

# 水母胶原联合SOD对骨质疏松症模型小鼠的干预作用

刘倩<sup>1\*</sup>, 陈永<sup>2</sup>, 唐中生<sup>3#</sup>, 徐蕾<sup>4</sup>, 阮仁全<sup>5</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学基础医学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>遵义医科大学附属医院风湿免疫科, 贵州 遵义

<sup>3</sup>贵州中医药大学解剖学教研室, 贵州 贵阳

<sup>4</sup>美尔健(深圳)生物科技有限公司研发部, 广东 深圳

<sup>5</sup>美尔健(深圳)生物科技有限公司总经理办公室, 广东 深圳

收稿日期: 2024年6月4日; 录用日期: 2024年7月8日; 发布日期: 2024年7月16日

## 摘要

目的: 观察水母胶原联合超氧化物歧化酶(JCSOD)对糖皮质激素诱导的骨质疏松症模型小鼠的干预作用。方法: 将C57BL/6小鼠分为正常对照组(NC)、模型组(Dex)、JCSOD低剂量组(JCSOD-L)、JCSOD高剂量组(JCSOD-H)、水母胶原组(JC)、氨糖软骨素钙片组(ACc), 每组5只。干预60天, 结束后采集骨组织和血清, 分别进行病理组织学和骨胶原纤维形态学检测, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行骨特异性碱性磷酸酶(BALP)和活性氧(ROS)含量检测。结果: 病理组织学检测和骨胶原纤维形态学检测提示, 与Dex组相比, JCSOD-H组和JC组显著维持了骨小梁的构架, 提高了骨胶原的着色深度和纹理的清晰度, JCSOD-L组和ACc组效果较差, 但效果优于Dex组。ELISA法检测显示, 与Dex组相比, JCSOD低、高剂量组、JC组和ACc组都显著提高了血清BALP的含量( $P < 0.005$ ), 降低了骨组织ROS的含量( $P < 0.005$ )。结论: JCSOD可以通过保持骨小梁的架构、提高骨胶原纤维的染色深度、增加BALP的表达和减少ROS的含量来减缓激素诱导的骨质疏松症小鼠的病情进展。

## 关键词

骨质疏松症, 糖皮质激素, 水母胶原, 骨特异性碱性磷酸酶, 活性氧

# The Interventional Effect of Jellyfish Collagen Combined with SOD on a Mice Model of Osteoporosis

Qian Liu<sup>1\*</sup>, Yong Chen<sup>2</sup>, Zhongsheng Tang<sup>3#</sup>, Lei Xu<sup>4</sup>, Renquan Ruan<sup>5</sup>

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 刘倩, 陈永, 唐中生, 徐蕾, 阮仁全. 水母胶原联合 SOD 对骨质疏松症模型小鼠的干预作用[J]. 药物资讯, 2024, 13(4): 341-347. DOI: 10.12677/pi.2024.134039

<sup>1</sup>School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Department of Rheumatology and Immunology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou

<sup>3</sup>Department of Anatomy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>4</sup>R&D Department, Meierjian (Shenzhen) Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen Guangdong

<sup>5</sup>General Manager Office, Meierjian (Shenzhen) Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen Guangdong

Received: Jun. 4<sup>th</sup>, 2024; accepted: Jul. 8<sup>th</sup>, 2024; published: Jul. 16<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

**Objective:** To observe the intervention effect of jellyfish collagen combined with superoxide dismutase (JCSOD) on glucocorticoid-induced osteoporosis model mice. **Methods:** C57BL/6 mice were divided into normal control group (NC), model group (Dex), JCSOD low-dose group (JCSOD-L), JCSOD high-dose group (JCSOD-H), jellyfish collagen group (JC) and aminosaccharide chondroitin calcium tablet group (ACc), with 5 mice in each group. After 60 days of intervention, bone tissue and serum were collected, and histopathological and bone fibrillar morphology were detected, respectively. Bone-specific alkaline phosphatase (BALP) and reactive oxygen species (ROS) contents were detected by enzyme-related immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Compared with Dex group, JCSOD-H and JC groups significantly maintained bone trabecular structure and improved the depth of collagen staining and texture clarity. JCSOD-L and ACc groups had worse effects, but had better effects than Dex group. ELISA assay showed that compared with Dex group, JCSOD low, high dose, JC and ACc groups significantly increased serum BALP content ( $P < 0.005$ ), and decreased bone tissue ROS content ( $P < 0.005$ ). **Conclusion:** JCSOD can slow down the progression of steroid-induced osteoporosis in mice by maintaining the structure of bone trabeculae, increasing the staining depth of bone fibrils, increasing the expression of BALP and decreasing the content of ROS.

