

- [11] Zhu D S, Chung H F, Dobson A J, *et al.* Vasomotor menopausal symptoms and risk of cardiovascular disease: a pooled analysis of six prospective studies[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2020, 223: 898. e1-898. e16.
- [12] Fadini G P, Mehta A, Dhindsa D S, *et al.* Circulating stem cells and cardiovascular outcomes: from basic science to the clinic[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(44): 4271-4282.
- [13] Yuan Z Z, Kang L, Wang Z, *et al.* 17 β -estradiol promotes recovery after myocardial infarction by enhancing homing and angiogenic capacity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells through ER α -SDF-1/CXCR4 crosstalk[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(12): 1247-1256.
- [14] Keshavarz S, Nassiri S M, Siavashi V, *et al.* Regulation of plasticity and biological features of endothelial progenitor cells by MSC-derived SDF-1[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(2): 296-304.
- [15] Wang X Y, Jiang H J, Guo L J, *et al.* SDF-1 secreted by mesenchymal stem cells promotes the migration of endothelial progenitor cells via CXCR4/PI3K/AKT pathway[J]. *J Mol Histol*, 2021, 52(6): 1155-1164.
- [16] 曹圣君. 益坤饮治疗绝经综合征潮热的临床疗效观察及对血管内皮功能影响的机理研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [17] 王颖彬. 熟地提取物通过调节 SDF-1 α /CXCR4 信号途径活化内皮祖细胞保护梗死心肌的研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [18] 吴伟, 薛姝婧, 朱玲勤, 等. 枸杞多糖通过抗氧化及抗凋亡作用对过氧化氢致血管内皮细胞损伤的保护作用研究[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(5): 1047-1049.
- [19] 何丽红, 郑宣, 莫佳航, 等. 黄芪多糖对人脐静脉内皮细胞的增殖及表达 VEGF 的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2019, 25(6): 862-867.
- [20] 倪杰, 蒋辉, 张龙, 等. 淫羊藿苷对外周血内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. *实用老年医学*, 2015, 29(3): 213-215.

虎杖苷调控 HIF-1 α /VEGF 信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠 H 型血管生成的影响

田佳庆^{1,2}, 韦雨柔^{1,2}, 肖方骏^{1,2}, 何宪顺^{1,2}, 魏腾飞^{1,2}, 何敏聪^{2,3}, 魏秋实^{2,3*}

(1. 广州中医药大学第三临床医学院, 广东 广州 510378; 2. 广东省中医骨伤研究院, 广东 广州 510378; 3. 广州中医药大学第三附属医院关节中心, 广东 广州 510378)

摘要:目的 探讨虎杖苷对绝经后骨质疏松症大鼠 (PMOP) H 型血管生成的影响。方法 采用随机数表法将大鼠分为空白组、模型组、虎杖苷组 (45 mg/kg), 每组 10 只。除空白组外, 其余组采用去卵巢法构建 PMOP 大鼠模型, 灌胃给予相应药物。干预 8 周后, HE 染色观察胫骨近端骨组织病理变化, Micro-CT 分析膝关节组织形态变化和骨量变化, 免疫组化和免疫荧光分析膝关节 HIF-1 α 、VEGF、CD31、Emcn 蛋白表达。结果 与空白组比较, 模型组骨小梁数量减少, 骨小梁不连续, BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 值降低 ($P<0.01$), Tb. Sp 值升高 ($P<0.01$), 膝关节组织 HIF-1 α 、VEGF、CD31 及 Emcn 蛋白表达降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 虎杖苷组 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 值升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), Tb. Sp 值降低 ($P<0.01$) 膝关节组织 HIF-1 α 、VEGF、CD31 及 Emcn 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。结论 虎杖苷可能通过上调 HIF-1 α /VEGF 信号通路相关蛋白表达来促进 H 型血管的生成, 改善 PMOP 大鼠的血流供应, 从而达到对 PMOP 的保护作用。

关键词: 虎杖苷; 绝经后骨质疏松症; 骨代谢; 血管生成; H 型血管

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1672-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.043

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是一种老年代谢性骨病, 主要以骨量下降, 骨微

结构破坏, 骨脆性增加为特征^[1]。目前治疗 PMOP 的药物主要包括雌激素、降钙素、钙剂以及维生素 D 等^[2]。但以

收稿日期: 2023-12-15

基金项目: 2021 年广东省教育厅普通高校重点领域专项 (2021ZDZX2005); 广东省中医药局科研项目 (20221199); 2022 年广州市科学技术局重点研发计划农业和社会发展科技项目 (202206010184)

