

· 药物研究 ·

骨松安激活 Runx 2/Osterix 途径促进骨质疏松性骨折愈合的机制研究

黄永铨^{1,2} 侯秋科³ 陈善创¹ 刘子桃¹ 刘启宇¹ 刘军¹ 江涛^{1*}

1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510006

2. 广州中医药大学研究生院, 广东 广州 510006

3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021)08-1195-06

摘要: **目的** 初步探索骨松安促进骨质疏松性骨折愈合的机制。**方法** 建立骨质疏松性骨折大鼠模型, 采用骨松安进行治疗, 分别于7、14、21 d取出骨折端骨痂, 通过HE染色观察骨痂生长情况, 采用免疫组化、RT-qPCR检测Runx 2、Osterix的表达。**结果** HE染色结果显示, 骨松安治疗可在早期促进骨质疏松性骨折大鼠骨折端软骨细胞增生、成骨细胞成熟分化及编织骨形成。免疫组化、RT-qPCR结果显示, 骨质疏松性骨折组大鼠Runx 2与Osterix的表达一直处于较低水平, 在骨松安持续治疗下, Runx 2与Osterix的表达得到明显改善。**结论** 骨松安可激活Runx 2/Osterix途径, 加速前成骨细胞向成骨细胞分化, 促进骨质疏松性骨折大鼠的骨折愈合。

关键词: 骨松安; 骨质疏松症; 骨折愈合; 成骨分化

Study on the mechanism of Gusongan activating runx 2/osterix pathway to promote the healing of osteoporotic fractures

HUANG Yongquan^{1,2}, HOU Qiuke³, CHEN Shanchuang¹, LIU Zitao¹, LIU Qiyu¹, LIU Jun¹, JIANG Tao^{1*}

1. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. Graduate School of Guangzhou University of traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

* Corresponding author: JIANG Tao, Email: homejiangtao@126.com

Abstract: Objective To preliminarily explore the mechanism of Gusongan's promotion of osteoporotic fracture healing.

Methods A rat model of osteoporotic fracture was established and treated with Gusongan. The callus at the fractured end was taken out on 7 days, 14 days, and 21 days. The growth of the callus was observed by HE staining. The expression of Runx2 and Osterix were detected by immunohistochemistry and RT-qPCR. **Results** The result of HE staining showed that Gusongan treatment can early promote the proliferation of chondrocytes, the maturation and differentiation of osteoblasts and the formation of braided bone in the fracture end of osteoporotic fracture rats. The result of immunohistochemistry and RT-qPCR showed that the expression of Runx2 and Osterix in the osteoporotic fracture group had been at a low level, and the expression of Runx2 and Osterix had been significantly improved under the continuous treatment of osteoporosis. **Conclusion** Gusongan can activate the Runx2/Osterix pathway, accelerate the differentiation of pre-osteoblasts into osteoblasts, and promote fracture healing in rats with osteoporotic fractures.

Key words: Gusongan; osteoporosis; fracture healing; osteogenesis

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种由于骨强

度降低而使骨折风险升高的全身性骨骼疾病, 骨折是其最常见、最严重的并发症^[1]。由于骨结构改变, 一旦发生骨折, 将难以获得较稳定的固定, 即使采用手术治疗, 也会因为骨质疏松影响内固定的稳定性, 导致内固定失败、并发症增加, 康复时间延

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81804047); 广东省自然科学基金(2018A030313694)

