

补肾通络方改善骨质疏松大鼠糖代谢的作用及机制

闵文¹, 万仕炜², 韩龙², 张珂², 尚宜志², 韩诗雨², 方彭华^{2*}

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210023;

2. 南京中医药大学翰林学院基础医学实验中心, 江苏泰州 225300)

[摘要] **目的:**探讨补肾通络方对去卵巢骨质疏松大鼠脂肪、骨骼肌过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 1α (PGC- 1α)和葡萄糖转运蛋白4 (GLUT4)表达的干预效应及对糖代谢的作用机制。**方法:**将雌性大鼠随机分为假手术组和手术组,分别为22只和60只,全部进行卵巢切除造模。术后70 d从2组分别随机选出10只大鼠处死后取右侧股骨,采用双能X射线骨密度仪进行检测。确认造模成功后,假手术组剩12只,手术组剩48只,手术组大鼠随机分为4组,分别为模型组、补肾方组、通络方组、补肾通络方组,每组12只。各给药组分别给予补肾方(5.4 g·kg⁻¹),通络方(0.9 g·kg⁻¹),补肾通络方(6.3 g·kg⁻¹)进行灌胃,连续70 d。实验结束后,检测血糖和骨密度。通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)检测脂肪、骨骼肌 PGC- 1α 和 GLUT4 mRNA 和蛋白的表达。**结果:**与假手术组比较,模型组血糖略升高,骨密度显著下降($P < 0.01$),脂肪、骨骼肌 PGC- 1α 和 GLUT4 表达显著下降($P < 0.01$)。与模型组比较,补肾通络方组大鼠血糖明显下降,脂肪、骨骼肌 PGC- 1α 和 GLUT4 mRNA 和蛋白表达均明显增加($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**补肾通络方通过促进脂肪及骨骼肌 PGC- 1α 表达,增加 GLUT4 表达,提高糖代谢水平。

[关键词] 补肾通络方; 胰岛素抵抗; 糖代谢; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 1α (PGC- 1α); 葡萄糖转运蛋白4 (GLUT4); 绝经后骨质疏松症

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289

[文献标识码] A

[文章编号] 1005-9903(2018)20-0153-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181931

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180712.0939.001.html>

[网络出版时间] 2018-07-12 10:55

Mechanism of Bushen Tongluo Decoction improving Effect on Glucose Metabolism in Osteoporpsis Rats

MIN Wen¹, WAN Shi-wei², HAN Long², ZHANG Ke², SHANG Yi-zhi², HAN Shi-yu², FANG Peng-hua^{2*}

(1. *The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;*

2. *Experiment Center of Basic Medicine, Hanlin College Nanjing University of Chinese Medicine, Taizhou 225300, China)*

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and mechanism of Bushen Tongluo decoction (BSTL) on the glucose metabolism of osteoporosis of ovariectomized rat model based on the expressions of peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator- 1α (PGC- 1α) and glucose transporter 4 (GLUT4) in fat and muscle. **Method:** Female rats were randomly divided into the sham operation group ($n = 22$) and the operation group ($n = 60$); and all of them underwent ovary resection for modeling. 70 days after surgery, 10 rats from the two groups were randomly selected and put to death, and their right femurs were collected. The dual-energy X-ray bone density instrument was used to test whether the models were successful or not. After the successful modeling, the sham-

[收稿日期] 20180410(011)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81774335);江苏省自然科学基金面上项目(BK20151357, BK20171319);江苏省高等学校大学生创新训练项目(201613981007Y);南京中医药大学国家自然科学基金预研基金项目(12XY04)

