

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.02.029

基于 Wnt / β - catenin 信号通路的中医药防治骨质疏松症研究进展*

金颖慧, 闫国强, 张俊艳, 张倩, 李宝芬

(河北省沧州中西医结合医院, 河北 沧州 061000)

摘要:目的 为中医药防治骨质疏松症提供参考。方法 以“Wnt / β - catenin 信号通路”“骨质疏松症”“中医药”为关键词, 检索国内外数据库中相关文献, 分别探讨骨质疏松症的发病机制、Wnt / β - catenin 信号通路与骨质疏松症的关系及中医药基于 Wnt / β - catenin 信号通路防治骨质疏松症的研究进展。结果 Wnt / β - catenin 信号通路与骨质疏松症的发生密切相关。现阶段关于中医药防治骨质疏松症的研究较广泛, 组方中应用频次较高的中药包括熟地黄、淫羊藿、黄芪、骨碎补、补骨脂, 其中大部分被证实可通过调控 Wnt 信号通路或下游靶基因表达促进骨形成和骨矿化。结论 以 Wnt / β - catenin 信号通路为切入点研究骨质疏松症的防治, 可为该病的中医药治疗和中药研发提供一定的理论依据。

关键词: 中医药; 骨质疏松症; Wnt / β - catenin 信号通路; 研究进展

中图分类号: R932 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)02-0102-06

Research Progress of the Prevention and Treatment of Osteoporosis with Traditional Chinese Medicine Based on Wnt / β - Catenin Signaling Pathway

JIN Yinghui, YAN Guoqiang, ZHANG Junyan, ZHANG Qian, LI Baofen

(Hebei Cangzhou Hospital of Integrated TCM - WM, Cangzhou, Hebei, China 061000)

Abstract: Objective To provide a reference for the prevention and treatment of osteoporosis with traditional Chinese medicine (TCM). **Methods** With the keywords of "Wnt / β - catenin signaling pathway" "osteoporosis" and "TCM", the relevant literature in domestic and foreign databases were searched to elaborate the pathogenesis of osteoporosis, the relationship between Wnt / β - catenin signaling pathway and osteoporosis, and the research progress of TCM in the prevention and treatment of osteoporosis based on Wnt / β - catenin signaling pathway. **Results** Wnt / β - catenin signaling pathway is closely related to the occurrence of osteoporosis. At present, the research on the prevention and treatment of osteoporosis with TCM is relatively extensive. The TCM with the high frequency of application in the formulation includes Rehmanniae Radix Preparata, Epimedii Folium, Astragali Radix, Drynariae Rhizoma, and Psoraleae Fructus, and most of them are confirmed to promote bone formation and mineralization by regulating Wnt signaling pathway or downstream target gene expression. **Conclusion** Taking the prevention and treatment of osteoporosis with TCM through the Wnt / β - catenin signaling pathway as the breakthrough point, it is can provide a theoretical basis for the treatment of this disease with TCM and the research and development of TCM.

Key words: traditional Chinese medicine; osteoporosis; Wnt / β - catenin signaling pathway; research progress

骨质疏松症为全身慢性代谢性疾病, 主要特征是骨密度降低、骨微结构破坏, 造成脆性增加^[1], 易导致骨折。其严重的不良反应事件为发生脆性骨折, 较轻的碰撞、跌倒, 甚至咳嗽均可能导致骨折发生, 威胁老年人的身体健康。骨密度受一系列细胞因子、信号通路的影响和控制。骨代谢过程中的信号传递调控机制的障碍为诱导骨质疏松症关键因素, 对于 Wnt 信号通路影响骨代谢调节机制的研究日益增多, 该通路分为经典与非经典两类, 目前仅对前者的研究较多。中医药防治骨质疏松症日益受到重视, 并突显出巨大优势。在此, 以“Wnt / β - catenin 信号通路”“骨质疏松症”“中医药”为

关键词, 检索国内外数据库中相关文献, 总结 Wnt / β - catenin 信号通路对骨质疏松症的影响及中医药防治骨质疏松症的研究进展。现报道如下。

1 发病机制

骨质疏松症主要发病机制为骨代谢失衡, 即骨吸收大于形成, 其以破骨细胞活动占优势或成骨细胞活动不足、成骨性刺激不够等为主要致病因素^[2-3]。骨系统平衡一旦被打破, 会导致骨量减少、骨密度下降, 引发骨质疏松。骨重建可维持骨代谢平衡, 该过程包括激活、骨吸收、偶联、骨形成、休止 5 个阶段^[4]。成骨细胞(骨形成细胞)和破骨细胞(骨吸收细胞)在骨重建过程

*基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目[2020518]。

第一作者: 金颖慧, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药制剂研发, (电子信箱)394307477@qq.com。

