

淫羊藿-女贞子抗维甲酸致大鼠骨质疏松症的作用机制探讨

李梅¹, 康学², 年宏蕾², 史浩田², 王秀娟^{2*}, 刘仁慧^{2*}

(1. 山东省莱阳卫生学校, 山东 莱阳 265200; 2. 首都医科大学 中医药学院, 北京 100069)

[摘要] 目的:研究淫羊藿女贞子水煎剂及其有效成分提取物防治维甲酸(RA)致大鼠骨质疏松症(OP)的作用机制。方法:SPF级雄性Wistar大鼠36只,随机分为6组,即正常组、模型组、淫羊藿-女贞子水煎剂组、淫羊藿-女贞子提取物低、中、高剂量组,RA(70 mg·kg⁻¹)*ig*造模,造模的同时给药,给药组分别给予淫羊藿-女贞子水煎剂(9.5 g·kg⁻¹)及药对有效成分提取物低、中、高3个剂量(50,100,200 mg·kg⁻¹)*ig*治疗2周,免疫组化法检测骨组织中凋亡相关因子B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2),p53的蛋白表达;实时RT-qPCR法检测骨组织中转化生长因子-β₁(TGF-β₁),果蝇MAD类似基因2(Smad2),Smad3,Smad7 mRNA的表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠骨组织Bcl-2蛋白表达明显降低,而p53蛋白表达显著升高,骨组织TGF-β₁及Smad2,Smad3 mRNA相对表达量均明显下降,Smad7 mRNA相对表达量明显升高,均具有统计学差异($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,各给药组可不同程度上调Bcl-2以及TGF-β₁,Smad2,Smad3的表达水平,下调p53,Smad7的表达水平,均具有明显统计学差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:淫羊藿-女贞子抗OP的作用机制可能与其维持凋亡与抗凋亡间的平衡,抑制骨组织细胞凋亡以及调控TGF-β/Smads通路信号转导有关。

[关键词] 淫羊藿-女贞子; 维甲酸; 骨质疏松症

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0081-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120081

Experimental Study of Compatibility of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus on Retinoic Acid-induced Osteoporosis in Rats

LI Mei¹, KANG Xue², NIAN Hong-lei², SHI Hao-tian², WANG Xiu-juan^{2*}, LIU Ren-hui^{2*}
(1. Laiyang Health School, Laiyang 265200, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of the compatibility of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus decoction and their extract on retinoic acid-induced osteoporosis in rats. **Method:** Thirty-six male Wistar rats were randomly divided into 6 groups: the normal group, the model group, the combination of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus group (9.5 g·kg⁻¹), and three extract combination groups (Extract-L 50 mg·kg⁻¹, Extract-M 100 mg·kg⁻¹, and Extract-H 200 mg·kg⁻¹) of 10 rats each. The osteoporosis model was induced in rats by intragastric administration of retinoic acid. The protein expressions of apoptosis factor B-cell lymphoma/Leukemia-2 (Bcl-2) and p53 of bone tissue were detected by immunohistochemical methods. The mRNA expressions of transforming growth factor beta-1 (TGF-β₁), Smad2, Smad3 and Smad7 of bone tissue were detected by using real-time RT-PCR. **Result:** Compared with the normal group, the protein expression of Bcl-2 decreased significantly, p53 protein increased significantly, mRNA expressions of TGF-β₁, Smad2, Smad3 decreased significantly, and Smad7 increased significantly in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the expression levels of Bcl-2, TGF-β₁, Smad2 and Smad3 increased, the expression levels of p53 and Smad7 decreased in all treatment groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The mechanism of the compatibility decoction and their extracts against osteoporosis is related to maintaining the balance between

[收稿日期] 20141105(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373814);国家中医药管理局“十二五”中医药教育教学改革研究课题(ZJYJY12011);北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201310025012);北京中医药薪火传承“3+3”工程二室一站建设项目(2012-SZ-C-42)

[第一作者] 李梅,副教授,从事职业教育与药学技术工作, Tel:15949877678, E-mail:meili641203@sina.com

[通讯作者] *刘仁慧,博士,副教授,从事中药及复方的药效及作用机制研究, Tel:010-83911630, E-mail:liurenhui995@163.com;

*王秀娟,教授,从事中药及复方的研究, Tel:010-83911624, E-mail:wj0517@sina.com

apoptosis and anti-apoptotic, inhibiting of apoptosis of bone tissue, regulating and controlling the TGF- β /Smads signal transduction pathways.

