

# 淫羊藿活性成分促进骨细胞增殖分化研究进展

戈勋<sup>1</sup>, 曹广尚<sup>2</sup>, 孙洪胜<sup>2\*</sup>, 李刚<sup>2\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

**[摘要]** 近年来以股骨头坏死为代表的各类骨伤疾病发病率呈逐年上升趋势,淫羊藿作为常用的补肾强骨中药被广泛应用于中医骨科临床并对治疗各种骨伤疾病取得了显著疗效。但淫羊藿中何种成分行使功能,是临床用药及相关药品研发亟需解决的关键问题。近年来研究发现,淫羊藿中的淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖以及一些微量元素均具有促进骨细胞增殖分化作用,其中淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿总黄酮在分子学领域的药理机制研究取得了巨大进展,大量实验研究表明,上述成分可以通过控制骨细胞相关基因的表达、调节信号通路促进骨形成蛋白2(BMP2)以及骨保护素(OPG)蛋白的合成,在细胞因子水平解释了淫羊藿促进骨细胞增殖分化的内在机制,对于淫羊藿中含有的淫羊藿多糖及微量元素促进骨细胞增殖分化作用,研究学者只进行了验证实验,其深层次的作用机制有待进一步探究。本文以淫羊藿中主要活性成分淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖以及一些微量元素为依据,综述各成分促进骨细胞增殖及分化作用研究进展,以期为新药研发和提高临床疗效提供一定理论参考。

**[关键词]** 淫羊藿; 淫羊藿苷; 淫羊藿次苷; 淫羊藿总黄酮; 淫羊藿多糖; 微量元素; 骨细胞增殖分化

**[中图分类号]** R22;R24;R273;R274;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0228-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030228

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171113.1434.010.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-13 14:34

## Effect of Active Components of Epimedii Folium in Promoting Proliferation and Differentiation of Osteoblasts

GE Xun<sup>1</sup>, CAO Guang-shang<sup>2</sup>, SUN Hong-sheng<sup>2\*</sup>, LI Gang<sup>2\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250011, China)

**[Abstract]** The incidence of various kinds of bone diseases represented by osteonecrosis of femoral head (ONFN) has been increasing in recent years. Epimedii Folium has been widely used in clinical department of orthopedics of traditional Chinese medicine (TCM) as a commonly used drug for reinforcing kidney and growing bone, with a significant effect in the treatment of various bone diseases. However, it is an urgent problem in clinical medication and relevant drug R&D to define the functions of components of Epimedii Folium. In recent years, it has been found that icariin, icariside, total flavonoids of herba Epimedii Folium, Epimedii Folium polysaccharides and some microelements in Epimedii Folium have the effect in promoting osteoblast proliferation and differentiation. In particular, studies on the pharmacological mechanisms of icariin, icariside and total flavonoids of herba Epimedii Folium in the molecular filed have made a great progress. A large number of experimental studies have shown that the components mentioned above could promote the formation of bone morphogenetic protein (BMP2) and the protein synthesis of osteoprotegerin (OPG) by controlling the expressions of osteoblast-related

**[收稿日期]** 20170630(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81373660);山东省重点研发计划项目(2016GSF202022)

**[第一作者]** 戈勋,硕士,从事中药新剂型、新技术与新药研发工作,Tel:13012997924,E-mail:1160540122@qq.com

**[通信作者]** \*孙洪胜,硕士,主任药师,从事中药新剂型、新技术与新药研发工作,Tel:13793188158,E-mail:shs7777@163.com;

\*李刚,博士,主任医师,从事骨关节损伤与疾病的临床、科研工作,Tel:15666778886,E-mail:doctorlee808@163.com

genes and regulating the signal pathway, and explained the intrinsic mechanism that Epimedii Folium could promote osteoblast proliferation and differentiation at the molecular level. Regarding the effect of Epimedii Folium polysaccharides and microelements in Epimedii Folium in promoting osteoblast proliferation and differentiation, the researchers only carried out the confirmatory experiment, without further exploring the in-depth mechanism. This article summarizes the study advance of the effect of various components in promoting proliferation and differentiation of osteoblasts based on main effective components icariin, icaraside, total flavonoids of herba Epimedii Folium, Epimedii Folium polysaccharides and some microelements in Epimedii Folium, in order to provide a theoretical reference for new drugs research and development and improving the clinical efficacy.

