

桃红四物汤治疗骨质疏松症的药效学研究

徐志红, 陈磊焱, 许立, 张 娴*

南京中医药大学附属南京市中西医结合医院, 江苏 南京 210014

摘要: 目的 考察桃红四物汤对去卵巢骨质疏松模型大鼠骨密度、骨形态学和骨载荷能力的影响, 并探讨其可能的作用机制。方法 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、仙灵骨葆胶囊 (0.4 g/kg) 组以及桃红四物汤低、高剂量 (0.2、0.4 g/kg) 组, 每组 8 只。除对照组外, 其余各组大鼠去除双侧卵巢建立骨质疏松模型。各给药组 ig 相应药物, 连续 3 个月。采用三点弯曲实验检测各组大鼠股骨载荷能力; 采用苏木素-伊红 (HE) 和番红固绿染色观察各组大鼠胫骨病理变化; 采用微计算机断层扫描技术 (micro computed tomography, Micro-CT) 分析各组大鼠胫骨骨密度、骨小梁宽度和分离度等形态学参数; 采用抗酒石酸酸性磷酸酶 (Tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 染色检测各组大鼠胫骨破骨细胞数量; 采用免疫组化法检测各组大鼠胫骨骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 和核因子- κ B 受体活化因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 蛋白表达情况。结果 与模型组比较, 桃红四物汤组大鼠股骨最大载荷、最大应力和弹性载荷均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 胫骨骨丢失程度改善, 骨小梁数量和连接增多; 胫骨骨密度、骨小梁与骨组织面积比、骨小梁宽度和骨小梁数量显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 骨小梁分离度显著降低 ($P < 0.01$); 胫骨破骨细胞数量减少, OPG 表达增加, RANKL 表达降低。结论 桃红四物汤能够增加骨密度及载荷能力, 促进成骨细胞功能, 抑制破骨细胞功能亢进引起的骨吸收, 从而发挥抗骨质疏松作用。

关键词: 桃红四物汤; 骨质疏松症; 去卵巢模型; 破骨细胞; 成骨细胞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)18-5608-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.18.015

Pharmacodynamic study of Taohong Siwu Decoction in treatment of osteoporosis

XU Zhi-hong, CHEN Lei-yao, XU Li, ZHANG Xian

Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210014, China

Abstract: Objective To investigate the effect of Taohong Siwu Decoction (桃红四物汤) on bone mineral density, bone morphology and bone load capacity of ovariectomized osteoporosis model rats, and explore its possible mechanism. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, Xianling Gubao Capsule (0.4 g/kg) group, low- and high-dose Taohong Siwu Decoction (0.2, 0.4 g/kg) groups, with eight rats in each group. Except for control group, rats in the other groups were removed bilateral ovaries to establish an osteoporosis model. Rats in each administration group were ig corresponding drugs for three consecutive months. Three-point bending test was used to detect the load capacity of femur of rats in each group; Hematoxylin-eosin (HE) and Safranin fast green staining were used to observe the pathological changes of tibia of rats in each group; Micro computed tomography (Micro-CT) was used to analyze the morphological parameters such as bone density, trabecular bone width and separation of tibia of rats in each group; Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining was used to detect the number of tibia osteoclasts of rats in each group; Immunohistochemical method was used to detect the protein expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator for nuclear factor- κ B ligand (RANKL) of rats in each group. **Results** Compared with model group, maximum load, maximum stress and elastic load of femur of rats in Taohong Siwu Decoction group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$); Tibia bone loss was improved, the number of bone trabeculae and connection was increased; Tibia bone density, ratio of trabecular bone area to bone tissue area, trabecular bone width and number of trabecular bone were significantly increased ($P < 0.05$,

收稿日期: 2021-03-23

基金项目: 南京市医学科技发展项目 (QYK11148)

作者简介: 徐志红, 副主任药师, 硕士, 主要从事临床中药学研究。Tel: (025)85370827 E-mail: xuzhihong19923@163.com

*通信作者: 张 娴, 副主任药师, 主要从事临床中药研究。Tel: (025)85308672 E-mail: zhangxianpharmacy7@163.com

0.01), trabecular bone separation was significantly decreased ($P < 0.01$); Number of tibial osteoclasts was decreased, OPG expression was increased, and RANKL expression was decreased. **Conclusion** Taohong Siwu Decoction can increase bone density and load capacity, promote osteoblast function, reduce bone resorption caused by osteoclast hyperfunction, and exert anti-osteoporosis effect.