[Key words] Epimedii Folium/Ligustri Lucidi Fructus; retinoic acid; osteoporosis

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是以骨量减少和骨组织纤维结构退化,继而引起骨骼脆性和骨折危险性增加为特征的系统性骨骼疾病,目前已跃居为世界常见发病率的第 7 位,其严重性已受到严密关注^[1]。基于中医肾藏精主骨生髓的认识,肾精亏虚是 OP 的病机关键,从肾论治是中医治疗本病的基本原则。国家级名老中医李世增教授结合近 50 年的临床经验,在众多补肾药中精选淫羊藿、女贞子药对作为治疗 OP 的基本药物,课题组前期实验研究发现,淫羊藿女贞子对骨代谢生化指标和直观反映骨质疏松的药效学指标改善作用明显^[2-3],肯定其具有抗骨质疏松作用,但作用机制尚未明确。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 因子及介导其转录的果蝇 MAD 类似基因(Smads)家族调节因子在骨重建中发挥着重要的作用,该信号转导通路的异常可造成骨形成抑制,骨破坏加速,骨代谢紊乱的病理状态。由此,笔者从骨组织凋亡因子以及 TGF- β /Smads 通路为切入点来探讨淫羊藿-女贞子配伍抗大鼠 OP 模型的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠 36 只,体重(250 \pm 20) g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.2 药物及试剂 淫羊藿,购于北京同仁堂药店,批号 23820701,经北京中医药大学杨瑶教授鉴定为小檗科淫羊藿属植物朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* 的干燥叶;女贞子,购于北京同仁堂药店,批号 1205042,经北京中医药大学杨瑶教授鉴定为木樨科女贞属植物女贞(*Ligustrum lucidum*)的干燥成熟果实,均符合 2010 年版《中国药典》项下规定。淫羊藿提取物(有效成分总黄酮类,含总黄酮以淫羊藿苷计为 80%,提取率 2.5%);女贞子提取物(有效成分总环烯醚萜 + 总黄酮类,含量分别以齐墩果酸和芦丁计总含量 > 80%,提取率 5%),均由上海一林生物科技有限公司提供。维甲酸(北京贝丽莱斯生物化学有限公司,批号 120701),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司,批号 F20111021),一抗 Bcl-2(美国 Abcam 公司,批号 AB692),一抗 p53(美国 Abcam 公司,批号 AB26),EnVision 试剂(HRP/Rabbit,丹麦 Dako 公司,批号

GK500705),Trizol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司,批号 36005),反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司,批号 AK2201),荧光定量 PCR 试剂盒及 Sybr green 染料(日本 TaKaRa 公司,批号 AK3201),引物由上海英俊生物技术有限公司合成。

1.3 仪器 7500 fast 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),YXQ. SGH. 280 型高压蒸气消毒器(上海医用核子仪器厂),JB50-D 型匀浆器(上海标本模型厂),Centrifuge 5417R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司),IMS 型细胞图像分析系统及医学图像分析软件(上海申腾信息技术有限公司)。

2 方法

2.1 中药提取物制备 淫羊藿提取物:淫羊藿药材切碎,用 90% 乙醇提取 3 次,合并提取液,回收至无醇沉,用石油醚萃取 3 次(除去叶绿素),弃去石油醚部分,水部分上 D-101 大孔树脂,水洗到无色后,用 90% 乙醇洗脱,所得蒸干,即为淫羊藿总黄酮提取物。含总黄酮以淫羊藿苷计为 80%,主要包括淫羊藿苷、淫羊藿次苷 I、淫羊藿次苷 II、宝藿苷、朝藿定 A, B, C 等。提取率为 2.5%。女贞子提取物:女贞子粉粹,75% 乙醇加热提取 3 次,合并提取液,回收到无醇,上 AB-8 大孔树脂,水洗(除糖),弃去水液,再用 75% 乙醇冲洗,所得蒸干即为女贞子提取物。有效成分为总环烯醚萜 + 总黄酮类,含量分别以齐墩果酸和芦丁计总含量 > 80%,主要包括特女贞苷,女贞苷,橄榄苦苷,木樨榄苷二甲酯,女贞酸,新女贞苷,女贞果苷 A, B, C, D, 芹菜素-7-O-葡萄糖苷等。提取率为 5%。

