

补肾健脾方对尾部悬吊大鼠骨髓间充质干细胞成脂分化的影响

张林¹, 王俊岩¹, 陈文娜¹, 贾连群¹, 李环宇¹, 曹灵修¹, 熊仁青^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847; 2. 解放军202医院, 沈阳 110812)

[摘要] **目的:**观察补肾健脾方对尾部悬吊大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)成脂分化能力的影响。**方法:**大鼠随机分为正常组、悬吊组、补肾健脾方高、中、低剂量组共5组。除正常组外,其余各组大鼠头低位-30度尾部悬吊连续21 d模拟失重,后3组大鼠从实验第1天开始分别按剂量11.4,5.7,2.8 g·kg⁻¹·d⁻¹给予补肾健脾方^{ig} 21 d,其余各组大鼠^{ig}等容积的生理盐水。全骨髓贴壁法体外分离培养大鼠骨髓间充质干细胞,并进行成脂分化诱导,油红O染色法检测脂滴形成情况,Real Time PCR法和Western bolt法分别检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) mRNA和蛋白表达,在成脂诱导分化的第7,14,21天分别检测细胞内甘油三酯(TG)含量。**结果:**较正常组,悬吊组大鼠BMSCs经成脂诱导后7,14,21 d TG含量均明显升高($P < 0.01$),成脂诱导21 d成脂能力,PPAR γ mRNA和蛋白表达明显增强($P < 0.01$);较悬吊组,补肾健脾高、中、低剂量组大鼠BMSCs经成脂诱导7,14,21 d后TG含量降低($P < 0.01, P < 0.05$),经成脂诱导21 d后成脂能力均明显减弱($P < 0.01$),PPAR γ mRNA和蛋白表达减少($P < 0.01, P < 0.05$);较补肾健脾中剂量组,补肾健脾高剂量组大鼠BMSCs经成脂诱导14,21 d后TG含量降低($P < 0.05$),经成脂诱导21 d后补肾健脾高剂量组成脂能力均减弱($P < 0.05$),PPAR γ mRNA和蛋白表达均减少($P < 0.05, P < 0.01$),补肾健脾低剂量组PPAR γ 蛋白表达增多($P < 0.05$)。**结论:**补肾健脾方具有抑制尾部悬吊大鼠骨髓间充质干细胞成脂分化的作用,以补肾健脾方高剂量作用为优,其机制可能与下调PPAR γ 表达有关。

[关键词] 补肾健脾方; 尾部悬吊; 模拟失重; 骨髓间充质干细胞; 成脂分化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0098-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110098

Effects of Bushen Jianpi Decoction on Adipogenic Differentiation of Bone Mesenchymal Stem Cells in Tail Suspension Model Rats ZHANG Lin¹, WANG Jun-yan¹, CHEN Wen-na¹, JIA Lian-qun¹, LI Huan-yu¹, CAO Ling-xiu¹, XIONG Ren-qing^{2*} (1. Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2. People's Liberation Army No. 202 Hospital, Shenyang 110812, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the action of Bushen Jianpi decoction (BSJP) on the adipogenic differentiation potential of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) in tail suspension model rats. **Method:** Rats were assigned to five groups randomly: control (C), tail suspended (S), high dose of BSJP (H), middle dose of BSJP (M) and low dose of BSJP (L) groups. Rats in S, H, M and L groups were suspended by head down tilt -30° for 21 days to simulate weightlessness. Rats of H, M and L groups were orally administrated with BSJP and other groups with equivalent saline from the first day. BMSCs were isolated and cultured by adherence method, and the third generation cells were induced by adipogenic differentiation solution. The lipid droplet formation was detected by oil red O staining and the expression of peroxisome proliferators-activated receptor γ (PPAR γ) was analyzed by Real time PCR and Western blot. The content of triglycerides (TG) in cells was examined on day 7, 14, 21 of adipogenic differentiation. **Result:** Compared with the C group, the content of TG was increased significantly on day 7, 14, 21 of adipogenic differentiation, the adipogenic differentiation potential and the mRNA and protein expression of PPAR γ were also increased on day 21 of adipogenic differentiation in S group. Compared