[第一作者] 闵文, 博士, 副教授, 从事中医药防治骨质疏松症研究, Tel: 025-85811959, E-mail: wenge1977@126.com

[通信作者] *方彭华, 博士, 从事内分泌与代谢研究, Tel: 0523-80639515, E-mail: hlcollegesci@sina.cn

operated group still had 12 rats, and the operation group still had 48 rats. The operation group was divided into model group, kidney-tonifying drugs group ($5.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), deopillant group ($0.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and BSTL group ($6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), with 12 rats in each group. The osteoporosis rat model was respectively given kidney-tonifying drugs, deopillant, and BSTL by gavage for 70 days. Blood glucose and bone mineral density (BMD) of the rat model were tested after the experiment. The mRNA and protein expression levels of PGC-1 α and GLUT4 were detected in adipose tissue and skeletal muscle by Real-time PCR and Western blot. **Result:** Compared with the sham-operated group, the blood glucose of model groups was raised. The expression levels of BMD, PGC-1 α and GLUT4 in adipose tissue and skeletal muscle were obviously declined ($P < 0.01$). Compare with model groups, the blood glucose level of BSTL was decreased ($P < 0.01$), and the expression levels of PGC-1 α and GLUT4 were increased remarkably both in adipose tissue and skeletal muscle ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** BSTL increases the expression of GLUT4 and the level of glucose metabolism by promoting the expression of PGC-1 α in adipose tissue and skeletal muscle.

[**Key words**] Bushen Tongluo decoction; insulin resistance; glucose metabolism; peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α); glucose transporter 4 (GLUT4); osteoporosis

骨质疏松症和 2 型糖尿病均是高发于绝经后女人群的全身性代谢疾病。骨质疏松症骨量减少和骨微结构退化,直接导致骨骼变脆和骨折风险增加,骨折常致永久残疾甚至死亡^[1-2]。2 型糖尿病以胰岛素受体或受体后缺陷引起的胰岛素抵抗为主要病理特征,骨骼肌葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) 表达减少是胰岛素抵抗的重要原因^[3]。骨质疏松与 2 型糖尿病密切相关。糖代谢异常是绝经后骨质疏松症发生的重要机制已被证实^[4]。而绝经后骨质疏松症的骨重建失衡也会导致葡萄糖耐受不良和胰岛素抵抗,增加 2 型糖尿病的患病风险^[5-6]。

补肾通络方是全国第六批老中医药专家学术经验传承指导老师黄桂成教授的临床验方,对绝经后骨质疏松症临床疗效确切。前期研究发现,调节核转录因子- κ B 受体活化因子配体 (RANKL)/核转录因子- κ B 受体活化因子 (RANK)/骨保护素 (OPG) 信号通路是该方重要的分子作用机制^[7]。另外,研究表明补肾通络方能够提高膝骨关节炎大鼠软骨 OPG mRNA 表达水平,降低 RANKL 水平,改善骨质代谢水平,缓解膝骨关节炎^[8]。因此,补肾通络方通过调节 RANKL/RANK/OPG 信号通路,改善骨代谢状态,起到治疗骨质疏松症的作用。

而最近有研究报道,RANKL/RANK/OPG 信号通路对 2 型糖尿病发病也发挥重要作用,OPG 在胰腺表达并具有保护胰岛 β 细胞和改善胰岛素抵抗作用^[9]。补肾通络方显著改善骨质疏松大鼠骨重建,逆转骨量丢失,但模型动物的糖代谢变化及该方干预的效应机制尚不明确。因此,本研究将进一步明确补肾通络方对骨质疏松大鼠糖代谢的干预效应,

并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 6 月龄 SD 系 SPF 级雌性大鼠 104 只,体质量 260 ~ 280 g。动物购于扬州大学比较医学中心,合格证号 SCXK(苏)2012-0004。实验动物于南京中医药大学翰林学院动物实验室饲养 1 周,温度 20 ~ 22 $^{\circ}\text{C}$,自由进水和饮食。动物实验经南京中医药大学动物伦理委员会批准,批件号 ACV-08 (20151116)。