2.2 分组、造模及给药 36 只大鼠按随机数字表法分为 6 组,即正常组、模型组、淫羊藿-女贞子水煎剂组(简称:水煎剂组),淫羊藿-女贞子提取物低、中、高剂量组,每组 6 只。自由饮水、摄食。除正常组外,其余各组大鼠用 0.5% CMC-Na 配成的维甲酸混悬液按 70 mg \cdot kg⁻¹ ig,正常组大鼠以 0.5% CMC-Na ig,连续造模 2 周。在造模的同时,水煎剂组以淫羊藿-女贞子(4:3)煎剂 9.5 g \cdot kg⁻¹ 体重 ig,每日 1 次;低、中、高剂量组分别给予淫羊藿-女贞子提取物(2:3,相当于生药比例 4:3 合用) 50, 100, 200 mg \cdot kg⁻¹ 体重 ig,每日 1 次。正常组、模型组,灌服与用药组等体积的生理盐水。

2.3 取材及检测 分离左侧股骨,以 10% 甲醛溶液固定,制石蜡切片,免疫组化法检测 Bcl-2, p53 的蛋白表达,石蜡切片常规脱水,PBS 洗 3 × 3 min;用 pH 6.0 的 0.01 mol·L⁻¹ CB 热诱导修复,室温自然冷却,PBS 洗 3 × 3 min;0.3% H₂O₂ 抑制内源性过氧化物酶 20 min,室温;PBS 洗 3 × 3 min;20% 正常羊血清室温孵育 30 min,不洗;滴加一抗,37 °C,孵育 2 h;PBS 洗 3 × 3 min;EnVision 试剂(HRP/R) 37 °C,30 min;PBS 洗 3 × 3 min;DAB 显色 8 ~ 12 min;苏木素衬染色,热水蓝化;吹干后,树脂封片。显微镜下可观察,Bcl-2, p53 蛋白阳性表达胞浆呈棕黄色,强阳性细胞胞浆呈棕褐色。随机选取 3 个高倍视野应用图像分析软件进行计数,读出每个视野的阳性细胞面积及积分吸光度 IA,取其平均值作为该样本的结果。

分离左侧胫骨, -80 °C 冰箱冻存,RT-qPCR 检测 TGF-β/Smads 通路信号转导因子 mRNA 的表达, Trizol 法抽取骨组织总 RNA,应用随机引物和 M-MLVRT 反转录酶在 37 °C 15 min,85 °C 5 min 进行逆转录反应。随后应用引物和 Taqman 探针进行 RT-qPCR 扩增,设立 β-actin 为内参照。RT-qPCR 反应引物及探针见表 1。取反转录产物 2 μL,加入到 20 μL 的 PCR 反应体系中,PCR 反应条件为 95 °C 1 min,然后进入 PCR 循环体系,该体系循环参数为 95 °C 30 s;60 °C 1 min;68 °C 1 min,40 个循环。60 °C 检测荧光信号。目的基因 AR 和 ER 的相对表达量均采用 ΔΔC_t 法加以分析,以正常作为对照样本。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

引物	引物序列(5'→3')	片段长度 /bp
TGF-β ₁	上游 TGAGTGGCTGTCTTTTGACC	146
	下游 TGGGACTGATCCCATTTGATT	
Smad2	上游 CGATGCTCAAGCATGTCCCTA	124
	下游 CGCTCTGGGTTTTGACTAGC	
Smad3	上游 TTTAGCATTCTGCCGCTTTT	130
	下游 TGCCCCAGTTTTACCAAGTC	
Smad7	上游 CCAACTGCAGACTGTCCAGA	107
	下游 CAGGCTCCAGAAGAAGTTGG	
β-actin	上游 AGCCATGTACGTAGCCATCC	115
	下游 ACCCTCATAGATGGGCACAG	

2.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差齐性检

验及单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠骨组织凋亡相关因子 Bcl-2, p53 蛋白表达的影响 免疫组化结果显示,视野背景呈蓝紫色,骨组织中 Bcl-2, p53 蛋白阳性表达均位于胞浆,染色呈棕黄色,阳性区域集中于骨髓基质中。正常组 Bcl-2 蛋白表达的细胞数量多,颜色深,呈强表达;而 p53 蛋白表达的阳性细胞数少,且颜色浅。模型组则 Bcl-2 表达细胞数明显较少,且着色较浅;而 p53 阳性细胞数明显增多,颜色加深。水煎剂组及提取物各剂量组 Bcl-2 阳性表达细胞数均不同程度增多,且着色均有所加深,而 p53 蛋白的阳性表达水平均不同程度下降。见图 1,2。定量分析结果显示,与正常组比较,模型组 Bcl-2 蛋白表达的 IA 均显著降低($P < 0.01$),而 p53 蛋白表达的阳性面积及 IA 显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组 Bcl-2 蛋白表达的 IA 显著升高($P < 0.01$),水煎剂组及提取物中、高剂量组 p53 蛋白表达 IA 明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

