年龄增长,骨形成与骨吸收失衡,造成骨

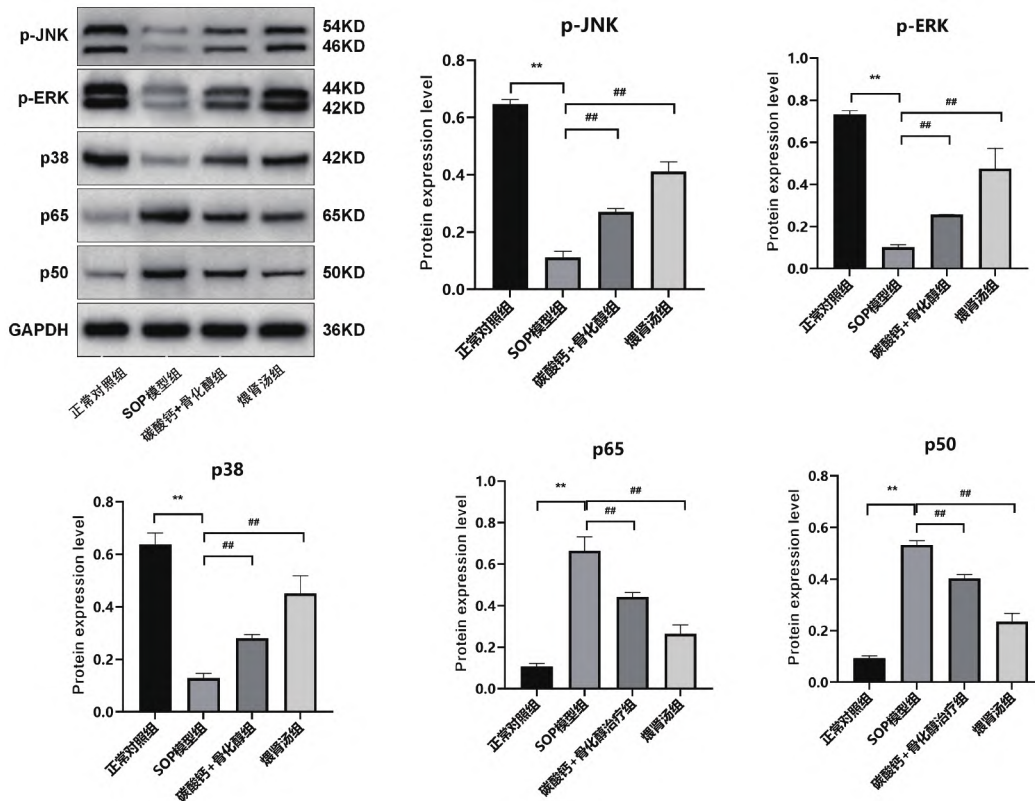


图 3 各组小鼠骨组织 MARK 通路蛋白表达

Fig.3 Expression of MARK pathway protein in bone tissue in each group

注: 与正常对照组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与 SOP 模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

质疏松。在动物实验研究中,自然衰老骨质疏松模型实验周期长、死亡率高,快速老化小鼠 P6 品系 (SAMP6) 具有衰老快,骨骼早衰的特点,其骨形态结构和骨生物力学改变符合人老年性骨质疏松病理表现。同时该品系有正常老化的 R 小鼠 (SAMR1),通常作为正常老化对照组。其老化特点和骨质疏松发病机制与人类相似,均有钙磷代谢的失常,以及成骨细胞减少、破骨细胞增多造成的骨失衡相关<sup>[21-22]</sup>。本研究观察 BALP、P1NP 反映的是成骨细胞活性,是骨分化的重要指标; TRACP 反映的是破骨细胞活性,是骨吸收的重要指标<sup>[23-24]</sup>。TGF- $\beta$  蛋白在骨代谢过程中起重要的作用,可调节成骨细胞的分化和功能,也可促进骨基质的形成,Smad2 是 TGF- $\beta$  转录的重要下游因子,共同参与靶基因表达,调节骨代谢,维持骨平衡<sup>[25-26]</sup>。MAPK 通路是胞内信号传导的重要环节,在成骨细胞增值分化中起重要作用,其主要由 JNK、ERK、p38 等组成<sup>[27-28]</sup>。MAPK 下游调节因子 NF- $\kappa$ B 是调控骨吸收以及免疫炎症的重要通路,其由异源二聚体 p65、p50 蛋白组成,在骨代谢中增加骨吸收,减少骨形成<sup>[29-30]</sup>。