[Key words] Epimedii Folium; icariin; icaraside; total flavonoids of Epimedii Folium; Epimedii Folium polysaccharides; microelement; proliferation and differentiation of osteoblast

淫羊藿主要来源于小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicomu*, 箭叶淫羊藿 *E. sagittatum*, 柔毛淫羊藿 *E. pubescens* 或朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* 的干燥叶<sup>[1]</sup>, 具补肝肾, 强筋骨, 祛风湿之功效。淫羊藿首载于《神农本草经》, 又名仙灵脾, 为多年生草本植物。查阅文献资料可知, 国内外已发现的淫羊藿属植物大约有 55 种, 其中我国就有 47 个种, 中国是淫羊藿分布最多的国家, 为该属种植物的地理分布中心<sup>[2-3]</sup>。在中医临床上淫羊藿是应用最频繁的中草药之一, 其具有祛风除湿, 强筋健骨, 补肾壮阳的作用, 且有明显的补益疗效<sup>[4-5]</sup>。实验研究表明, 淫羊藿中含有淫羊藿苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖、生物碱、植物甾醇、萜类化合物、绿原酸及其他生物活性成分, 其中对于淫羊藿苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖 3 种成分研究较多<sup>[6]</sup>。

淫羊藿一直作为传统的补肾壮阳药应用于临床<sup>[7]</sup>, 近年来随着我国老龄化趋势的不断发展, 越来越多的骨科疾病发病率居高不下, 如股骨头坏死, 骨质疏松等症, 严重影响百姓的健康生活。随着淫羊藿等补肾活血药物治疗股骨头坏死等取得了理想的效果<sup>[8]</sup>, 人们对于淫羊藿的研究也日趋深入而广泛。查阅相关文献可知, 淫羊藿中所含有的淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖以及一些微量元素都具有促进骨细胞增殖与分化的功能, 笔者通过总结近年来淫羊藿有效成分对成骨细胞的作用机制, 做一综述, 为治疗股骨头坏死等骨伤疾病提供一定的理论参考。

### 1 淫羊藿苷促进骨细胞增殖分化作用研究

淫羊藿苷是淫羊藿茎叶中提取的总黄酮主要活性成分, 具有广泛的药理学活性, 其中对成骨细胞增殖及分化的作用尤为显著, 成为骨伤疾病研究领域的一个新靶点。近年来研究发现, 不同含量的淫羊藿苷对成骨细胞增殖分化具有显著影响。郭海玲

等<sup>[9]</sup>采用酶消化法对人股骨头松质骨片进行体外培养, 并在培养液中添加不同浓度淫羊藿苷, 实验结果发现, 淫羊藿苷对人成骨细胞具有增殖作用, 且有明显的量效关系。于波等<sup>[10]</sup>探讨了淫羊藿苷对人成骨细胞的影响, 结果发现, 不同浓度淫羊藿苷对人成骨细胞增殖分化均有促进作用, 淫羊藿苷在促进成骨细胞增殖的同时, 增强了成骨活性。钱为庆等<sup>[11]</sup>利用酶消化法分离和培养大鼠颅盖骨成骨细胞, 通过组织化学染色和矿化结节法对细胞进行鉴定, 结果表明, 各浓度的淫羊藿苷均能促进成骨细胞增殖与分化, 并能增强成骨活性。吴涛等<sup>[12]</sup>研究发现淫羊藿苷对羊骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 的增殖及分化具有促进作用。王鹏珍等<sup>[13]</sup>通过实验验证了淫羊藿苷可以促进软骨细胞在体外 3-D 培养条件下生成软骨。王建钧等<sup>[14]</sup>由实验结果得出淫羊藿苷可以增强公育体系中成骨细胞的活性, 并抑制破骨细胞的生长。翟元坤等<sup>[15]</sup>发现淫羊藿苷能够促进大鼠颅骨成骨细胞 (ROB) 的分化成熟, 提示了淫羊藿苷具有较强的促骨形成活性。

淫羊藿苷对成骨细胞增殖分化的作用机制, 主要通过刺激成骨细胞分泌一些具有特殊功能的细胞因子, 这种细胞因子对成骨细胞具有调节作用, 同时能够降低破骨细胞对健康骨质的吸收与破坏<sup>[16-18]</sup>。高毅<sup>[19]</sup>在探究淫羊藿苷对 MC3T3-E1 成骨细胞分化的影响时发现, 淫羊藿苷上调了骨形成蛋白 2 (BMP2) 的表达, 说明其能够诱导成骨细胞的分化, 并由此推测淫羊藿苷促进成骨细胞分化的作用可能与 BMP2 的 2 个信号转导通路有关。笮巍伟等<sup>[20]</sup>探讨了淫羊藿苷对成骨细胞增殖分化的作用机制, 结果发现淫羊藿苷促进成骨细胞增殖作用明显, 并可显著提高成骨细胞中 BMP2, Runt 相关转录因子 2 (Runx2) mRNA 的表达量。石文贵等<sup>[21]</sup>在实验中发现淫羊藿苷促进成骨细胞分化是通过激活胞内环

