

【药效学评价】

淫羊藿药渣对去势雄性大鼠的壮骨作用

刘颖¹, 毕亚男², 许浚³, 王桐², 袁晓美², 张玥², 宋蕾², 周昆², 黄菊阳^{2*}, 李云章^{1*}

1. 内蒙古农业大学兽医学院, 呼和浩特 010018

2. 天津中医药大学中医药研究院, 方剂学教育部重点实验室, 天津 300193

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 研究淫羊藿水提后药渣对去势雄性大鼠的壮骨作用。方法 雄性SD大鼠去睾丸造成激素缺乏型骨质疏松模型, 造模12周后, 连续ig给予淫羊藿水提取物及药渣8周, 给药浓度为0.5、1.0 g/kg (以生药计)。给药结束后处死动物并进行血清生化和骨微结构检测。结果 给药8周, 淫羊藿药渣0.5 g/kg组血清I型前胶原N端前肽(P1NP)含量较模型组明显升高($P < 0.05$), 发挥促进骨形成作用; 血清尿素氮(BUN)、肌酐(Crea)、N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶(NAG)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)水平均呈降低趋势, 肝肾毒性不明显; CT扫描结果显示, 与模型组比较, 淫羊藿药渣0.5 g/kg组胫骨直径显著升高($P < 0.05$); 水提取物0.5 g/kg、药渣1.0 g/kg组骨总体积(TV)显著升高($P < 0.05$), 各给药组骨小梁的体积(BV)均呈升高趋势, 骨表面积(BS)、骨小梁数量(Tb.N)均显著升高($P < 0.05, 0.01$); 药渣1.0 g/kg组骨小梁分离度(Tb.Sp)显著降低($P < 0.01$)。结论 0.5和1.0 g/kg淫羊藿药渣对去势诱导的雄性大鼠骨质疏松有治疗作用, 效果不低于水提取物且没有显著毒性。

关键词: 淫羊藿; 药渣; 骨微结构; 肝肾毒性; 骨质疏松

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2017)12-1682-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.002

Effects of rest of aqueous extract of epimedium on osteoporosis in orchidectomized male rats

LIU Ying¹, BI Ya-nan², XU Jun³, WANG Tong², YUAN Xiao-mei², ZHANG Yue², SONG Lei², ZHOU Kun², HUANG Ju-yang², LI Yun-zhang¹

1. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese medicine Pharmacology, Ministry of Education, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study toxicity and therapeutic effect of the rest of epimedium aqueous extract on osteoporosis in orchidectomized male rats. **Methods** Male SD rats were orchidectomized to establish osteoporosis model. After 12 weeks of modeling, the aqueous extract of epimedium and the residue were given by ig for 8 weeks continuously, and the concentration was 0.5 and 1.0 g/kg. Then, animals were sacrificed and performed serum biochemical and bone microstructural tests. **Results** After 8 weeks of administration, the level of serum I type procollagen N terminal propeptide (P1NP) in 0.5 g/kg epimedium residue group was significantly higher than that of model group ($P < 0.05$), which played an important role in promoting bone formation. The biochemical results showed that the levels of serum urea nitrogen (BUN), creatinine (Crea), N-acetyl-beta-D-glucosamidase (NAG), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC), triacylglycerols (TG), total protein (TP), albumin (ALB), and blood glucose (GLU) were in a decreasing trend and the toxicity of liver and kidney was not obvious. Compared with the

收稿日期: 2017-06-29

基金项目: 国家重大新药创制专项课题 (2011ZX09201-201-21; 2014ZX09304307-001-005)

作者简介: 刘颖 (1988-) 女, 博士研究生, 临床兽医外科学专业。

*通信作者 黄菊阳 (1988-) 女, 助理研究员, 主要从事神经药理研究。Email: huangjuyang@126.com

李云章 (1956-) 男, 教授, 主要从事赛马肢蹄病、奶牛及宠物疾病研究。Email: liyunzhang1956@163.com

model group, CT scanning results showed that the diameter of tibia increased significantly in 0.5 g/kg epimedium residue group ($P < 0.05$); Total volume of 0.5 g/kg aqueous extract and 1.0 g/kg epimedium residue group was increased significantly ($P < 0.05$); In each group, the trabecular bone volume (BV), bone surface (BS) area and trabecular number (Tb.N) were significantly increased ($P < 0.05$, 0.01); The separation degree of trabecular bone (Tb.Sp) was significantly decreased in 1.0 g/kg epimedium residue group ($P < 0.01$).