1.2 药物和试剂 补肾方、通络方、补肾通络方均由江苏省中医院制剂室提供,含生药 $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。补肾方由淫羊藿 12 g,骨碎补 12 g,续断 12 g,茯苓 9 g,白芍 9 g,甘草 6 g 组成。通络方由蜈蚣 5 g,全蝎 5 g 组成。补肾通络方由淫羊藿 12 g,骨碎补 12 g,续断 12 g,蜈蚣 5 g,全蝎 5 g,茯苓 9 g,白芍 9 g,甘草 6 g 组成。所有药材均由南京中医药大学药学院刘圣金副教授鉴定为正品。trizol, SuperReal PreMix Color(天根生化科技有限公司,批号分别为 Q5106, Q6220); 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 1 α (PGC-1 α) 一抗, GLUT4 一抗, PVDF 膜(美国 Merckmillipore 公司,批号分别为 ST1202, 07-1404, R6PA1237B); TBST(美国 Solarbio 公司,批号 20160726); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH), 羊抗兔免疫球蛋白 (Ig) G(武汉博士德生物,批号分别为 BA2913, BA1054)。

1.3 仪器 CFX-Connect 型实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 仪, Mini Protean 3 Cell 型蛋白电泳仪转膜仪(美国 Bio-Rad 公司); UV-2450 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); A-5082 型

多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司);UltraFocus 型小动物双能 X 射线仪(美国 Faxitron 公司);3H16R1 型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 模型制备及干预方法 大鼠分为假手术组和手术组,分别为 22 只和 60 只。大鼠骨质疏松模型制备参照文献 [10] 方法。全部动物按照 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水合氯醛腹腔麻醉。用碘伏行皮肤消毒后,用手术剪刀沿后正中中线切开皮肤,切口长约 2 cm。于肋弓下脊柱旁开 1 cm 处切开肌肉,打开后腹膜。找到位于肾脏后下方的脂肪团,将卵巢轻柔提出,并分离周围脂肪组织,结扎双侧卵巢下方的输卵管、血管。切除双侧卵巢,放入固定液固定。然后逐层缝合,在每侧手术部位注射青霉素 1 mL。假手术组仅切除双侧卵巢旁部分脂肪,余处理同实验组。术后每天青霉素钠盐,连续 3 d。术后 70 d 从两组分别随机选出 10 只大鼠处死后(麻醉后,腹主动脉取血,取组织)取右侧股骨,去除附着肌肉和结缔组织,采用双能 X 射线骨密度仪进行检测,以验证造模是否成功。造模成功后,假手术组剩 12 只,手术组剩 48 只,手术组大鼠随机分为 4 组,分别为模型组、补肾组、通络组、补肾通络组,每组 12 只。补肾组、通络组、补肾通络组分别给予 5.4, 0.9, $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水提液^[11],每天 1 次灌胃,共 70 d。

2.2 样本提取方法 给药结束后,动物空腹 12 h,采用 7% 水合氯醛($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)进行腹腔麻醉。待麻醉生效后,用 5 mL 一次性注射器从大鼠腹主动脉抽取血液,转入血液采集管,标记及记录。接着取出大鼠股骨、骨骼肌及脂肪,用 4 °C 预冷的生理盐水冲洗干净后,用铝箔纸包裹并标记,放入 -80 °C 中冻存。

2.3 骨密度测定 采用双能 X 射线吸收法测定股骨骨密度。

2.4 血糖测定 通过快速血糖仪检测尾静脉空腹血糖。

2.5 Real-time PCR 检测 PGC-1 α 及 GLUT4 mRNA 表达 骨骼肌或脂肪组织 1 mg, trizol 提取总 RNA。采用分光光度法在 260, 280 nm 波长下计算 RNA 浓度。将 RNA 1 μg 逆转录为 cDNA 20 μL , 通过 Real-time PCR 检测测定 GLUT4 mRNA 和 PGC-1 α 表达水平。以下是寡核苷酸引物,由美国 Invitrogen 公司合成, GLUT4 上游 5'-ACAGGGCAAGGATGGTAGA-3', 下游 5'-TGGAGGGGAACAAGAAAGT-3', 片段长度 101 bp; PGC-1 α 上游 5'-TGGAGCAATAAAGCAAA GACC-3', 下游 5'-GTGTGAGGAGGGTCATCGTT-3',

