

左归丸对去卵巢大鼠股骨中 核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 表达的影响

王艳杰¹, 任艳玲^{1*}, 宋因², 吕海波³, 李亚玲⁴

(1. 辽宁中医药大学基础医学院, 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院, 沈阳 110034;
3. 山东世博金都药业有限公司北京医药研发中心, 北京 100070;
4. 鹤壁职业技术学院医学院, 河南 鹤壁 458030)

[摘要] 目的: 观察左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠股骨中核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 表达的影响, 探讨其对骨质疏松的防治机制。方法: 280 只 SPF 级 SD 雌性大鼠, 分为 3 组: 正常组 40 只、假手术组 40 只、其余采取双侧背部卵巢切除术进行绝经后骨质疏松症造模。21 d 后, 随机分为 5 组: 模型组、尼尔雌醇组、左归丸高、中、低剂量组。左归丸高、中、低剂量组分别给予 ig 6.4, 3.2, 1.6 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量的左归丸混悬液, 1 次/d; 尼尔雌醇组 ig 尼尔雌醇混悬液 0.21 $mg \cdot kg^{-1}$, 每周 1 次。于连续给药 60, 120, 180 d, 分别取大鼠左后肢股骨近端 1/3 部分, 采用 RT-PCR 方法测定核心结合因子 $\alpha 1$ 的 mRNA 表达水平。结果: 与正常组比较, 模型组股骨中核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 水平明显降低 ($P < 0.01$); 和模型组比较, 给药 60, 120, 180 d 的左归丸各剂量组, 股骨中核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 水平显著升高 ($P < 0.05$)。结论: 骨组织中核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 表达水平的下调可能是 PMOP 发生的重要机制之一, 左归丸能够上调骨组织中核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 表达, 从而有效防治骨质疏松。

[关键词] 左归丸; 骨质疏松症; 核心结合因子 $\alpha 1$

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0191-05

[doi] 10.11653/syfy2013130191

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130425.1503.005.html>

[网络出版时间] 2013-04-25 15:03

[收稿日期] 20121225(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873226); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20102133110001); 辽宁省教育厅创新团队项目(LT2010068); 辽宁省科技厅自然科学基金(201102148)

[第一作者] 王艳杰, 副教授, 硕士生导师, 从事中医药对脏腑调控作用的信号转导机制研究, E-mail: wangyj76@yahoo.com.cn

[通讯作者] *任艳玲, 教授, 博士生导师, 从事方药配伍规律及作用机制的研究, E-mail: yanlingren@tom.com

- [4] 彭景华, 方志红, 崔剑巍, 等. 健脾活血方对酒精复合 LPS 诱导的肝损伤大鼠库普弗细胞活化信号通路的干预[J]. 中西医结合学报, 2007, 5(3): 302.
- [5] 陈少东, 冯琴, 彭景华, 等. 基于均匀设计的祛湿化痰方防治脂肪肝不同作用环节的主效应中药剖析[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 677.
- [6] 傅琪琳, 胡义扬, 冯琴, 等. 基于均匀设计的健脾活血方改善酒精性肠渗漏的主效应中药分析[J]. 中西医结合学报, 2011, 9(11): 1234.
- [7] 方志红, 崔剑巍, 曹健美, 等. Lieber-DeCarli 酒精性肝损伤模型的复制[J]. 中西医结合学报, 2006, 4(6): 596.
- [8] 中华医学会肝脏病学分会分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南(2010年修订版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3): 167.
- [9] 陈韶华, 厉有名. 酒精性肝病的免疫学研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2009, 29(4): 258.
- [10] Neuman M G. Cytokines central factors in alcoholic liver disease [J]. Alcohol Res Health, 2003, 27(4): 307.
- [11] Miranda-Mendez A, Lugo-Baruqui A, Armendariz-Borunda J. Molecular basis and current treatment for alcoholic liver disease [J]. Int J Environ Res Public Health, 2010, 7(5): 1872.
- [12] 王杰, 姚风云, 杨伟鹏, 等. 肝加欣片治疗酒精性肝病的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(8): 39.
- [13] 张压西, 石松, 向婷婷, 等. 茵苓清肝汤对酒精性肝病大鼠血清 NO, GSH-Px 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 181.
- [14] 时鸿超, 陈延丽, 赵敏. 酒精性肝病的铁代谢调控机制[J]. 中华保健医学杂志, 2009, 11(5): 404.