磷酸腺苷依赖蛋白激酶 A (cAMP)-PKA 信号通路,进而促进成骨性相关因子的表达来实现的。傅淑平等<sup>[22]</sup>通过对照实验得出结论,淫羊藿苷可以通过上调 Runx2 基因的表达,促使 SD 大鼠 BMSCs 向成骨细胞分化,并通过增加细胞碱性磷酸酶 (ALP) 的分泌及成骨细胞基因的表达,促进细胞矿化,进而促进新成骨细胞的成熟。毛项颖等<sup>[23]</sup>通过实验验证了淫羊藿苷具有促进间充质干细胞株 (C3H10T1/2) 向成骨细胞分化的作用,并由此推测此作用可能与淫羊藿苷能够介导丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路有关。张艳丽<sup>[24]</sup>通过纳米管负载淫羊藿苷培养 SD 大鼠 BMSCs,发现淫羊藿苷有利于成骨细胞的增殖及黏附,并能上调相关蛋白的表达。柯勇<sup>[25]</sup>发现淫羊藿苷可以通过上调 BMP-2 蛋白的表达来促进成骨细胞的增殖与分化。李玲慧等<sup>[26]</sup>由实验得出淫羊藿苷可明显促进成骨细胞的分化,上调 Runx2 蛋白的表达。殷晓雪等<sup>[27]</sup>由实验结果推测淫羊藿苷促进人成骨细胞增殖分化作用可能与升高人成骨细胞 BMP2 mRNA 的表达量有关。杨丽等<sup>[28]</sup>通过实验提出,淫羊藿苷能够上调转化生长因子- $\beta_1$ , BMP2 的表达量可能是淫羊藿苷促进 BMSCs 骨向分化的作用机制之一。武密山等<sup>[29]</sup>发现淫羊藿苷能够改善切除卵巢所致骨质疏松大鼠的骨密度,并进一步证明了其作用机制,是通过调节雌激素受体 (ER $\beta$ ) mRNA 表达水平实现的。何伟等<sup>[30]</sup>通过研究论证了淫羊藿苷通过上调成骨细胞 Cb $\alpha$ 1, BMP2, BMP4 mRNA 的表达促进了成骨细胞的分化。

淫羊藿苷作为淫羊藿中最重要活性成分,对淫羊藿行使补肾强骨作用具有重要的分子学意义。其促进骨细胞增殖分化方面的相关研究最为广泛,文献报道数量约占淫羊藿各成分的一半以上,药理学家主要在细胞因子及细胞内部通路层面对其作用机制进行了各种深入研究<sup>[31]</sup>,揭示了淫羊藿促进骨细胞生成的内在机制,具有重要的研究价值。

## 2 淫羊藿次苷促进骨细胞增殖分化作用研究

淫羊藿次苷为淫羊藿苷的代谢产物,包括淫羊藿次苷 I 和淫羊藿次苷 II<sup>[32]</sup>。淫羊藿次苷作为淫羊藿中另一主要有效成分,同样具有重要的药理作用,目前对于淫羊藿次苷功能的相关报道主要集中在抗氧化及促进细胞增殖方面,其中对骨细胞增殖分化作用已得到证实<sup>[33-34]</sup>,本部分就对其促进骨细胞增殖分化的研究进行总结。

许静等<sup>[35]</sup>在研究淫羊藿黄酮类成分促进 BMSCs 向成骨细胞增殖分化的作用时发现,淫羊藿次苷同样效果显著。龚一听等<sup>[36]</sup>以淫羊藿次苷 II 原代培养大鼠成骨细胞,通过观察淫羊藿次苷 II 对成骨细胞 OPG 以及 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 表达水平的影响,探究淫羊藿次苷 II 治疗骨质疏松的作用机制,结果显示,淫羊藿次苷 II 可能通过调控 p38 MAPK 信号通路,上调成骨细胞 OPG 的表达,进而促进了成骨细胞的分化。蔡曼玲等<sup>[37]</sup>观察了 5 种淫羊藿黄酮类成分对成骨细胞增殖、矿化结节钙、细胞基质钙及细胞周期的影响,其中淫羊藿次苷 I 和淫羊藿次苷 II 能明显提高成骨细胞的增殖率、矿化结节钙及细胞基质钙含量、以及处于 DNA 合成期及合成后期的细胞数量。翟远坤等<sup>[38-39]</sup>研究发现淫羊藿次苷 II 能够通过提高诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的活性,促进一氧化氮 (NO) 的生成来刺激 BMSCs 的成骨性分化,此外,淫羊藿次苷 II 还可以通过激活雌激素信号通路来促进 BMSCs 成骨性分化。