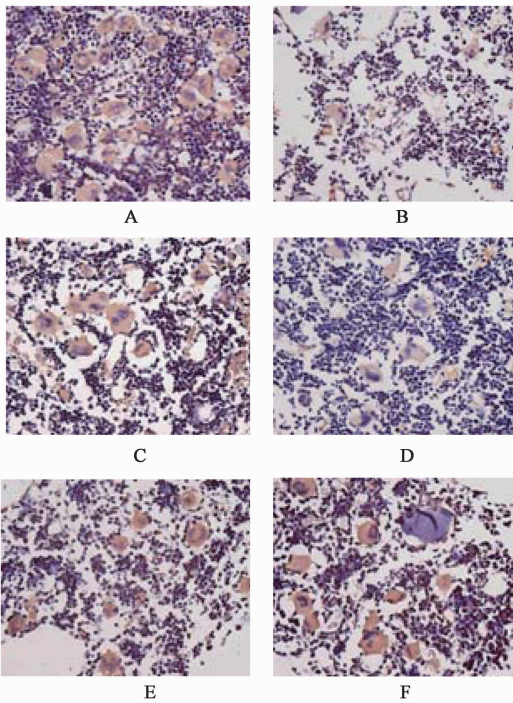
表 2 淫羊藿-女贞子提取物对 Bcl-2, p53 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of Epimedium Folium and Ligustrum Lucidi Fructus extracts on protein expressions of Bcl-2, p53 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Bcl-2		p53	
		IA		IA	
正常	-	1 430.17 ± 78.20		510.13 ± 68.21	
模型	-	655.86 ± 73.46 ¹⁾		750.53 ± 64.23 ¹⁾	
水煎剂	9.50	1 054.67 ± 81.89 ³⁾		642.02 ± 99.72 ²⁾	
提取物	0.05	862.36 ± 91.58 ^{3, 5, 7)}		755.70 ± 77.24 ^{4, 7)}	
	0.10	1 079.94 ± 85.46 ³⁾		650.98 ± 52.68 ²⁾	
	0.20	1 196.89 ± 41.59 ³⁾		569.36 ± 56.00 ³⁾	

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对大鼠骨组织 TGF-β₁ 及 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型对照组 TGF-β₁ 及 Smad2, Smad3 mRNA 相对表达量均显著下降($P < 0.05, P < 0.01$), Smad7 mRNA 相对表达量显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,各给药组 Smad2, Smad3 表达水平均显著升高($P < 0.05, P < 0.01$), Smad7 表达水平均显著下降($P < 0.05, P < 0.01$),仅高剂量组可显著上调 TGF-β₁ 表达($P < 0.05$)。见表 3。



A. 正常组; B. 模型组; C. 水煎剂 $9.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 提取物 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 提取物 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 提取物 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 淫羊藿-女贞子对骨组织 Bcl-2 蛋白表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 1 Effects of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus extracts on protein expressions of Bcl-2 (Immunohistochemistry, $\times 400$)

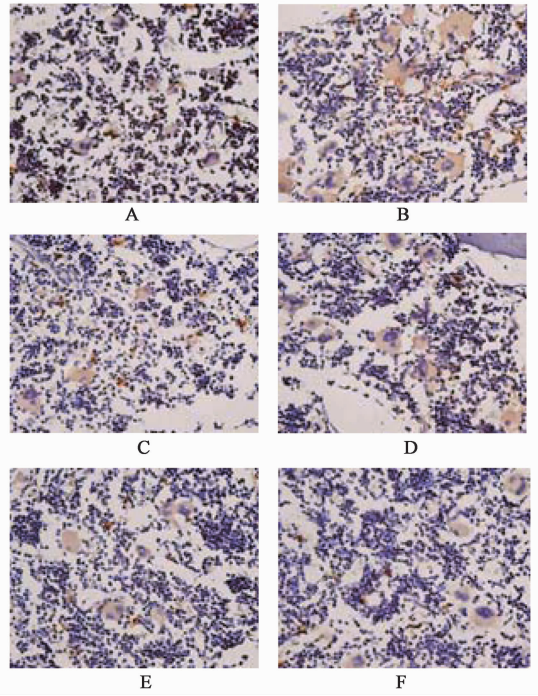


图 2 淫羊藿-女贞子对骨组织 p53 蛋白表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 2 Effects of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus extracts on protein expressions of p53 (Immunohistochemistry, $\times 400$)