中起主要作用,其可成为治疗骨质疏松症的着手点。

2 Wnt / β - catenin 通路与疾病的关系

Wnt / β - catenin 信号通路在调控细胞的增殖、分化、凋亡、存活及癌变等过程中起重要作用,这可能与参与骨代谢有关^[5]。Wnt / β - catenin 通路主要由细胞外 Wnt 配体蛋白(Wnt1、Wnt3、Wnt3a、Wnt7b、Wnt8 等)、细胞膜上的受体[Frizzled 家族分子和低密度脂蛋白受体 5 / 6(LRP5 / 6)]、细胞质内的信号传导蛋白[β 联蛋白(β - catenin)、Dsh 蛋白(Dsh)、APC 蛋白(APC)、轴蛋白(Axin)、糖原合成激酶 3 β (GSK - 3 β)等]以及细胞核内转录因子[T 细胞因子 / 淋巴增强因子(TCF / LEF)]等几部分组成^[5]。有研究表明,Wnt 信号通路可通过调控成骨细胞及破骨细胞,引发骨改建,影响骨形成和骨代谢,进而改善骨质疏松症程度^[6-8]。

成骨细胞是由成骨细胞前体衍生而来的单核细胞单位。它负责制造骨的主要蛋白和骨钙素、骨桥蛋白等 I 型胶原蛋白,构成骨的有机环境;还负责骨矿化和制造酶碱性磷酸盐。研究显示,成骨细胞在控制破骨细胞形成中起重要作用^[9]。骨细胞为另一种类型骨组织的细胞,主要源于成骨细胞中骨髓间充质干细胞(BM - MSCs)分化,也参与骨的维持和矿化。许多不同骨骼疾病的治疗方法均通过骨细胞发挥作用。激活 Wnt / β - catenin 信号通路可促进成骨细胞的增殖,且可调节成骨细胞分化的各个时期,例如 Wnt3a 可通过 Wnt / β - catenin 信号通路,促进 BM - MSCs 向成骨细胞分化,并且在成骨诱导的早期刺激效果最明显,在成骨诱导的后期,Wnt3a 对成骨诱导效果明显减弱^[10]。当 BM - MSCs 开始向成骨方向分化时,Wnt 信号通路可促使干细胞向成骨分化,即细胞形态由梭形转变为多角形^[11]。而 Wnt 信号通路的拮抗分子,如分泌型卷曲相关蛋白(SFRP)、通路抑制剂 Dickkopf - 1(DKK1)等在成骨细胞分化后期表达量明显增加,可阻止 Wnt 蛋白的下行传导,阻碍成骨细胞的活动,进而抑制成骨;反之,拮抗分子的失活则可导致高骨密度症^[12]。LRP5 在骨代谢中起重要作用,作为 Wnt 受体和 β - catenin 的上游基因,其激活可导致骨量增高,失活则可导致骨量减少,进而诱发骨质疏松症^[13]。 β - catenin 为 Wnt 信号通路的关键调节因子,在细胞信号传导过程中起重要作用,当激活 Wnt 信号通路时, β - catenin 通过与核内转录因子(TCF / LEF)DNA 结合,改变 DNA 结构启动下游靶基因的转录,促进成骨细胞的分化、增殖; β - catenin 的缺失可使成骨细胞的数量减少,破骨细胞数量增加,从而影响骨的生理功能,导致骨质疏松^[14]。Wnt 信号通路中的 GSK - 3 β 具有双向作用,其通过磷酸化 β - catenin 促进其降解进而减少其含量,抑制成骨细胞的增殖;同时 GSK - 3 β 可

与 Axin 向细胞膜移动并结合配体,磷酸化 LRP5 / 6 并形成的大量蛋白质体可阻断 GSK3 β ,促进 β - catenin 活动。GSK - 3 β 抑制剂可通过诱导成骨细胞分化及促进骨形成增加骨密度^[15]。研究表明,Wnt 可直接影响前体细胞向成骨细胞分化的总过程,当成骨细胞外 Wnt 蛋白与细胞膜上受体 LRP5 / LRP6 结合后,通过与细胞质内的 Dsh、GSK - 3 β 、Axin、DKKs 等相互作用形成二聚体,升高 β - catenin 水平,进而进入细胞核内,通过 TCF / LEF1 影响 Runx2 及 Osterix 的表达,促进成骨细胞的增殖与分化^[16-19]。