在本研究中, SOP 模型组为快速老化小鼠模

型,骨密度有明显降低,骨质紊乱骨小梁减少,破骨细胞活性指标 TRACP 明显升高,成骨细胞活性指标 P1NP 明显下降。煨肾汤及碳酸钙+骨化醇组小鼠,相对于 SOP 模型组小鼠骨质结构改善,骨密度升高,TRACP 下降、P1NP 升高,骨形成增加。说明煨肾汤能够改善骨质疏松小鼠骨代谢,从而改善骨密度。在 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 通路指标上, SOP 模型组小鼠 TGF- $\beta$ 、Smad2 蛋白以及 MAPK 通路 p-JNK、p-ERK、p38 蛋白明显降低, p65、p50 蛋白表达升高,煨肾汤及碳酸钙+骨化醇组小鼠 TGF- $\beta$ 、Smad2、p-JNK、p-ERK、p38 蛋白表达显著升高, p65、p50 蛋白表达明显降低。提示煨肾汤可激活 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 信号通路,抑制 NF- $\kappa$ B 通路,改善骨代谢。

SOP 发病机制错综复杂,相关信号通路也有多种,其中 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 通路作用关键。本研究发现煨肾汤可通过调节 TGF- $\beta$ /Smad2 与 MAPK 通路,从而调控成骨细胞、破骨细胞的分化及活性,改善骨代谢指标,提高骨密度,治疗骨质疏松症,为临床应用补肾温阳法治疗老年性骨质疏松症提供了理论及实验基础。本研究仅从动物水平研究

了煨肾汤对骨代谢和骨密度的影响,研究通路也相对单一,今后将从体外细胞水平进一步拓展研究该方的作用机制和靶点,并从临床及证候角度通过 RCT 研究验证该方的临床疗效。