[收稿日期] 20140930(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81001493);教育部博士点新教师基金项目(20102133120001);辽宁省高等学校杰出青年学者成长计划(LJQ2014103)

[通讯作者] *熊仁青, 硕士, 副主任医师, 从事方剂效用机制与配伍规律研究, Tel:024-31207085, E-mail: zhanglin770622@126.com

with the S group, the content of TG was declined on day 7, 14, 21 of adipogenic differentiation in BSJP H, M and L dose groups, the adipogenic differentiation potential and the mRNA and protein expression of PPAR γ were also decreased on day 21 of adipogenic differentiation in the three groups. Compared with the M group, the content of TG on day 14, 21 of adipogenic differentiation were reduced in H group, the adipogenic differentiation potential and the expression of PPAR γ were decreased in H group. **Conclusion:** The BSJP can inhibit the adipogenic differentiation of BMSCs by down-regulating the expression of PPAR γ and the inhibition effect of high dose in the BSJP is best.

[**Key words**] Bushen Jianpi decoction; tail suspended; simulated weightlessness; bone mesenchymal stem cells; adipogenic differentiation

在航天飞行中,有许多环境因素和飞行因素诸如噪音、宇宙辐射、超重、失重等,对航天员的生理功能会造成较大的影响,其中由失重引发的骨丢失是一种废用性骨质疏松症,在航天飞行中产生,而返回地面后其恢复速度缓慢,对航天员生活和健康带来一定的危害。因此对失重性骨丢失的防治是航天医学亟待解决的问题之一^[1]。近年发现,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)成脂分化增强是骨质疏松发生的主要原因之一,而且过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ)与成脂分化密切相关^[2]。本课题组前期研究发现^[3],补肾健脾方对大鼠尾部悬吊模拟失重导致的骨丢失具有防护作用,该作用与改善钙磷代谢有关。本次研究基于模拟失重后骨丢失与 BMSCs 成脂分化潜能改变相关的特点,考察该方对相关指标的影响,探讨该方防治失重性骨丢失的作用机制。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,SPF 级,体重(180 \pm 10)g,北京维通利华实验动物中心提供,合格证号 SCXK(京)2006-0009。

1.2 药物与试剂 补肾健脾方由生晒参、生黄芪、鹿茸、淫羊藿等组成,全部药材购自北京同仁堂辽宁有限责任公司,经辽宁中医药大学中药教研室李杨副教授鉴定符合 2010 年版《中国药典》。方中鹿茸打碎,过 100 目筛兑入药液,方中其余药物均采用常规水煎煮法提取,将所得全部药液混合,补肾健脾方高、中、低剂量的药液分别浓缩成(原药材量)2,1,0.5 g \cdot mL⁻¹备用。

DMEM 培养基和胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 1181947,96118006-2),0.25% 胰蛋白酶(美国 Hyclone 公司,批号 SH30042.01),油红 O 染液,3-异丁基-1-甲基黄嘌呤,地塞米松,吡哆美辛,胰岛素(美国 Sigma 公司,批号 O0625,15879, D4902, I7378,

18400),甘油三酯(TG)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20131208),反转录试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix(美国 ABI 公司,批号 N8080234,4368577),引物由北京华大基因公司设计,PPAR γ 抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号 sc-7273)。

1.3 仪器 Midi40 型 CO₂ 培养箱(美国,Thermo 公司),DMi1 型倒置荧光显微镜(德国,Leica 公司),Chemi Imager 5500 型凝胶电泳成像分析系统(美国,Alphainnotech 公司),UV-2450 型紫外分光光度计(日本,岛津公司)。