Wnt / β - catenin 信号通路激活后可调控破骨细胞的表达,对其生成、分化过程具有重要的影响^[20-21]。破骨细胞是由骨髓巨噬细胞在关键细胞因子、巨噬细胞集落刺激因子(M - CSF)、核因子(NF - κ B)配体受体激活因子(RANKL)的存在下产生的^[22],为致死性分化的髓样多核破骨细胞前体,其转化可消除矿化骨环境。破骨细胞前体在血液中流动,由这些前体的合成产生骨髓和成体破骨细胞。在骨吸收过程中,破骨细胞附着于骨,并在其细胞质的大致圆形延伸中与骨基质形成密封,在这些密封区域内,破骨细胞形成皱褶的边界膜。这种封闭和分泌意味着骨基质降解,骨矿物质溶解,可保护邻近细胞免受盐酸伤害。Wnt / β - catenin 信号通路主要的配体 Wnt3a 与破骨细胞具有密切关系。Wnt3a 通过与破骨细胞表面的卷曲蛋白(Frz)和 LRP5 / LRP6 复合物结合,激活 Wnt 信号通路,促进细胞内的 Axin - APC - GSK - 3 β 复合体形成,导致 GSK - 3 β 无法磷酸化 β - catenin,当后者在破骨细胞内聚集到一定浓度后,就会进入细胞核内,启动基因转录而发挥作用^[23],在任何状态下,破骨细胞中 β - catenin 的失活均能增加破骨细胞的数量和骨吸收,导致骨量减少^[24]。成骨细胞内 Wnt 信号改变会引起其分化,一小部分可能由破骨细胞功能改变或 RANKL 信号通路改变引起^[23]。而成骨细胞或其他细胞产生的 Wnts 也会影响破骨细胞功能。如成骨细胞来源的 Wnt5a 可增强破骨细胞分化^[25]。但有相关文献发现,人体即便在缺少骨保护素(OPG)的条件下,Wnt 系统依然具有骨保护的作用^[24]。

3 中医病解及中药点评

3.1 中医病解

骨质疏松症属中医“骨痿”“骨痹”“骨枯”“骨极”范畴。古文中也有“历节”“骨肉疏薄”等相似记载^[26]。中医理论认为,肾为先天之本,主骨,滋养骨骼,《素问·六节脏象论》曰“肾者……封藏之本……其充在骨”,肾精充足骨髓得养,肾精不足则骨痿无力。《灵枢·本脏》有论述“经脉者,所以行血气而营阴阳,濡筋骨,利关节者也”,瘀血阻滞,气血不能濡养骨骼,则关节不利。骨质

疏松症病位虽在骨骼,但存在脏腑失调,肾脏及脾胃功能失司,病因病机有虚有实,多以虚为主,气虚及肾气不足为根本,脾胃虚损、脉络瘀阻是发病的重要因素。相关文献表明,肾虚是原发性骨质疏松症发生发展的重要病机。而补益药可改善患者的肾阴虚、肾阳虚症状,有补气血阴阳功效,以助患者补阳滋阴,调和气血,益气健脾^[27]。

3.2 中药点评

近年来,许多经典中药方,如左归丸^[28]、益骨汤^[29]、壮骨止痛方^[30]等均被证实具有上调 Wnt / β - catenin 通路表达、促进 BMSCs 成骨分化、增加骨密度的作用。中药复方^[31]组成以滋补肝肾类淫羊藿、补骨脂、骨碎补等为主,配以熟地黄、白芍等补血药,或黄芪等补气药等加减而成。大部分上述中药被证实可通过调控 Wnt 信号通路或下游靶基因表达促进骨形成和骨矿化,故挑选其中应用频率较高的5种总结如下。

熟地黄:性温,味甘,功效长于补。《本草纲目》中记载熟地黄“填骨髓,长肌肉,生精血,补五脏、内伤不足”。现代药理学研究表明,熟地黄含梓醇、地黄苷(A, B, D等)、地黄素、氨基酸、糖类等成分,具有抗氧化、抗癌、抗衰老、影响骨代谢等作用^[32-33]。熟地黄可促进骨形成,抑制骨破坏,延缓骨量丢失,促进骨系统平衡,进而防治骨质疏松症。临床研究发现六味地黄丸联合唑来膦酸治疗绝经后骨质疏松症,可通过降低血清中 I 型胶原氨基端前肽(PINP)、 β - 胶原降解产物(β - CTX)、碱性磷酸酶(ALP)及骨钙素(BGP)的水平,进而使腰椎 1 - 4、全髌关节骨和左侧股骨颈部位的骨密度增加,缓解患者的骨质疏松症症状^[34]。另有研究表明,右归丸联合阿仑膦酸钠治疗肾虚证型的绝经后骨质疏松症,可在一定程度上改善骨密度并缓解患者因骨质疏松症导致的腰背部疼痛,缓解其疲劳症状^[35]。熟地黄在中药复方中多作为君药发挥抗骨质疏松的作用。研究发现,地黄水提取物治疗去卵巢骨质疏松症模型大鼠 8 周后,实验大鼠的股骨及腰椎骨密度均显著增加,且不影响其雌激素水平^[36]。欧莉等^[37]研究表明,熟地黄配伍黄芪能明显升高 Wnt2、LRP5 及 β - catenin mRNA 的表达水平,说明熟地黄 - 黄芪可能通过激活 Wnt / LRP / β - catenin 信号通路,抑制 β - catenin 的降解,使 β - catenin 稳定积聚于细胞质中,进而促进成骨细胞的增殖分化,调节骨代谢。