Key words: Taohong Siwu Decoction; osteoporosis; ovariectomized model; osteoclast; osteoblast

骨质疏松症作为一种多发于中老年人的慢性进行性疾病,短时期内不易被发现,患者若不及时治疗,会造成胸、腰椎、肱骨等多处骨折。近年来骨质疏松症的发病率呈增长趋势,目前临床常用抑制破骨细胞的双膦酸盐类、抑制骨吸收的降钙素类以及雌激素补充剂类药物治疗骨质疏松症^[1],以上药物长期服用均具有较大的不良反应,因此寻求更好的替代药物或联合用药方案具有重要的意义。

中医以补肾益精、活血化瘀为基本方针治疗骨质疏松症^[2]。桃红四物汤为经典名方,由当归、熟地、川芎、白芍、桃仁、红花 6 味中药配伍组成,具有活血化瘀、养血行气的功效^[3]。临床研究表明,桃红四物汤对骨折后的愈合具有较好的疗效,常用于骨质疏松性骨折术后的联合用药治疗^[4-5]。樊梅等^[6]采用网络药理学方法发现桃红四物汤通过 69 个活性成分作用于 5346 个靶点治疗骨质疏松症,具有“多成分-多靶点-多途径”的特点。杨卓等^[7]发现桃红四物汤中单一成分对骨折大鼠软骨细胞的生长及骨小梁的形成具有促进作用。目前尚未见针对桃红四物汤治疗骨质疏松症的全面药效学研究,本研究旨在明确桃红四物汤对骨质疏松症的治疗作用,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雌性 SD 大鼠 40 只,3 月龄,体质量(300±20) g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物许可证号 SCXK(沪)2018-0006。动物适应性饲养 1 周,自由进食饮水。动物实验经南京市中西医结合医院伦理委员会批准(批准号 202006010)。

1.2 药材

当归(批号 200702,甘肃)、熟地(批号 201002,河南)、川芎(批号 201201,四川)、白芍(批号 190501,安徽)、桃仁(批号 201113,河北)、红花(批号 200810,新疆)购自南京鹤龄药事服务有限公司,经南京中医药大学邹立思实验员鉴定分别为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch.

的新鲜或干燥块根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、蔷薇科植物桃 *Pernus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花。

1.3 药品与试剂

对照品没食子酸(批号 wkq19032211,质量分数≥98%)、羟基红花黄色素 A(批号 wkq18041905,质量分数≥98%)、苦杏仁苷(批号 wkq19070203,质量分数≥98%)、芍药苷(批号 wkq18032205,质量分数≥98%)和阿魏酸(批号 wkq16080219,质量分数≥98%)购自四川维克奇生物科技有限公司;对照品梓醇(批号 110808-201819,质量分数≥98%)、地黄苷 A(批号 10109-201612,质量分数≥98%)和绿原酸(批号 110563-201506,质量分数≥98%)购自南昌贝塔生物科技有限公司;仙灵骨葆胶囊(批号 1907053,0.5 g/粒)购自贵州同济堂制药有限公司;骨保护素(osteoprotegerin, OPG)抗体(批号 GR3210856)、核因子-κB 受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor-κB ligand, RANKL)抗体(批号 GR294319)购自英国 Abcam 公司。

1.4 仪器

e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);3367 型双立柱台式电子试验机(美国 Instron 公司),小动物活体微计算机断层扫描技术(micro computed tomography, Micro-CT)影像系统(德国 Bruker 公司)。