### 【参 考 文 献】

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022) [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2022, 15(6): 573-611.
- [2] 《中国老年骨质疏松症诊疗指南(2023)》工作组, 中国老年学和老年医学学会骨质疏松分会, 中国医疗保健国际交流促进会骨质疏松病学分会, 等. 中国老年骨质疏松症诊疗指南(2023) [J]. 中华骨与关节外科杂志, 2023, 16(10): 865-885.
- [3] Wang O, Hu Y, Gong S, et al. A survey of outcomes and management of patients post fragility fractures in China [J]. Osteoporos Int, 2015, 26(11): 2631-2640.
- [4] 葛继荣, 王和鸣, 郑洪新, 等. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2020) [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12): 1717-1725.
- [5] Wang YW, Lin WY, Wu FJ, et al. Unveiling the transcriptomic landscape and the potential antagonist feedback mechanisms of TGF- $\beta$  superfamily signaling module in bone and osteoporosis [J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 190.
- [6] Du X, Zang C, Wang Q. Cyclin A1 (CCNA1) inhibits osteoporosis by suppressing transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) pathway in osteoblasts [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2024, 25(1): 206.
- [7] Wang Q, Gao Z, Guo K, et al. ENPP1 deletion causes mouse osteoporosis via the MKK3/p38 MAPK/PCNA signaling pathway [J]. J Orthop Surg Res, 2022, 17(1): 455.
- [8] Hoshikawa S, Shimizu K, Watahiki A, et al. Phosphorylation-dependent osterix degradation negatively regulates osteoblast differentiation [J]. FASEB J, 2020, 34(11): 14930-14945.
- [9] 史晓林, 刘康. 老年性骨质疏松症中西医结合诊疗指南 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(7): 937-946.
- [10] 于子涵. 中医腰痛经典梳理及基于知识元的腰痛人工智能处方平台建设[D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [11] 罗兰兰, 张宇静, 任明诗, 等. 杜仲汤对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(4): 461-468.
- [12] Wang H, Liu G, Bai G, et al. Research progress in the prevention and treatment of osteoporosis using Chinese medicinal herb eucommia ulmoides oliver [J]. J Contemp Med Pract, 2024, 6(6): 12-16.
- [13] 朱换平, 赵继荣, 石敏, 等. 杜仲腰痛丸治疗老年骨质疏松性腰背痛患者的临床观察 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(6): 153-156.
- [14] 商岚清, 刘永智, 周广智, 等. 从“骨肉不相亲”探讨牛膝活性成分  $\beta$ -蜕皮甾酮论治骨质疏松的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 254-258.
- [15] 鞠洋, 曲宁宁, 任艳玲. 基于网络药理学的牛膝防治骨质疏松潜在分子机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 40-44+260-261.
- [16] 赵宝宝, 李兴勇, 董万涛, 等. 中药菟丝子防治骨质疏松症的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(7): 1089-1092.
- [17] 范冰冰, 仲人, 马壮, 等. 补骨脂的药理学研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 84-87.
- [18] 魏晨旭, 朱星宇, 陆金兰, 等. 补骨脂二氢黄酮甲醚对破骨细胞分化的影响及机制 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(7): 942-947.
- [19] 平凡, 朱琳, 沈霞, 等. 基于炎症因子、雌激素及骨稳态的多向调控研究肉桂-熟地黄防治骨质疏松的分子作用机制 [J]. 药学报, 2022, 57(12): 3644-3652.
- [20] 杜秀藩, 黄弘轩, 熊小龙, 等. 肉桂醛对去卵巢诱导的骨质疏松大鼠模型骨密度和骨量的保护作用 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(9): 1217-1220.
- [21] 马绍勇, 杨梦, 王佳佳, 等. 快速老化 SAMP6 小鼠骨代谢及其分子机制研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2024, 40(1): 16-19.
- [22] Mori M, Higuchi K. The senescence-accelerated mouse as a model for geriatrics and aging biology [J]. Nihon Yakurigaku Zasshi, 2019, 153(4): 179-185.
- [23] 《中国骨质疏松杂志》骨代谢专家组, 张萌萌. 骨代谢生化指标实验规范(2024) [J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(8): 1093-1101.
- [24] Mao Y, Li K, Zhu B, et al. Analysis of risk factors and predictive efficacy of senile osteoporosis fracture based on biochemical indicators of bone metabolism [J]. J Med Biochem, 2024, 43(4): 451-459.
- [25] Hirao T, Kim BG, Habuchi H, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 and bone morphogenetic protein-2 inhibit differentiation into mature ependymal multiciliated cells [J]. Biol Pharm Bull, 2023, 46(1): 111-122.
- [26] Tang C, Liang D, Qiu Y, et al. Omentin-1 induces osteoblast viability and differentiation via the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in osteoporosis [J]. Mol Med Rep, 2022, 25(4): 132.
- [27] Greenblatt MB, Shim JH, Bok S, et al. The extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase pathway in osteoblasts [J]. J Bone Metab, 2022, 29(1): 1-15.
- [28] 王芳, 王兴盛, 赵军, 等. microRNAs 调节 MAPK 信号通路防治骨质疏松症研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(9): 1377-1381.
- [29] Dong H, Liu X, Duan J, et al. Excessive glucocorticoids combined with RANKL promote the differentiation of bone marrow macrophages (BMM) into osteoclasts and accelerate the progression of osteoporosis by activating the SYK/SHP2/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Aging (Albany NY), 2024, 16(17): 12263-12276.
- [30] 陈锋, 任国武, 章晓云, 等. 核因子  $\kappa$ B 受体活化因子信号转导机制与破骨细胞的活化 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(2): 293-299.

(收稿日期: 2024-09-05; 修回日期: 2024-10-06)