片段长度 104 bp; β -肌动蛋白(β -actin)上游 5'-GGCTGTGTTGTCCCTGTATG-3', 下游 5'-AATGTCACGCACGATTTCC-3', 片段长度 226 bp。总反应体系 20 μL , 扩增条件为 95 °C 10 min 下开始最初变性; 95 °C 15 s, 62 °C 60 s, 循环 40 次。反应结束后收集分析扩增曲线及溶解曲线, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 对 Real-time PCR 的结果进行相对定量统计。

2.6 蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测 GLUT4 和 PGC-1 α 蛋白表达 用裂解液提取骨骼肌及脂肪组织蛋白并通过 BCA 法测得其浓度。12% 分离胶中加入样品 30 μg 。然后将分离的蛋白转到 PVDF 膜上, 室温封闭 2 h; 一抗 GLUT4 (1:2 000) 或 PGC-1 α (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 然后用 TBST 洗 3 次, 每次 10 min; 室温孵育羊抗兔 IgG 二抗 2 h, 然后用 TBST 洗 3 次, 每次 10 min。最后, 通过超敏发光液曝光并进行分析。

2.7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较, 方差齐多重检验采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

3 结果

3.1 对骨质疏松大鼠股骨骨密度的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠的骨密度显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 补肾方组、通络方组骨密度明显增加 ($P < 0.05$), 补肾通络方组骨密度显著增加 ($P < 0.01$); 与补肾方组、通络方组比较, 补肾通络方组骨密度增加, 但无统计学意义。见表 1。

表 1 补肾通络方对骨质疏松大鼠股骨骨密度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)
Table 1 Effect of Bushen Tongluo decoction on bone mineral density in rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	骨密度/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$
假手术	-	0.228 ± 0.005
模型	-	$0.181 \pm 0.011^{1)}$
补肾方	5.4	$0.220 \pm 0.011^{2)}$
通络方	0.9	$0.222 \pm 0.007^{2)}$
补肾通络方	6.3	$0.230 \pm 0.007^{3)}$

注: 与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对骨质疏松大鼠血糖的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠血糖升高, 但无统计学意义; 与模型组比较, 补肾方组、补肾通络方组血糖均显著下降 ($P < 0.01$), 通络组血糖下降, 但无统计学意义; 与通络方组比较, 补肾通络方组血糖明显增加 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 补肾通络方对骨质疏松大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of Bushen Tongluo decoction on blood glucose in rats($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹
假手术	-	12.94 ± 1.08
模型	-	16.20 ± 1.68
补肾方	5.4	8.48 ± 0.89 ¹⁾
通络方	0.9	13.86 ± 0.82
补肾通络方	6.3	10.59 ± 1.31 ^{1,2)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与通络方组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 补肾通络方对骨质疏松大鼠脂肪组织和骨骼肌组织中 PGC-1 α 和 GLUT4 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of Bushen Tongluo decoction on expression of PGC-1 α and GLUT4 mRNA in adipose tissue and skeletal muscle of rats($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脂肪组织		骨骼肌组织	
		PGC-1 α	GLUT4	PGC-1 α	GLUT4
假手术	-	0.061 ± 0.009	0.113 ± 0.021	0.100 ± 0.012	0.997 ± 0.182
模型	-	0.016 ± 0.009 ¹⁾	0.043 ± 0.004 ¹⁾	0.033 ± 0.010 ¹⁾	0.615 ± 0.017 ¹⁾
补肾方	5.4	0.044 ± 0.004 ³⁾	0.052 ± 0.006	0.049 ± 0.008	0.749 ± 0.053 ²⁾
通络方	0.9	0.051 ± 0.005 ³⁾	0.073 ± 0.003 ³⁾	0.064 ± 0.004 ³⁾	0.856 ± 0.123 ³⁾
补肾通络方	6.3	0.053 ± 0.004 ^{3,4)}	0.109 ± 0.023 ^{3,4)}	0.081 ± 0.002 ^{3,4)}	0.986 ± 0.174 ^{3,4)}