表 3 淫羊藿-女贞子对 $\text{TGF-}\beta_1$, Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of Epimedii Folium and Ligustri Lucidi Fructus on mRNA expressions of $\text{TGF-}\beta_1$, Smad2, Smad3 and Smad7 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{TGF-}\beta_1/\beta\text{-actin}$	Smad2/ $\beta\text{-actin}$	Smad3/ $\beta\text{-actin}$	Smad7/ $\beta\text{-actin}$
正常	-	0.39 ± 0.25	6.43 ± 2.60	0.69 ± 0.23	0.15 ± 0.07
模型	-	$0.07 \pm 0.04^{2)}$	$3.63 \pm 1.87^{1)}$	$0.27 \pm 0.14^{2)}$	$0.32 \pm 0.24^{1)}$
水煎剂	9.50	0.27 ± 0.12	$7.96 \pm 2.42^{4)}$	$0.56 \pm 0.11^{4)}$	$0.09 \pm 0.05^{4)}$
提取物	0.05	0.14 ± 0.10	$6.30 \pm 1.01^{3,5)}$	$0.61 \pm 0.13^{4)}$	$0.11 \pm 0.10^{3)}$
	0.10	0.24 ± 0.14	$6.41 \pm 1.35^{3)}$	$0.57 \pm 0.17^{4)}$	$0.13 \pm 0.15^{3)}$
	0.20	$0.28 \pm 0.10^{3)}$	$8.81 \pm 2.56^{4)}$	$0.57 \pm 0.09^{4)}$	$0.07 \pm 0.08^{4)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

在调控细胞凋亡的相关蛋白中, Bcl-2 与 p53 是目前较为公认的细胞凋亡调控因子。p53 和 Bcl-2 在细胞凋亡过程中具有相互拮抗的作用, p53 可以直接作用于 Bcl-2 蛋白的调控区, 与 Bcl-2 基因上游区域的 TATAA box 结合蛋白相互作用, 导致 Bcl-2 基因表达抑制。Bcl-2 也可通过改变 p53 细胞周期调节蛋白从胞核到胞浆的转运, 延缓 p53 诱导细胞凋亡, 或封闭 p53 进入胞核, 阻断 p53 诱导细胞凋亡^[4-6]。本课题研究结果显示, 骨质疏松模型对照

组 Bcl-2 蛋白表达显著降低, 而 p53 蛋白表达明显升高, 提示维甲酸致 OP 的机制可能与其诱导骨组织细胞过度凋亡相关, 进而造成凋亡与抗凋亡间平衡的失调。各给药组能显著升高 Bcl-2 蛋白表达^{IA}, 水煎剂及提取物中、高剂量组可显著降低 p53 蛋白表达^{IA}, 提示淫羊藿-女贞子配伍可通过上调抗凋亡因子 Bcl-2 的表达, 下调促凋亡信号 p53 的表达, 从而抑制骨组织细胞的过度凋亡, 恢复和维护凋亡和抗凋亡间的平衡, 发挥对骨组织细胞功能及代谢活动的保护作用, 以延缓骨质疏松的进程。结合中

医理论,OP 的发生可能涉及抗凋亡的一方“消”,同时促凋亡的一方“长”,阴阳双方消长不平衡,造成骨组织新生的细胞无以补足凋亡的细胞,致使其过度凋亡,影响骨重建。淫羊藿-女贞子通过拮抗 p53 的促凋亡作用,增强 Bcl-2 的抗凋亡作用来逆转骨组织细胞的过度凋亡,使其恢复自稳状态。这是两药配伍通过阴阳双补之法从整体上调节机体达到阴阳平衡的体现。此外,肾主生长发育,淫羊藿-女贞子补肾填精壮骨,肾精充足则骨骼生长旺盛,强健有力,同时两药调控细胞凋亡,促使骨组织不断更新生长,即骨骼的生长、发育和衰老表现为骨组织细胞的分化、增殖与凋亡。这充分证实了中医所言“肾主生长发育”与现代医学理论“抑制凋亡,促进生长”相一致。