研究还发现,淫羊藿次苷作为淫羊藿苷代谢产物,其药理活性还要强于淫羊藿苷,具有极大的研究价值。翟远坤等<sup>[40]</sup>通过对照实验比较了淫羊藿苷与其代谢产物淫羊藿次苷 II 对 BMSCs 成骨性分化的影响,发现淫羊藿次苷 II 促进 BMSCs 成骨性分化作用要强于淫羊藿苷,揭示了淫羊藿苷通过口服给药后,可能会在体内代谢成淫羊藿次苷,更大的发挥其药理作用。

## 3 淫羊藿总黄酮促进骨细胞增殖分化作用研究

淫羊藿总黄酮是从淫羊藿药材中提取出来的各黄酮单体类成分的总称,各单体成分主要包括淫羊藿苷,淫羊藿次苷,淫羊藿定 A,淫羊藿定 B,淫羊藿定 C 等<sup>[41]</sup>,研究发现,这些单体成分对体外培养成骨细胞均具有促进及矿化作用,并能增加细胞内机制钙含量<sup>[42-44]</sup>。大量实验<sup>[45-48]</sup>证明了淫羊藿总黄酮能明显促进骨细胞的增殖及分化,因此,本部分结合近年来相关文献资料对淫羊藿总黄酮促进骨细胞增殖分化机制的研究进行概述。

刘亦恒等<sup>[49]</sup>为探讨淫羊藿总黄酮对成骨细胞中 OPG 核转录因子- $\kappa$ B 受体激活因子配体 (RANKL) mRNA 基因表达的影响情况,进行了相关实验研究,结果表明淫羊藿总黄酮能通过增强成骨细胞 OPG 中 mRNA 的表达对破骨细胞的成熟和分化进行抑制,从而间接促进成骨细胞的生成。梁广胜等<sup>[50]</sup>探讨了淫羊藿总黄酮对 BMSCs 成骨分化过程

中 BMP2/Runx2/OSX 信号通路的影响,结果显示,淫羊藿总黄酮能通过调节 BMP2/Runx2/OSX 信号通路加快 BMSCs 分化成成骨细胞的进程。

淫羊藿苷与淫羊藿次苷均属于黄酮类成分,现代研究学者对于淫羊藿黄酮类成分的研究也主要集中于淫羊藿苷与淫羊藿次苷 2 种成分,而以淫羊藿总黄酮为整体研究其促进骨细胞增殖分化作用机制的有关报道相对较少。考虑到总黄酮成分复杂,所属苷元较多,具体何种苷元起作用,仅以总黄酮为整体进行实验探究,难以求证,因此,在淫羊藿总黄酮的研究中,对于其各组成苷元药理活性的研究至关重要。

#### 4 淫羊藿多糖促进骨细胞增殖分化作用研究

淫羊藿多糖为淫羊藿中含量最多的成分,麻浩等<sup>[51]</sup>测得中国不同产地淫羊藿中多糖含量在 22.5% ~ 31.0%。淫羊藿多糖作为一种生物大分子物质,既能参与细胞骨架的构成,又是多种内源生物活性分子的重要组成部分。现代研究发现,淫羊藿多糖具有控制细胞分裂和分化的功能,对细胞的生长和衰老能够产生调节作用<sup>[52]</sup>。

刘福春等<sup>[53]</sup>通过体外培养正常及“阳虚”小鼠股骨骨髓,并于培养液中分别加入不同浓度的淫羊藿多糖,研究淫羊藿多糖对“阳虚”小鼠股骨骨髓细胞增殖率和 DNA 合成率的影响情况,结果发现“阳虚”小鼠股骨骨髓细胞经淫羊藿多糖培养后,细胞增殖率与 DNA 合成率有了明显提高。王力<sup>[54]</sup>为探索淫羊藿多糖影响 SD 大鼠 BMSCs 生长的作用机制,取 SD 大鼠胫骨及股骨细胞体外培养,分别加入不同剂量淫羊藿多糖、二甲基亚砷(DMSO)于培养液中,培养一定时间后,置倒置显微镜下观察并通过噻唑蓝(MTT)比色法检测骨细胞生长情况,结果显示,淫羊藿多糖对体外培养 SD 大鼠 BMSCs 的生长具有先抑后扬的作用,并且影响呈剂量依赖性,由此说明淫羊藿多糖能够促进骨细胞的生长。