[责任编辑 聂淑琴]

Expressions of Core Binding Factor Alpha 1 mRNA of Femoral Organization by Zuogui Pill in Ovariectomy-induced Osteoporosis Rats

WANG Yan-jie¹, REN Yan-ling^{1*}, SONG Nan², LV Hai-bo³, LI Ya-ling⁴

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China;

3. Shandong Shibojindu Pharmaceutical Ltd, Beijing 100070, China;

4. Hebi Institute of Technology Medical College, Hebi 458030, China)

[**Abstract**] **Objective:** To observe the expression of core binding factor alpha 1 mRNA of femoral organization by Zuogui Pill in ovariectomy-induced osteoporosis rats. **Method:** Two hundred and eighty male SPF SD rats were divided into three groups: normal group 40; sham-operated group 40; ovariectomy-induced osteoporosis model was adopted, 21 days later, randomly modeling rats were divided into 5 groups: the model group, nilestriol group, Zuogui Pill high, medium, low dose group. Zuogui Pill groups were ig given with Zuogui Pill at dosage of 6.4, 3.2, 1.6 g · kg⁻¹, once per day. Nilestriol group was treated with Nilestriol liquid. The normal group, sham-operated group and the model group were given with distilled water. 60, 120, 180 d later, the expression of core binding factor alpha 1 in the femoral organization was determined by RT-polymerase chain reaction (PCR). **Result:** Compared with the normal group, in the model group the femoral core binding factor alpha 1 mRNA level obviously reduced ($P < 0.01$). And compared with the model group, Zuogui Pill groups increased femoral core binding factor alpha 1 mRNA level significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** The down-regulated expression of core binding factor alpha 1 mRNA of bone tissue may be contributed to PMOP, Zuogui Pill can up-regulated mRNA expression.

[**Key words**] Zuogui Pill; osteoporosis; core binding factor alpha 1

中医学中无骨质疏松症的病名,但依据其病因病机及临床表现,可以将其归为“骨痹”、“骨痿”范畴,并且认为肾藏精,主骨生髓,骨骼的生长、发育及修复均有赖于肾中精气的滋养和推动,故肾虚是骨质疏松症发病的主要原因。左归丸出自张景岳的《景岳全书·新方八阵》,为补肾填精的名方。本实验采取去卵巢造模方法建立大鼠 PMOP 模型,以肾虚为绝经后骨质疏松 (PMOP) 的主要发病原因出发,观察左归丸对 PMOP 大鼠股骨中核心结合因子 $\alpha 1$ (core binding factor $\alpha 1$, Cbf $\alpha 1$) mRNA 水平的影响,为临床左归丸防治 PMOP 提供现代生物学基础。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雌性大鼠 280 只,4.5 月龄,体重 270 ~ 290 g,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK (沪) 2008-0016。适应性喂养 1 周,室温 20 ~ 25 °C,湿度 20% ~ 30%,自由摄食、饮水,饲料为全价颗粒饲料 (Ca:0.5%)。

1.2 药品及试剂 硫酸庆大霉素注射液 (郑州羚锐制药股份有限公司,批号 0811121);左归丸中成药 (上海雷允上封浜制药有限公司,批号 090409);尼尔雌醇片 (上海医药 (集团) 有限公司新华联制药厂,批号 080803)。焦碳酸二乙酯 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司);RNAisoTM Plus 试剂盒, TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 试剂盒 [宝生物工程 (大连) 有限公司];SuperBuffer-2 超快核酸电泳液, DNA 电泳相对分子质量标准 (北京天恩泽基因科技有限公司);Gene Finder 核酸染料, 6 × Loading BufferDNA 染料 (厦门百维信生物科技有限公司)。