## Keywords

Osteoporosis, Glucocorticoid, Jellyfish Collagen, Bone Specific Alkaline Phosphatase, Active Oxygen

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种由多种原因导致的骨密度和骨质量下降,骨微结构破坏,造成骨脆性增加,从而容易发生骨折的全身性骨病[1]。糖皮质激素(Glucocorticoid, GC)的大量使用是导致继发性骨质疏松症的重要原因之一。现有研究证实,骨吸收与骨形成失衡是导致OP的主要病理机制[2]。双磷酸盐是治疗糖皮质激素性骨质疏松症的常规用药,可有效抑制骨吸收,但其对骨吸收形成抑制,同时也会对骨正常矿物化造成影响,增加类骨质,加大骨折风险[3]。

构成胶原纤维的蛋白质为I型胶原蛋白[4]。仇雷雷等的研究表明,水母胶原蛋白(Jellyfish collagen, JC)与牛I型胶原蛋白相似,符合I型胶原蛋白特征[5]。胶原纤维在骨组织中起到结构性的网架作用,纤维的排列方向有一定规律,对于压力有一定的抵抗作用,由于胶原纤维的存在,使骨的硬度加强。胶原蛋白外用能清除体内自由基,起到多方面抗氧化的作用。超氧化物歧化酶(Super oxide dismutase, SOD)是一

种重要的抗氧化酶，可以防止氧化应激引起的细胞损伤[6]。氧化应激是引起 OP 的重要危险因素[7]，或许可以通过内服水母胶原联合超氧化物歧化酶(Jellyfish collagen and super oxide dismutase, JCSOD)降低氧化应激的方式改善 OP。

本实验采用 JCSOD 内服的方法，通过病理组织学和骨胶原纤维形态学检测，分析各组小鼠体内 ROS 和骨特异性碱性磷酸酶(Bone specific alkaline phosphatase, BALP)的含量，探讨 JCSOD 对 OP 的可能机制，为日常防治 OP 提供基础实验依据。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 实验动物

选取雌性 3 月龄 SPF 级 C57BL/6 小鼠 30 只，体质量为 $(20 \pm 2)$  g。实验动物使用许可证号：SCXK (粤) 2022~0002。质量检测单位为广东省医学实验动物中心。通过了贵州中医药大学动物伦理审查会审查，编号为 2024018。

### 2.2. 药品试剂及器材

水母胶原蛋白冻干粉(美尔健生物技术有限公司)，深海超氧化物歧化酶 SOD (中科欣扬生物科技有限公司)，地塞米松磷酸钠注射液，生理盐水，蒸馏水，小鼠 BALP 的 ELISA 检测试剂盒，小鼠 ROS 的 ELISA 检测试剂盒，酶标仪(450 nm)，高精度加样器及枪头，37℃恒温箱，苏木精 - 伊红染色法(HE)试剂盒、Masson 三色染色试剂盒(Solarbio)，正置显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)，石蜡切片机(苏州工业园区汇光科技有限公司)，摊片烤片机(湖北康强医疗器械有限公司)，生物组织包埋机 - 冷冻机、生物组织包埋机(孝感奥华医疗科技有限公司)，自动组织脱水机(湖北康强医疗器械有限公司)，无菌 PBS 缓冲液。

### 2.3. 实验方法

#### 2.3.1. 分组、造模和灌胃

雌性 3 月龄 SPF 级 C57BL/6 小鼠 30 只，随机分为 6 组，空白对照组(Normal control, NC)、模型组(Dexamethasone, Dex)、JCSOD 低剂量组(JCSOD-L)、JCSOD 高剂量组(JCSOD-H)、水母胶原组(JC)、氨基糖软骨素钙片组(Amino sugar chondroitin calcium tablets, ACc)，每组 5 只。其中 JCSOD-L、JCSOD-H、JC、ACc 为药物组。NC 组腹腔注射生理盐水 0.02 mL/d，蒸馏水灌胃 0.05 mL/d。Dex 组及药物组腹腔注射地塞米松造模 2 mg/kg/d [8]。药物组分别以 JCSOD (200 mg/kg/d)、JCSOD (400 mg/kg/d)、JC (200 mg/kg/d)、Acc (70 mg/kg/d)灌胃。以上干预方法在同一天进行，持续 60 天。