目前对于淫羊藿中促进骨细胞增殖分化有效成分的研究主要集中在黄酮类化合物,而对于淫羊藿多糖的报道相对较少,因此,淫羊藿多糖在治疗各类骨伤疾病方面有着广阔的研究空间。

#### 5 淫羊藿中微量元素促进骨细胞增殖分化作用研究

淫羊藿中除了淫羊藿总黄酮及多糖类成分外,还含有一些与人体维持健康状态有密切联系的微量元素。塞冬<sup>[55]</sup>通过实验发现,淫羊藿含有许多人体所必需的微量元素,适量服用,可以起到清除自由基

的作用,并能保障细胞正常的生命活动。淫羊藿中含有的微量元素对成骨细胞的增殖分化能力同样具有促进作用,张大威等<sup>[56]</sup>研究了淫羊藿总黄酮与淫羊藿中含量较高的微量元素 Zn, Ca, Mn 合用以及单独使用 2 种情况下对成骨细胞增殖分化的影响,结果发现,淫羊藿中所含有的 3 种矿物元素与淫羊藿总黄酮通过一定的比例合用可以有效增强黄酮类成分对骨细胞的增殖分化功能。

由于淫羊藿中含有这些微量元素与淫羊藿的药效成分具有一定的协同作用,因此,笔者认为淫羊藿的有效成分行使骨细胞增殖分化功能是否与淫羊藿中所含有的微量元素有关,有待进一步的研究。

目前对于淫羊藿各成分促进骨细胞增殖分化作用研究现状不一,内容较为复杂,为了让读者一目了然,以表格形式加以总结,结果见表 1。

#### 6 结论与展望

近年来,随着人们生活节奏的加快,大量饮酒、服用激素类药物等问题不断涌现,导致股骨头坏死等骨伤类疾病发病率呈逐年上升趋势,致残率极高,已越来越引起人们的广泛关注。由于股骨头坏死等病症手术治疗具有局限性,且手术治疗的远期效果也不尽人意<sup>[57]</sup>。而非手术治疗则根据其“肝肾亏虚,气滞血瘀”的发病机制,运用补肾活血中药发挥其补益肝肾、活血化瘀之功,解决股骨头血供不足及微循环障碍,修复骨坏死条件,促进新骨细胞的生成<sup>[58]</sup>。通过中医处方治疗股骨头坏死不但安全可靠,而且无毒副作用<sup>[59]</sup>,因此,以淫羊藿为代表的补肾强骨类中药在促进骨细胞增殖分化方面具有极高的应用价值。

目前对于淫羊藿的研究还主要集中在淫羊藿苷及淫羊藿次苷等黄酮类化合物,随着科学技术的发展,在分子层面探究其作用机制取得了显著成果,大量实验学者以相关基因蛋白的表达量,细胞因子信号通路的调节情况对这 2 种成分在促进骨细胞增殖分化作用机制方面进行了阐明。而淫羊藿中其他成分的有关研究相对甚少,且药物用于治疗各类骨伤疾病的某些关键作用机制还尚不明确,例如淫羊藿苷是否在人体内被分解成淫羊藿次苷后行使功能以及淫羊藿有效成分与其他补肾活血药物的配伍关系,需要更多的研究学者潜心研究、深入探索,使股骨头坏死等疑难病症得到更好的控制,使更多的人摆脱病痛的困扰,享受健康的生活。

表 1 淫羊藿中各有效成分类别、组成、引用文献及作用机制的总结

Table 1 Summary for type, structure, cited literature and mechanism of active compositions in *Epimedium Folium*