2 方法

2.1 桃红四物汤的制备

取熟地黄 12 g、川芎 6 g、当归 9 g、白芍 9 g、红花 6 g 和桃仁 9 g,加入 10 倍量水煎煮 60 min,滤过,旋转蒸发浓缩至含生药量 1 g/mL 的溶液。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取梓醇、没食子酸、地黄苷 A、羟基红花黄色素 A、绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸对照品各 1 mg,分别置于 1 mL 量瓶,加入适量甲醇溶解,配制质量浓度为 1 mg/mL 的单一对照品

母液。精密吸取适量单一对照品母液，配制成混合对照品溶液。

2.3 桃红四物汤中化学成分的验证

按照李双双等^[8]方法分析桃红四物汤中的化学成分。色谱条件：Hypersil GOLD AQ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.05% 磷酸水溶液（B），梯度洗脱：0~3 min，4% A；3~10 min，4%~10% A；10~18 min，10%~23% A；18~23 min，23%~28% A；23~30 min，28%~40% A；体积流量为 1 mL/min；柱温为 30 ℃；检测波长为 215 nm。

2.4 造模、分组与给药

SD 大鼠随机分为对照组、模型组、仙灵骨葆胶囊（0.4 g/kg）以及桃红四物汤低、高剂量（0.2、0.4 g/kg）组，每组 8 只。模型组和各给药组行双侧卵巢去除术，对照组只摘除附在卵巢周围少量脂肪组织。桃红四物汤以蒸馏水分别配制成质量浓度为 0.02、0.04 g/mL 的溶液，仙灵骨葆胶囊以蒸馏水配制成质量浓度为 0.04 g/mL 的溶液。术后 1 周，各给药组 ig 相应药物（10 mL/kg），对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水，1 次/d，连续 3 个月。

2.5 骨标本的制备

给药结束后，大鼠 ip 戊巴比妥钠麻醉处死，取出完整的左右侧股骨、胫骨，充分剔除残余结缔组织及肌肉，胫骨浸泡于 4% 福尔马林中；股骨以 0.9% 氯化钠溶液冲洗，以经 0.9% 氯化钠溶液浸泡的纱布包裹，外层再以锡纸包裹，于 -80 ℃ 冰箱保存。

2.6 桃红四物汤对骨质疏松大鼠股骨载荷能力的影响

股骨于室温下解冻，用游标卡尺测定各组大鼠股骨中段外径，并计算截面积。将各组大鼠股骨置于双立柱台式电子试验机，于股骨中段施加载荷直至股骨断裂，支点跨距 20 mm，加载速度 2 mm/min^[9]，软件自动记录最大载荷。

2.7 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨病理变化的影响

各组大鼠胫骨脱钙后切片，进行苏木素-伊红（HE）或番红固绿染色，经脱水、透明、封片后，于显微镜下观察骨组织形态及骨丢失情况。碱性染料番红 O 可以与骨组织中嗜酸性软骨糖胺聚糖结合，显微镜下呈现红色或橘色。

2.8 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨密度的影响

取浸泡于 4% 福尔马林中的右侧胫骨，置于 PBS

溶液中，采用 Micro-CT 影像系统对各组大鼠胫骨进行骨密度分析，分辨率为 35 μm，Source Voltage 为 60 kV，Source Current 为 385 μA。采用软件对胫骨骨小梁与骨组织面积比、骨小梁数量、骨小梁宽度、骨小梁分离度和骨密度进行分析^[10]。

2.9 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中破骨细胞的影响

各组大鼠胫骨脱钙后切片，进行抗酒石酸酸性磷酸酶（tartrate-resistant acid phosphatase，TRAP）和苏木素染色，经脱水、透明、封片后，于显微镜下观察胫骨组织中破骨细胞数量^[11]。