1.3 仪器 TU-1810PC 型紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司);Heal Fore Neofuge13 台式高速冷冻离心机 (上海力申科学仪器有限公司);MycyclerTM Thermal CyclerPCR 扩增仪 (美国 BIO-RAD);EPS 300 天能电泳仪 (上海天能科技有限公司);WD-9413B 凝胶成像分析仪 (北京

六一仪器厂)。

2 方法

2.1 动物分组 将大鼠按体重随机分层,每层按数量比暂分为3组:正常组40只;假手术组40只;其余200只实施双侧卵巢切除术造模,21 d后,将存活大鼠195只随机分为5组,每组39只:模型组、尼尔雌醇组、左归丸高、中、低剂量组。

2.2 造模方法 大鼠经10%的水合氯醛 $3.5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip麻醉,由背部脊柱两侧纵向切开皮肤和肌肉,完整摘除双侧卵巢后,滴入10%的硫酸庆大霉素(0.4万单位)0.5 mL;假手术组仅将卵巢从腹腔提出而不切除,仅切除卵巢周围少量脂肪组织。

2.3 给药方法及剂量 造模21 d后,除正常组、假手术组和模型组外进行药物治疗,根据人与大鼠等剂量换算公式折算大鼠左归丸的等临床剂量为 $1.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重,并设为低剂量组。左归丸高、中、低剂量组分别给予左归丸6.4,3.2,1.6 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d;尼尔雌醇组给予尼尔雌醇0.21 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/周;使用前分别将左归丸和尼尔雌醇片用蒸馏水制成混悬液,定容至所需浓度,10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,ig;尼尔雌醇组未灌药期间均ig蒸馏水,10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d;正常组、假手术组、模型空白组均ig蒸馏水,10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d。

2.4 标本采集 连续给药60,120,180 d后分3次取材,取材前禁食、禁水24 h。经10%的水合氯醛 $3.5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip麻醉。取大鼠左后肢股骨近端1/3部分,剔除软组织及筋膜,用DEPC水处理过的铝箔纸包裹好,做好标记,迅速置入液氮中速冻,之后放

入 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

2.5 RT-PCR测定大鼠骨组织中Cbf α 1的mRNA表达水平 用液氮充分预冷研钵,用研杵研磨骨组织,直至研磨成白色粉末;加入2 mL的RNAisoTM Plus,再用研杵继续研磨至裂解液呈透明状;将匀浆液转移至离心管中,室温静置5 min;12 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心5 min;吸取上清液,加入200 μL 氯仿,剧烈振荡15 s,室温静置5 min;12 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心15 min;吸取上层水相,加入等体积的异丙醇,混匀,静置10 min;12 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min,小心弃去上清,加入75%的乙醇1 mL,12 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心5 min后小心弃去乙醇;室温干燥沉淀2~5 min,之后加入适量的DEPC水(30~60 μL /管)溶解沉淀, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。用紫外分光光度计测定260,280 nm下的吸光度(A),并计算 A_{260}/A_{280} ,取在1.8~2.2之间样品进行实验;根据RT-PCR试剂盒说明配制包含 MgCl_2 ,10 \times RT Buffer, dNTP Mixture, RNase Inhibitor, Oligo dT, 逆转录酶等的10 μL 逆转录反应体系,进行逆转录,然后配制25 μL PCR反应体系,包括上述RT反应液、5 \times PCR Buffer、灭菌水和引物(具体序列见表1)及EX Taq HS。反应条件:①94 $^{\circ}\text{C}$,2 min预变性;②94 $^{\circ}\text{C}$,30 s变性;③59 $^{\circ}\text{C}$,30 s退火;④72 $^{\circ}\text{C}$,5 min延伸;其中②~③为30个循环。反应结束后进行琼脂糖凝胶电泳,用WD-9413B凝胶成像分析仪进行拍照,并用Gel pro32凝胶图像分析软件对PCR产物进行半定量分析测定,Cbf α 1的mRNA表达水平用Cbf α 1/GAPDH的吸光度比值来表示。

