

生成对膝骨性关节炎影响的研究进展 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30 (11): 85-88.

[22] Rothdiener M, Uynuk-Ool T, Südkamp N, et al. Human osteoarthritic chondrons outnumber patient- and joint-matched chondrocytes in hydrogel culture-Future application in

autologous cell-based OA cartilage repair? [J]. J Tissue Eng Regen Med, 2018, 12 (2): e1206-e1220.

[23] Vahedi P, Hosainzadegan H, Brazvan B, et al. Treatment of cartilage defects by Low-intensity pulsed ultrasound in a sheep model [J]. Cell Tissue Bank, 2021, 22 (3): 369-378.

• 基础研究 •

青娥丸调控 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路对成骨细胞凋亡的影响

刘合亮 林 煜 郑世雄 肖莉莉

【摘要】 目的 基于 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路探讨青娥丸含药血清对氧化应激诱导内质网应激凋亡成骨细胞系的保护作用及其作用机制。**方法** 30 只雄性 SD 大鼠随机分为生理盐水组和青娥丸组, 每组 15 只, 分别给予生理盐水和青娥丸灌胃干预, 连续 7 d, 腹主动脉取全血制备含药血清; 培养 UMR-106 细胞株, CCK-8 筛选青娥丸和 GSK2606414 最佳干预浓度, 细胞分为空白组、模型组、青娥丸组和抑制剂组, 进一步采用 10 μ mol/L 的 H₂O₂ 干预细胞 12 h 制备内质网应激模型, CCK-8 检测 4 组细胞的增殖活性, DCFH-DA 检测细胞活性氧 (ROS) 含量, Real-time PCR 和 Western blot 检测 PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量。**结果** 青娥丸含药血清最佳干预浓度为 10%, GSK2606414 最佳干预浓度为 4%, 此最佳干预浓度用于后续实验。H₂O₂ 干预后模型组细胞增殖活性显著降低, ROS 含量显著升高, PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量显著上调; 青娥丸组增殖活性增强, ROS 含量显著降低, PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量下调。**结论** 青娥丸含药血清可有效抑制成骨细胞系的内质网应激凋亡, 其作用机制可能与 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路相关。

【关键词】 绝经后骨质疏松症; 青娥丸; 内质网应激; PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路

【中图分类号】 R816.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2025)03-0066-06

Mechanism of Qing'E formula regulating PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway and its impact on osteoblast apoptosis

LIU Heliang, LIN Yu, ZHENG Shixiong, XIAO Lili

Department of Orthopedics, Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

Corresponding author: ZHENG Shixiong, Email: 876514145@qq.com

【Abstract】 Objective To examine the protective effects and its mechanism of Qing'E formula serum on osteoblast apoptosis caused by oxidative stress-induced endoplasmic reticulum stress, focusing on the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP signaling pathway. **Methods** Thirty male SD rats were randomly assigned to receive either normal saline or Qing'E formula via gavage for seven days to prepare drug-containing serum from abdominal aorta blood. UMR-106 cells were cultured, CCK-8 was selected for the optimal intervention concentration of Qing'E formula and GSK2606414. Cells were categorized into blank, model, Qing'E formula, and positive drug groups. The endoplasmic reticulum stress model was created by treating cells with 10 μ mol/L H₂O₂ for 12 hours. Cell proliferation was assessed using CCK-8, ROS levels were detected with DCFH-DA, and the expression levels

基金项目: 福州市卫健系统科技计划项目 (2021-S-wq20); 福建省科学自然基金项目 (2022J011318); 福建省卫生健康中青年骨干人才培养项目 (2020GGB046); 福建省科技创新平台项目 (福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心, 2020Y2014)

作者单位: 福建省福州市第二总医院, 福州 350007

通信作者: 郑世雄, Email: 876514145@qq.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2025.03.017

of PERK, eIF2 α , ATF4, and CHOP mRNA and protein were detected through Real-time PCR and Western blot. **Results** The optimal concentrations for Qing' E formula serum and GSK2606414 were found to be 10% and 4%, respectively. This optimal intervention concentration was used for subsequent experiments. Post-H₂O₂ treatment, the model group showed reduced cell proliferation, increased ROS, and elevated PERK, eIF2 α , ATF4, and CHOP expression. Conversely, the Qing' E formula group exhibited increased proliferation, reduced ROS, and decreased expression of the above related markers. **Conclusion** Qing' E formula serum effectively inhibits endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in osteoblasts, possibly through the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP signaling pathway.