作者简介: 田佳庆 (1998—), 男 (回族), 硕士生, 研究方向为中医药防治骨关节疾病。E-mail: tianjq0413@126.com

*通信作者: 魏秋实 (1982—), 男 (蒙古族), 博士, 副主任医师, 研究方向为中医药防治骨关节疾病。E-mail: weiqshi@126.com

上疗法都存在不同程度的副作用。而良好的血流供应是促进新骨生成的重要条件^[3]。因此,在改善血流供应方面,寻找中医药治疗 PMOP 的新靶点,对于探究其治疗机制具有重要意义。

既往研究发现虎杖苷可以改善骨质疏松症小鼠骨小梁微观结构参数,增强骨强度,促进 MC3T3-E1 细胞成骨分化,上调成骨分化标志物的表达^[4]。虎杖苷还可以激活 BMP2-Wnt/ β -catenin 信号通路的潜在靶基因 TAZ,从而促进间充质干细胞成骨分化^[5]。研究发现,虎杖苷具有改善微循环^[6]、抗血栓^[7]及扩张血管^[8]的作用。H 型血管是一种骨内特殊微血管,骨祖细胞围绕在其周围^[9]。去卵巢大鼠骨组织内 H 型血管表达少于正常大鼠^[10]。根据既往研究表明,HIF-1 α 和 VEGF 对 H 型血管生成和成骨分化具有促进作用^[9,11-15]。

目前尚未有研究证明虎杖苷可以通过促进 H 型血管的生成来抗 PMOP。因此,本实验拟观察虎杖苷对 PMOP 大鼠骨代谢的影响以及是否通过调控 H 型血管的生成来发挥其抗绝经后骨质疏松症的作用。

1 材料

1.1 动物 雌性 SD 大鼠 30 只,SPF 级,3 月龄,体质量 200~250 g,购自广州中医药大学实验动物中心[实验动物生产许可证号 SCXK(粤)2018-0034],饲养于广州中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室[实验动物使用许可证号 SYXK(粤)2018-0001],温度 22~24 $^{\circ}\text{C}$,光暗周期 12 h/12 h,相对湿度 40%~60%,自由饮水,定时更换灭菌垫料。本研究程序均按照广州中医药大学实验动物中心与伦理委员会批准(伦理号 20220117002)

1.2 药物与试剂 虎杖苷(纯度 98.48%,货号 HY-N0120A,美国 MCE 公司),根据文献[16]报道的虎杖苷最佳剂量,使用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液(CMC-Na)配制虎杖苷溶液。抗 HIF-1 α 抗体、抗 VEGF 抗体(货号 AF1009、AF5131,江苏亲科生物研究中心有限公司);山羊抗兔抗体(货号 BF03008X,苏州博奥龙科技有限公司);抗 Emcn 抗体(货号 SC-65495,美国 Santa Cruz 公司);抗 CD31 抗体(货号 WD3255103,美国赛默飞世尔科技公司);Goat Anti-Rabbit IgG/SAlexa Fluor 488、Goat Anti-Rat IgG/SAlexa Fluor 594(货号 K0034G-AF488、K0034G-AF488,北京索莱宝科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 采用随机数表法将实验动物分为空白组、模型组和虎杖苷组,每组 10 只。模型组和虎杖苷组采用去卵巢法构建 PMOP 模型,即大鼠麻醉后,取俯卧位备皮消毒,在背部两侧卵巢体表投影位切口,定位卵巢后结扎切除;空白组大鼠取相同切口,保留卵巢,切除其周围相同质量的脂肪组织。伤口愈合后开始灌胃,虎杖苷组根据大鼠体质量,以 45 mg/kg 给药剂量进行灌胃,其余各组以等量 0.5% CMC-Na 溶液灌胃,连续 8 周。每周称量各组大鼠体质量,调整给药剂量。

2.2 骨组织 HE 染色 剥离大鼠下肢肌肉等软组织后,使用 4%多聚甲醛溶液固定大鼠胫骨 48 h,10% EDTA 溶液脱钙 3 周,然后按照脱水、透明、浸蜡、包埋、切片的顺序制作石蜡切片(5 μm)。将石蜡切片脱蜡,水化后分别进行苏木素、伊红染色。染色完成后脱水、封片。使用病理扫描仪及 Case Viewer 2.4 软件观察各组大鼠骨小梁情况。