Conclusion The epimedium residue (0.5 and 1 g/kg) have a significant therapeutic effect on osteoporosis male rats, the effect has no significant difference from aqueous extract of epimedium, and there are no significant toxicity.

Key words: epimedium; rest of aqueous extract; bone microstructure; hepatic and nephrotoxicity; osteoporosis

骨质疏松症, 多见于绝经后妇女, 已得到充分重视, 研究工作也较深入。相比较而言, 男性骨质疏松症常被忽略, 在全世界都有低诊断率、低治疗率的状况发生。男性原发性骨质疏松症的发病年龄多在 70 岁以后, 发病率低于女性。但病情的严重性和骨折后死亡率高于女性, 尤其是骨质疏松性髋部骨折的死亡率明显高于女性。随着人均寿命的延长, 男性骨质疏松症的发生率有明显升高的趋势。重视男性健康问题, 关注男性骨质疏松症的研究, 已成为共识^[1-4]。

淫羊藿, 又名仙灵脾、三枝九叶草、羊合叶, 是传统的补肾壮骨中药, 能益精气、坚筋骨、补腰膝、强心力。肾阳虚是骨质疏松症的发病原因之一, 淫羊藿可用于骨质疏松症的防治^[1]。近代药理学研究发现, 淫羊藿能促进成骨细胞生长、抑制破骨细胞活性, 改善性激素缺乏、长期应用糖皮质激素所引起的骨质疏松^[5-6]; 淫羊藿可抑制白介素-6 的表达, 减少骨吸收和骨量丢失, 使骨量维持于接近正常水平^[7]; 可通过保护性腺, 抑制骨吸收, 促进骨形成, 使骨形成大于骨吸收, 防止骨质疏松的发生^[8]。

中药传统提取方式为水煎, 因此水提物最为接近淫羊藿临床实际使用情况, 药物水煎后剩余药渣部分往往被丢弃。研究证明, 去势后雄性大鼠应用淫羊藿可以防止骨量丢失并提高骨结构性能, 因此本研究针对淫羊藿水提后剩余药渣部分的药效展开研究, 并与水提部分药物药效和毒性进行比对, 以达到减少浪费、提高药材利用率的效果, 为淫羊藿的合理应用提供一定的理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

60 只雄性 SD 大鼠, 体质量 150 g, SPF 级, 购自北京华阜康生物科技有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2014-0004; 动物饲养于中国医学科学院放射医学研究所, 饲养温度 20~25 °C, 湿度 40%~60%, 自然光照, 所用饲料均为天津市华荣实验动物科技有限公司生产的全价颗粒饲料,

饮用自来水。

1.2 受试药物

淫羊藿药材, 购自河北春开制药股份有限公司, 由天津药物研究院许浚副研究员鉴定为淫羊藿 *Epimedium brevicornu*。淫羊藿水提物及药渣均由许浚副研究员团队制备提供, 经测定, 每克水提物中含淫羊藿苷 97.28 mg、宝藿苷 19.46 mg; 每克药渣中含淫羊藿苷 7.45 mg、宝藿苷 9.12 mg。

淫羊藿水提物制备方法: 淫羊藿药材 6 kg, 8 倍水煎煮 2 次, 每次 1 h, 第一次多加入 3 倍水, 提取后将水提物喷干成粉末状, 得到粉末 800 g。称取 20 g 水提物粉末, 逐渐少量加水研磨, 定容为 1 000 mL, 配置成终质量浓度为 20 g/L 水提物溶液, 置 4 °C 保存, 每次 ig 给药前将药品恢复至室温, 震荡混匀。

提取后的剩余部分晒干即为受试药渣, 称其质量为 4.8 kg。取干燥药渣, 粉碎机打粉 5 min, 过 150 目筛, 取过筛后药渣粉末 10 g, 逐渐少量加入水研磨, 定容为 100 mL, 终质量浓度为 100 g/L, 置 4 °C 保存。