TGF- β /Smads 信号转导通路的调节因子在骨重建中发挥着重要的作用,该信号转导通路的异常是 OP 发病的重要机制之一^[7-8]。骨是 TGF- β 的最大组织来源,而储存在骨内 TGF- β_1 亚型的比例最高、活性最强。TGF- β_1 既能促进成骨细胞 (osteoblast, OB) 分化增殖,刺激骨形成和类骨质矿化,又对破骨细胞 (osteoclast, OC) 的骨吸收表现为抑制效应,诱导成熟的 OC 凋亡^[9]。Smads 家族是已知细胞质内唯一的 TGF- β 信号转导分子,Smad2, Smad3 是参与 TGF- β 或激活素信号转导的受体激活型 Smads 蛋白^[10], Smad2 蛋白表达水平的下调是原发性 OP 发生的重要机制之一, Smad3 缺失可导致 OB 凋亡,骨密度降低,骨质减少^[11]。Smad7 蛋白是 TGF- β_1 细胞内信号转导的负调控 Smads 蛋白,被看作是 TGF- β 家族的通用抑制剂^[12]。本课题研究结果显示,模型对照组大鼠骨组织 TGF- β_1 及 Smad2, Smad3 mRNA 相对表达量均显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Smad7 mRNA 相对表达量显著升高 ($P < 0.05$),提示维甲酸诱导 OP 发病的机制与 TGF- β /Smads 通路信号转导因子的异常表达有关。与模型对照组比较,各给药组均可显著升高 Smad2, Smad3 表达水平,下调 Smad7 表达水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),仅高剂量组能显著上调 TGF- β_1 表达 ($P < 0.05$),提示淫羊藿-女贞子配伍可通过上调 TGF- β_1 及 Smad2, Smad3 的表达水平,下调 Smad7 的表达水

平来促进骨形成,纠正 OP 大鼠的骨代谢失衡状态,其防治 OP 的作用机制可能与其调控 TGF- β /Smads 通路信号转导因子的表达有关。

[参考文献]

- [1] 朱夫璋. 健康体检人群骨质疏松症患病情况及影响因素分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 27(7): 790-791.
- [2] 康学, 李焜, 张伟华, 等. 淫羊藿女贞子配伍对维甲酸致大鼠骨质疏松模型的影响研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(23): 15-19.
- [3] 康学, 周琦, 李焜, 等. 淫羊藿-女贞子对 GIOP 大鼠骨密度和激素水平的相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 250-253.
- [4] Hossini A M, Eberle J. Apoptosis induction by Bcl-2 proteins independent of the BH3 domain[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(11): 1612-1619.
- [5] Ben-Izhak O, Laster Z, Akrish S, et al. The salivary tip of the p53 mutagenesis iceberg: novel insights[J]. Cancer Biomarkers, 2009, 5(1): 23-31.
- [6] 李靖, 王全平, 张颖, 等. Bcl-2 过表达对 TNF- α 诱导大鼠成骨细胞凋亡的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2003, 9(4): 295-298.
- [7] Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis: roles for IGF- I and TGF-beta [J]. Revuedu Rhumatisme, 1997, 64(1): 44-53.
- [8] 屠冠军, 吕永利. 转化生长因子 β_1 在去势大鼠骨质疏松发病中的作用[J]. 中国医科大学学报, 2001, 30(3): 187-189.
- [9] 尹君, 高传芳. 浅议 TGF- β 与原发性骨质疏松[J]. 中外医疗, 2011, 30(26): 87-88.
- [10] 任艳玲, 郑洪新, 杜松, 等. TGF- β_1 及其信号转导蛋白 Smad2/3 在去卵巢大鼠骨组织中的表达及意义[J]. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(3): 298-301.
- [11] Borton A J, Frederick J P, Datto M B, et al. The loss of Smad3 results in a lower rate of bone formation and osteopenia through dysregulation of osteoblast differentiation and apoptosis [J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(10): 1754-1764.
- [12] Massagué J, Seoane J, Wotton D. Smad transcription factors[J]. Genes Dev, 2005, 19(23): 2783-2810.

[责任编辑 周冰冰]