2.10 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响

各组大鼠胫骨脱钙后切片，经脱蜡、抗原修复、非特异性封闭、免疫反应、DAB 显色、苏木素复染后，于显微镜下观察并拍照，检测胫骨中 OPG 和 RANKL 蛋白表达情况。

2.11 统计学分析

所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPASS 11.0 统计学软件进行方差分析，两组均数之间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 桃红四物汤提取物主要成分验证

如图 1 所示，桃红四物汤含有梓醇、没食子酸、地黄苷 A、羟基红花黄色素 A、绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷和阿魏酸 8 种特征性成分，与文献报道一致^[8]，

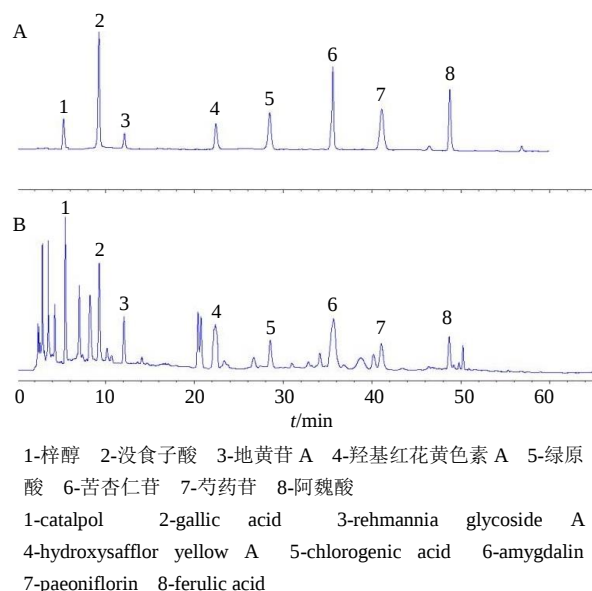


图 1 对照品溶液 (A) 与桃红四物汤 (B) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference solution (A) and Taohong Siwu Decoction (B)

可保证提取物质量可控。

3.2 桃红四物汤对骨质疏松大鼠股骨载荷能力的影响

如表 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠股骨最大载荷、最大应力和弹性载荷均显著降低 ($P < 0.01$),提示骨质疏松模型制备成功;与模型组比较,桃红四物汤高剂量组大鼠股骨最大载荷、最大应力和弹性载荷均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01),桃红四物汤低剂量组大鼠股骨最大载荷显著升高 ($P < 0.05$),仙灵骨葆胶囊组大鼠股骨最大载荷和弹性载

荷显著升高 ($P < 0.05$),表明高剂量桃红四物汤对骨质疏松引起的股骨载荷能力降低具有较好的提升作用。

3.3 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨病理变化的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠胫骨近端骨丢失严重,骨小梁稀疏、断裂程度高,表明骨质疏松模型制备成功。各给药组胫骨骨丢失程度改善,骨小梁数量增加,连接增多,骨小梁分离度降低。

表 1 桃红四物汤对骨质疏松大鼠股骨载荷能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Taohong Siwu Decoction on load capacity of femur in osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	最大载荷/N	最大应力/MPa	弹性载荷/N
对照	—	235.92 ± 42.07	224.21 ± 29.30	6.58 ± 1.13
模型	—	177.24 ± 29.49 ^{##}	173.23 ± 23.47 ^{##}	4.24 ± 0.57 ^{##}
仙灵骨葆胶囊	0.4	207.61 ± 16.96*	197.58 ± 35.84	5.26 ± 0.90*
桃红四物汤	0.4	217.65 ± 30.42*	203.98 ± 25.54*	5.41 ± 0.48**
	0.2	203.74 ± 18.41*	197.85 ± 33.09	5.04 ± 0.69