1.3 主要试剂

骨钙素(OC)ELISA 试剂盒, 批号 L161101225; I 型前胶原 N 端前肽(PINP) ELISA 试剂盒, 批号 L161101210; I 型前胶原交联 C 末端肽(CTX1) ELISA 试剂盒, 批号 L161104416; 均为 USCN 产品。水合氯醛, 分析纯, 批号 20130705, 天津市光复精细化工研究所产品。注射用青霉素钠, 批号 017140656, 中诺药业(石家庄)有限公司产品。氯化钠注射液, 批号 141128, 安徽双鹤药业责任有限公司产品。甲醛溶液, 分析纯, 批号 20141204, 天津市风船化学试剂科技有限公司产品。

1.4 仪器

AE200S 电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); Micro 17 R 高速离心机(美国 Thermo); WK-200B 小型高速粉碎机(青州市富尔康制药机械有限公司); Academic 纯水机(美国 Merck Millipore 公司); VivaCT 40 骨密度仪(瑞士

SCANCO Medical AG); 7020 全自动生化仪 (日本 Hitachi); InfiniteM200 多功能读板仪 (瑞士 TECAN); 外径千分尺 (上海量具刃具厂)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药

雄性 SD 大鼠适应性饲养 30 d 后, 随机选取 50 只, 行睾丸切除术造模, 采用 5% 水合氯醛 (0.6 mL/100 g) 麻醉, 术后连续 2 d 给 8 万 U 青霉素。

造模 12 周后, 将 10 只未造模大鼠设为对照组, 将模型鼠随机分为模型组, 淫羊藿水提物 1.0、0.5 g/kg 组 (以生药量计, 下同), 药渣 1.0、0.5 g/kg 组, 每组 10 只, 组间大鼠体质量无统计学差异。按体质量 ig 给药, 给药体积约为 1 mL/100 g, 连续给药 8 周, 对照组及模型组给予相应体积的饮用水。每日观察大鼠的精神状态及采食饮水等生活状况, 每周 1 次称体质量并记录。

2.2 实验数据采集

8 周给药结束后, 大鼠用 10% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血并离心得血清, 全自动生化检测仪测丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、 γ -谷氨酰转肽酶 (GGT)、总胆红素 (TBIL)、肌酐 (Crea)、尿酸 (Ua)、尿素氮 (BUN)、血糖 (GLU)、三酰甘油 (TG)、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (NAG) 等血清生化指标, ELISA 试剂盒检测 OC、CTX1、P1NP。

左侧胫骨用 10% 甲醛溶液固定, 并保存于透明离心管中备用。用千分尺于大鼠胫骨关节面下方 1/3 处, 以同一角度, 对同一位置的胫骨直径进行测量; 使用 VivaCT 40 骨密度仪进行胫骨 CT 扫描, 进行骨密度分析。主要检测指标为总体积 (TV)、骨小梁的体积 (BV)、骨表面积 (BS)、骨小梁数量 (Tb.N)、骨小梁厚度 (Tb.Th) 和骨小梁分离度 (Tb.Sp)。

2.3 统计学处理

数据统计学分析应用 Microsoft Excel 2013, 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对雄性去势大鼠体质量、脏器系数的影响

雄性大鼠去势后, 体质量显著降低 ($P < 0.01$), 肝、肾系数显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 可见雄激素的缺乏会导致雄性大鼠肝、肾质量显著减小; 与模型组比较, 淫羊藿水提物组肝系数显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 药渣 0.5 g/kg 组肾系数显著升高 ($P < 0.01$), 数值已经接近对照组。见表 1。

3.2 对血清中 OC、CTX1、P1NP 含量的影响

如表 2 所示, 给药 8 周后, 模型组血清 P1NP 较对照组显著升高 ($P < 0.05$), 表明体内骨形成活跃; 淫羊藿药渣 0.5 g/kg 组血清 P1NP 含量较模型组明显升高 ($P < 0.05$), 表明其促进体内骨形成作用; 血清 CTX1 和 OC 的浓度在各组间无显著性