* 通信作者: 江涛, Email: homejiangtao@126.com

长^[2]。骨松安胶囊是治疗绝经后妇女骨质疏松症的经验方,在广东省中医院使用 20 余年,临床疗效肯定,无明显副作用^[3],但其作用机制尚未明确。Runx 2 是成骨细胞分化过程中重要的转录因子^[4],Osterix 处于其下游,且只在骨组织细胞中表达^[5]。研究^[6]表明,Runx 2/Osterix 途径是目前在骨质疏松症及骨质愈合研究中起关键作用的通路。因此,本研究将初步探讨骨松安促进骨质疏松性骨折愈合的机制,明确其是否与 Runx 2/Osterix 途径相关,为骨松安的临床应用及进一步试验提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:60 只 8 周龄雌性 SPF 级 SD 大鼠,购于广州中医药大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2019-0020。将大鼠分为 6 组,分别是对照组 6 只,骨质疏松组 6 只,单纯骨折组 12 只,单纯骨折+骨松安组 12 只,骨质疏松骨折组 12 只,骨质疏松骨折+骨松安组 12 只。本研究采用的动物符合《关于善待实验动物的指导性意见》,通过动物伦理委员会批准。

1.1.2 骨松安的组成与准备:骨松安为广东省中医院院内制剂(粤药制字 Z20080140),主要成分为:淫羊藿、当归、盐山茱萸、泽泻、盐杜仲等。功能主治:温肾健骨,健脾益气。临床用于原发性或继发性骨质疏松症的治疗。药物用法用量:温开水送服,4 粒/次,3 次/d。使用前采用蒸馏水溶解量为 175 mg/mL。

1.2 方法

1.2.1 建立骨质疏松症大鼠模型^[7]:通过水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,取背部双侧切口,钝性分离,切除双侧卵巢后逐层缝合,上述过程严格无菌操作。术后 3 d 给予青霉素预防感染。对照组不切除两侧卵巢,仅将卵巢周围的脂肪切除。1 个月后进行 Micro-CT 扫描测量骨密度。

1.2.2 Micro-CT 扫描:将大鼠放置于 Micro-CT (LCT-200,日本 Hitachi-Aloka)中进行扫描,电压 50 kV、电流 0.5 mAs,分辨率 24 μm ,扫描角度 360°,获取连续的 200 张断层图像,选取感兴趣区域(ROI)通过 Latheta 软件进行骨密度、骨体积、相对骨体积等分析。

1.2.3 建立骨质疏松性骨折大鼠模型^[8]:通过水合氯醛将大鼠麻醉,常规消毒皮肤,取股骨外侧皮肤纵行切口长约 3 cm,先暴露髌韧带,采用 10 mL 注

射器针头从股骨髁间窝处逆行插入股骨髓腔,然后暴露股外侧肌肌间隙,钝性分离暴露股骨干中段,行股骨中段横断骨折,确定骨折固定稳固,伤口清洗,逐层缝合。上述过程严格无菌操作,术后 3 d 给予青霉素预防感染。

1.2.4 给药:单纯骨折组(A组)采用蒸馏水灌胃,单纯骨折+骨松安组(B组)采用骨松安灌胃,骨质疏松骨折组(C组)采用蒸馏水灌胃,骨质疏松骨折+骨松安组(D组)采用骨松安灌胃,剂量均为 175 mg/kg。每天 9、13、17 点进行灌胃。采取骨折三期辨证的原则,在用药后第 7、14、21 天取大鼠骨折断端骨痂进行检测。

1.2.5 骨折断端骨痂 HE 染色:采用 4%的多聚甲醛对骨折断端骨痂进行浸泡固定,24 h 之后采用 20%的 EDTA 脱钙浸泡 5 周,之后洗涤、脱水、透明、包埋。对组织进行纵行切片,每张厚度为 5 μm ,切片脱蜡、水化、苏木精染细胞核,盐酸及乙醇分化、伊红染细胞浆,再透明脱水,中性树脂胶封片,光镜下观察骨痂的形态学情况。

1.2.6 免疫组化检测骨折断端 Runx 2、Osterix 的表达:上述切片脱蜡之后,用过氧化氢将内源性过氧化物封闭,加入复合消化液,孵育 20 min 并洗涤之后一抗 Runx 2、Osterix 孵育过夜,第二天洗涤之后,滴入生物素化羊抗兔二抗,洗涤之后 DAB 显色,苏木精复染,洗涤、透明、封片之后,观察细胞染色情况。当细胞核显示为棕黄色染色时,即为阳性细胞。采用 Olympus BX63 显微镜对图像进行采集,并采用自带软件系统计算出阳性细胞比例。