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

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

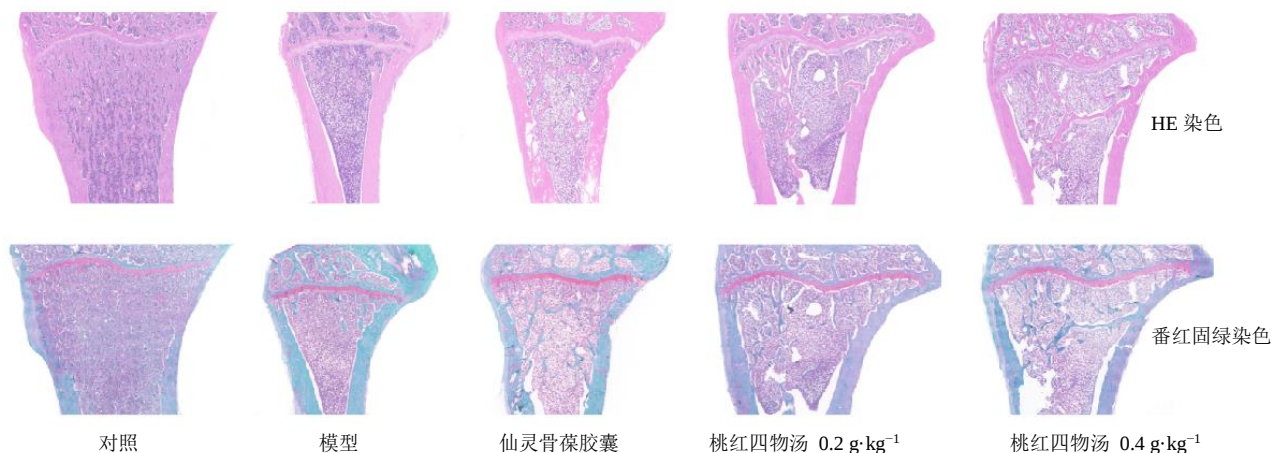


图 2 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨病理变化的影响 ($\times 1.5$)

Fig. 2 Effect of Taohong Siwu Decoction on pathological changes of tibia in osteoporotic rats ($\times 1.5$)

3.4 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨密度的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组大鼠胫骨骨缺失明显;与模型组比较,各给药组骨丢失程度改善。如图 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠胫骨骨密度、骨小梁与骨组织面积比、骨小梁宽度、骨小梁数量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),骨小梁分离度显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠胫骨骨密度、骨小梁与骨组织面积比、骨小梁数量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01),骨小梁分离度

显著降低 ($P < 0.01$);桃红四物汤高剂量组和仙灵骨葆胶囊组大鼠骨小梁宽度显著升高 ($P < 0.05$),表明桃红四物汤能够提升骨质疏松大鼠骨密度,恢复骨小梁功能及结构。