主要成分	分类	成分组成	引用文献	研究机制
淫羊藿苷	黄酮类	淫羊藿苷元	[ 9-15, 19-30 ]	1. 通过提高 ALP, BMP2, Runx2, ER $\beta$ , Cb $\alpha$ 1 mRNA 的表达量促进骨细胞增殖分化; 2. 通过上调 ALP, BMP2, Runx2, 转化生长因子- $\beta$ <sub>1</sub> , BMP2 蛋白的表达量促进骨细胞增殖分化; 3. 通过调节 cAMP-PKA, MAPK 信号通路来促进骨细胞增殖分化
淫羊藿次苷	黄酮类	淫羊藿次苷 I, 淫羊藿次苷 II	[ 35-40 ]	1. 通过调控 p38 MAPK 信号通路上调成骨细胞 OPG 的表达, 进而促进成骨细胞的分化; 2. 通过提高诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 活性, 促进 NO 的生成来刺激 BMSCs 成骨性分化; 3. 通过激活雌激素信号通路来促进 BMSCs 成骨性分化
淫羊藿总黄酮	黄酮类	淫羊藿苷, 淫羊藿次苷, 淫羊藿定 A, 淫羊藿定 B, 淫羊藿定 C 等	[ 49-50 ]	1. 通过提高 RANKL, 成骨细胞 OPG mRNA 基因表达量促进 BMSCs 增殖分化; 2. 通过调节 BMP2, Runx2, OSX 信号通路加快 BMSCs 分化成骨细胞的进程
淫羊藿多糖	糖类	由多个单糖分子聚合而成	[ 53-54 ]	1. 能够显著提高骨髓细胞增殖率与 DNA 合成率; 2. 能够促进 BMSCs 骨细胞的生长并呈剂量依赖性
微量元素	无机元素	Zn, Cu, Mn, Se, Cr 等	[ 55-56 ]	1. 清除自由基, 保障细胞正常生命活动; 2. 与淫羊藿总黄酮通过一定的比例合用可以有效增强黄酮类成分对骨细胞的增殖分化功能

[ 参考文献 ]

[ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [ M ]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 327-328.

[ 2 ] Steam W T. The Genus *Epimedium and Other Herbaceous Berberidaceae* [ M ]. Portland, Oregon: Timber Press, 2002: 174-176.

[ 3 ] 范曾丽, 权秋梅. 淫羊藿的药理研究进展 [ J ]. 安徽农业科学, 2012, 40 ( 17 ): 9264-9266.

[ 4 ] 许应星, 许兵, 吴岩, 等. 淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞成骨和成脂中 DKK1 蛋白动态表达的影响 [ J ]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2010, 4 ( 3 ): 276-284.

[ 5 ] 高建清, 庄素新, 黄小敬, 等. 淫羊藿对大鼠骨量及骨髓基质干细胞增殖、分化过程 Cbfa1 和 Osterix 表达的影响 [ J ]. 中华中医药学刊, 2016, 8 ( 2 ): 384-386.

[ 6 ] 王焕珍, 柴艺汇, 陈云志, 等. 淫羊藿化学成分与药理作用研究进展 [ J ]. 亚太传统医药, 2016, 12 ( 7 ): 63-65.

[ 7 ] 曾庆岳, 王云山. 淫羊藿药理作用研究进展 [ J ]. 医药导报, 2012, 31 ( 4 ): 462-465.

[ 8 ] 何伟, 陈镇秋, 张庆文. 补肾活血中药治疗股骨头坏死临床研究 [ J ]. 新中医, 2012, 44 ( 4 ): 50-51.

[ 9 ] 郭海玲, 赵咏芳, 王翔, 等. 淫羊藿苷对人成骨细胞增殖及 OPG 蛋白表达的实验研究 [ J ]. 中国骨伤, 2011, 24 ( 7 ): 585-588.

[ 10 ] 于波, 杨久山, 刘岩, 等. 淫羊藿苷对人成骨细胞的作用 [ J ]. 中医正骨, 2006, 18 ( 6 ): 17-18.

[ 11 ] 钱卫庆, 尹宏, 孙海涛. 不同浓度淫羊藿苷对大鼠成骨细胞增殖、分化的影响 [ J ]. 中国医药导报, 2011, 36 ( 8 ): 23-25.

[ 12 ] 吴涛, 徐俊昌, 南开辉, 等. 淫羊藿苷促进羊骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化 [ J ]. 中国组织工程研究, 2009, 13 ( 19 ): 3725-3729.

[ 13 ] 王鹏珍, 万超. 淫羊藿苷促进软骨细胞体外 3-D 培养下生成软骨 [ J ]. 中国老年学, 2015, 35 ( 10 ): 2597-2600.

[ 14 ] 王建钧, 张晓荣, 李晓冬. 淫羊藿苷对 SD 大鼠成骨-破骨细胞共育体系的影响 [ J ]. 江西中医药大学学报, 2010, 22 ( 2 ): 75-77.