1.2.7 RT-qPCR 检测骨折断端 Runx 2、Osterix 的表达:各组骨痂组织于 4℃上研磨,按照 Trizol 试剂说明书提取骨痂标本总 RNA。RT-PCR 制备 cDNA,反应总体积 20 μL ,RNA 模板量 2 μg 。引物设计: GAPDH 上游:5'-GCAAGGATA CTGAGAGCAAGAG-3',下游:5'-GGATGGAATTGTGAGGGAGATG-3'; Osterix 上游:5'-CCAATGACTACCCACCCTTTC-3',下游:5'-TAGGCAGGCAGTCAGAAGA-3'; Runx 2 上游:5'-GGACCGACACAGCCATATAAA-3',下游:5'-GCCTCATTCCTAACCTGAAA-3'。PCR 反应、扩增条件参考文献[8]。采用荧光染料技术进行实时定量 PCR 反应,获取标准曲线,分析 CT 值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 进行统计分析,计量资料采取均数 $\pm$ 标准差表示,两组之间比较采用 *t* 检验,多组数据之间比较采用单因素方差分析,SNK 法进行两

两比较, $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨质疏松症造模后骨密度比较

造模后, 骨质疏松组皮质骨、松质骨以及总体骨密度均较对照组低, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$, 见表 1)。上述结果表明骨质疏松症大鼠造模成功。

表 1 骨质疏松症造模后骨密度比较 ($\bar{x} \pm s$, mg/cm^3)

Table 1 Comparison of bone density after osteoporosis modeling ($\bar{x} \pm s$, mg/cm^3)

组别	皮质骨	松质骨	总体
对照组 ($n=6$)	652.23 $\pm$ 18.91	569.30 $\pm$ 12.51	602.77 $\pm$ 13.85
骨质疏松组 ($n=6$)	600.67 $\pm$ 24.33	501.67 $\pm$ 23.20	544.27 $\pm$ 19.26
t 值	3.741	5.737	5.514
P 值	0.005	<0.001	<0.001

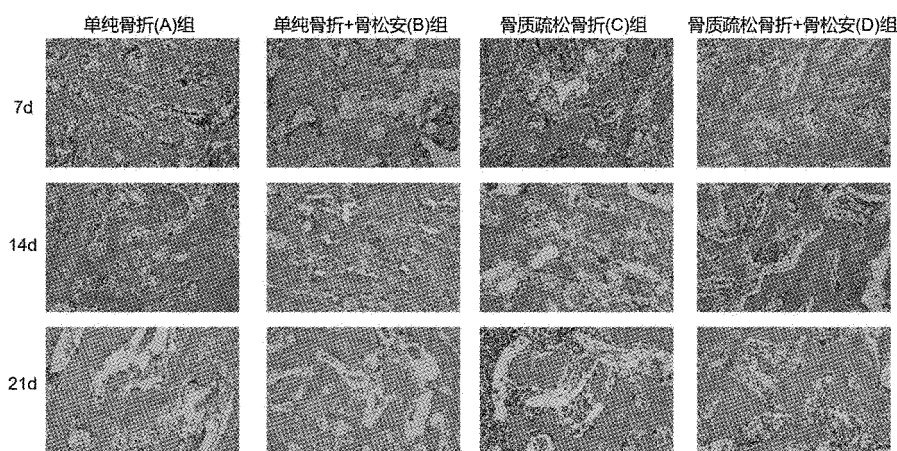


图 1 骨痂组织形态观察 (100 ×)

Fig.1 Observation of the morphology of the bone callus (100 ×)