3.5 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中破骨细胞的影响

如图 5 所示,模型组大鼠胫骨组织中破骨细胞数量较对照组增加,各给药组破骨细胞数量减少,表明桃红四物汤能够减轻溶骨性病变,抑制破骨细

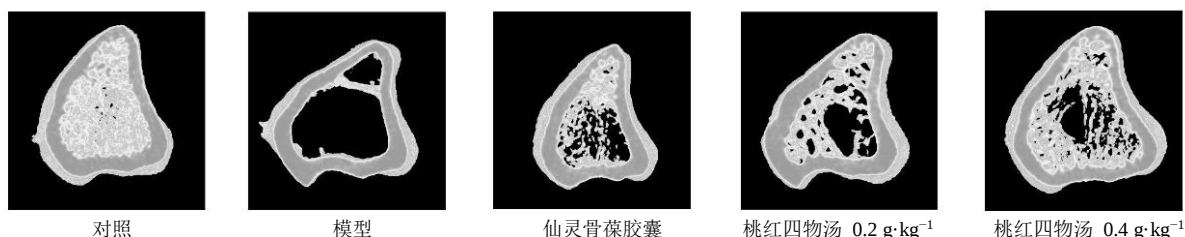
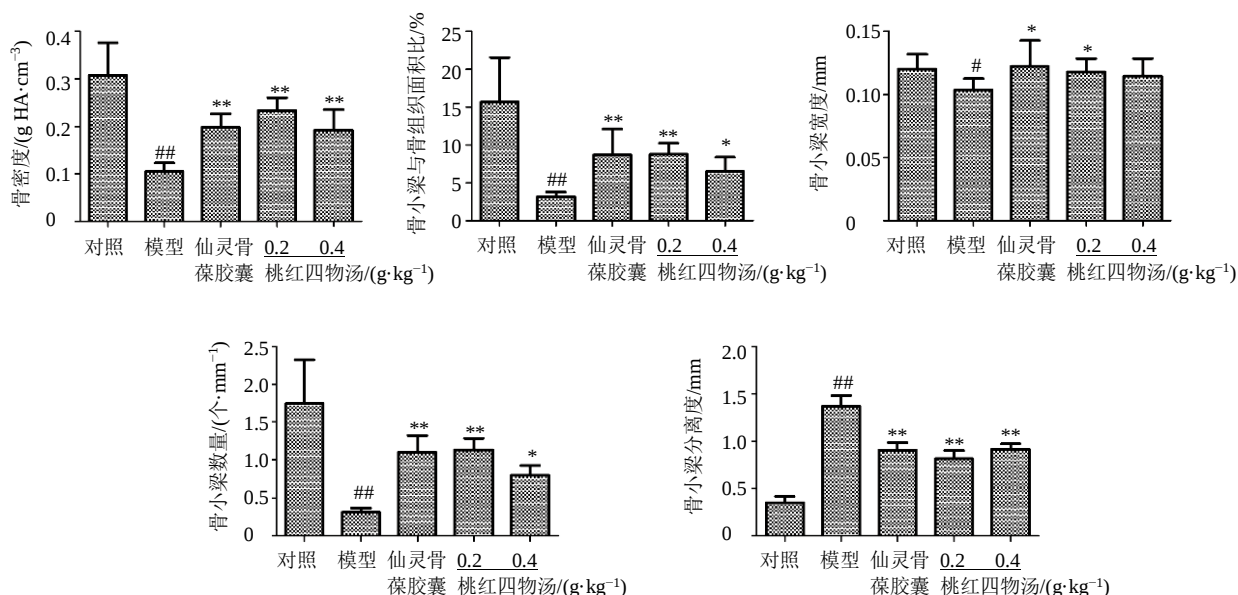


图 3 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨骨小梁的影响

Fig. 3 Effect of Taohong Siwu Decoction on trabecular of tibia in osteoporotic rats



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 4 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨形态学参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 4 Effect of Taohong Siwu Decoction on morphological parameters of tibia in osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

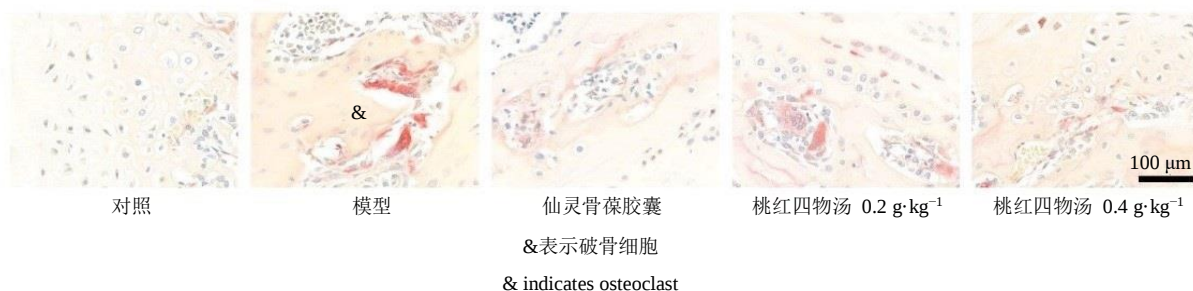


图 5 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中破骨细胞的影响 ($\times 200$)

Fig. 5 Effect of Taohong Siwu Decoction on osteoclasts of tibia in osteoporotic rats ($\times 200$)