表1 引物序列

引物	序列	扩增长度/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	循环数/次
Cbf α 1	5'-CACTGGCGGTGCAACAAGA-3'	86	59	35
	5'-ATGACGGTAACCACAGTCCCATC-3'			
GAPDH	5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3'	150	59	35
	5'-TTGCTGTTGAAGTCCGAGGAG-3'			

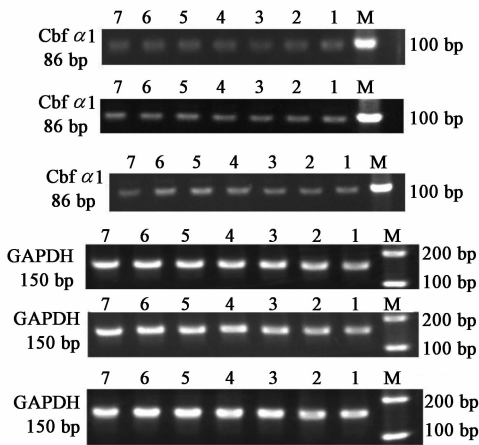
2.6 统计方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用统计软件SPSS 11.0的ONE-Way ANOVA进行分析,组间比较采用LSD法,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 给药60 d后左归丸对骨组织中Cbf α 1的mRNA表达影响 PCR产物经电泳后,各个组分别于86 bp(Cbf α 1)、150 bp(GADPH)见到扩增的条带(见图1),与设计的引物相符合。经半定量检测显示:和正常组比较,假手术组Cbf α 1的mRNA水

平无明显差异,模型组Cbf α 1的mRNA水平明显降低($P < 0.01$);和模型组比较,尼尔雌醇组Cbf α 1的mRNA水平显著上升($P < 0.01$),左归丸高、中、低剂量组Cbf α 1的mRNA水平显著上升($P < 0.01$, $P < 0.05$),和左归丸高剂量组比较,左归丸中、低剂量组Cbf α 1的mRNA水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),尼尔雌醇组无显著差异(表2)。

3.2 给药120 d后左归丸对骨组织中Cbf α 1的mRNA表达影响 和正常组比较,假手术组Cbf α 1



上为 $Cbfa1$ ，下为 β -actin (从上到下依次为 60, 120, 180 d); M. Marker; 1. 正常组; 2. 假手术组; 3. 模型组; 4. 尼尔雌醇组; 5. 左归丸 6.4 $g \cdot kg^{-1}$ 组; 6. 左归丸 3.2 $g \cdot kg^{-1}$ 组; 7. 左归丸 1.6 $g \cdot kg^{-1}$ 组

图 1 不同时间左归丸对去卵巢大鼠股骨中 $Cbfa1$ 的 mRNA 表达的影响

表 2 不同时间各组大鼠骨组织 $Cbfa1$ 的 mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

分组	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	$Cbfa1$ /GADPH 相对表达量		
		60 d	120 d	180 d
正常	-	0.51 ± 0.02	0.70 ± 0.02	0.74 ± 0.02
假手术	-	0.50 ± 0.01	0.69 ± 0.01	0.74 ± 0.01
模型	-	0.40 ± 0.01 ¹⁾	0.57 ± 0.02 ¹⁾	0.56 ± 0.02 ¹⁾
尼尔雌醇	2.1 × 10 ⁻⁴	0.47 ± 0.01 ³⁾	0.67 ± 0.01 ³⁾	0.72 ± 0.02 ³⁾
左归丸	6.4	0.47 ± 0.02 ³⁾	0.69 ± 0.03 ³⁾	0.71 ± 0.01 ³⁾
	3.2	0.44 ± 0.02 ^{3,4)}	0.65 ± 0.03 ^{3,4)}	0.69 ± 0.03 ³⁾
	1.6	0.43 ± 0.01 ^{2,5)}	0.63 ± 0.02 ^{3,5)}	0.63 ± 0.01 ^{3,4)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$;与左归丸高剂量组比较⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