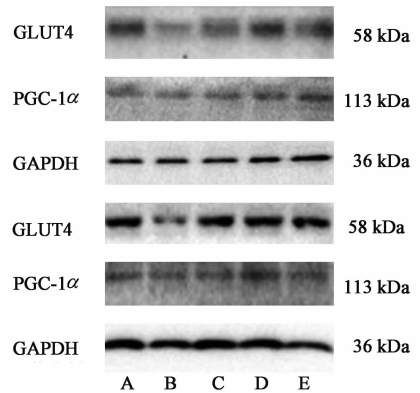
注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与补肾方组比较⁴⁾ $P < 0.05$ (表 4 同)。

3.4 对骨质疏松大鼠脂肪及骨骼肌 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠脂肪组织和骨骼肌组织中 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白水平显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,通络方组、补肾通络方组脂肪组织骨骼肌组织 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白水平明显增加($P < 0.05, P < 0.01$),补肾方组脂肪组织 PGC-1 α 蛋白和骨骼肌组织 GLUT4 蛋白水平明显增加($P < 0.05, P < 0.01$);与补肾方组、通络方组比较,补肾通络方组脂肪组织和骨骼肌组织 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白表达增加,但无统计学意义。见图 1,表 4。

4 讨论

骨质疏松症与糖尿病均是绝经后妇女常见的代谢性疾病,随着社会人口老龄化,两者发病率不断升高。糖尿病因血胰岛素水平不足或胰岛素敏感性降低导致骨质疏松发生并成为其独立高危因素已被证实^[12-15]。骨质疏松症发生糖代谢异常的临床现象已被引起重视,但其具体机制到目前为止尚不清楚。Direkx 等^[16]研究发现,VHL 基因敲除小鼠成骨细胞葡萄糖摄取量显著增加,糖酵解能力明显增强,提示成骨细胞在糖代谢过程中发挥重要作用。进一步研究发现,GLP-1 干预骨质疏松模型大鼠后血糖明显

3.3 对骨质疏松大鼠脂肪及骨骼肌 PGC-1 α 和 GLUT4 mRNA 表达的影响 与假手术比较,模型组大鼠脂肪及骨骼肌 PGC-1 α , GLUT4 mRNA 表达均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,补肾通络方组脂肪及骨骼肌 PGC-1 α 及 GLUT4 mRNA 表达均显著增加($P < 0.01$);与补肾方组比较,补肾通络方组脂肪及骨骼肌 PGC-1 α 和 GLUT4 mRNA 表达明显增加($P < 0.05$);与通络方组比较,补肾通络方组脂肪及骨骼肌 PGC-1 α 和 GLUT4 mRNA 表达增加,但无统计意义。见表 3。



A. 假手术组;B. 模型组;C. 补肾方组;D. 通络方组;E. 补肾通络方组

图 1 各组大鼠脂肪和骨骼肌 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白表达
Fig. 1 Expression of PGC-1 α and GLUT4 protein in fat and muscle of each group rats

下降,且伴随骨钙素合成增加,表明骨质疏松症与糖尿病具有潜在的病理生理学关联机制,糖尿病治疗药物可能对骨质疏松症具有多效性干预作用^[17]。

最新研究发现,在生理状态下骨重建与糖代谢密切相关,胰岛素和骨钙素可相互促进分泌,并具有正相关性^[18-19],维持糖代谢及骨重建平衡。大样本临床研究也发现,骨质疏松患者常合并血糖水平