2.3 Micro-CT 分析骨组织形态变化 用 4%多聚甲醛固定大鼠膝关节 48 h。通过 NEMO Micro-CT[型号 NMC-200,平生科技(昆山)有限公司]对标本进行扫描,扫描参数为 90 kV,40 μA 。通过 Avator 软件对大鼠膝关节进行三维重建,选取胫骨近端为 ROI 区域进行骨计量学分析。包括骨密度(BMD)、骨小梁数量(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)、骨体积分数(BV/TV)和骨小梁分离度(Tb. Sp)。

2.4 免疫组化染色 每组取 10 只大鼠膝关节组织石蜡切片,脱蜡水化,用柠檬酸钠溶液热修复 3 次,每次 3 min,然后灭活内源性过氧化物酶 15 min,冲洗后加 5%山羊血清室温封闭 2 h。封闭后用 HIF-1 α 抗体(1:100)、VEGF 抗体(1:100)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日加二抗(1:500)室温孵育 2 h,DAB 显色,苏木素浸染 2 min,流水冲洗 10 min,梯度乙醇逐级脱水,二甲苯透明后用中性树胶封片。于光学显微镜下观察各组 HIF-1 α 、VEGF 表达情况,使用 Image J 软件对结果进行定量分析。

2.5 免疫荧光染色 每组取 10 只大鼠膝关节组织石蜡切片,石蜡切片脱蜡水化后,用柠檬酸钠溶液热修复 3 次,每次 3 min,然后滴加 5% Triton X-100 室温静置 15 min,滴加 5%山羊血清室温封闭 2 h。封闭后用 CD31 抗体(1:50)和 Emcn 抗体(1:100)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日加荧光二抗(Fluor 488,1:100;Fluor 594,1:100)37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,冲洗后滴加含 DAPI 的防荧光淬灭剂封片。通过荧光显微镜观察各组大鼠蛋白表达情况,使用 Image J 软件进行定量分析。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,符合正态分布的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,方差齐性时,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Bonferroni 法;方差不齐时,整体观察采用 Welch 检验,两两比较采用 Dunnett T3 法。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 虎杖苷对 PMOP 大鼠骨组织病理学改变的影响 如图 1 所示,空白组大鼠胫骨近端处骨小梁致密且排列整齐;与空白组比较,模型组大鼠骨小梁稀疏,骨小梁细小不连续、排列紊乱,骨髓空腔面积增大;与模型组比较,虎杖苷干预后,骨小梁数量增多,排列较整齐,连接较紧密。

3.2 虎杖苷对 PMOP 大鼠膝关节 Micro-CT 分析的影响 如图 2A 所示,空白组股骨远端及胫骨近端可见大量骨小梁,且骨小梁排列整齐、致密;与空白组比较,模型组骨小梁稀疏,且存在多处不连续,骨丢失严重;与模型组比较,虎杖苷组骨小梁数量及排列情况都有改善。以胫骨近端为 ROI 区域,进一步对骨参数分析,见图 2B~2F,由此

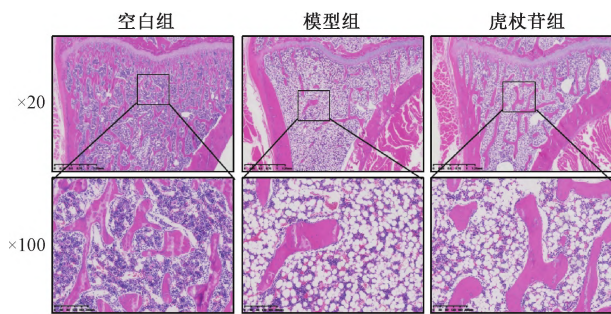
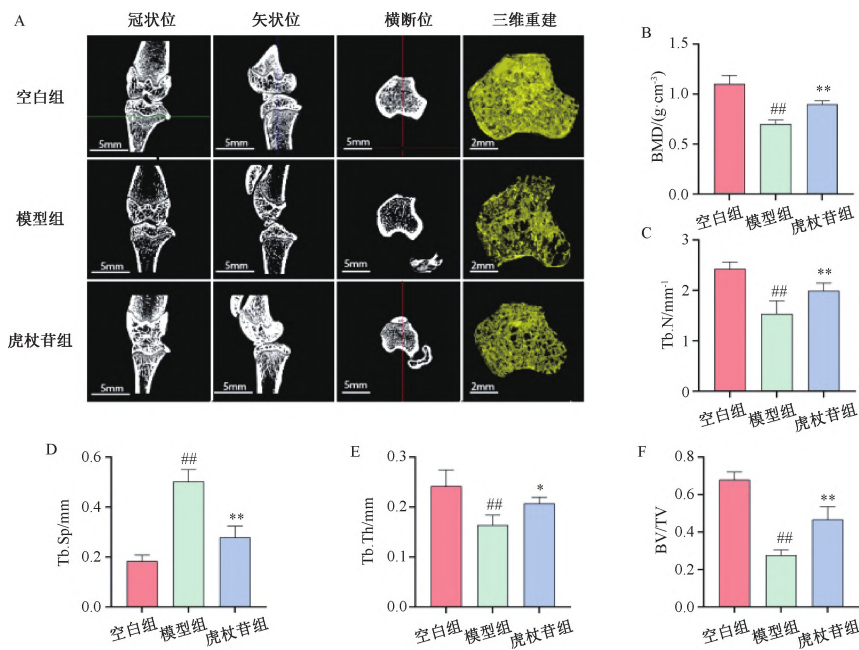