2 方法

2.1 动物分组与处理 大鼠随机分为 5 组:正常组、悬吊组、补肾健脾高、中、低剂量组,每组 10 只。依据人和动物间体表面积折算的等效剂量比值表计算大鼠给药剂量,补肾健脾高、中、低剂量组大鼠分别按 11.4,5.7,2.8 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ ig 给予补肾健脾方。其余 2 组大鼠 ig 等容积的生理盐水。除正常组外,其余各组大鼠采用头低位-30°尾部悬吊法模拟失重^[4],每天悬吊 24 h,共悬吊 21 d。实验第 22 天,各组大鼠于 ig 2 h 后无菌条件下取双侧股骨和胫骨。

2.2 大鼠 BMSCs 的分离与培养 按照文献[5]并进行改进,采取全骨髓贴壁法分离培养大鼠 BMSCs。无菌条件下剪去股骨和胫骨骨髓端,用 DMEM 液反复冲洗骨髓腔,收集冲洗液,离心,弃上清。用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液吹打重悬细胞,计数后以 1 \times 10⁹/mL 密度接种于培养瓶,标记为 P0 代,置于 37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养箱内培养。48 h 后进行全量换液,以后每 3 d 换液 1 次,当细胞长到 80% 融合时,经 0.25% 胰酶消化传代(按 1:2 进行传代),传至 P3 代备用,实验细胞分为正常组、悬吊组、补肾健脾高、中、低剂量组。

2.3 BMSCs 成脂分化诱导条件 按文献[6]制备经典骨髓间充质干细胞成脂分化诱导液,含有

0.5 mmol·L⁻¹ 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤, 1 μmol·L⁻¹ 地塞米松, 50 μmol·L⁻¹ 吡啶美辛, 10 mg·L⁻¹ 胰岛素, 体积分数为 10% 胎牛血清, 无菌条件下用 DMEM 定容至 100 mL, 充分混匀, 4 °C 保存。

2.4 指标测定

2.4.1 检测 TG 取培养 P3 代细胞接种于 6 孔板, 每组细胞设 6 个复孔, 首先使细胞生长周期相对同步化, 然后各组均加入成脂分化诱导液, 连续培养 21 d。分别于培养的第 7, 14, 21 天, 收集各组细胞, 采用反复冻融法裂解细胞, 离心取上清液, 按试剂盒说明书操作, 在上清液中加入试剂 I 和试剂 II 混匀, 37 °C 水浴 10 min, 用分光光度计在波长 510 nm 处比色, 记录吸光度 A。

2.4.2 检测脂滴形成情况 取培养 P3 代细胞接种于 12 孔板, 每组细胞设 6 个复孔, 细胞培养诱导方法同 2.4.1, 于细胞培养第 22 天各组细胞以 10% 甲醛固定, 每孔加入 5 g·L⁻¹ 油红 O 溶液以去离子水按 3:2 稀释的染液染色 60 min, 显微镜观察并拍照。吸去染液, PBS 洗 2 遍, 加入 1 mL 异丙醇, 分光光度计在波长 490 nm 处比色, 记录 A。

2.4.3 检测 PPAR γ mRNA 表达 取接种于培养瓶的 P3 代细胞, 细胞培养诱导方法同 2.4.1, 于细胞培养第 22 天收集各组细胞, 采用 Trizol 法提取总 RNA。PCR 引物上游 5'-TTGATTTCTCCAGCA TTTC-3', 下游 5'-TGATCGCACTTTGGTATT-3', 扩增长度 117 bp。取 1 μg 总 RNA 逆转录合成 cDNA。取 1 μg cDNA 产物, 加入荧光混合物和引物。反应程序 95 °C 保持 3 min, 94 °C 保持 15 s, 60 °C 保持 60 s, 40 次循环。以 β -actin 作为内参, 用 2^{- $\Delta\Delta Ct$} 分析