表 4 补肾通络方对骨质疏松大鼠脂肪组织和骨骼肌组织中 PGC-1 α 和 GLUT4 蛋白表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of Bushen Tongluo decoction on expression of PGC-1 α and GLUT4 protein in adipose tissue and skeletal muscle of rats($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脂肪组织		骨骼肌组织	
		PGC-1 α /GAPDH	GLUT4/GAPDH	PGC-1 α /GAPDH	GLUT4/GAPDH
假手术	-	0.305 ± 0.046	0.286 ± 0.066	0.471 ± 0.086	1.246 ± 0.110
模型	-	0.161 ± 0.019 ¹⁾	0.093 ± 0.008 ¹⁾	0.230 ± 0.014 ¹⁾	0.414 ± 0.056 ¹⁾
补肾方	5.4	0.277 ± 0.059 ²⁾	0.126 ± 0.017	0.257 ± 0.045	0.763 ± 0.038 ³⁾
通络方	0.9	0.233 ± 0.024 ²⁾	0.154 ± 0.014 ²⁾	0.332 ± 0.036 ²⁾	0.730 ± 0.074 ³⁾
补肾通络方	6.3	0.300 ± 0.025 ²⁾	0.152 ± 0.024 ²⁾	0.293 ± 0.025 ²⁾	0.956 ± 0.120 ³⁾

升高,严重者甚至发展为 2 型糖尿病^[17,19]。与前期临床研究结果一致,本实验发现,骨质疏松模型大鼠伴随骨量丢失而出现血糖升高,提示骨质疏松症与糖代谢紊乱密切相关。

GLUT4 表达减少是导致胰岛素抵抗的重要因素之一。脂肪和骨骼肌细胞 GLUT4 的数量和活性,决定了机体对葡萄糖的摄取和糖代谢水平。PGC-1 α 能够提高外周组织糖、脂氧化代谢水平,促进 GLUT4 表达,改善胰岛素抵抗^[20]。大鼠骨骼肌 PGC-1 α 过表达能够增加骨骼肌细胞 GLUT4 表达水平,逆转 2 型糖尿病或肥胖^[21]。本研究发现,骨质疏松模型大鼠血糖显著上升,而脂肪和骨骼肌中 GLUT4 及 PGC-1 α mRNA 水平显著降低,进一步通过蛋白检测发现,脂肪和骨骼肌 GLUT4,PGC-1 α 蛋白水平显著下降,提示绝经后骨质疏松症伴有或导致全身性的糖代谢紊乱,而血糖水平升高只是临床表征之一。

中医学认为,肾主骨,肾虚是绝经后骨质疏松症发生的始动病机^[22-24]。补肾通络方是基于“肾虚络阻”病机治疗绝经后骨质疏松症的临床验方,确切疗效已被证实^[10]。本研究发现,通过补肾中药、通络中药、补肾通络方的干预后,骨密度显著增加,血糖明显下降,脂肪和骨骼肌 GLUT4,PGC-1 α mRNA 及蛋白水平显著提高。这些结果证实该方能够有效干预绝经后骨质疏松症伴有或导致的全身性糖代谢紊乱,其作用机制可能与增加骨骼肌脂肪细胞 PGC-1 α 和 GLUT4 表达有关,且 PGC-1 α 的上调可能是介导补肾通络方提高 GLUT4 表达和增加胰岛素敏感性的重要机制之一。

综上所述,本研究进一步明确了绝经后骨质疏松症出现全身性糖代谢紊乱的病理改变,并初步阐明了补肾通络方通过上调 PGC-1 α 水平、促进 GLUT4 表达和有效控制血糖水平的作用机制,为绝

经后骨质疏松症的疾病关联研究提供新的思路,并为运用补肾通络治法及相关方药的临床应用提供实验依据。然而,本研究对骨重建和糖代谢的交互作用机制研究还缺乏系统深入的探讨,有待今后不断完善。

[参考文献]

[1] Thayer S W, Stolshek B S, Gomez Rey G, et al. Impact of osteoporosis on high-cost chronic diseases [J]. Value Health, 2014, 17(1): 43-50.