【Key words】 postmenopausal osteoporosis; Qing' E formula; endoplasmic reticulum stress; PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP-signaling pathway

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是雌激素水平急剧降低引起破骨细胞活性显著增强, 致使骨量降低、骨微结构退变和骨折风险性升高的代谢性疾病^[1-2]。PMOP 患者血清中氧化状态物质显著增加和抗氧化酶活性下降^[3], 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 高活性分子过量堆积, 引起氧化应激损伤, 可抑制成骨细胞活性^[4]。氧化应激是内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 的重要诱因, 内质网是蛋白质合成和加工的场所, 是影响成骨细胞合成分泌骨基质功能的主要细胞器, ERS 致使内质网生理功能紊乱或细胞凋亡, 提高其应对能力^[5-7]是防治 PMOP 的新方向。

中医学认为 PMOP 属于骨痿的范畴, 肾虚是疾病的本质, 青娥丸是补肾强腰的经方, 临床试验表明该方对 PMOP 疗效显著^[8]; 青娥丸可上调雌激素水平^[9]、有效改善卵巢切除术 (ovariectomy-induced osteoporosis, OVX) 大鼠高转换型骨代谢以阻止骨量丢失^[10], 含药血清可促进成骨细胞活性^[11], 网络药理学分析显示其抗骨质疏松作用很可能与雌激素信号通路和 PI3K/Akt 信号通路密切相关^[12-13]。然而, 青娥丸对成骨细胞内质网应激凋亡的保护作用尚未明确, 因此, 本研究拟通过 H₂O₂ 制备内质网应激凋亡细胞模型, 探讨青娥丸对成骨细胞的保护作用及其作用机制, 为其临床应用提供实验室支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级、6 周龄、180~200 g、雄性 Sprague-Dawley 大鼠 30 只, 购自浙江省医学科学院 (生产许可证号: 1908140006), 饲养于福建省中医药科学院比较医学中心, 环境标准为温度 22~25 °C、湿度 40%~60%、光周期 12L: 12D, 适应性喂养 1 周后正式实验。动物质量合格证号 0000419, 动物伦理审批单位为福州市第二总医院, 伦理审批

号 2022015。

1.2 实验材料

(1) 实验药物: 青娥丸购自北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂, 规格: 9 g \times 10 丸, 批号为 230701、231101; GSK2606414 购自美国 APEX BIO 公司, 货号: A3448。(2) 细胞系: UMR-106 (大鼠骨肉瘤细胞) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司, 货号: CL-0462。(3) 主要试剂: DMEM 培养基购自美国 sigma 公司, 胎牛血清购自美国 Gibco 公司, 磷酸盐缓冲液和 0.25% 胰蛋白酶购自武汉普诺赛生命科技有限公司; ROS 活性氧检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司; TransScript[®] All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR 和 PerfectStartR Green qPCR SuperMix 购自北京全式金生物技术股份有限公司; β -actin、蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK)、真核生物起始因子 2 α (eukaryotic translation initiation factor alpha 2, eIF2 α)、活化转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4)、CAAT 增强子结合蛋白同源蛋白 (CAAT enhancer-binding protein homologous protein, CHOP) 一抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司。(4) 主要仪器: 二氧化碳恒温培养箱 (Thermo Scientific); 低温冷冻离心机 (Eppendorf); 倒置荧光显微镜 (Leica); 全自动酶标仪 (Thermo Fisher Scientific); 实时荧光定量 PCR 仪 (ABI); 化学发光成像系统 (Bio-Rad)。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠血清制备