#### 2.3.2. 取材

造模与灌胃结束后，断食断水 12 h，于小鼠眼球静脉丛取血，充分取血后，迅速分离出小鼠双侧股骨和胫骨，剔除骨组织周围肌肉结缔组织。将胫骨样本放于-80℃冰箱冻存。

#### 2.3.3. 切片样本制备

双侧股骨经过 48 小时的 4%多聚甲醛溶液固定处理后，进行 4 周的 EDTA 脱钙，以大头针可轻易刺入骨组织为标准判断脱钙是否完成，脱钙成功后将双侧股骨放入包埋盒中，流水冲洗 24 h 后，进行脱水、透明、浸蜡操作，取出组织，包埋。

将已经包埋的股骨组织样本存放于-20℃的冷冻环境中，以便达到适宜的硬度切片。切片的厚度控制在 3 μm。随后进行包埋、水浴展片、捞片的步骤，将切片平铺并粘贴于载玻片上。控片、展片，迅速进行烤片处理。烤干后，需放置于载片架上，随后置于 40℃的恒温箱中 1 h，以备后续使用。

### 2.3.4. 血清制备

充分采血完成后, 静置 30 min, 离心(转速 2500 G, 时间为 15 min), 吸取上层血清转移至 1.5 mL 清洁 EP 管中, 放置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存备用。

## 2.4. 检测指标及方法

### 2.4.1. HE 染色

经过常规的脱蜡至水的左侧股骨组织切片, 稍水洗, 采用苏木精液进行染色。使用 1% 盐酸酒精进行处理, 再次水洗后, 利用促蓝液进行返蓝处理, 流水冲洗去除多余染色剂。之后, 切片被 0.5% 伊红溶液染色, 用蒸馏水洗涤, 并通过梯度乙醇脱水, 最后用二甲苯透明处理。封固步骤中, 采用中性树脂。最后, 利用显微镜对处理后的切片进行拍照记录。

### 2.4.2. Masson 染色

将右侧股骨组织切片脱蜡至水, 染色, 分化、水洗, 返蓝、水洗。染色、洗涤, 梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封固。显微镜拍照, 使用图像采集系统采集相关部位图像。

### 2.4.3. ELISA 法血清 BALP、骨组织 ROS 检测

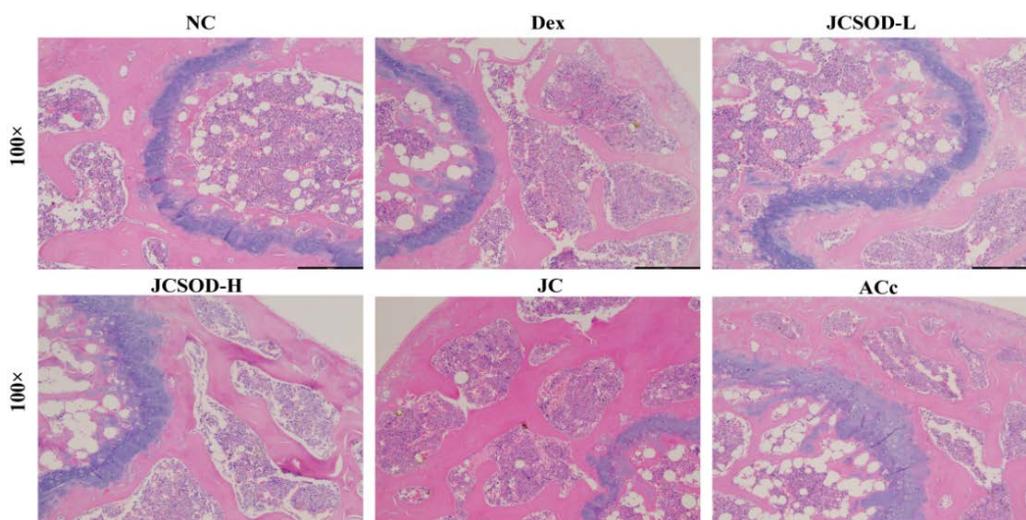
组织匀浆, 将双侧胫骨组织加入适量生理盐水捣碎, 离心(转速 3000 G, 10 分钟), 取上清, 冻存于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱。检测前, 分别将血清样本和胫骨匀浆液从冰箱取出, 在室温下充分解冻。从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出所需板条。设置标准品孔和样本孔, 分别按照试剂盒说明进行操作。在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