淫羊藿:性温,味辛、甘,长于壮肾阳。《神农本草经》云:“淫羊藿主阴痿绝伤,益气力,强志。”《本草纲目》指出,淫羊藿具有“强心力、坚筋骨、益精气、实腰膝”功效。研究表明,淫羊藿具有雌激素样作用,无毒副作用,口服后产生的活性代谢产物能直接刺激 BM - MSCs

的增殖,并诱导其向成骨细胞方向分化,从而改善骨质疏松^[38-40]。临床运用淫羊藿总黄酮治疗老年骨质疏松性桡骨远端骨折,可有效缩短骨折愈合时间,促进腕关节功能恢复,改善骨质疏松效果明显^[41]。且淫羊藿可有效增加患者的骨密度,缓解腰背疼痛程度,对骨质疏松症疗效确切^[42]。淫羊藿总黄酮为淫羊藿的主要有效成分,具有提高 BM - MSCs 向成骨分化的能力以及抑制破骨细胞活性和破骨细胞生成的双重活性,可防治骨质疏松症^[43-45];淫羊藿素对大鼠 BM - MSCs 的增殖效果具有浓度依赖性^[46];淫羊藿苷通过 ER α - Wnt / β - catenin 通路促进 BMSCs 向成骨分化,促进骨生成,并可利用 ER α 相关的 OPG / RANKL / RANK 系统,抑制破骨细胞生成,进而抑制骨吸收^[47]。李磊等^[48]研究发现,淫羊藿苷可诱导 MSCs 向成骨细胞分化,也可通过促进 Wnt3a 相关基因和蛋白的表达促进 MSCs 向成骨细胞分化。还发现,淫羊藿苷能提高 ALP 活性,促进钙化结节的形成,从而促进 BMSCs 向成骨细胞分化。进一步研究表明,淫羊藿可明显上调成骨分化基因(Runx2, osteopontin, DLX5, osteocalcin, collagen type I, ER α)以及 Wnt 信号通路相关基因(β - catenin, Lef1, TCF7, c - jun, c - myc, cyclin D)的表达,但该促进作用可被 Wnt / β - catenin 信号通路的抑制剂 DKK1 抑制^[49]。可见,淫羊藿可能通过激活 Wnt / β - catenin 信号通路防治骨质疏松症。

黄芪:味甘,性微温,归脾、肺二经,补益力较强,且有直接补肾气的作用,《本草纲目》第十二卷草部一中记载“黄芪,味甘,微温,无毒。主治补虚,小儿百病,又补丈夫虚损,五劳羸瘦,益气,利阴气。主虚喘,肾衰耳聋”^[50]。《汤液本草》中指出,黄芪“治伤寒尺脉不至,又补肾脏元气,为里药,是上中下内外三焦之药”,明确其“补肾脏元气”^[51]。《日华子本草》中记载黄芪具有“助气,壮筋骨”功效^[52]。临床运用黄芪可很好地缓解患者的腰腿疼痛、麻木无力等骨质疏松症状,其组方能抑制破骨细胞,减轻骨丢失程度,从而发挥抑制骨组织的吸收和增加骨量的作用^[53]。黄芪主成分为黄酮类、黄芪多糖,其具有提升免疫力、抗病毒、抗菌、保护心脑血管的重要作用,且在治疗骨质疏松症方面疗效明显。黄芪多糖可通过促进成骨细胞 MC - 3T3 - E1 的增殖发挥防治骨质疏松症的作用^[54]。黄芪可提高性激素水平及胃肠消化与吸收功能,并可促进钙、磷、镁等众多微量元素的吸收,促使骨量增多及骨密度升高^[55]。此外,骨质疏松症以黄芪治疗,患者腰椎和股骨骨密度值会随治疗时间



延长而显著升高,肾虚症的评分呈明显下降趋势,症状改善明显。大量研究证实,黄芪及其复方是通过 Wnt / β - catenin 信号通路促进成骨细胞的增殖、矿化和表达,从而发挥防治骨质疏松症的作用。黄芪甲苷通过调节 FoxO3a / Wnt2 / β - catenin 通路,升高 β - catenin 和 Wnt2 蛋白表达水平,抑制 FoxO3a 蛋白表达水平,可有效缓解氧化应激介导的去卵巢大鼠的骨质疏松症^[56]。欧莉等^[57]研究发现,黄芪注射液联合摩擦步训练可降低绝经期骨质疏松症患者血清 ALP, BGP 含量及血清中白细胞介素(IL) - 8、肿瘤坏死因子 - α (TNF - α)含量,升高 IL - 10 及骨密度,对绝经期骨质疏松症疗效确切。