2.3 骨松安治疗后骨折端 Runx 2 表达比较

治疗 7 d 时进行比较, 除 C 组外, 其余三组均可见 Runx 2 表达明显, 以 B 组最为显著, D 组与 A 组比较, 无明显差异; 治疗 14 d 时比较, 四组大鼠骨折端 Runx 2 的表达均较前有所增加, 但 C 组增加较少, D 组与 B 组表达增加较为明显; 治疗 21 d 时, 四组大鼠骨折端 Runx 2 的表达较前进一步增加, D 组与 B 组较 A 组与 C 组明显。上述结果表明, 骨松安可上调骨折端 Runx 2 的表达, 促进成骨细胞的早期未成熟分化, 加速骨折愈合。见图 2。阳性细胞统计见图 5A。

2.4 骨松安治疗后骨折端 Osterix 表达比较

治疗 7 d 时进行比较, B 组较 A 组 Osterix 的表达更为明显, D 组较 C 组 Osterix 的表达更为明显; 治疗 14 d 时比较, 四组大鼠骨折端 Osterix 的表达均

2.2 骨痂组织形态观察

7 d 时, B 组与 D 组骨折端可见大量的软骨细胞在形成的纤维肉芽组织中, 软骨内可见软骨内骨化, 软骨基质形成, 可见膜内化骨现象, 股间隙之间可见纤维肉芽组织增生, 骨膜增厚, 大片软骨细胞形成, 可见新生骨组织, 成骨细胞可见聚集现象。C 组与 A 组骨折端均可见纤维组织增多, 可见散在、少量的软骨细胞与成骨细胞, 虽然骨膜有增厚, 但新生骨组织较少; 14 d 时, B 组与 D 组纤维性骨痂减少, 软骨痂增多并转化为编织骨。A、C 组软骨痂较少, 未见编织骨形成; 21 d 时, B 组与 D 组骨折间隙编织骨逐渐聚集, 骨痂呈连续性, 骨小梁骨量逐渐增加, C 组与 A 组仅有大量软骨细胞形成, 骨小梁形成较少, 只有散在、少量编织骨。见图 1。

有所增加, 但 C 组增加较少, D 组与 B 组增加较为明显; 治疗 21 d 时, B 组、D 组 Osterix 的表达继续增加, A 组与 C 组 Osterix 的表达趋于稳定。上述结果表明, 骨松安可上调骨折端 Osterix 的表达, 促进未成熟的成骨细胞进一步成熟分化, 加速骨折愈合。见图 3。阳性细胞统计见图 5B。

2.5 骨松安治疗后骨折端 Runx 2、Osterix mRNA 表达比较

Runx 2 与 Osterix mRNA 的表达表现出与免疫组化相同的趋势, 即 Runx 2 与 Osterix 在 7、14、21 d 均表达增加, 在骨松安的治疗下, 无论是单纯骨折大鼠, 还是骨质疏松骨折大鼠, Runx 2 与 Osterix 的表达都较为显著。相反, 无骨松安治疗, 到 21 d 时, Runx 2 与 Osterix 的表达趋于稳定, 与 14 d 时比较, 差异不明显。上述结果表明, 骨松安可上调骨折端

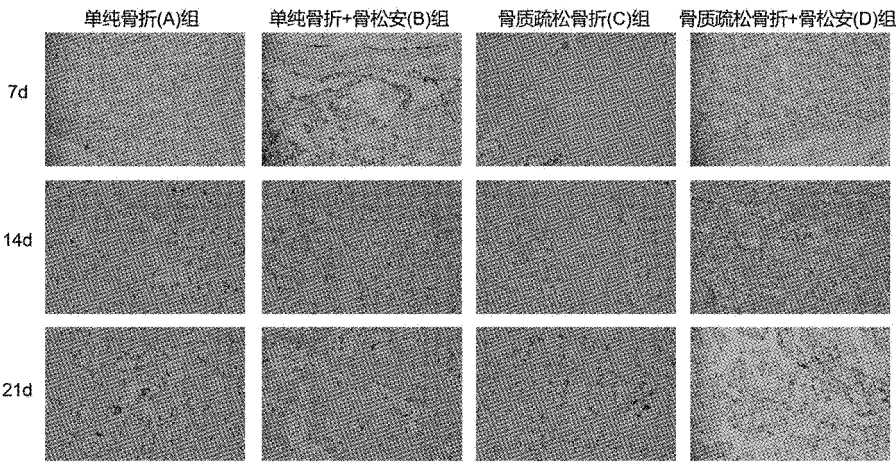


图 2 骨松安治疗后骨折端 Runx 2 表达比较 (100 ×)