[ 15 ] 翟远坤, 李志忠, 陈克明, 等. 淫羊藿苷对体外培养乳鼠颅骨成骨细胞增殖、分化及成熟的影响 [ J ]. 中药材, 2011, 34 ( 6 ): 917-922.

[ 16 ] 赵刚, 胡侦明, 罗先正. 骨质疏松性骨折愈合与细胞因子的作用 [ J ]. 中国骨与关节杂志, 2005, 4 ( 6 ): 364-367.

[ 17 ] Ekam E C, Ravarti L, Kaharl V, et al. Expression of extraceluler matrix genes transforming growth fractor ( TGF )-betal and ras in tibial fracture healing of athynitic rat [ J ]. Bone, 2000, 27 ( 4 ): 551-557.

[ 18 ] Park Y J, Kim K H, Lee J Y, et al. Immobilization of bone morphogenetic protein-2 on a nanofibrous chitosan membrane for enhanced guided bone regeneration [ J ].

- Biotechnol Appl Biochem, 2006,43(1):17-24.
- [19] 高毅. 淫羊藿苷对成骨细胞增殖分化的影响及机制探讨[D]. 石家庄:河北医科大学, 2013.
- [20] 笪巍伟, 赵永见, 王拥军, 等. 淫羊藿苷对前成骨细胞株 OCT1 细胞 BMP-2 mRNA、Runx-2 mRNA 表达的影响[J]. 上海中医药杂志, 2015,49(5):90-94.
- [21] 石文贵, 李雪雁, 陈克明, 等. 基于 cAMP-PKA 信号通路的淫羊藿苷促进骨形成研究[J]. 中国现代应用药学, 2015,32(2):131-136.
- [22] 傅淑平, 杨丽, 洪浩, 等. 淫羊藿苷促 SD 大鼠骨髓间充质干细胞骨向分化作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2015,35(7):839-846.
- [23] 毛项颖, 卞琴, 沈自尹. 淫羊藿苷介导 MAPK 信号通路促进间充质干细胞株 C3H10T1/2 成骨分化的体外研究[J]. J Integr Med, 2012,10(11):1272-1278.
- [24] 张艳丽. 二氧化钛纳米管负载淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞及成骨细胞的影响[D]. 广州:南方医科大学, 2015.
- [25] 柯勇. 淫羊藿苷对成骨细胞 BMP-2 表达影响的实验研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2008.
- [26] 李玲慧, 丁道芳, 杜国庆, 等. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞增殖及碱性磷酸酶、Runx2 蛋白表达的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2013,21(21):2195-2199.
- [27] 殷晓雪, 陈仲强, 党耕町, 等. 淫羊藿苷对人成骨细胞增殖与分化的影响[J]. 中国中药杂志, 2005,30(4):289-291.
- [28] 杨丽, 张荣华, 朱晓峰, 等. 淫羊藿苷对大鼠间充质干细胞骨向分化过程中转化生长因子  $\beta_1$ 、骨形态发生蛋白 2 表达的影响[J]. 中国组织工程研究, 2010,14(19):3518-3522.
- [29] 武密山, 赵素芝, 任立中, 等. 淫羊藿苷对去卵巢大鼠骨和下丘脑不同核团 ER $\beta$  mRNA 表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2011,27(1):29-33.
- [30] 何伟, 李自力, 崔元璐, 等. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞核结合因子  $\alpha 1$ 、骨形成蛋白-2、骨形成蛋白-4 mRNA 表达的影响[J]. 北京大学学报:医学版, 2009,41(6):669-673.
- [31] 胡彦武, 刘凯, 闫梦彤, 等. 淫羊藿总黄酮及淫羊藿苷的心血管保护作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015,21(13):227-230.
- [32] 包宇, 杨建雄, 孙润广. 淫羊藿苷与淫羊藿次苷 II 的体外抗氧化作用[J]. 吉林大学学报:医学版, 2012,38(3):423-428.
- [33] LUO G, GU F, ZHANG Y, et al. Icariside II promotes osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells in beagle canine[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(5):4367-4377.
- [34] 罗光明, 顾飞飞, 张迎娣, 等. 淫羊藿素对 SD 大鼠骨髓基质细胞增殖与成骨分化的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2016,32(4):467-470.
- [35] 许静, 张晶晶, 郭非非, 等. 淫羊藿黄酮类主要成分促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞增殖分化作用及机制的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(14):113-120.
- [36] 龚一听, 刘尚全, 袁媛, 等. 淫羊藿次苷 II 通过 p38MAPK 调控成骨细胞护骨素表达的体外研究[J]. 安徽医科大学学报, 2016,51(12):1790-1794.
- [37] 蔡曼玲, 季晖, 刘悦, 等. 五种淫羊藿黄酮类成分对体外培养成骨细胞的影响[C]//中国药理学会制药工业专业委员会学术会议. 2004:13-14.
- [38] 翟远坤, 陈克明, 葛宝丰, 等. 淫羊藿次苷 II 促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨性分化过程中 iNOS 活性和 NO 生成量的变化[J]. 药学报, 2011,46(4):383-389.
- [39] 翟远坤, 陈克明, 葛宝丰, 等. 淫羊藿次苷 II 通过激活雌激素信号通路促进骨髓间充质干细胞的成骨性分化[J]. 中国药理学通报, 2011,27(10):1451-1457.
- [40] 翟远坤, 葛宝丰, 陈克明, 等. 淫羊藿苷与其代谢产物淫羊藿次苷 II 对骨髓间充质干细胞成骨性分化影响的比较研究[J]. 中药材, 2010,33(12):1896-1900.
- [41] 郭青, 吴晓燕, 宁青, 等. 淫羊藿茎叶中 5 种黄酮类成分分析及质量评价[J]. 中草药, 2011,42(10):2028-2032.
- [42] CAI M L, JI H, LI P, et al. Effects of five flavonoids isolated from *Epimedium pubescens* on osteoblasts *in vitro* [J]. Chin J Nat Med, 2004,2(4):235-238.
- [43] HUANG J, YUAN L, WANG X, et al. Icaritin and its glycosides enhance osteoblastic, but suppress osteoclastic, differentiation and activity *in vitro* [J]. Life Sci, 2007,81(10):832-840.
- [44] 黄明炜, 廖勇敢. 淫羊藿总黄酮调节骨代谢作用及药理机制的研究新进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014,20(4):452-456.
- [45] 马慧萍, 贾正平, 陈克明, 等. 含淫羊藿总黄酮大鼠血清对成骨细胞发育的影响[J]. 中国中药杂志, 2008,33(8):928-931.
- [46] 韩立民, 刘波, 徐彭. 淫羊藿总黄酮对成骨细胞增殖的影响[J]. 上海中医药杂志, 2003,37(6):55-57.
- [47] 宋敏, 李晶, 李志锋. 淫羊藿总黄酮对去势大鼠骨密度的影响[J]. 中华中医药杂志, 2012,20(6):273-275.
- [48] 李勇, 李萍. 淫羊藿总黄酮对体外培养成骨细胞的影响[J]. 中国药科大学学报, 2002,33(1):48-50.
- [49] 刘亦恒, 臧洪敏, 张海英, 等. 淫羊藿总黄酮对成骨