随着世界人口的不断老龄化,骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 已成为全球性的卫生问题。女性一般在 50 岁出现绝经,在绝经后 10 年内骨量丢失明显加快,绝经 5 年以内骨量丢失最快^[1]。绝经后骨质疏松属于原发性骨质疏松的一种,为高转换型骨质疏松症,以松质骨变化为主,故常见脊椎和腕部骨折^[2]。雌激素替代疗法 (ERT) 被认为是治疗 PMOP 的有效方法,但 ERT 长期应用的依从性较差,使其应用受到一定的限制^[3]。因此在中医基础理论指导下,发挥中医药优势,探索中医药防治骨质疏松的机制具有重要意义。

郭扬^[4]等通过归纳分析近 10 年文献发现,治疗骨质疏松的所有验方的基本方都来源于右归丸、左归丸、归脾汤、身痛逐瘀汤等,在此基础方上,加减化

的 mRNA 水平无明显差异 ($P > 0.05$), 模型组 mRNA 水平明显降低 ($P < 0.01$); 和模型组比较, 尼尔雌醇组 mRNA 水平显著上升 ($P < 0.01$), 左归丸高、中、低剂量组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平显著上升 ($P < 0.01$); 和左归丸高剂量组比较, 左归丸高、中、低剂量组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 尼尔雌醇组无显著性差异。(见表 2)

3.3 给药 180 d 后左归丸对骨组织中 $Cbfa1$ 的 mRNA 表达影响 和正常组比较, 假手术组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平无明显差异, 模型组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平明显降低 ($P < 0.01$); 和模型组比较, 尼尔雌醇组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平显著上升 ($P < 0.01$), 左归丸各剂量组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平显著上升 ($P < 0.01$); 和左归丸高剂量组比较, 左归丸低剂量组 $Cbfa1$ 的 mRNA 水平显著升高 ($P < 0.05$), 左归丸中剂量组和尼尔雌醇组无显著性差异 (表 2)。

裁而成各自的经验方。其中左归丸记载张景岳著《景岳全书》,具有滋阴补肾的功效。方中熟地黄滋肾以填真阴; 枸杞子益精明目; 山茱萸涩精敛汗; 龟板胶、鹿角胶, 为血肉有情之品, 鹿角胶偏于补阳, 龟板胶偏于滋阴, 两胶合力, 沟通任督二脉, 益精填髓, 有补阴中包涵“阳中求阴”之义; 菟丝子配牛膝, 强腰膝, 健筋骨; 山药滋益脾肾, 诸药合用共收滋肾填阴, 育阴潜阳之效。中医理论认为“肾为先天之本”, 主生长发育与生殖; “肾藏精主骨生髓”, 骨骼的生长、发育、修复均依赖于肾中精气的肾藏精, 充盈、滋养与推动。因此骨质疏松症的发生主要是由于肾精亏虚所致。因此, 补肾填精是防治 PMOP 的根本方法。近年来文献报道左归丸能够卵巢切除大鼠外周血清中降钙素 (CT) 含量明显增高, 骨钙素 (BGP) 含量明显降低^[5]。刘梅洁等^[6]实验结果表

明左归丸可使糖皮质激素所致骨质疏松大鼠血清中 BGP, IGF- I 水平上调,这可能是其治疗糖皮质激素所致大鼠骨质疏松症的机制之一。本课题组的研究结果表明左归丸含药血清能够促进 MC3T3-E1 成骨前体细胞增殖,能够上调 MC3T3-E1 成骨前体细胞 Runx2 mRNA 的表达^[7]。