按随机数字表法将 30 只 SD 大鼠分为生理盐水空白血清组和青娥丸含药血清组, 每组 15 只。空白血清组采用生理盐水灌胃给药, 含药血清组根据人和大鼠的体表面积换算得出灌胃剂量, 0.937 5 g/(kg \cdot d) 成药量连续灌胃给药 7 d, 于第 7 天灌胃后 2 h 后腹主动脉采血, 室温静置凝固后 3 000

r/min 离心 15 min, 吸取上层血清, 56 °C 水浴以灭活补体, 0.22 μmol/L 过滤器滤过除菌, 分装, 于 -80 °C 超低温冰箱中保存^[14]。

1.3.2 细胞培养、分组和干预

UMR-106 细胞培养于含有 10% FBS、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素的 DMEM 完全培养基中, 置于 5% CO₂、37 °C 的恒温培养箱中培养。将细胞分为 4 组: 空白组 (NC 组)、模型组 (H₂O₂ 组)、青娥丸组 (H₂O₂ + QE 组) 和抑制剂组 (H₂O₂ + GSK2606414 组)^[14]。

1.3.3 青娥丸最佳干预浓度的筛选

UMR-106 细胞消化、重悬、计数, 按照 5 × 10³ 个/孔接种于 96 孔板, 置于培养箱中培养 24 h, 分别采用 5%、10%、20% 的含药血清干预细胞, 每个浓度设置 6 个复孔, 置于培养箱中培养 24 h、48 h、72 h, 分别向每孔中加入 10 μL 的 CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1 h, 酶标仪检测 450 nm 处的吸光度。

1.3.4 GSK2606414 最佳干预浓度的筛选

UMR-106 细胞消化、重悬、计数, 按照 1 × 10⁴ 个/孔接种于 96 孔板, 置于培养箱中培养 24 h, 分别采用 0.02、0.04、0.06、0.08 和 0.1 μmol/L 的 GSK2606414 干预细胞, 每个浓度设置 6 个复孔, 置于培养箱中培养 12 h, 分别向每孔中加入 10 μL 的 CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1 h, 酶标仪检测 450 nm 处的吸光度^[14]。

1.3.5 细胞增殖活性检测

UMR-106 细胞消化、重悬、计数, 按照 5 × 10³ 个/孔接种于 96 孔板, 置于培养箱中培养 12 h, 空白组和模型组加入空白血清干预 12 h, 青娥丸组加入含药血清干预 12 h, 抑制剂组加入 GSK2606414 和空白血清干预 12 h; 分别向模型组、青娥丸组和抑制剂组加入 H₂O₂ 干预 12 h; 再分别向每孔中加入 10 μL 的 CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1 h, 酶标仪检测 450 nm 处的吸光度。

1.3.6 细胞 ROS 含量检测

UMR-106 细胞消化、重悬、计数, 按 7 × 10⁴ 个/mL 接种于共聚焦皿中, 置于培养箱中培养 24 h, 吸去原始培养基, 润洗 3 次; 按照 1 : 1 000 加入荧光探针 DCFH-DA, 37 °C 孵育 20 min, 操作全程注意避光; 置于激光共聚焦显微镜下拍摄, Image J 分析平均吸光度。