图 1 虎杖苷对 PMOP 大鼠骨组织病理学改变的影响

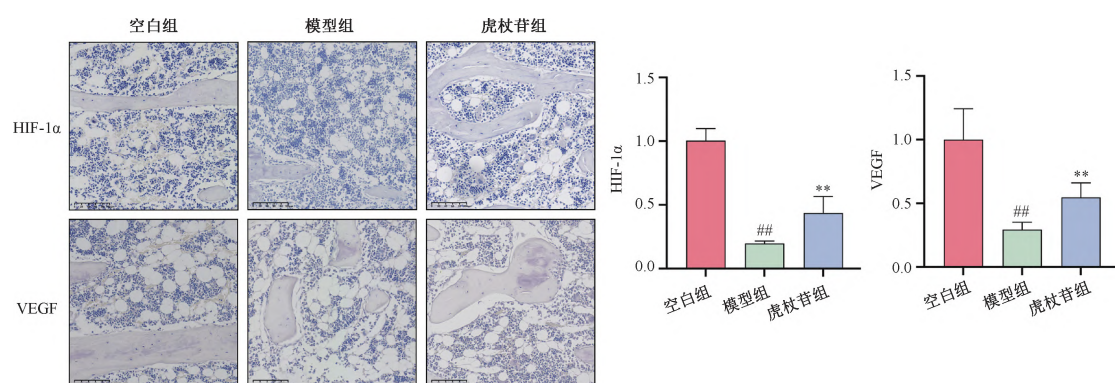
可知,与空白组比较,模型组大鼠胫骨近端 BMD、BV/TV、Tb. Th、Tb. N 值降低 ($P<0.01$),Tb. Sp 值升高 ($P<0.01$);与模型组比较,虎杖苷组大鼠胫骨近端 BMD、Tb. Th、Tb. N、BV/TV 值升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),Tb. Sp 值降低 ($P<0.01$)。

3.3 虎杖苷对 PMOP 大鼠胫骨近端 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达的影响 如图 3 所示,空白组可见较多棕色区域,说明 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达升高;模型组可见少量棕色区域面积,对棕色区域定量分析后发现 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达较空白组降低 ($P<0.01$);与模型组比较,经虎杖苷干



注:与空白组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 2 虎杖苷对 PMOP 大鼠膝关节 Micro-CT 分析的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