### 2.4.4. 统计学方法

实验数据采用 SPSS 26 和 GraphPad prism 9 软件分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 以均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. JCSOD 对各组小鼠骨组织形态的影响



注: 骨小梁被染为浅红色, 骨髓组织呈红褐色或深蓝色。

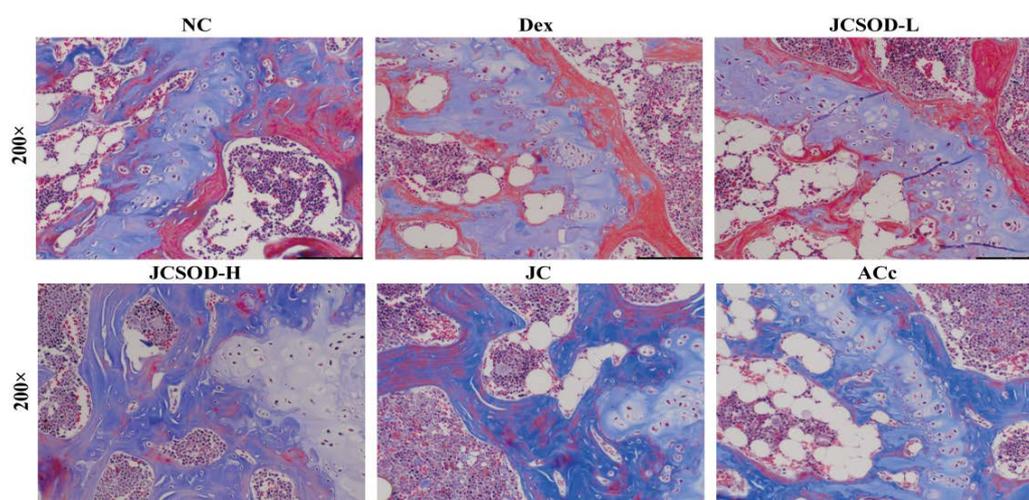
**Figure 1.** HE staining of bone trabecula in epiphysis of mice in each group

**图 1.** 各组小鼠骨骺端骨小梁 HE 染色情况

HE 染色骨骺端显微镜拍照, 结果显示: NC 组, 骨小梁致密, 排列整齐, 连接紧密; Dex 组, 骨小梁稀疏, 变薄, 有断裂, 排列不规律; JCSOD-L 组, 骨小梁稀疏, 排列不规律; JCSOD-H 组, 骨小梁较粗, 骨小梁较为致密, 但低于 JC 组; JC 组, 骨小梁明显增粗, 致密整齐; ACc 组, 骨小梁稀疏, 排列不规律。见图 1。

### 3.2. JCSOD 对各组小鼠骨胶原的影响

Masson 染色结果显示: NC 组, 骨胶原着色深, 纹理清晰, 排列规律, 无断裂; Dex 组, 骨胶原着色最浅, 纹理不清晰, 排列不规律, 模糊成片; JCSOD-L 组, 骨胶原着色较浅, 纹理不清晰, 排列不规律; JCSOD-H 组, 骨胶原着色深, 纹理清晰, 但稍逊于 JC 组, 排列规律, 较少断裂; JC 组, 骨胶原着色深, 纹理清晰, 排列规律, 较少断裂; ACc 组, 骨胶原着色深, 排列较规律, 较少断裂。见图 2。



注: 细胞核呈蓝灰色, 胞浆、肌肉、红细胞呈红色, 胶原纤维蛋白呈蓝色。

Figure 2. Masson staining of bone collagen in each group

图 2. 各组小鼠骨胶原 Masson 染色情况

### 3.3. JCSOD 对各组小鼠血清 BALP 的影响

Dex 组 BALP 含量明显低于其余各组( $P < 0.05$ ), 而药物组含量均高于 NC 组( $P < 0.05$ )。JC 组含量低于其余药物组。ACc 组与 JCSOD-H 组含量相似但低于 JCSOD-L 组。见表 1 BALP (单位: ng/ml)。

Table 1. Comparison of serum BALP and ROS content in bone tissue of mice in each group (mean  $\pm$  standard deviation)