胞功能。

3.6 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响

如图 6 所示, 与模型组比较, 各给药组胫骨组织中 OPG 阳性表达增加, 骨小梁表面 RANKL 阳性

表达降低, 表明桃红四物汤可以通过正向调节 OPG 与 RANKL 比值, 促进成骨细胞的功能, 并抑制破骨细胞的成熟及分泌。

4 讨论

本研究采用双侧去卵巢法建立骨质疏松模型,

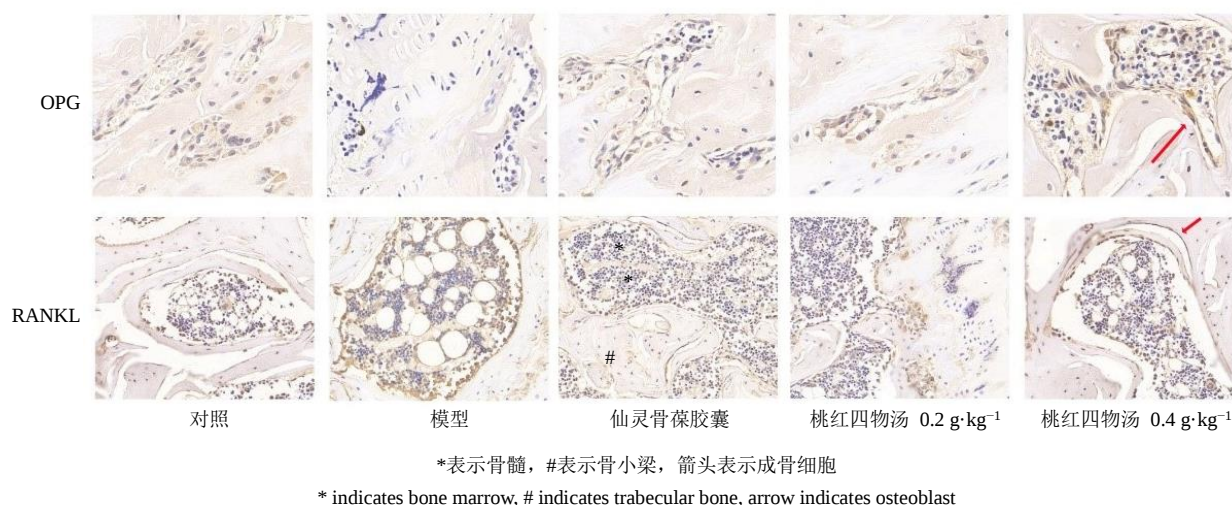


图 6 桃红四物汤对骨质疏松大鼠胫骨组织中 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响 (×400)

Fig. 6 Effect of Taohong Siwu Decoction on OPG and RANKL protein expressions of tibia in osteoporotic rats (× 400)

选取骨密度、骨小梁数目等多个标志性指标评估骨质疏松造模是否成功^[12]。骨密度是衡量骨骼强度的重要参数之一，也是诊断是否存在骨质疏松的重要指标之一^[13]。而骨骼强度除了用骨密度含量进行衡量，骨小梁的承载负荷能力对骨内传导及分解外力载荷也尤为重要^[14]。大鼠切除双侧卵巢 3 个月后，骨密度显著降低，骨小梁数量显著减少，骨小梁分离度明显提高，表明骨质疏松模型制备成功。

桃红四物汤为经过多年临床经验总结的经典中药验方，临床上常用于治疗骨折、腰腿痛、骨质疏松症等骨科疾病，目前针对桃红四物汤的相关报道为临床经验治疗且多为辅助用药，并未对其药效进行单独探讨。本研究通过 ig 桃红四物汤单方，探究桃红四物汤对慢性骨质疏松病变各类指标的正向改善作用。HPLC 结果表明本研究制备的桃红四物汤主要成分与文献报道一致^[8]，其质量可控。