mRNA 相对表达水平。

2.4.4 检测 PPAR γ 蛋白表达 取接种于培养瓶的 P3 代实验细胞, 细胞培养和诱导同 2.4.1。于细胞诱导第 22 天收集各组细胞, 用含有蛋白酶抑制剂的裂解液 (20 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 150 mmol·L⁻¹ NaCl, 2 mmol·L⁻¹ EDTA, 1% TritonX-100) 对细胞进行裂解破碎, 15 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 上清为总蛋白提取液, 用考马斯亮蓝蛋白分析试剂盒对蛋白样品进行定量, 取 20 μg 蛋白上样到 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (100 V, 1.5 h), 再以湿转法将蛋白印迹至硝酸纤维素膜上, 以 PPAR γ 和 β -actin 抗体 4 °C 孵育过夜, 加入 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h, ECL 化学发光显影, 凝胶电泳成像分析系统进行分析, 以 β -actin 作为内参。蛋白的表达水平以蛋白的灰度值/ β -actin 灰度值表示。

2.5 统计学处理 所得数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 13.0 软件处理, 单因素方差分析后, 行多组间比较, 采用 SNK-q 检验。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后不同时间点 TG 含量的变化 结果见表 1。与悬吊组比较, 补肾健脾高、中、低剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后 14, 21 d TG 含量均降低 (P < 0.01, P < 0.05); 与补肾健脾低剂量组比较, 补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后 7, 14, 21 d TG 含量降低 (P < 0.01, P < 0.05); 与补肾健脾中剂量组比较, 补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后 14, 21 d TG 含量降低 (P < 0.05)。

表 1 补肾健脾方对 BMSCs 经成脂诱导后不同时间点 TG 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of Bushen Jianpi decoction on contents of TG in BMSCs induced into adipose cell at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

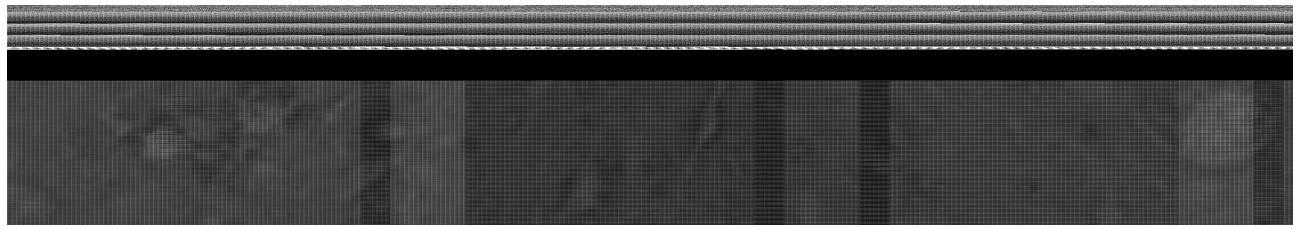
| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TG/A | | |
|-------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | | 7 d | 14 d | 21 d |
| 正常 | - | 0.100 ± 0.010 ²⁾ | 0.252 ± 0.015 ²⁾ | 0.365 ± 0.020 ²⁾ |
| 悬吊 | - | 0.132 ± 0.013 | 0.320 ± 0.015 | 0.451 ± 0.016 |
| 补肾健脾方 | 2.8 | 0.125 ± 0.014 | 0.301 ± 0.013 ¹⁾ | 0.428 ± 0.021 ¹⁾ |
| | 5.7 | 0.120 ± 0.012 | 0.300 ± 0.018 ¹⁾ | 0.417 ± 0.015 ²⁾ |
| | 11.4 | 0.111 ± 0.010 ^{2,3)} | 0.281 ± 0.016 ^{2,3,5)} | 0.389 ± 0.017 ^{2,4,5)} |

注: 与悬吊组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 与补肾健脾方 2.8 g·kg⁻¹ 组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01; 与补肾健脾 5.7 g·kg⁻¹ 组比较⁵⁾ P < 0.05, ⁶⁾ P < 0.01 (表 2 同)。

3.2 各组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后油红 O 染色情况 结果见图 1 和表 2。与悬吊组比较, 补肾健脾高、中、低剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d 后成

脂能力均明显减弱 (P < 0.01); 与补肾健脾低剂量组比较, 补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d 后成脂能力明显减弱 (P < 0.01); 与补肾健脾