Fig.2 Comparison of Runx 2 expression at fractured site after Gusongan treatment (100 ×)

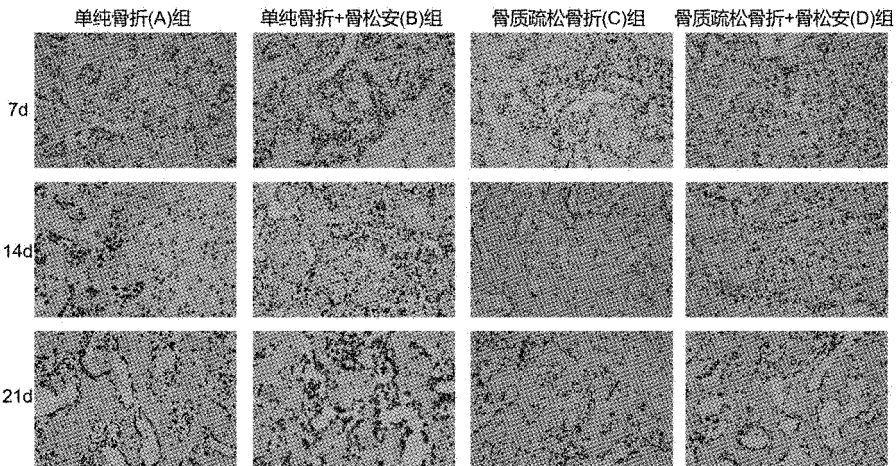


图 3 骨松安治疗后骨折端 Osterix 表达比较 (100 ×)

Fig.3 Comparison of Osterix expression at fractured site after Gusongan treatment (100 ×)

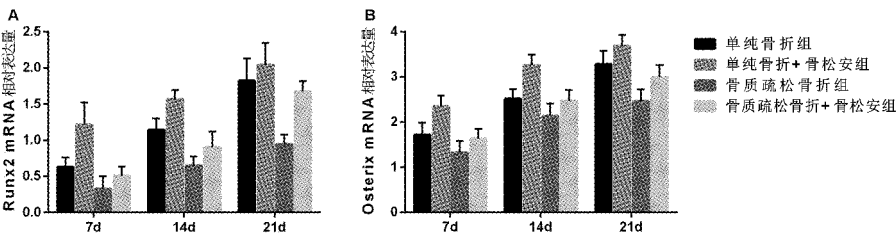


图 4 骨松安治疗后骨折端 Runx 2、Osterix mRNA 表达比较

Fig.4 Comparison of Runx 2 and Osterix mRNA expressions at the fractured site after Gusongan treatment

注: A: Runx 2 mRNA 表达比较; B: Osterix mRNA 表达比较。

Runx 2、Osterix 的表达,促进前成骨细胞向成骨细胞分化,加速骨折愈合。见图 4。

3 讨论

中医学认为骨质疏松症属于“骨痿”,发病关键是肾虚,肾中精气随着年龄的增长是一个由盛转衰

的过程,肾精不足则骨骼失养,造成骨质疏松症的发生^[9]。研究^[10]认为,“肾虚”的本质是下丘脑-垂体轴发生了紊乱,即脑信号影响激素内分泌水平进而引起成骨密度下降,而补肾中药可纠正其紊乱、改善下丘脑-垂体-性腺轴的功能,调整体内性激素环境,提高骨量,促进骨折愈合。骨松安胶囊是治疗绝经后妇女骨质疏松症的经验方,在广东省中医院使用