表 1 淫羊藿给药 8 周对大鼠体质量、脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Body weight and organ index of rats after 8 weeks' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	肝质量/g	肾质量/g	肝系数	肾系数
对照	—	664.2 ± 34.56	16.04 ± 1.21	3.20 ± 0.22	2.41 ± 0.13	0.48 ± 0.03
模型	—	562.5 ± 58.06 ^{##}	12.00 ± 1.76 [#]	2.28 ± 0.17 ^{###}	2.13 ± 0.15 ^{##}	0.41 ± 0.02 ^{##}
淫羊藿水提物	0.5	556.70 ± 39.08	9.57 ± 0.64 ^{**}	2.34 ± 0.13	1.72 ± 0.09 ^{**}	0.42 ± 0.03
	1.0	561.50 ± 34.50	10.80 ± 1.02	2.33 ± 0.21	1.92 ± 0.13 [*]	0.42 ± 0.02
药渣	0.5	564.29 ± 51.32	11.26 ± 1.53	2.58 ± 0.20 ^{**}	2.00 ± 0.27	0.46 ± 0.04 ^{**}
	1.0	565.91 ± 36.06	11.43 ± 0.86	2.38 ± 0.08	2.02 ± 0.09	0.42 ± 0.02

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

表 2 淫羊藿给药 8 周对大鼠血清中 OC、CTX1、P1NP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Serum OC, CTX1 and P1NP level of rats after 8 weeks' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	OC/(pg·mL ⁻¹)	CTX1/(pg·mL ⁻¹)	P1NP/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	99.71 ± 3.35	1 280.32 ± 144.94	559.41 ± 79.33
模型	—	90.93 ± 3.05	1 278.96 ± 42.89	1 279.42 ± 225.42 [#]
淫羊藿水提物	0.5	79.82 ± 3.90	1 494.36 ± 77.97	1 184.58 ± 191.93 ^{##}
	1.0	95.25 ± 6.59	1 205.07 ± 73.57	1 100.90 ± 105.92 ^{##}
淫羊藿药渣	0.5	88.94 ± 6.04	1 349.62 ± 94.51	1 703.06 ± 147.78 ^{###}
	1.0	87.78 ± 3.05	1 228.31 ± 66.82	1 184.58 ± 81.72 ^{##}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

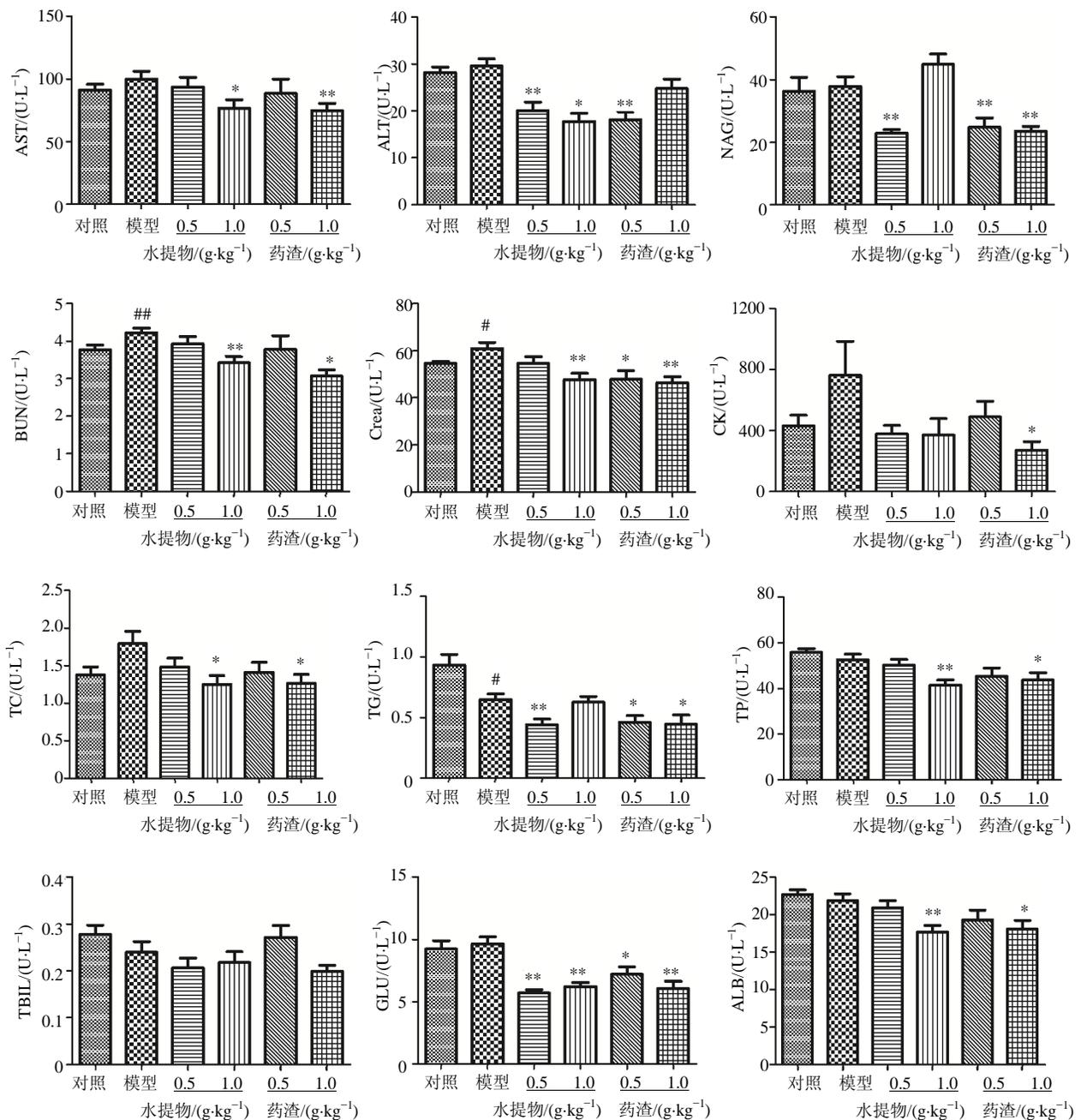
^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