中剂量组比较,补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d 后成脂能力减弱 ($P < 0.05$)。



A. 正常组; B. 悬吊组; C. 补肾健脾方 11.4 g·kg⁻¹ 组; D. 补肾健脾方 5.7 g·kg⁻¹ 组; E. 补肾健脾方 2.8 g·kg⁻¹ 组 (图 2 同)

图 1 补肾健脾方对 BMSCs 经成脂诱导后油红 O 染色的影响 (×200)

Fig. 1 Effects of Bushen Jianpi decoction on BMSCs induced into adipocyte by oil red O staining (×200)

3.3 各组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后 PPAR γ mRNA 表达情况 与悬吊组比较,补肾健脾低、中、高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d PPAR γ mRNA 表达明显减少 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与补肾健脾低、中剂量组比较,补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d PPAR γ mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 2。

3.4 各组大鼠 BMSCs 经成脂诱导后 PPAR γ 蛋白

表达情况 与悬吊组比较,补肾健脾低、中、高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d PPAR γ 蛋白表达明显减少 ($P < 0.05, P < 0.01$), 与补肾健脾低剂量组比较,补肾健脾中、高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d PPAR γ 蛋白表达减少 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与补肾健脾中剂量组比较,补肾健脾高剂量组大鼠 BMSCs 经成脂诱导 21 d PPAR γ 蛋白表达明显减少 ($P < 0.01$)。见表 2, 图 2。

表 2 补肾健脾方对 BMSCs 经成脂诱导后油红 O 染色和 PPAR γ 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of Bushen Jianpi decoction on BMSCs induced into adipocyte by oil red O staining and expression of PPAR γ ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 油红 O 染色/A | PPAR γ mRNA/2 ^{-$\Delta\Delta C_t$} | PPAR γ 蛋白/ β -actin/% |
|-------|-----------------------|---------------------------------|--|------------------------------------|
| 正常 | - | 0.633 ± 0.046 ²⁾ | 1.004 ± 0.109 ²⁾ | 49.3 ± 2.1 ²⁾ |
| 悬吊 | - | 0.908 ± 0.044 | 1.375 ± 0.113 | 86.0 ± 1.8 |
| 补肾健脾方 | 2.8 | 0.826 ± 0.033 ²⁾ | 1.249 ± 0.106 ¹⁾ | 81.0 ± 2.8 ^{1,5)} |
| | 5.7 | 0.789 ± 0.027 ²⁾ | 1.186 ± 0.076 ²⁾ | 76.0 ± 2.7 ^{2,3)} |
| | 11.4 | 0.742 ± 0.039 ^{2,4,5)} | 1.057 ± 0.096 ^{2,4,5)} | 62.7 ± 1.9 ^{2,4,6)} |

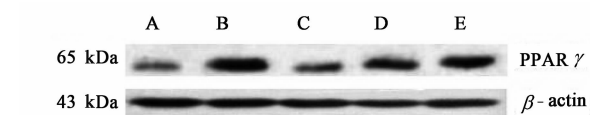


图 2 补肾健脾方对 BMSCs 经成脂诱导后 PPAR γ 蛋白表达的影响
Fig. 2 Effects of Bushen Jianpi decoction on protein expression of BMSCs induced into adipocyte

4 讨论

BMSCs 是一类具有多向分化潜能的干细胞,骨髓是其来源,当被诱导分化之后,会形成如成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、神经细胞等多种细胞。其中来源于骨髓的成骨细胞和脂肪细胞,在一定条件下可以相互转化,有研究发现,在微重力条件下, BMSCs 增殖及成骨分化受到抑制,并且向脂肪细胞分化增加^[7],而且 PPAR γ 信号通路激活导致 BMSCs 成脂分化活跃,是模拟微重力条件下 BMSCs 成骨细