表 1. 各组小鼠血清 BALP、骨组织 ROS 含量的比较(均值  $\pm$  标准差)

组别	n	BALP (单位: ng/ml)	ROS (单位: pg/g)
NC 组	5	9.78 $\pm$ 0.69*	9036.82 $\pm$ 414.17*#
Dex 组	5	7.84 $\pm$ 0.51	9732.3 $\pm$ 421.35
JCSOD-L 组	5	14.07 $\pm$ 0.44*#	6529.05 $\pm$ 463.24*#
JCSOD-H 组	5	13.1 $\pm$ 0.74*#	7314.2 $\pm$ 411.15*#
JC 组	5	11.52 $\pm$ 1.02*#	7763.49 $\pm$ 394.97*#
ACc 组	5	13.09 $\pm$ 0.59*#	7290.21 $\pm$ 400.26*#

注: \*与 Dex 组比较,  $P < 0.05$ ; #与 NC 组比,  $P < 0.05$ 。

### 3.4. JCSOD 对各组小鼠骨组织 ROS 的影响

Dex 组 ROS 表达明显高于其余各组( $P < 0.05$ ), 而药物组表达均低于 NC 组( $P < 0.05$ )。JCSOD-L 组表达最低, JC 组表达均高于其余药物组。见表 1 ROS (单位: pg/g)。

## 4. 讨论

糖皮质激素(Glucocorticoid, GC)所致的骨质疏松症是继发性骨质疏松症的常见原因, 发生率仅次于老年性骨质疏松症和绝经后骨质疏松症[9]。GC 会抑制成骨细胞因子的产生, 如胰岛素样生长因子 I 和骨的主要有机成分, 即 I 型胶原蛋白; 还会直接作用于成熟的破骨细胞, 从而抑制其凋亡[10]。因此, 骨形成被迅速地抑制, 骨吸收大于骨形成。骨骼的生理状态下, 其生长依赖于正常骨代谢, 在骨形成阶段, 骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞, 随即分泌出胶原纤维, 新生成的胶原纤维和其他结构蛋白逐渐沉积形成骨基质, 在适当的条件下, 钙离子和磷酸盐会沉积在胶原纤维之间, 形成矿化结晶, 进而形成硬骨质组织。同时破骨细胞也同样被激活, 分泌出相关酶原, 使周围死骨被溶解, 溶解过程中成骨细胞又迁移至此, 进一步形成新骨, 以此维持动态平衡[11] [12]。

在骨基质中, 胶原纤维起着支撑和结构性作用, 使骨骼具有弹性和韧性。同时, 无机盐类物质如羟基磷灰石等沉积在胶原纤维之间, 形成矿化结构, 增加了骨骼的硬度和抗压强度[13]。水母胶原具有促进骨细胞增殖和分化、促进骨细胞基质生成、提高骨组织生物相容性等优点。既往研究显示, 将水母胶原应用于骨修复领域, 可以促进骨细胞的黏附和增殖, 有助于促进骨细胞的再生和骨组织的修复[14]。此外, 水母胶原还可以模拟骨基质的微环境, 提供细胞黏附的支撑, 有利于骨细胞的定向生长和分化[15]。因此, 水母胶原作为一种生物相容性良好的材料, 在骨修复和骨再生领域具有广阔的应用前景。在骨细胞中, SOD 有助于维持细胞内的氧化还原平衡, 保护骨细胞免受氧化应激的影响[16]。SOD 与骨密度呈正相关, 在减少骨组织中的氧化损伤的同时, 有助于维持骨密度和骨质的稳定性[17]。本实验使用口服 JCSOD 的方法, 对进展中的骨质疏松症干预后, 骨小梁排列整齐, 胶原纤维纹理清晰, 排列规律, HE 染色和 Masson 染色均显示效果良好。

BALP 的主要作用是水解磷酸酯键, 从而促进骨骼中磷酸盐的沉积和矿化, 有助于骨骼的形成和维持[18]。它作为一种骨细胞特异性标志物, 主要存在于成熟骨细胞和成骨细胞表面, 其含量表达水平可以反映成骨细胞的活性和骨形成情况[19] [20]。BALP 表达水平的下降可能反映了骨细胞活性的降低和骨形成的减少, 进而导致骨密度下降和骨质疏松症的发展。BALP 水平与骨密度之间呈正相关, 较高的 BALP 水平通常伴随较高的骨密度, 这表明 BALP 的变化可以在一定程度上反映骨质状态[21]。本实验中 JCSOD 的干预使 GC 诱导的骨质疏松症小鼠血清中 BALP 的含量明显升高, 提示 JCSOD 可以有效促进骨形成, 从而减缓激素诱导的骨质疏松症小鼠的病情进展。