1.3.7 荧光定量 PCR 检测关键节点转录水平

采用 Trizol 法提取细胞总 RNA。收集 4 组细

胞, 加入 Trizol 0.5 mL 充分混匀, 室温静置 10 min; 再加入氯仿 100 μL 充分混匀, 4 °C 12 000 r/min 离心 20 min; 取上清液 200 μL 至新 EP 管, 加入 200 μL 异丙醇充分混匀, 冰上静置 15 min, 4 °C 12 000 r/min 离心 20 min; 弃液, 预冷 75% 乙醇洗涤; 弃液, 加入 10 μL DEPC 溶解总 RNA; 检测样本 A₂₆₀/A₂₈₀, -80 °C 保存。总 RNA 经过试剂盒逆转录为 cDNA, -20 °C 保存; 采用 SYBR Green 20 μL 反应体系, 条件: 95 °C 10 s 和 60 °C 30 s, 一共 40 个循环, 95 °C 15 s、60 °C 60 s、95 °C 15 s, β-actin 作为内参, 2^{-ΔΔCt} 法计算关键节点的相对表达量^[14]。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

名称	F (5'-3')	R (5'-3')
PERK	5'-GATGACTGCAATT- ACGCTATCAAGA-3'	5'-CCTTCTCCCGTGCCA- ACTC-3'
eIf2α	5'-GCATTCTTCGCCAT- GTTGCT-3'	5'-AGGCACCATATCCAG- GTCTCT-3'
ATF4	5'-GCCTGACTCTGCT- GCTTATATTAC-3'	5'-ACGAGGAACACCTGG- AGAAG-3'
CHOP	5'-CATGAAGTGTG- GCATCACC-3'	5'-CTACCCTCAGTCCCC- TCCTC-3'
β-actin	5'-TGCTATGTTGCC- CTAGACTTCG-3'	5'-GTTGGCATAGAGGTC- TTTACGG-3'

注: F, 上游引物; R, 下游引物。

1.3.8 蛋白印记检测关键节点表达水平

收集细胞, 分别加入 RIPA 裂解液和苯甲磺酰氟 (phenyl methane sulfonyl fluoride, PMSF) 抑制剂 300 μL, 冰上充分裂解, 4 °C 12 000 r/min 离心 20 min, 取上清 200 μL, 加入 5 × loading buffer 50 μL 置于 98~100 °C 变性 10 min, 分装, -20 °C 保存; 蛋白样本通过 SDS-PAGE 电泳, 转膜至 PVDF, 脱脂奶粉常温封闭, 1 : 5 000 兔抗 β-actin、1 : 5 000 兔抗 PERK、1 : 1 000 兔抗 eIf2α、1 : 1 000 鼠抗 ATF4 和 1 : 1 000 鼠抗 CHOP 一抗 4 °C 摇床孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 1 : 1 000 相应二抗常温摇床孵育, TBST 洗涤 3 次, 化学发光显影; β-actin 作为内参, 计算关键节点的相对表达量。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 26.0 分析软件, 正态分布的实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 非正态分布的数据采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 青娥丸含药血清最佳浓度筛选

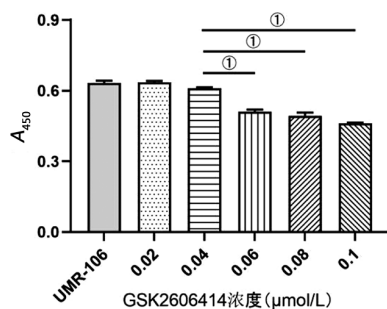
采用 5%、10%、20% 生理盐水空白血清和青娥丸含药血清，分别干预 UMR-106 细胞，CCK-8 法筛选最佳浓度，结果显示：与 UMR-106 细胞组相比，5% 浓度时空白组和青娥丸组的增殖活性略低于 UMR-106 细胞；10% 浓度时空白组与 UMR-106 细胞增殖活性基本相同，青娥丸组的增殖活性更高；20% 浓度时空白组和青娥丸组的增殖活性呈降低趋势（表 2）。因此，选择 10% 浓度用于后续实验的干预条件。

表 2 不同浓度含药血清干预下的细胞增殖活性 (A_{450})