差异。

3.3 对雄性去势大鼠血清毒性指标的影响

如图1所示,给予淫羊藿水提取物和药渣后,与模型组比较,水提取物、药渣1.0 g/kg组BUN、水提取物1.0 g/kg、药渣0.5、1.0 g/kg组Crea水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),恢复至对照组水平,水提取物0.5 g/kg、药渣0.5、1.0 g/kg组NAG水平亦显著降

低($P < 0.01$);水提取物、药渣1.0 g/kg组血清AST、水提取物0.5、1.0 g/kg和药渣0.5 g/kg组ALT水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01);水提取物、药渣1.0 g/kg血清TC、水提取物0.5 g/kg、药渣0.5、1.0 g/kg组TG水平均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01);水提取物、药渣1.0 g/kg组血清TP和ALB水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),且TP的降低主要由ALB降低所致;给药组



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图1 淫羊藿给药8周对大鼠血清指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Serum indexes of rats after 8 weeks' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

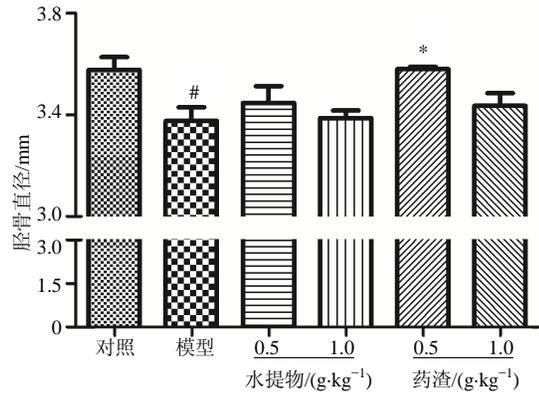
血清 GLU 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.4 对雄性去势大鼠胫骨直径的影响

如图 2 所示, 用千分尺测量大鼠胫骨直径, 结果表明, 模型组大鼠胫骨直径比对照组显著降低 ($P < 0.05$), 淫羊藿药渣 0.5 g/kg 组胫骨直径比模型组显著升高 ($P < 0.05$)。