胞分化受抑制的主要机制之一^[8]。本次实验发现,大鼠经尾部悬吊 21 d,取 BMSCs 体外分离培养成脂诱导分化后,油红 O 染色显示其脂滴形成情况较正常大鼠显著增强,提示模拟失重条件下 BMSCs 成脂分化潜能增强,与以往的研究结果一致^[9]。同时通过对 BNSCs 成脂诱导分化后 PPAR γ mRNA 和蛋白表达的分析,也可看出模拟失重 21 d PPAR γ 表达显著增强,从而促进了 BMSCs 的成脂分化,推测出失重性骨丢失的发生与 BMSCs 成脂分化增强有关。

依据中医理论对失重性骨丢失的病因病机分析可知^[10],本病起于土虚不能制水,进而肾水泛滥,最后出现肾气虚,形成脾肾俱虚,肾不能主骨,脾不能主四肢,从而骨枯髓减、肉痿肢弱。同时现代中医学对骨质疏松症的病机认识,也认为与脾肾俱虚有关^[11]。因此本课题组选用补肾健脾方药,探讨该方的防治失重性骨丢失机制。本研究发现,补肾健脾

高、中、低剂量对模拟失重 21 d 后 BMSCs 成脂分化脂滴形成均有抑制作用,对细胞内 TG 含量的作用,是随着成脂诱导分化的时间延长而逐渐发挥抑制作用的,其中补肾健脾高剂量的作用尤为显著。PPAR γ 是核受体家族中的一个非常重要的成员,在调节糖代谢和脂类平衡方面具有重要的功能。在脂肪分化过程中,PPAR γ 是主要的调控因子^[12],对 BMSCs 分化方向起关键性调控作用。补肾健脾方高、中、低剂量均能下调模拟失重 BMSCs 成脂诱导分化后 PPAR γ 基因和蛋白的表达,推测可能是该方抑制 BMSCs 成脂分化的机制之一。

[参考文献]

[1] Rai B, Kaur J, Catalina M. Bone mineral density, bone mineral content, gingival crevicular fluid (matrix metalloproteinases, cathepsin K, osteocalcin), and salivary and serum osteocalcin levels in human mandible and alveolar bone under conditions of simulated microgravity[J]. J Oral Sci, 2010, 52(3):385-390.

[2] Pino A M, Rosen C J, Rodriguez J P. In osteoporosis, differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) improves bone marrow adipogenesis [J]. Biol Res, 2012, 45(3):279-287.

[3] 张林,范颖,陈文娜,等. 补肾、健脾和补肾健脾方对尾部悬吊大鼠钙、磷代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(12):193-196.

[4] Morey-Holton E R, Globus R K. Hindlimb unloading

rodent model: technical aspects [J]. J Appl Physiol, 2002, 92(4):1367-1377.

[5] Karaoz E, Aksoy A, Ayhan S, et al. Characterization of mesenchymal stem cells from rat bone marrow: ultrastructural properties, differentiation potential and immunophenotypic markers [J]. Histochem Cell Biol, 2009, 132 (5):533-546.

[6] Foudah D, Redaelli S, Donzelli E, et al. Monitoring the genomic stability of *in vitro* cultured rat bone-marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Chromosome Res, 2009, 17(8):1025-1039.

[7] Zayzafoon M, Gathings W E, McDonald J M. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis [J]. Endocrinology, 2004, 145(5):2421-2432.

[8] 黄懿文,杨锐,陈思,等. PPAR γ 通路对模拟微重力条件下大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的影响[J]. J South Med Univ,2013,33(4):573-577.

[9] Wang N, Wang H, Chen J, et al. The simulated microgravity enhances multipotential differentiation capacity of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Cytotechnology, 2014, 66(1):119-131.

[10] 周鹏,胡素敏,高学敏,等. 失重骨质丢失的中医病理探讨[J]. 中华中医药学刊,2008,26(5):967-969.

[11] 郭杨,马勇. 中医药治疗骨质疏松症的常用处方分析 [J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):188-191.

[12] Tang Q Q, Lane M D. Adipogenesis: from stem cell to adipocyte [J]. Annu Rev Biochem,2012,81:715-736.

[责任编辑 聂淑琴]