[2] Odabaşı E, Ozata M, Turan M, et al. Plasma leptin concentrations in postmenopausal women with osteoporosis [J]. Endocrinol, 2000, 142(2): 170-173.

[3] Leto D, Saltiel A R. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4 [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(6): 383-396.

[4] NI L H, TANG R N, LV L L, et al. A rat model of SHPT with bone abnormalities in CKD induced by adenine and a high phosphorus diet [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(3): 654-659.

[5] Saengsirisuwan V, Pongseeda S, Prasannarong M, et al. Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement [J]. Metabolism, 2009, 58(1): 38-47.

[6] Prasannarong M, Vichaiwong K, Saengsirisuwan V. Calorie restriction prevents the development of insulin resistance and impaired insulin signaling in skeletal muscle of ovariectomized rats [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1822(6): 1051-1061.

[7] 闵文,黄桂成,华永庆,等. 补肾通络方对去卵巢骨质疏松模型大鼠骨组织 RANKL/OPG 基因表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 258-261.

[8] 杨帆,袁芳,侯秀娟,等. 不同浓度补肾通络方对膝关节炎大鼠 OPG/RANKL 系统 mRNA 的影响 [J]. 中医药信息, 2018, 35(3): 25-29.

[9] DUAN P, TU P, SI L, et al. Gene polymorphisms in

- the RANKL/RANK/OPG pathway are associated with type 2 diabetes mellitus in Southern Han Chinese women [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2016, 20(6): 285-290.
- [10] 闵文,黄桂成,马勇,等. 补肾通络对原发性骨质疏松症中医证候影响的临床研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2010, 26(5): 344-346.
- [11] 闵文,黄桂成,华永庆,等. 补肾通络方治疗去势大鼠骨质疏松的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(17): 189-192.
- [12] 林爱琴,邢华燕. 2型糖尿病与骨质疏松的关系研究[J]. *中国综合临床*, 2005, 21(3): 231-232.
- [13] 刘慧琳. 胰岛素抵抗与绝经后骨质疏松症的关系初探[D]. 成都: 四川大学, 2005.
- [14] 林曦阳,袁雪,刘俊田,等. 性别,年龄,空腹血糖对血清碱性磷酸酶升高体检人群发生骨质疏松的影响[J]. *山东医药*, 2017, 57(30): 50-52.
- [15] 苗波,王建波,朱杨,等. 丹参对糖尿病大鼠牙槽骨代谢及骨量变化影响的实验研究[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(11): 1659-1662.
- [16] Dirckx N, Tower R J, Mercken E M, et al. Vhl deletion in osteoblasts boosts cellular glycolysis and improves global glucose metabolism[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 1087-1105.
- [17] LU N, SUN H, YU J J, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide has anabolic bone effects in ovariectomized rats without diabetes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132744.
- [18] Idelevich A, Sato K, Nagano K, et al. Neuronal hypothalamic regulation of body metabolism and bone density is galanin-dependent[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(6): 2626-2641.
- [19] 刘冬梅,刘建民. 骨钙素对糖代谢的调控作用[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2015, 8(2): 97-102.
- [20] Ohlsson C. Bone metabolism in 2012: Novel osteoporosis targets [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(2): 72-74.
- [21] Boström P, Wu J, Jedrychowski M P, et al. A PGC-1 α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis[J]. *Nature*, 2012, 481(4): 463-468.
- [22] 许惠娟,李生强,陈娟,等. 绝经后骨质疏松症不同年龄段中医证型分布特点[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(12): 157-161.
- [23] 杜旭召,邓素玲,杨豪. 补肾活血通络汤治疗糖皮质激素致骨质疏松症临床观察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(4): 193-197.
- [24] 赖满香,林基伟,廖利平,等. 基于中医传承辅助系统的治疗原发性骨质疏松症方剂组方规律分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(9): 202-207.

[责任编辑 周冰冰]