注:与空白组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

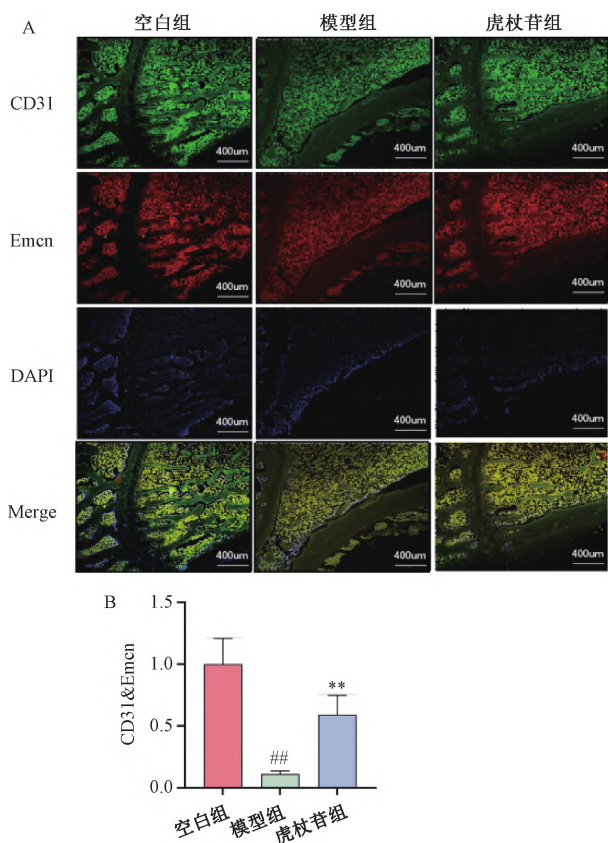
图 3 虎杖苷对 PMOP 大鼠胫骨近端 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

预后棕色区域面积有所增加,说明虎杖苷组骨组织 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。

3.4 虎杖苷对 PMOP 大鼠胫骨近端 CD31、Emcn 蛋白表达的影响 如图 4A 所示,大鼠胫骨近端切片免疫荧光染色可见空白组大鼠胫骨近端内微血管 CD31、Emcn 染色强阳性(H 型血管),主要分布于骨皮质周围;而在模型组胫骨近

端内 CD31、Emcn 染色弱阳性;虎杖苷组可见 CD31、Emcn 染色强阳性微血管,较模型组分布面积增多。如图 4B 所示,与空白组比较,模型组 H 型血管分布面积减少 ($P<0.01$);与模型组比较,虎杖苷组 H 型血管分布面积增加 ($P<0.01$)。

4 讨论



注：与空白组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，** $P<0.01$ 。

图 4 虎杖苷对 PMOP 大鼠胫骨近端 CD31、Emcn 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

PMOP 发生的主要原因是由于破骨细胞形成过多导致骨量下降、骨折风险升高^[17]。目前抑制骨吸收，减少骨量流失是治疗 PMOP 的主要方向^[18]，主要治疗药物包括雌激素、双磷酸盐类^[19]、地舒单抗^[20]等。同时，也不能忽略其局限性及副作用，如下颌骨坏死^[21]、卵巢癌^[22]以及胃肠道不适^[23]等。因此，寻找新的药物来提高 PMOP 治疗效果，减少治疗时产生的副作用具有重要意义。课题组前期研究发现虎杖苷可通过影响成骨分化对骨质疏松症起保护作用^[5]，基于此，本研究进一步探究虎杖苷能否通过调节骨质疏松大鼠的血管生成，从而改善骨微环境。本研究发现，虎杖苷能够改善 PMOP 引起的骨小梁稀疏情况，提高 BMD、BV/TV、Tb. Th、Tb. N 值，降低 Tb. Sp 值，证明虎杖苷可以改善 PMOP 大鼠骨量流失的情况。同时，虎杖苷还可上调成血管相关蛋白 HIF-1 α 、VEGF、Emcn 和 CD31 表达。

PMOP 的发病机制与绝经后女性雌激素表达水平变化密切相关^[24]。机体雌激素水平降低时，RANKL 表达增多，骨吸收增强，OPG 表达降低，骨形成减弱，引起骨量丢失^[25]。骨作为高度血管化的组织，血管形成早于骨形成^[26]。在骨骼系统中，骨内血管的生成能够产生特定的骨微环境，促进骨祖细胞的增殖^[3]。研究发现，新生血管与成骨活动的发生密切相关，其为成骨活跃区域提供了充足

的营养物质和细胞赖以生存的微环境^[27]。因此，促进血管的形成对于改善 PMOP 尤为重要。

在众多微小血管中，主要位于干骺端生长板及骨膜附近的 H 型血管是一种成骨偶联蛋白。它是一种 CD31 和 Emcn 高表达的特殊毛细血管亚型^[28-29]。有研究发现，H 型血管具有调控骨生成及成血管—成骨偶联的潜力^[30]，Runx2 和 Osterix 围绕在其周围，说明其与成骨细胞活动程度密切相关^[31]。有研究表明，提高骨折小鼠体内 H 型血管数量，可以促进骨折愈合^[32]。在去卵巢小鼠及骨质疏松症患者骨组织内，都发现 H 型血管的减少^[31,33]。而促进 H 型血管的生成可以提高成骨细胞功能^[34]。本研究发现，与空白组比较，去卵巢大鼠胫骨近端 H 型血管生成减少；经虎杖苷干预后，PMOP 大鼠胫骨近端 H 型血管减少情况有改善。