骨碎补:味苦,性温,归肝、肾经,有坚肾、补肾强骨功效。骨碎补始载于《本草拾遗》,清朝《本草述》中记载骨碎补“可治腰痛行痹”。骨碎补可抑制骨吸收相关的 OPG / RANKL / RANK 通路、CTSK 信号通路中的调控蛋白,或促进与骨形成相关的 Wnt / β - catenin 通路和 BMP 通路中调控蛋白的合成和释放,改善骨代谢不平衡,从而防治骨质疏松症。骨碎补抗骨质疏松症的主要成分为总黄酮,其活性单体成分含量较高的为柚皮苷及新北美圣草苷。实验研究发现,骨碎补总黄酮促进 BMSCs 成骨分化早期 β - catenin、LEF - 1、cyclin D 的 mRNA 表达,抑制 BMSCs 成骨分化晚期 β - catenin、LEF - 1、cyclin D 的 mRNA 表达,表明此过程中 Wnt / β - catenin 信号通路可能主要参与 BMSCs 成骨早期分化^[58]。柚皮苷可通过 Wnt / β - catenin 信号通路抑制人脂肪源性间充质干细胞(hADMSCs)因氧化反应导致的成骨分化^[59]。研究发现,柚皮苷可通过调节 Akt 和 AMPK 激活 β - catenin,促进 β - catenin 的 mRNA 和蛋白表达,并促进 UMR - 106 细胞中 β - catenin 的 Ser552 磷酸化,进而激活 LEF, TCF 转录因子,说明柚皮苷可通过影响 Wnt / β - catenin 信号通路促进去卵巢骨质疏松症模型小鼠成骨细胞的形成^[60]。另有研究报道,柚皮苷能有效地抗去卵巢骨质疏松症,促进 BMSCs 的增殖和分化,增加 BGP 的表达,并增加骨密度、增大骨体积和小梁厚度,可有效逆转卵巢切除术引起的大鼠骨质疏松症^[61]。但有研究表明,骨碎补中另一抗骨质疏松症的活性成分新北美圣草苷在 MC3T3 - E1 细胞增殖和成骨分化方面优于柚皮苷,其可促进 ALP 活性及上调 Runx2、COL1 和 OCN 的表达,可成为治疗骨质疏松症的候选药物^[62]。目前,新北美圣草苷抗骨质疏松症的研究尚少,柚皮苷抗骨质疏松症实验多限于去势骨质疏松症模型,表明骨碎补抗骨质疏松症的活性成分还需进一步研究。

补骨脂:味辛、苦、性温,入脾、肾二经,补肾阳,固肾气。《本草经疏》云“补骨脂,能暖水土…壮火益土之

要药也”。《药性论》记载其能“治男子腰痛、膝冷…腹中冷”。《惠民和剂局方》中记载“补骨脂丸主治肾虚阳痿证”。研究表明,补骨脂主要成分补骨脂素可促进成骨细胞分化成熟,并可调控免疫功能,抑制破骨细胞分化及骨吸收^[63]。治疗骨质疏松常用临床组方中常含补骨脂,可补肾助阳,强筋健骨,增加骨密度^[64]。如以青娥丸(补骨脂、杜仲、胡桃、蒜)连续治疗绝经后骨质疏松6个月,发现其可能通过下调 DKK1 的表达及增加 β - catenin 蛋白表达水平,提高 Wnt / β - catenin 信号通路活性,进而促进成骨细胞的骨形成,从而增加骨密度^[65]。DKK1 作为阻断 Wnt / β - catenin 信号通路的抑制剂,可使 Wnt3a、LRP5 和下游的 β - catenin 显著降低,使用较高浓度的补骨脂酚或补骨脂二氢黄酮处理后, Wnt3a、LRP5 和 β - catenin 的表达显著升高,且呈剂量依赖性,补骨脂酚和补骨脂二氢黄酮具有雌激素样作用,促进成骨细胞分化^[66],表明补骨脂酚和补骨脂二氢黄酮可能通过上调 Wnt / β - catenin 信号通路来诱导成骨细胞的分化。