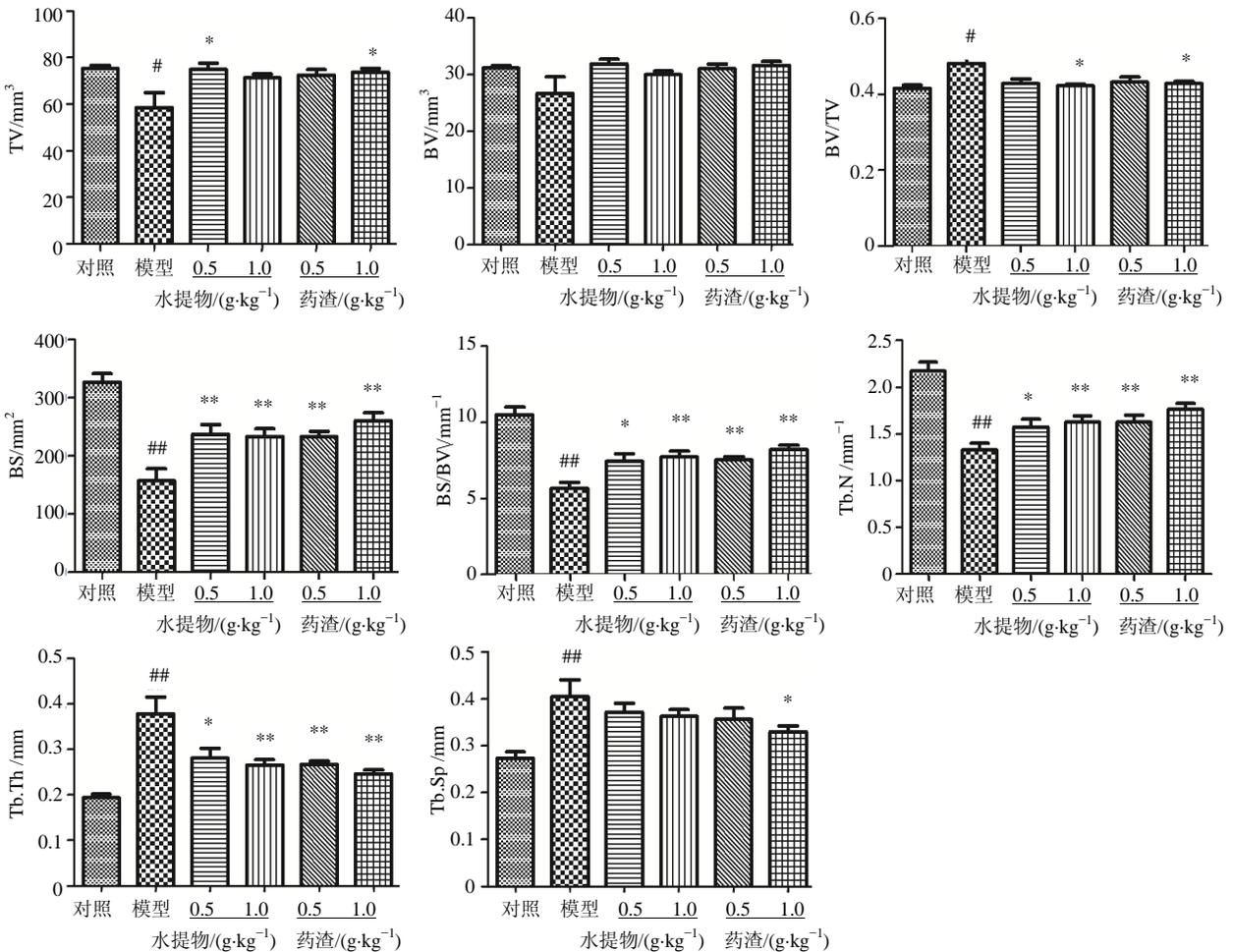
3.5 对雄性去势大鼠骨微结构的影响

如图 3 所示, 用 VivaCT 40 骨密度仪对大鼠胫骨进行骨 CT 扫描, 与对照组比较, 模型组 TV、BS、Tb.N、BS/BV 均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), BV 呈降低趋势; BV/TV、Tb.Th 和 Tb.Sp 显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 各给药组与模型组比较, 水提取物 0.5 g/kg、药渣 1.0 g/kg 组 TV 显著升高 ($P < 0.05$), 各给药组 BV 均呈升高趋势, BV/TV 呈降低趋势, 但与对照组接近; 各给药组 BS 显著升高 ($P < 0.01$)、Tb.N 显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01),



与对照组比较: # $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$
$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group