H 型血管的形成机制目前尚未明确。研究发现，缺氧诱导因子和血管内皮生长因子都与 H 型血管的生成密切相关^[9,14]。在幼年小鼠体内，可以发现高水平的 HIF-1 α ，而小鼠年龄的逐渐增长会使得 HIF-1 α 和 H 型血管的数量同步减少，同时伴有骨量的丢失^[31]。当血管内皮细胞特异性敲除 HIF-1 α 时，会引起前成骨细胞减少和骨质疏松症的发生^[11]。而成骨细胞内过表达 HIF-1 α 则会促进成血管及成骨能力^[11]。作为 HIF-1 α 重要的下游靶点，VEGF 既能促进血管生成，也能调节成骨分化^[13]。VEGF 过表达时，前成骨细胞增殖能力上调、骨量增加^[12]。既往研究显示，成骨细胞衍生的 VEGF 蛋白可以促进骨细胞的形成、改善骨骼结构^[35]。通过中药复方上调血清中 VEGF 的表达可以加速骨折端愈合^[36]，本研究通过发现，虎杖苷可上调 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达，可能由此调节 H 型血管的生成，达到改善 PMOP 的作用。

综上所述，本研究发现虎杖苷可能介导 HIF-1 α /VEGF 信号通路，促进 H 型血管生成，从而达到抗 PMOP 的目的。这一发现证实了“成血管—成骨”是改善 PMOP 的重要思路，但本研究仍存在一定的局限性：(1) 由于 H 型血管形成的复杂机制仍不明确，本研究未对其内在机制做进一步探讨；(2) 由于客观原因的影响，本研究中大鼠灌胃使用的虎杖苷溶液剂量仅根据文献中报道的有效剂量进行实验，未设置梯度，可能会对实验结果产生一定的影响。尽管存在以上局限性，本研究也是首次发现虎杖苷对血管形成的重要作用。

参考文献：

- [1] 乔 隆, 关雪峰, 乔 野, 等. 香砂六君子汤通过 Notch 信号通路调控骨组织成骨/成脂平衡防治绝经后骨质疏松症实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(10): 168-172; 286-291.
- [2] 何星宏. 绝经后骨质疏松症中西医结合治疗方法的研究进展[J]. 慢性病学杂志, 2019, 20(3): 368-370.
- [3] 方圣杰, 李秋月, 刘 宁, 等. 基于 RUNX2、VEGF 蛋白研究补骨生髓方治疗老年性骨质疏松症的作用机制[J].