4 小结与展望

目前临床治疗骨质疏松症的主要药物有雌激素类、降钙素、双膦酸盐类、钙剂和维生素类、甲状旁腺激素、锶盐、雷诺昔芬、氟化物及硬化蛋白抗体等,可通过抑制破骨细胞的破骨作用,促进成骨细胞的成骨作用,达到骨代谢正平衡,治疗骨质疏松,但长期使用有一定风险,故临床应用受限制^[67]。传统中医学采用整体观,辨证论治,如《中国老年骨质疏松症诊疗指南》中推荐的龙牡壮骨颗粒、仙灵葆葆胶囊和强骨胶囊等,治疗骨质疏松均有一定效果。查阅中医药防治骨质疏松症的相关文献资料,发现熟地黄、淫羊藿、黄芪、骨碎补、补骨脂等均可通过调控 Wnt / β - catenin 等信号通路促进成骨细胞分化,促进骨形成,增加骨密度。目前正处于临床研究中的新药 DKK1 抗体,可通过阻止溶骨性病由来治疗骨质疏松,增加骨形成^[68]。而研究已表明补骨脂可降低 DKK1 的表达及增加 β - catenin 蛋白表达水平,提高 Wnt / β - catenin 信号通路活性,进而促进成骨细胞的骨形成,从而增加骨密度^[69]。目前临床用于治疗骨质疏松症的药物种类繁多,尚未发现可根治此类疾病的特效药物,筛选防治骨质疏松症的安全有效药物迫在眉睫。为此,深入对中医药防治骨质疏松症的研究,可为开发出治疗骨质疏松症的中药特效药提供数据基础。

参考文献

- [1] RACHNER TD, KHOSLA S, HOFBAUER LC. Osteoporosis: now and the future[J]. Lancet, 2011, 377(9773): 1276.
- [2] 李 杨, 关雪峰. 中药对骨质疏松症骨代谢影响研究进展[J].

- 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(5): 5 - 8.
- [3] ENSRUD KE, CRANDALL CJ. Osteoporosis[J]. Ann Intern Med, 2018, 168(4): 306.
- [4] ERBEN RG. Hypothesis: Coupling between resorption and formation in cancellous bone remodeling is a mechanically controlled event [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2015, 6(5): 82.
- [5] IKEHATA M, YAMADA A, MORIMURA N, et al. Wnt / β - catenin signaling activates nephronectin expression in osteoblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 484(2): 231 - 234.
- [6] 陈明, 董启榕. Wnt与转化生长因子- β 信号在成骨细胞分化中的相互作用[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(3): 864 - 868.
- [7] YANG CL, WANG C, ZHOU J, et al. Fibronectin 1 activates WNT / β - catenin signaling to induce osteogenic differentiation via integrin β_1 interaction [J]. Lab Invest, 2020, 100(12): 1494 - 1502.
- [8] 张帆, 梁清洋, 韩超, 等. Wnt / β - catenin 信号通路调控成骨细胞、破骨细胞在骨质疏松中的作用探讨[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(10): 1540 - 1544.
- [9] MA X, LIU Y, ZHANG Y, et al. Jolkinolide B inhibits RANKL - induced osteoclastogenesis by suppressing the activation NF - κ B and MAPK signaling pathways [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 445(2): 282 - 288.
- [10] NEMOTO E, SAKISAKA Y, TSUCHIYA M, et al. Wnt3a signaling induces murine dental follicle cells to differentiate into cementoblastic / osteoblastic cells via an osterix - dependent pathway [J]. J Periodontal Res, 2016, 51(2): 164 - 174.
- [11] 赵芳英, 高秀秋, 刘焮凤. Wnt3a 对人 BMMSCs 成骨分化的影响及机制研究[J]. 中国医科大学学报, 2018, 47(7): 617 - 621.
- [12] 周维君, 车英林, 杨瑞琨, 等. 根尖周炎模型小鼠 DKK1、SFRP1 及骨形成相关分子 Runx2、Osteocalcin 的表达变化[J]. 临床口腔医学杂志, 2017, 33(12): 715 - 719.
- [13] 彭小明, 宗少晖, 曾高峰, 等. 黄精多糖不依赖于 LRP5 激活信号通路调控成骨细胞分化[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(4): 493 - 498.
- [14] 许兵, 金红婷, 刘慧, 等. 补肾活血颗粒对去势大鼠骨组织 Wnt / β - Catenin 通路的影响研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 3400 - 3405.
- [15] 张晓清, 岳丹, 贾楠, 等. Wnt 信号通路在骨细胞生物学及骨疾病中作用的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(3): 96 - 99.