骨容量取决于骨形成和吸收的相比比例,骨生长因子能够刺激成骨细胞的增殖和活性,从而增加骨形成,目前发现的骨生长因子中,Cbfa1 是成为近年来研究的热点,对于维持骨的生长发育具有重要作用。Cbfa1 基因是骨形成的关键基因,决定着成骨细胞的发生与分化,在维持正常骨骼发育中起重要作用,并且作为成骨分化关键性的转录因子,能在非成骨细胞或成骨前体细胞中上调成骨分化基因的表达。Cbfa1 其过表达能够快速而强烈地诱导间充质干细胞向成骨细胞方向分化^[8-9]。本课题组的研究结果表明双侧去除卵巢后模型空白组大鼠肾组织内 TGF- β_1 /Smad4 信号转导通路出现异常,表现为 TGF- β_1 、Smad4 的 mRNA 水平过高表达,且骨密度降低,给予左归丸治疗 60 d 后,肾组织中 TGF- β_1 、Smad4 的表达均有下调趋势且骨密度显著升高,提示左归丸能通过下调肾组织中 TGF- β_1 、Smad4 的 mRNA 表达抑制骨吸收,纠正骨代谢紊乱,改善去绝经后机体肾虚的状态,通过补肾填精的途径起到防治 PMOP 的作用^[10]。但左归丸对骨质疏松时骨组织中核心结合因子 $\alpha 1$ 表达的影响研究尚属空白。本实验通过观察左归丸对去除卵巢大鼠股骨中 Cbfa1 表达影响,探索其促进骨形成的分子机制。

观察了治疗不同时间、不同剂量左归丸对去卵巢大鼠股骨中 Cbfa1 mRNA 表达的影响,进一步在动态条件下探索左归丸对骨强度的影响。本实验结果表明,去卵巢后,模型组股骨组织中 Cbfa1 的 mRNA 表达水平降低,说明 Cbfa1 的 mRNA 表达水平降低与骨质疏松发病密切相关;而给予尼尔雌醇和左归丸治疗 60, 120, 180 d 后,和模型组比较,左归丸各剂量组骨组织中 Cbfa1 的 mRNA 水平显著

上升($P < 0.01$),并且存在一定的量效关系;和模型组比较,尼尔雌醇组骨组织中 Cbfa1 的 mRNA 水平显著上升($P < 0.01$)。说明左归丸能够上调股骨组织中的 Cbfa1 的 mRNA 表达水平,从而纠正骨质疏松时的骨代谢异常,这可能是左归丸作为补肾填精方剂防治 PMOP 的作用途径之一。

[参考文献]

- [1] 李毅,于秋滨,陶天遵,等.中老年妇女骨质疏松症的流行病学调查[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(4):263.
- [2] 李旭,白文佩,刘忠厚.绝经后妇女骨质疏松症的治疗进展[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(9):607.
- [3] 段水竹.中医药防治绝经后骨质疏松症的实验研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2006,12(6):643.
- [4] 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.
- [5] 鞠大宏,吴萍,贾红伟,等.左归丸对卵巢切除所致骨质疏松大鼠骨钙素和降钙素含量的影响[J].中国中医药信息杂志,2003,10(1):16.
- [6] 刘梅洁,潘静华,李艳,等.左归丸对糖皮质激素所致骨质疏松大鼠血清中 BGP, IGF- I 含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):133.
- [7] 刘立萍,任艳玲,李然,等. JUK 通路对左归丸含药血清调控 MC3T3 成骨细胞 Runx2 mRNA 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(14):123.
- [8] Kojima H, Uemura T. Strong and rapid induction of osteoblast differentiation by Cbfa1/Til-1 overexpression for bone regeneration [J]. J Biol Chem, 2008, 280(4):2944.
- [9] Dong S W, Ying D J, Duan X J, et al. Bone regeneration using an acellular extracellular matrix and bone marrow mesenchymal stem cells expressing Cbfa1 [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(10):2226.
- [10] 任艳玲,李娅玲,吕海波,等.左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠肾脏 TGF- β_1 /Smad4 mRNA 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(10):171.

[责任编辑 聂淑琴]