- 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(4): 561-565.
- [4] Yuan Y, Feng G, Yang J, *et al.* Polydatin alleviates osteoporosis by enhancing the osteogenic differentiation of osteoblasts[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26(12): 4392-4402.
- [5] Chen X J, Shen Y S, He M C, *et al.* Polydatin promotes the osteogenic differentiation of human bone mesenchymal stem cells by activating the BMP2-Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108746.
- [6] 王 瑜, 薛 剑, 孙晓东, 等. 虎杖苷降低急性血瘀模型大鼠血液粘度的研究[J]. 中国药房, 2004, 15(5): 275-277.
- [7] 陈 鹏, 杨丽川, 雷伟亚, 等. 虎杖苷抗血栓形成作用的实验研究[J]. 昆明医学院学报, 2006, 27(1): 10-12.
- [8] 吴 阳, 黄 波, 杨 鑫, 等. 虎杖苷扩血管作用及机制初探[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(10): 2336-2338.
- [9] 于海洋, 卢增鹏, 汪海燕, 等. 激素性股骨头坏死中 Hif-1 α /VEGF 信号轴和 H 型血管改变的实验研究[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 759-766.
- [10] 王 亮, 盛 茂, 袁 晔, 等. 骨内 H 型血管在去势骨质疏松症模型中的变化[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(13): 873-879.
- [11] Wan C, Shao J, Gilbert S R, *et al.* Role of HIF-1 α in skeletal development[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1192: 322-326.
- [12] Maes C, Goossens S, Bartunkova S, *et al.* Increased skeletal VEGF enhances β -catenin activity and results in excessively ossified bones[J]. *EMBO J*, 2010, 29(2): 424-441.
- [13] Diomed F, Marconi G D, Cavalcanti M, *et al.* VEGF/VEGFR/RUNX2 upregulation in human periodontal ligament stem cells seeded on dual acid etched titanium disk[J]. *Materials (Basel)*, 2020, 13(3): 706.
- [14] 上官文姬, 张跃辉, 岳 江, 等. 柚皮苷通过 HIF-1 α /VEGF 信号促进 H 型血管抗骨质疏松的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(12): 1755-1759.
- [15] 于海洋, 卢增鹏, 汪海燕, 等. 生骨再造丸对激素性股骨头坏死大鼠 H 型血管生成的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(5): 91-96.
- [16] 徐敏敏, 刘绍凡, 万锐杰, 等. 虎杖苷对去卵巢骨质疏松大鼠 β -Catenin 及 GSK-3 β 蛋白表达的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(1): 103-106.
- [17] Letarouilly J G, Broux O, Clabaut A. New insights into the epigenetics of osteoporosis[J]. *Genomics*, 2019, 111(4): 793-798.
- [18] 麦文秀, 谢雨欣, 张钰玲, 等. 补肾活血汤防治骨质疏松症的作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(5): 660-664; 764.
- [19] Gambacciani M, Levancini M. Hormone replacement therapy and the prevention of postmenopausal osteoporosis[J]. *Prz Menopausalny*, 2014, 13(4): 213-220.
- [20] Brown J P, Morin S, Leslie W, *et al.* Bisphosphonates for treatment of osteoporosis: expected benefits, potential harms, and drug holidays[J]. *Can Fam Physician*, 2014, 60(4): 324-333.
- [21] 郭培军, 陈国华, 张 芳, 等. 双磷酸盐药物所致下颌骨坏死研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(6): 1238-1241.
- [22] 梁 壮, 董 博, 杨 蕾, 等. 益生菌补充剂治疗绝经后骨质疏松症或骨量减少的系统评价[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(5): 532-541.
- [23] 井媛媛, 支英杰, 谢雁鸣, 等. 中药复方治疗绝经后骨质疏松症疗效及其机制的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(2): 268-272; 276.
- [24] 江曼亚, 叶 悦, 张琼谊, 等. 知柏地黄汤治疗绝经后骨质疏松的机制研究[J]. 药科学报, 2023, 58(10): 3040-3048.
- [25] 彭燕琼, 彭 毅, 杨 彬, 等. 丹参素对卵巢去势骨质疏松大鼠 TGF- β /Smad 信号通路及骨密度的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(6): 1450-1454.
- [26] Saran U, Gemini Piperni S, Chatterjee S. Role of angiogenesis in bone repair[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 561: 109-117.
- [27] Sivaraj K K, Adams R H. Blood vessel formation and function in bone[J]. *Development*, 2016, 143(15): 2706-2715.
- [28] Ramasamy S K, Kusumbe A P, Wang L, *et al.* Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 376-380.
- [29] Li J, Chen X, Ren L, *et al.* Type H vessel/platelet-derived growth factor receptor β^+ perivascular cell disintegration is involved in vascular injury and bone loss in radiation-induced bone damage[J]. *Cell Prolif*, 2023, 56(7): e13406.
- [30] 徐正一, 万乾炳, 陈俊宇. 天然小分子化合物调控 H 型血管治疗骨骼相关疾病及在组织工程中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(34): 5546-5553.
- [31] Kusumbe A P, Ramasamy S K, Adams R H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 323-328.
- [32] Fazzalari N L. Bone fracture and bone fracture repair[J]. *Osteoporos Int*, 2011, 22(6): 2003-2006.
- [33] Ding W, Xu C, Zhang Y, *et al.* Advances in the understanding of the role of type-H vessels in the pathogenesis of osteoporosis[J]. *Arch Osteoporos*, 2020, 15(1): 5.
- [34] Liang S, Ling S, Du R, *et al.* The coupling of reduced type H vessels with unloading-induced bone loss and the protection role of *Panax quinquefolium* saponin in the male mice[J]. *Bone*, 2021, 143: 115712.
- [35] Liu Y, Berendsen A D, Jia S, *et al.* Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(9): 3101-3113.
- [36] 李艳军, 彭 来, 张锡平, 等. 自拟愈骨汤对骨质疏松骨折愈合过程中凝血相关因子及 VEGF 水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(28): 3147-3151.