浓度	24 h	48 h	72 h
UMR-106	0.64 ± 0.02	0.91 ± 0.02	1.32 ± 0.04
5% 空白	0.59 ± 0.01	0.88 ± 0.03	1.14 ± 0.03
5% 含药	0.61 ± 0.01	0.94 ± 0.03	1.25 ± 0.02
10% 空白	0.72 ± 0.02	1.06 ± 0.04	1.43 ± 0.04
10% 含药	0.78 ± 0.02	1.25 ± 0.01	1.59 ± 0.04
20% 空白	0.68 ± 0.01	1.05 ± 0.04	1.35 ± 0.03
20% 含药	0.73 ± 0.04	1.10 ± 0.06	1.42 ± 0.04

2.2 抑制剂 GSK2606414 最佳浓度筛选

GSK2606414 干预 12 h 后，与 UMR-106 细胞相比，GSK2606414 浓度 0.02 和 0.04 $\mu\text{mol/L}$ 的细胞增殖活性未发生显著变化，浓度 0.06、0.08 和 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的细胞增殖活性显著降低 ($P < 0.001$ ，图 1)，因此选择 0.04 $\mu\text{mol/L}$ 作为后续实验的干预条件。

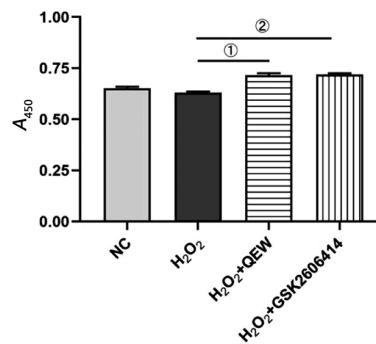


注：①与 GSK2606414 浓度 0.04 $\mu\text{mol/L}$ 相比， $P < 0.001$ 。

图 1 不同浓度 GSK2606414 干预下的细胞增殖活性

2.3 细胞增殖活性比较

与空白组相比，模型组细胞增殖活性无显著变化；与模型组相比，青娥丸组和抑制剂组细胞增殖活性升高 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ ，图 2)，提示青娥丸含药血清可上调 ROS/ERS 细胞模型的细胞增殖活性。

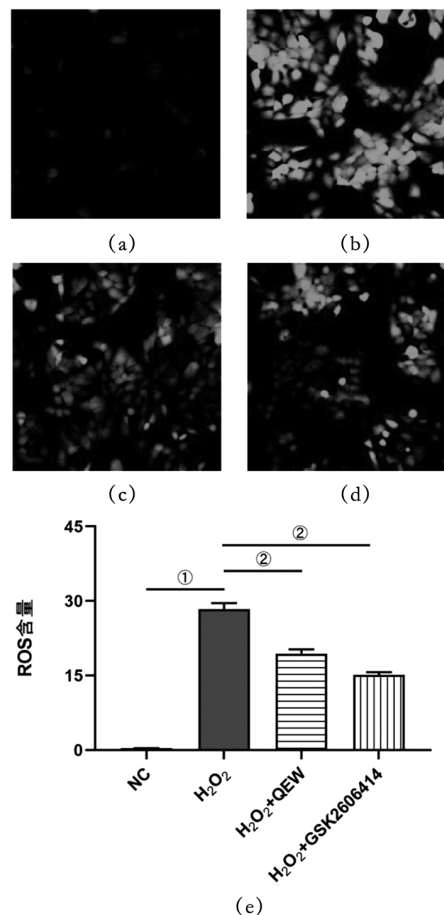


注：与模型组相比，① $P < 0.01$ ，② $P < 0.05$ 。

图 2 各组细胞增殖活性比较

2.4 ROS 含量比较

空白组（图 3a）未见明显荧光探针 DCFH-DA，模型组（图 3b） H_2O_2 处理后 UMR-106 细胞内荧光强度显著升高，提示 ROS 含量显著升高 ($P < 0.001$ ，图 3e)；青娥丸组（图 3c）和抑制剂组（图 3d）干预后荧光强度均降低，提示青娥丸含药血清可下调 ROS/ERS 细胞模型 ROS 的形成量 ($P < 0.001$ ，图 3e)。