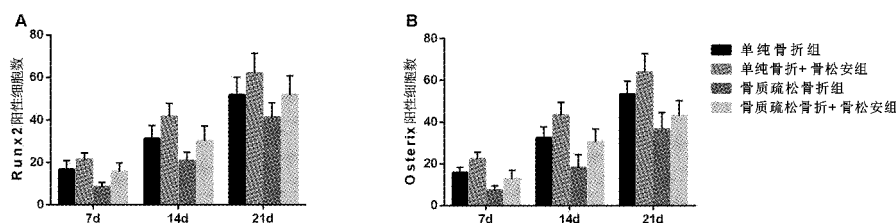


图 5 骨松安治疗后骨折端 Runx 2、Osterix 阳性细胞数比较

Fig.5 Comparison of the number of Runx 2 and Osterix positive cells at the fractured site after Gusongan treatment

注:A:Runx 2 阳性细胞数比较;B:Osterix 阳性细胞数比较。

20 余年,临床疗效肯定,无明显副作用^[3]。方中重用骨碎补与补骨脂共为君药,具有补肾壮骨的作用;另用北芪取其益气助血行之功,丹参善通行血脉、活血化瘀,淫羊藿善补肾阳、强筋骨,共为臣药;续断具有补肾舒经通络之效,可引药下行,作为使药;全方配伍发挥补肾壮骨,活血通络之效。中医用药讲究配伍和“君、臣、佐、使”,用现代医药的观点来看是多种药物联合作用,具有多靶点、协同作用的功效,但治疗骨质疏松症的确切分子机制尚未明确。

Runx 2 是 Runx 家族的转录因子,其表达主要限于成骨细胞和间充质形成骨骼、软骨和牙齿过程中^[11-13]。因此,Runx 2 是成骨细胞特异性转录因子,在成骨细胞分化、软骨细胞成熟、骨形成和重塑中起核心作用。而且,它是影响骨骼生物学的机械信号的关键靶标^[14]。目前发现 Runx 2 能调控骨钙素、I 型胶原、骨涎蛋白和骨桥蛋白等成骨相关基因^[15-16]。Runx 2 突变会导致骨骼的发育、生长异常^[17]。研究^[18]亦发现,骨质疏松骨折大鼠局部组织 Runx 2 的表达水平比正常大鼠降低,骨折愈合较慢。

Osterix 也称 Sp7,是另一个重要的成骨特异性转录因子^[19-20]。Osterix 只在骨组织细胞中表达,是成骨细胞分化和骨形成所必需的^[5]。早在 2002 年, Nakashima 等^[20]就发现 Osterix 缺失的小鼠可表达正常水平的 Runx 2,但在 Runx 2 缺失小鼠中并无 Osterix 的表达,Runx 2 与之结合后可上调 Osterix 启动子活性,说明 Osterix 是 Runx 2 的下游基因。研究发现^[6]Runx 2 可在成骨分化的早期阶段促进骨基质蛋白的形成,但只会停留在早期阶段,不能进一步分化,说明 Runx 2 的作用是促进成骨细胞的早期未成熟分化。而敲除未成熟成骨细胞中的 Osterix 后,其无法发育为成熟的成骨细胞,也就是说成骨细胞的最终成熟分化由 Osterix 主导。上述研究基础表明 Runx 2/Osterix 在成骨细胞分化和骨形成中起

着关键作用,骨松安治疗骨质疏松症的具体分子机制必然与之相关。

本研究结果显示,骨松安治疗可早期促进软骨细胞增生、成骨细胞成熟分化及编织骨形成,与未经骨松安治疗比较,差异显著。在骨松安治疗 7、14、21 d 时,无论是正常大鼠还是骨质疏松大鼠,Runx 2 与 Osterix 的表达均持续上升,与既往研究结果相符。相反,未经骨松安治疗时,Runx 2 与 Osterix 的表达在同样时间段内表达较少,到 21 d 时,Runx 2 与 Osterix 的表达趋于稳定,与 14 d 时比较,差异不明显。值得注意的是,骨质疏松性骨折组大鼠 Runx 2 与 Osterix 的表达一直处于较低水平,可能与骨质疏松造模后,Runx 2 与 Osterix 的表达受到抑制有关。上述结果表明,骨松安可上调骨折端 Runx 2、Osterix 的表达,促进前成骨细胞向成骨细胞分化,加速骨折愈合。