图 2 淫羊藿给药 8 周对大鼠胫骨直径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 2 Tibial diameter of rats after 8 weeks' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图 3 淫羊藿给药 8 周对大鼠骨微结构的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Bone microstructure of rats after 8 weeks' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

但 Tb.Th 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 药渣 1.0 g/kg 组 Tb.Sp 显著降低 ($P < 0.01$)。总体看来, 给药后骨微结构均有所改善。

4 讨论

骨质疏松症是以骨量减少、骨的微观结构退化为特征, 致使骨脆性增加、易于发生骨折的一种全身性的骨骼疾病^[1]。2016 年报道显示, 国内 40 岁以上人口中, 有 1.4 亿人患有骨质疏松症, 发病率约 25%, 其中男女比例为 1:2^[2]。目前, 临床上对骨质疏松症的检出率和认知率很低, 有些二、三级城市及农村对其认知甚至是盲点, 因此, 骨质疏松症的诊断及防治十分重要^[3]。雌激素在妇女绝经后骨质疏松症发病机制中的作用、雌激素替代治疗的有效性正被人们逐渐认识和肯定, 而男性骨质疏松的研究起步较晚, 治疗上缺乏公认有效的方法^[9-13]。早在 20 世纪 80 年代, 研究人员就开始采用去势 SD 大鼠造模法建立骨质疏松模型, 用以研究老年特发性骨质疏松, 与低龄大鼠相比, 老年以及去势大鼠骨密度、骨小梁数量均明显降低, 因此, 目前常选择成年 SD 大鼠去势造模^[14-15]。

影响骨强度的因素主要有骨量、骨微结构、骨的几何形状、皮质骨厚度、骨组织构成材料的内在性能等, 抗骨质疏松药物疗效评价的终点指标应该是防止或减少骨质疏松性骨折的发生率, 同时兼顾其对骨结构性能的影响。CT 结果显示, 造模后骨小梁数量减小的同时分离度升高、骨表面积密度降低, 证明骨小梁密度降低, 胫骨直径明显减小, 给药后骨直径及骨微结构均有所改善, 表明淫羊藿水提物及药渣对去势雄鼠骨质疏松有良好疗效。雄性大鼠去势后, 体质量显著降低, 肝、肾系数显著降低, 而给药后肝质量有所下降, 肾质量有所上升, 提示淫羊藿可能对雄性大鼠肾脏有较强的补益功效。血清生化检测结果表明, 去势雄性大鼠连续使用 1.0、0.5 g/kg 剂量淫羊藿 2 个月后, 多数指标变化并未提示其长期使用有明显毒副作用, 如 AST、ALT 的降低; 而血清 GLU、TG、TC 的降低, 更多提示的是一个药用的可能性, 且已有研究证明, 淫羊藿有降糖和降脂作用^[16]; 但血清 ALB 的降低是一个潜在风险, 体内的 ALB 基本由肝脏合成, 血清 ALB 的降低往往表明肝脏的蛋白合成减弱, 本实验中淫羊藿水提物 1 g/kg 组 ALB 降低近 20%, 是不是肝脏毒性的表现还有待进一步研究。

中药绝大多数来源于植物, 其药渣中含有粗纤

维、粗蛋白、粗脂肪以及多种微量元素等。近年来, 中药药渣主要从以下几个方面进行再利用: 再提取其他有效成分、栽培食用菌、用作饲料或饲料添加剂、制成有机肥料、处理废水、用作生物能源和造纸原料、用于发酵生产等^[17]。药典中淫羊藿药材推荐用量为 6~10 g, 折合大鼠用量约为 0.54~0.90 g/kg。本实验最初将给药剂量设计为 2.0、1.0 和 0.5 g/kg, 以推荐剂量设为中间剂量, 但在实际给药过程中, 由于 2 g/kg 药渣悬浮液太浓稠, 给药困难, 故取消高剂量组。本研究证明了淫羊藿药渣 1.0 和 0.5 g/kg 剂量对去势造成的雄性大鼠骨质疏松有一定疗效, 效果不低于水提物同等剂量组且无明显毒性, 为药材的充分利用及开发制药新工艺提供了理论依据。