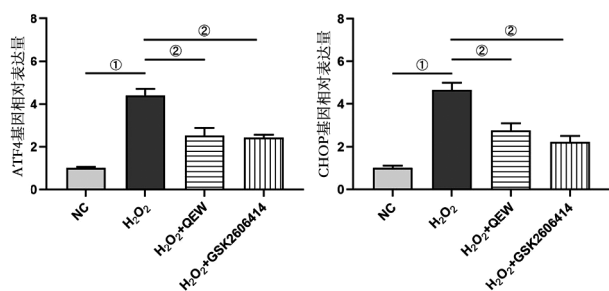


注：与空白组相比，① $P < 0.001$ ；与模型组相比，② $P < 0.001$ 。

图 3 各组细胞 ROS 含量比较

2.5 通路关键节点 mRNA 转录水平比较

与空白组相比,模型组细胞 PERK、eIF2 α 、ATF4 和 CHOP mRNA 相对表达量均显著上调 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$);与模型组相比,青娥丸组和抑制剂组以上 4 个指标 mRNA 相对表达量均不同程度下调 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$)。见图 4。



注:与空白组相比,① $P < 0.001$;与模型组相比,② $P < 0.001$ 。

图 4 各组细胞中关键节点基因转录水平比较

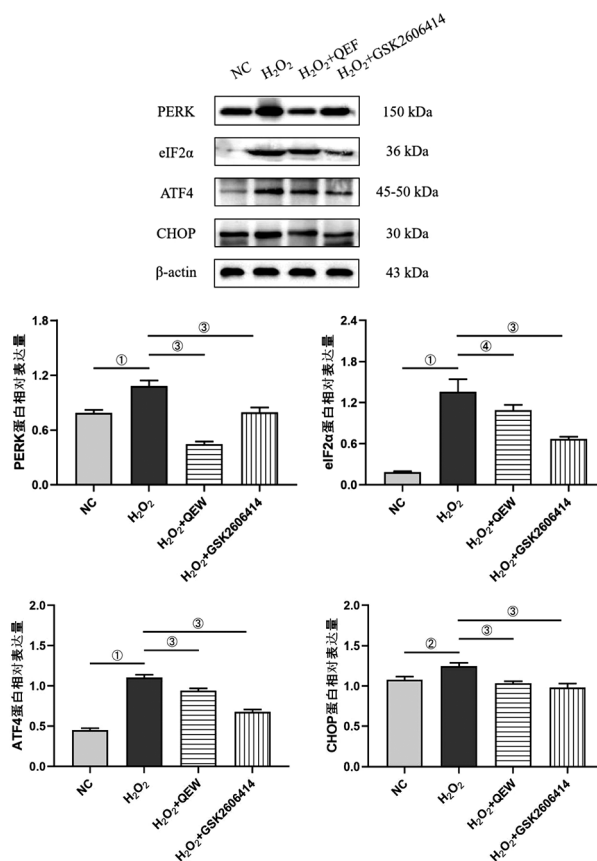
2.6 通路关键节点蛋白表达水平比较

与空白组相比,模型组细胞 PERK、eIF2 α 、ATF4 和 CHOP 的蛋白相对表达量显著上调 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$);与模型组相比,青娥丸组和抑制剂组以上 4 个蛋白相对表达量不同程度下调 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$)。见图 5。

3 讨论

青娥丸出自《太平惠民和剂局方》,是盐杜仲、盐补骨脂、炒核桃仁和大蒜熬膏共同研粉制成水蜜丸,重用杜仲补肝肾强筋骨、为君药,补骨脂温肾壮阳、为君药,核桃仁补肾固精、为臣药,大蒜温中行滞、为佐使药,是补肾强腰的经典方,对肾阳亏虚腰痛疗效确切。近年的研究发现青娥丸治疗 PMOP 作用显著,可明显改善患者腰背疼痛、腰膝酸软等主要临床症状,并且提高 L₁~L₄ 和全髌骨密度^[15-17],含药血清可促进成骨细胞增殖、分化和矿化^[17-18],促进骨形成,发挥抗骨质疏松作用。因此,深入探讨青娥丸对成骨细胞的作用机制意义重大。