综上,骨松安可激活 Runx 2/Osterix 途径,加速前成骨细胞向成骨细胞分化,促进骨质疏松性骨折大鼠的骨折愈合。但本研究仍存在一定的局限性,如对于骨松安中起作用的有效成分尚未明确。同时,仅明确了与 Runx 2/Osterix 途径相关,但对其具体作用机制未进行更深入的研究。骨折愈合机制复杂,且中药的调控存在多靶点、多途径、多层次的特点,因此尚需进一步的研究对其进行探索。

【参 考 文 献】

- [1] Siris ES, Adler R, Bilezikian J, Bolognese M, Dawson-Hughes B, Favus MJ, et al. The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group [J]. Osteoporosis international. 2014, 25 (5): 1439-1443.
- [2] Leslie WD, Lix LM, Binkley N. Osteoporosis treatment considerations based upon fracture history, fracture risk assessment, vertebral fracture assessment, and bone density in Canada[J]. Archives of osteoporosis, 2020, 15(1): 93.
- [3] 黄永明, 许少健, 石宇雄, 等. 骨松安胶囊治疗绝经后骨质疏松

- 松症 34 例[J].陕西中医,2006,27(8):954-956.
- [4] Yang JX, Xie P, Li YS, et al. Osteoclast-derived miR-23a-5p-containing exosomes inhibit osteogenic differentiation by regulating Runx2[J]. Cellular Signalling, 2020, 70:109504.
- [5] Gao Y, Xiao F, Wang C, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes osterix expression to regulate osteogenic differentiation by targeting miRNA-143 in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 119(8):6986-6996.
- [6] Fu X, Li Y, Huang T, et al. Runx2/Osterix and zinc uptake synergize to orchestrate osteogenic differentiation and citrate containing bone apatite formation[J]. Advanced science, 2018, 5(4):1700755.
- [7] Wang H, Li YK, Cui M, et al. Effect of lncRNA AK125437 on postmenopausal osteoporosis rats via MAPK pathway[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2020, 24(5):2173-2180.
- [8] 王斌,罗毅文,黄永铨,等.补肾活血汤促骨折端间充质干细胞体外迁移及 CCR2 表达的研究[J].中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(8):1-5.
- [9] 王斌,胡年宏,罗毅文.从中医“肾主骨”“髓生骨”理论出发防治骨质疏松[J].辽宁中医药大学学报,2008, 1(3):3-4.
- [10] 黄宏兴,吴青,李跃华,等.肌肉、骨骼与骨质疏松专家共识[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(10):1221-1229,1236.
- [11] Zhang Y, Jiang Y, Luo Y, et al. Interference of miR-212 and miR-384 promotes osteogenic differentiation via targeting RUNX2 in osteoporosis[J]. Experimental and Molecular Pathology, 2020, 113:104366.
- [12] Park JH, Son YJ, Lee CH, et al. Circaea mollis Siebold & Zucc. Alleviates postmenopausal osteoporosis in a mouse model via the BMP-2/4/Runx2 pathway[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2020, 20(1):123.
- [13] Huang Y, Hou Q, Su H, et al. miR488 negatively regulates osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells induced by psoralen by targeting Runx2[J]. Molecular Medicine Reports, 2019, 20(4):3746-3754.
- [14] Galea GL, Paradise CR, Meakin LB, et al. Mechanical strain-mediated reduction in RANKL expression is associated with RUNX2 and BRD2[J]. Gene. 2020, 5:100027.
- [15] Colden M, Dar AA, Saini S, et al. MicroRNA-466 inhibits tumor growth and bone metastasis in prostate cancer by direct regulation of osteogenic transcription factor RUNX2[J]. Cell Death & Disease, 2017, 8(1):e2572.
- [16] Wysokinski D, Pawlowska E, Blasiak J. RUNX2: A master bone growth regulator that may be involved in the DNA damage response[J]. DNA and Cell Biology, 2015, 34(5):305-315.
- [17] Lee KS, Kim HJ, Li QL, et al. Runx2 is a common target of transforming growth factor beta1 and bone morphogenetic protein 2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12[J]. Molecular and Cellular Biology, 2000, 20(23):8783-8792.
- [18] Parvaneh M, Karimi G, Jamaluddin R, et al. Lactobacillus helveticus (ATCC 27558) upregulates Runx2 and Bmp2 and modulates bone mineral density in ovariectomy-induced bone loss rats[J]. Clinical Interventions in Aging, 2018, 13:1555-1564.
- [19] Mohamad N, Nabih ES, Zakaria ZM, et al. Insight into the possible role of miR-214 in primary osteoporosis via osterix[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(9):15518-15526.
- [20] Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation[J]. Cell, 2002, 108(1):17-29.