参考文献

- [1] 余元勋, 等. 中国分子骨质疏松症学 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2016: 4.
- [2] 张智海, 张智若, 刘忠厚, 等. 中国大陆地区以-2.0SD 为诊断标准的骨质疏松症发病率回顾性研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, (1): 1-8.
- [3] 中国人群骨质疏松症防治手册 2015 版 (讨论稿) [A]. 中国老年学学会骨质疏松委员会、中国骨质疏松杂志社. 第十五届国际骨质疏松研讨会暨第十三届国际骨矿研究学术会议会议文集 [C]. 中国老年学学会骨质疏松委员会. 中国骨质疏松杂志社. 2015: 55.
- [4] 贺丽英, 孙 蕴, 要文娟, 等. 2010-2016 年中国老年人骨质疏松症患病率 Meta 分析 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, (12): 1590-1596
- [5] 杨 燕, 年宏蕾, 刘仁慧, 等. 淫羊藿-女贞子配伍对糖皮质激素性骨质疏松大鼠 TGF- β_1 /Smads 通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, (09): 99-104.
- [6] 赵冰洁, 宋 捷, 章 丽, 等. 淫羊藿醇提物对去卵巢大鼠骨质疏松治疗作用及机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1919-1925.
- [7] 文 娱, 张金娟, 陈雪梅, 等. 淫羊藿苷对骨质疏松模型小鼠骨组织中 IL-6 表达的影响 [J]. 贵州医药, 2010, (9): 781-783.
- [8] 贾东辉. γ 射线对大鼠睾丸间质细胞的损伤及淫羊藿苷对损伤的保护作用 [D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [9] 马豆豆, 范志宏, 李 梅. 男性骨质疏松症药物治疗 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2014, (4): 369-373.
- [10] 杨 晨. 老年男性骨质疏松症治疗药物的药物经济学评价 [D]. 广州: 南方医科大学, 2013.

(下转第 1694 页)

- 床应用、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 2010, 6(2): 102-104.
- [9] 金沈锐, 祝彼得, 秦旭华. 野菊花注射液对人肿瘤细胞 SMMC7721、PC3、HL60 增殖的影响 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(3): 39240.
- [10] 范彩霞, 范世平, 陈志喜, 等. 鼻咽清颗粒对鼻咽癌 CNE-2 细胞周期和凋亡的影响及可能机制研究 [J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 24(5): 330-334.
- [11] Lowe S W, Lin A W. Apoptosis in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21: 485-495.
- [12] Soussi T, Lozano G. p53 mutation heterogeneity in cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331(3): 834-842.
- [13] Zhou B B, Elledge S J. The DNA damage response: putting check-points in perspective [J]. *Nature*, 2000, 408(6811): 433-439.
- [14] Russo A, Terrasi M, Aqnese V, et al. Apoptosis: a relevant tool for anticancer therapy [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(7): 115-123.
- [15] 徐丽丽, 高世勇, 季宇彬. 细胞凋亡相关蛋白的研究进展 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2008, 29(11): 1361-1363.
- [16] 周 桔, 罗荣保, 汤长发, 等. Bcl-2 蛋白家族和 p53 基因在细胞凋亡中的调控效应 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(10): 1950-1952.
- [17] 顾红燕, 郭青龙. p53 最新研究进展 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34(11): 801-803.

(上接第 1687 页)

- [11] 沈小波, 代洪宾. 男性骨质疏松症研究进展 [J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2010, (02): 89-92.
- [12] 詹志伟, 裴 育, 王熙然, 等. 老年男性骨质疏松症与发病相关危险因素分析 [J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2008, (3): 247-250.
- [13] 苗懿德, 刘 杰, 刘忠厚. 老年男性骨质疏松与相关影响因素的关系 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2001, (3): 34-36
- [14] 渠海波, 张 朝. 骨质疏松的研究进展 [J]. 包头医学院学报, 2013, 29(3): 119-121.
- [15] 宋 敏, 李 晶. 大鼠骨质疏松模型的复制方法及意义 [J]. 当代医学, 2010, 16(15): 16-17.
- [16] 蔡 辉, 徐佳杨, 赵智明. 淫羊藿总黄酮对高血脂症大鼠血脂水平的影响 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, (9): 4-6, 10.
- [17] 赵振坤, 王淑玲, 丁刘涛, 等. 中药药渣再利用研究进展 [J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2012, 01: 38-42.