- 细胞中 OPG 和 RANKL mRNA 基因表达影响的实验研究[J]. 中药材, 2005, 28(12):1076-1078.
- [50] 梁广胜, 陈伟才, 殷婷婷, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化过程 BMP-2/RunX2/OSX 通路的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(5):614-618.
- [51] 麻浩, 张亚欣, 张贵强, 等. 不同产地淫羊藿总多糖的理化性质比较[C]//中国药学会大会暨中国药师周. 2014, 41(2):249-253.
- [52] 付亮, 袁璟亚, 周永红, 等. 淫羊藿多糖的研究进展及开发前景[J]. 食品科学, 2012, 33(3):261-266.
- [53] 刘福春, 丁光霞, 李菊仙. 淫羊藿多糖对经基脉所致“阳虚”动物骨髓细胞 DNA 合成率的影响[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(10):621-622.
- [54] 王力. 淫羊藿总多糖对体外培养 SD 大鼠骨髓间充质干细胞生长影响的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [55] 塞冬. 淫羊藿中微量元素含量的研究[J]. 中医药学报, 2001, 29(3):50.
- [56] 张大威, 程岩, 张金超, 等. 微量元素与朝鲜淫羊藿中黄酮对原代成骨细胞增殖和分化的拮抗与协同效应[J]. 科学通报, 2007, 52(16):1883-1890.
- [57] 黄婧. 股骨头缺血性坏死的中药治疗进展[J]. 中国预防医学杂志, 2009, 10(2):154-156.
- [58] 李峻辉, 宁亚功, 彭仲杰, 等. 股骨头缺血性坏死的介入治疗[J]. 中国骨伤, 2005, 18(1):3-5.
- [59] 付鹏程. 中药治疗股骨头坏死 80 例临床分析[J]. 中国伤残医学, 2013, 21(1):41.

[责任编辑 邹晓翠]