氧化应激是 ERS 的主要诱因,可促进破骨细胞增殖,提高其活性,同时抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化,并且损伤成骨细胞致其凋亡,进一步打破骨吸收和骨形成的动态平衡,是 PMOP 骨量丢失的重要因素之一^[19],因此,研究增强成骨细



注:与空白组相比,① $P < 0.001$,② $P < 0.01$;与模型组相比,③ $P < 0.001$,④ $P < 0.05$ 。

图 5 各组细胞中关键节点蛋白表达水平比较

胞的抗氧化防御是药物治疗的新方向。本研究制备成骨细胞 ROS/ERS 模型^[14],以 10 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 直接作用于游离巯基(其是维持蛋白折叠酶活性的必需物质),继而引发 ERS,实验中持续的 ERS 抑制成骨功能,并且可诱导成骨细胞凋亡;CCK-8 和荧光结果显示模型组细胞增殖活性显著降低,伴随 ROS 显著升高,青娥丸含药血清可增强细胞增殖活性并且显著下调细胞内 ROS 含量,提示其可提高成骨细胞的抗氧化应激水平。

成骨细胞由骨髓间充质干细胞定向分化而来,是主导骨形成的主要细胞,其数量和功能对维持骨骼正常骨量和结构具有重大作用。成骨细胞凋亡和骨基质合成功能减弱是骨量丢失的主要原因,其中内质网是蛋白质合成、折叠和修饰的场所,决定着成骨细胞的功能强弱,内质网应激可引起功能紊乱和损伤。早期适应性反应是阻止未折叠蛋白合成和增强蛋白质折叠能力、激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)以维持稳态,这有助于细胞存活;当应激持续时,UPR 无法对抗,蛋白质未折叠/错误折叠堆积,ERS 传感器被激活,

则出现成骨细胞凋亡。

研究显示 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路是调控 ERS 的经典通路之一^[20], 也是调控成骨细胞功能的主要通路之一^[21]。内质网应激时, PERK 与葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78kD, GRP78) 解离, 游离 PERK 形成同源二聚体并活化为 p-PERK, 触发下游靶点 eIF2 α 的 51 位丝氨酸磷酸化, 促进转录因子 ATF4 的转录和表达, 继而增强 ERS 诱导凋亡关键分子 CHOP 的表达, 细胞凋亡启动。PERK 敲除小鼠出现骨小梁数量、骨小梁厚度和骨基质矿化程度显著降低的骨质疏松表型^[22], 同样地, 沉默 PERK 可抑制内质网应激的细胞凋亡, 因此, 采用 PERK 的选择性抑制剂 GSK2606414 作为本实验的阳性对照药。本实验中, 模型组 PERK、eIF2 α 、ATF4 和 CHOP 的基因和蛋白相对表达水平显著增加, 信号通路活化介导 UMR-106 细胞凋亡; 青娥丸组和抑制剂组上述 4 个关键节点基因和蛋白相对表达量均显著降低, 提示青娥丸含药血清可减轻 ERS, 提高成骨细胞对抗氧化应激反应的能力。

综上所述, 青娥丸含药血清很可能通过 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路缓解过度的内质网应激以促进成骨细胞的增殖, 为防治 PMOP 提供实验室支持; 为更好地验证青娥丸含药血清对内质网应激的影响, 后续将开展基因沉默进一步验证其对成骨分化矿化的影响, 并通过动物实验进行进一步验证。