本研究通过对大鼠股骨生物力学检测，确定桃红四物汤能够明显增加骨质疏松大鼠股骨的载荷能力；采用 HE 和番红固绿染色观察大鼠胫骨切片，发现桃红四物汤能够减少骨丢失面积，减小骨小梁间隙；Micro-CT 结果显示，桃红四物汤能够升高骨质疏松大鼠骨密度、骨小梁与骨组织面积比、骨小梁宽度、骨小梁数量，降低骨小梁分离度，尤以桃红四物汤高剂量组疗效最佳。通常骨丢失主要是骨吸收和骨生成的失衡，破骨细胞是异常骨重建的主要功能细胞，其功能亢进是引发骨质疏松症等多种退行性病变的直接原因^[15]。现代药理学研究发现，RANK/RANKL/OPG 通路是调节骨质的形成和吸收

过程的重要通路，也是近年骨质疏松病理及药理研究的热点。本研究发现桃红四物汤对破骨细胞生成具有抑制作用，可能主要通过上调 OPG 与 RANKL 比值，从而减少破骨细胞的成熟及分泌。

综上所述，桃红四物汤对大鼠骨质疏松症具有良好的治疗效果，可以通过抑制破骨细胞功能进而阻止骨质疏松的恶化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陶爱恩, 赵飞亚, 钱金楸, 等. 黄精属植物治疗肾精亏虚相关疾病的本草学和药理作用与药效物质研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(5): 1536-1548.
- [2] 赵良功, 方瑶瑶, 刘小花, 等. 红芪多糖对骨髓间充质干细胞和成骨细胞的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 432-436.
- [3] 成颜芬, 江华娟, 王琳, 等. 经典名方桃红四物汤化学指纹图谱及 9 种成分含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 653-661.
- [4] 王阳, 叶松庆, 李永全. 桃红四物汤联合髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折的临床研究 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(5): 883-886.
- [5] 黄建国, 陈明光. 股骨近端防旋髓内钉技术内固定联合桃红四物汤对老年创伤性骨折临床疗效分析 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 222-225.
- [6] 樊梅, 唐芳, 马武开, 等. 基于网络药理学探讨桃红四物汤治疗骨质疏松症的主要活性成分及药理作用机制 [J]. 风湿病与关节炎, 2020, 9(12): 4-8.
- [7] 杨卓, 邱振南, 余晓愉, 等. 桃红四物汤组方药物主要有效单体成分配伍对早期骨折愈合的影响 [J]. 湖南中

- 医药大学学报, 2020, 40(12): 1462-1467.
- [8] 李双双, 李双, 杨建明, 等. RP-HPLC 法测定桃红四物汤提取物中 9 种水溶性活性成分的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(3): 364-367.
- [9] 吕思敏, 于琼, 司徒永立, 等. 含辅酶 Q10 的红曲胶囊对去卵巢合并 D-半乳糖大鼠股骨的影响 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1253-1259.
- [10] 柴勇. 雌雄去势大鼠骨微观结构和生物力学性能的比较及右归丸干预作用的研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2019.
- [11] Jiang L T, Zhang W J, Wei L, *et al.* Early effects of parathyroid hormone on vascularized bone regeneration and implant osseointegration in aged rats [J]. *Biomaterials*, 2018, 179: 15-28.
- [12] 司徒永立, 柯行, 刘义, 等. 三种小鼠骨质疏松模型骨组织形态计量学观察与评价 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(9): 1281-1287.
- [13] 胡祖圣, 李升, 刘国彬, 等. 人体骨骼显微硬度及其相关因素初步研究 [J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(1): 102-104.
- [14] 孟瑶, 雷涛. 骨的微结构与骨强度关系的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(9): 831-834.
- [15] Binder N B, Niederreiter B, Hoffmann O, *et al.* Estrogen-dependent and C-C chemokine receptor-2-dependent pathways determine osteoclast behavior in osteoporosis [J]. *Nat Med*, 2009, 15(4): 417-424.

[责任编辑 李亚楠]