- [16] DU L, NONG MN, ZHAO JM, et al. Polygonatum sibiricum polysaccharide inhibits osteoporosis by promoting osteoblast formation and blocking osteoclastogenesis through Wnt / beta - catenin signalling pathway [J]. Sci Rep, 2016, 6(8): 32261 - 32263.
- [17] 徐轶尔, 孙贵才, 于雪峰, 等. Wnt 信号传导途径与骨质疏松[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(2): 228 - 232.
- [18] ZHANG H, ZHANG GP, JIANG H. (2R, 3S) - Pinobanksin - 3 - cinnamate promotes osteoblast differentiation through cAMP and cGMP pathways [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia, 2018, 28(4): 468 - 473.
- [19] 许兵, 刘慧, 许应星, 等. 成骨细胞中经典 Wnt / β - catenin 通路研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(5): 477 - 481.
- [20] KARNER CM, LONG F. Wnt signaling and cellular metabolism in osteoblasts [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(9): 1649 - 1657.
- [21] KATO M, KATO M. Molecular genetics and targeted therapy of WNT - related human diseases (Review) [J]. Int J Mol Med, 2017, 40(3): 587 - 606.
- [22] WU Q, ZHOU X, HUANG D, et al. IL - 6 enhances osteocyte - mediated osteoclastogenesis by promoting JAK2 and RANKL activity *in vitro* [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(4): 1360 - 1369.
- [23] RUDNICKI MA. Wnt Signaling in Bone and Muscle [J]. Bone, 2015, 80: 60 - 66.
- [24] WEI W, ZEVE D, SUH JM, et al. Biphasic and dosage - dependent regulation of osteoclastogenesis by beta - catenin [J]. Mol Cell Biol, 2011, 31(23): 4706 - 4719.
- [25] TAKAYANAGI H. Osteoclast differentiation and activation [J]. Clinical calcium, 2007, 17(4): 484 - 492.
- [26] 李春岭, 王德惠, 李普宏. 骨质疏松的中医病名辨析[J]. 云南中医药杂志, 2017, 38(7): 13 - 15.
- [27] 柴艺汇, 管连城, 高洁, 等. 基于“肾藏精, 主骨”理论探讨黄芪补肾治疗骨质疏松症的机理[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(3): 671 - 673.
- [28] 李耀洋, 尚立芝, 孙河龙. 左归丸对去势骨质疏松模型大鼠 Wnt / β - catenin 信号通路的影响[J]. 实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 15 - 22.
- [29] 林晓芳, 姚新苗, 李威. 益骨汤对去势大鼠骨组织 Wnt / β - catenin 经典信号通路的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2018, 42(2): 97 - 110.
- [30] 杨军, 莫新民. 壮骨止痛方对骨质疏松大鼠 Wnt / β - catenin, RANKL / RANK / OPG 信号通路的影响[J]. 北京中医药, 2017, 36(7): 611 - 613.
- [31] 伊伟思, 刘德果, 李姿蓉, 等. 骨质疏松症中医用药规律的古文献研究[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(2): 116 - 118.
- [32] 李乃谦. 熟地黄活性成分药理作用的研究进展[J]. 中国处方药, 2017, 15(1): 14 - 15.
- [33] 陈思琦, 李佳欣, 吴鑫宇, 等. 熟地黄的药理学研究进展[J]. 化学工程师, 2019, 33(11): 46 - 50.
- [34] 陈思圆, 冯柏林, 郭伟雄, 等. 六味地黄丸联合唑来膦酸治疗妇女绝经后骨质疏松的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(5): 1140 - 1144.
- [35] 曹俊青, 郑剑南, 张麟. 右归丸联合阿仑膦酸口服治疗绝经后骨质疏松症肾虚证的临床研究[J]. 中医正骨, 2018, 30(5): 20 - 23.
- [36] LIM DW, KIM YT. Dried Root of Rehmannia Glutinososa Prevents Bone loss in Ovariectomized Rats [J]. Molecules, 2013, 18(5): 5804 - 5813.