参考文献

- [1] Silverstein W K, Cantor N, Cheung A M. Postmenopausal osteoporosis [J]. N Engl J Med, 2024, 390 (7): 673-674.
- [2] Zhao F, Guo Chandran M. AACE/ACE clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis-2020 update: risk stratification and intervention thresholds [J]. Endocr Pract, 2021, 27 (4): 378.
- [3] Zhao F, Guo L, Wang X, et al. Correlation of oxidative stress-related biomarkers with postmenopausal osteoporosis: a systematic review and meta-analysis [J]. Arch Osteoporos, 2021, 16 (1): 4.
- [4] Tao H, Ge G, Liang X, et al. ROS signaling cascades: dual regulations for osteoclast and osteoblast [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2020, 52 (10): 1055-1062.
- [5] 李超, 赵剑波, 陈俊雅, 等. 金天格胶囊对 H₂O₂ 诱导的小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 氧化应激损伤及炎症因子的作用 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28 (10): 1448-1452, 1532.
- [6] 徐昊. 雌激素对小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 氧化应激损伤的保护作用及机制探究 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28 (6): 824-830.
- [7] 蒋华, 韩岩峰, 罗琳, 等. 白藜芦醇对绝经后骨质疏松女性骨代谢和氧化代谢产物水平的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25 (4): 523-527.
- [8] 陈帆, 魏戌, 崔鑫, 等. 青娥丸治疗绝经后骨质疏松症的系统评价及 Meta 分析 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27 (2): 179-189.
- [9] Xiong J L, Cai X Y, Zhang Z J, et al. Elucidating the estrogen-like effects and biocompatibility of the herbal components in the Qing' E formula [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 283: 114735.
- [10] 王晓燕, 常时新, 李冠武, 等. 经方青娥丸对去势大鼠骨质疏松作用机制的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23 (2): 197-202.
- [11] 翁泽斌, 颜翠萍, 张志杰, 等. 不同炮制品入药的青娥丸含药血清对人成骨细胞增殖、分化及矿化的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (6): 165-168.
- [12] 范晓茜, 陈锋, 杨文娜. 基于系统药理学和分子对接探讨青娥丸治疗绝经后骨质疏松症的作用机制 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27 (5): 735-741.
- [13] 邸学士, 陈昭, 贾育松, 等. 基于网络药理学探讨青娥丸治疗绝经后骨质疏松症的作用机制 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27 (3): 364-371.
- [14] 陈赛楠, 周芬, 黄云梅, 等. 基于 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路探讨健骨颗粒对 UMR-106 细胞内质网应激凋亡的影响 [J]. 康复学报, 2024, 34 (1): 34-43.
- [15] 夏雪, 马陈, 沈霖, 等. 古方青娥丸治疗绝经后骨质疏松症的临床疗效观察 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24 (7): 20-22.
- [16] 王欣燕, 刘建红, 黄显元. 青娥丸对绝经后骨质疏松症患者骨密度、骨代谢指标和骨硬化蛋白的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26 (3): 412-415.
- [17] 刘玲, 翁泽斌, 王恒, 等. 青娥丸方有效成分药动学-药效学相关性研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41 (23): 4436-4441.
- [18] 杨荣平, 邓改改, 罗友成, 等. 青娥丸不同萃取部位对成骨细胞增殖分化及破骨细胞活性的影响 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22 (11): 2588-2590.
- [19] Zhang C, Li H, Li J, et al. Oxidative stress: a common pathological state in a high-risk population for osteoporosis [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 163: 114834.
- [20] 林锐钿, 李子涵, 古丽莎. 内质网应激在骨代谢及其稳态中的作用 [J]. 中华口腔医学研究杂志 (电子版), 2021, 15 (5): 309-313.
- [21] Wei J, Sheng X, Feng D, et al. PERK is essential for neonatal skeletal development to regulate osteoblast proliferation and differentiation [J]. J Cell Physiol, 2008, 217 (3): 693-707.
- [22] Saito A, Ochiai K, Kondo S, et al. Endoplasmic reticulum stress response mediated by the PERK-eIF2 (alpha) -ATF4 pathway is involved in osteoblast differentiation induced by BMP2 [J]. J Biol Chem, 2011, 286 (6): 4809-4818.