(收稿日期:2020-07-29;修回日期:2020-10-30)

(上接第 1186 页)

- [8] Jia HB, Ma JX, Ma XL, et al. Estrogen alone or in combination with parathyroid hormone can decrease vertebral MEF2 and sclerostin expression and increase vertebral bone mass in ovariectomized rats[J]. Osteoporos Int, 2014, 25(12):2743-2754.
- [9] 郑莎,弓慧杰.围绝经期妇女雌激素水平与骨质疏松的关系研究[J].中国妇幼保健,2018, 33(8):1806-1808.
- [10] 张瑜凌,王梦婧,张敏敏,等.维持性血液透析患者骨质疏松的危险因素分析[J].中华肾脏病杂志,2016, 32(4):259-263.
- [11] Malluche HH, Davenport DL, Cantor T, et al. Bone mineral density and serum biochemical predictors of bone loss in patients with CKD on dialysis[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2014, 9(7):1254-1262.
- [12] 路凌,孟娜娜,金超群,等.维持性血液透析患者骨密度异常相关因素分析[J].中国血液净化,2015, 14(6):325-327.
- [13] 沈英,梁世凯.维持性血液透析患者发生骨质疏松的危险因素及其与血清钙、磷、甲状旁腺素的关系[J].中华全科医学, 2017, 15(11):1901-1903.
- [14] Wang C, Zhang G, Gu M, et al. Parathyroid hormone plus alendronate in osteoporosis: A meta-analysis of randomized controlled trials[J]. J Invest Surg, 2015, 28(6):309-316.
- [15] Oh T, Naka T. Comparison of bone metabolism based on the different ages and competition levels of junior and high school female rhythmic gymnasts[J]. J Exerc Nutrition Biochem, 2017, 21(2):9-15.
- [16] Lim HY, Wong SH. Effects of isometric, eccentric, or heavy slow resistance exercises on pain and function in individuals with patellar tendinopathy: A systematic review[J]. Physiother Res Int, 2018, 23(4):e1721.
- [17] 费加明.不同运动方式对绝经后妇女身体形态、肺活量及骨密度的影响[J].中国应用生理学杂志,2017, 33(4):339-341.
- [18] 任立峰,武斌,郝文博.过度有氧运动对不同性别成年骨代谢相关激素的影响[J].科学技术与工程,2017, 17(13):136-140.
- [19] 张兰,马迎春.血液透析患者的运动和心理康复[J].中华肾病研究电子杂志,2017, 6(4):178-181.
- [20] Alghadir AH, Gabr SA, Al-Eisa ES, et al. Correlation between bone mineral density and serum trace elements in response to supervised aerobic training in older adults[J]. Clin Interv Aging, 2016, 11:265-273.

(收稿日期:2020-07-12;修回日期:2020-09-29)