- [37] 欧莉,左杨洁,陈佳利,等. 熟地配伍黄芪对去卵巢大鼠骨代谢的影响[J]. 陕西中医药大学学报,2018,41(3):71-74.
- [38] 罗露,袁志鹰,黄惠勇,等. 淫羊藿化学成分及药理研究进展[J]. 亚太传统医药,2019,15(6):190-194.
- [39] 李建国,谢兴文,李鼎鹏,等. 中药淫羊藿治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(3):389-393.
- [40] LIU Y, HUANG L, HAO B, et al. Use of an osteoblast overload damage model to probe the effect of icarin on the proliferation, differentiation and mineralization of MC3T3-E1 cells through the Wnt/ β -Catenin signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4):1605-1615.
- [41] 楼兴法,周江. 淫羊藿总黄酮辅助治疗老年骨质疏松性桡骨远端骨折临床疗效及对患者骨折愈合和关节功能恢复的影响[J]. 中华中医药学刊,2020,38(10):165-168.
- [42] 曾雪,唐倩,王丽娟,等. 淫羊藿治疗骨质疏松症的临床疗效[J]. 临床合理用药,2017,10(3c):101-102.
- [43] FAN JJ, CAO LG, WU T, et al. The dose-effect of icariin on the proliferation and osteogenic differentiation of human bone mesenchymal stem cells [J]. *Molecules*, 2011, 16(12):10123-10133.
- [44] LI CR, LI Q, MEI QB, et al. Pharmacological effects and pharmacokinetic properties of icariin, the major bioactive component in *Herba Epimedii* [J]. *Life Sciences*, 2015, 126:57-68.
- [45] 熊吻,甘振宝,范江华,等. 淫羊藿素对大鼠BMMSCs增殖的影响[J]. 广西中医药,2018,41(1):54-56.
- [46] 蔡国雄,曾意荣,曾建春. 淫羊藿苷基于ER α -Wnt/ β -catenin信号通路对骨质疏松大鼠成骨分化的影响及机制研究[J]. 中医临床研究,2018,10(11):1-4.
- [47] 曾建春,曾意荣,樊粤光,等. 淫羊藿苷诱导MSCs向成骨细胞分化过程中对Wnt信号通路的影响[J]. 广州中医药大学学报,2014,31(4):607.
- [48] 李磊,郑怀亮,寇玉,等. 淫羊藿苷诱导骨髓间质干细胞成骨细胞分化的研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(6):2599-2601.
- [49] WEI Q, ZHANG J, HONG G, et al. Icariin promotes osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by activating the ER α -Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84:931.
- [50] 李时珍编著. 夏魁周校注. 李时珍医学全书[M]. 北京:中国中医药出版社,1996:328.
- [51] 王好古. 汤液本草[M]. 北京:人民卫生出版社,1987:76.
- [52] 韩保昇. 日华子本草:蜀本草[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2005:52-53.
- [53] 张鹏. 黄芪桂枝五物汤加减治疗原发性骨质疏松症气虚血瘀证的临床观察[J]. 河北中医,2017,39(2):227-230.
- [54] 柴艺汇,高洁,陈云志,等. 黄芪多糖对小鼠MC-3T3-E1成骨细胞维生素D受体mRNA及蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药,2018,29(6):1281-1283.
- [55] 庞江娜,吴永富,梁芳,等. 黄芪注射液联合摩擦步训练对绝经期骨质疏松症患者雌激素水平及骨密度影响的研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(12):139-142.
- [56] 成鹏,白银亮,胡彩莉,等. 黄芪甲苷通过调控FoxO3a/Wnt2/ β -catenin通路抑制去卵巢大鼠骨质疏松的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(15):161-166.
- [57] 欧莉,张素宁,曾小红,等. 黄芪配伍熟地对去卵巢骨质疏松症大鼠骨组织形态的影响[J]. 时珍国医国药,2013,24(5):1097-1098.
- [58] 郭英,李佩芳,舒晓春,等. 骨碎补总黄酮对BMSCs成骨分化过程中Wnt/ β -catenin信号通路的影响[J]. 中华医学杂志,2012,92(32):2288-2291.
- [59] WANG L, ZHANG YG, WANG XM, et al. Naringin protects human adipose-derived mesenchymal stem cells against hydrogen peroxide-induced inhibition of osteogenic differentiation [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2015, 242(10):255-261.
- [60] WANG D, MA W, WANG F, et al. Stimulation of Wnt/ β -Catenin Signaling to Improve Bone Development by Naringin via Interacting with AMPK and Akt [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(4):1563-1576.
- [61] LI N, JIANG Y, WOOLEY PH, et al. Naringin promotes osteoblast differentiation and effectively reverses ovariectomy-associated osteoporosis [J]. *J Orthop Sci*, 2013, 18(3):478-485.
- [62] LI L, ZENG Z, CAI G. Comparison of neoeriocitrin and naringin on proliferation and osteogenic differentiation in MC3T3-E1 [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(11):985-989.
- [63] 叶志伟,王丹,杨钟华,等. 补骨脂素对乳鼠颅骨成骨细胞分化成熟的影响[J]. 基因组学与应用生物学,2020,39(1):402-406.
- [64] 李劲平,谢保平,章文娟,等. 补骨脂素通过调控CD4⁺T细胞分化抑制RAW264.7向破骨细胞分化和骨吸收[J]. 中国中药杂志,2018,43(6):1228-1234.
- [65] 王志远. 补肾健骨汤辅助骨质疏松性胸腰椎压缩性骨折临床观察[J]. 光明中医,2019,34(24):3751-3753.
- [66] 罗丽梅,李杰,杨帆,等. 骨质疏松发病机制及治疗药物研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(4):610-614.
- [67] MATSUDA M, SHIMOMURA I. Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer [J]. *Obes Res Clin Pract*, 2013, 7(5):e330-e341.
- [68] 沈霖,马陈,帅波,等. 青城丸对绝经后骨质疏松症患者 β -catenin和DKK-1表达水平的影响[J]. 中西医结合研究,2016,8(6):281-284.
- [69] WENG ZB, GAO QQ, WANG F, et al. Positive skeletal effect of two ingredients of *Psoralea corylifolia* L. on estrogen deficiency induced osteoporosis and the possible mechanisms of action [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 417:103-113.

(收稿日期:2022-04-22;修回日期:2022-07-28)