ROS 是一种由氧气分子通过还原反应生成的自由基。这些自由基在细胞代谢和生物化学反应中产生, 在正常生理状态下保持相对平衡, 在过量积累时就会引起氧化应激[22]。骨髓间充质干细胞成骨分化障碍的原因之一就是 ROS 诱导线粒体损伤造成的[23]。研究显示, ROS 抑制成骨细胞的增殖分化, 刺激成骨细胞和骨髓基质细胞的 RANKL 表达, 促进破骨细胞形成和分化, 对骨质疏松的发生起着重要促进作用[24]。本实验在 JCSOD 药物干预后小鼠骨组织 ROS 表达量显著降低, 提示 JCSOD 可通过降低氧化应激程度, 减缓骨质疏松症的发展。

综上所述, JCSOD 在防治激素诱导的骨质疏松症方面, 能有效延控骨质疏松症的发病进程, 维持骨小梁的组织架构, 提高骨胶原纤维的染色深度, 升高 BALP 骨代谢指标, 抑制 ROS 的活性。治疗过程中未有小鼠发生意外死亡, 说明口服 JCSOD 具有较高的安全性。不足之处在于本次实验检测指标和检测方法较少, 缺乏其他相关指标的验证, 不能从多方面论证 JCSOD 对骨质疏松症的作用。

## 参考文献

- [1] 曹虹, 于健, 常雅茹, 等. 基于 Web of Science 的骨折联络服务文献可视化分析[J]. 天津护理, 2023, 31(5): 554-558.
- [2] 周坤, 林剑, 莫亚峰, 等. 成骨细胞介导的相关信号通路在老年骨质疏松症中的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(8): 1203-1207, 1219.
- [3] 黄东. 糖皮质激素诱导骨质疏松症防治研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(11): 180-181.
- [4] 熊正文, 朱光君, 黄勇, 等. 骨组织的脱钙及其免疫组织化学技术的探讨[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2002, 11(3): 347-349.
- [5] 仇雷雷, 王博, 邹帅军, 等. 水母胶原蛋白的提取及性能研究[J]. 药学实践杂志, 2020, 38(6): 509-515.
- [6] 朱伟, 王永强. 水母胶原蛋白抗氧化活性研究[J]. 生物加工过程, 2010, 8(2): 65-68.
- [7] 刘沛, 蒋宜伟, 周玉英, 等. Nrf2 调控网络与骨质疏松症的相关性及中医药干预研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(2): 240-245, 256.
- [8] 章喻, 张孙正远, 王利波, 等. 牛膝-杜仲成分组合干预糖皮质激素性骨质疏松模型小鼠的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(5): 643-647.
- [9] 徐鹏慧, 张清, 孔祥艳, 等. 系统应用糖皮质激素患者的 FRAX 骨折风险评估分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12): 1768-1772.
- [10] Teitelbaum, S.L. (2012) The Conundrum of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Nature Reviews Endocrinology*, **8**, 451-452. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.89>
- [11] 刘子嘉, 李莹, 崔朋涛, 等. 补肾活血方治疗股骨头坏死肝肾亏虚证的临床疗效及对骨代谢指标 PINP、 $\beta$ -CTX 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 81-89.
- [12] Yao, D., Huang, L., Ke, J., Zhang, M., Xiao, Q. and Zhu, X. (2020) Bone Metabolism Regulation: Implications for the Treatment of Bone Diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **129**, Article 110494. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110494>
- [13] 方威风, 颜禄森, 刘昭明, 等. 无机离子聚合及其对材料和生物医学的变革[J]. 中国科学: 技术科学, 2023, 53(10): 1625-1638.
- [14] 吴宇, 张培华. 水母胶原蛋白促进创伤修复的研究进展[J]. 中国美容医学, 2023, 32(2): 198-202.
- [15] 仇雷雷, 王倩倩, 张黎明. 水母胶原蛋白及其水解产物在生物医学研究中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(8): 588-592.
- [16] Xing, L., Ni, H. and Wang, Y. (2017) Quercitrin Attenuates Osteoporosis in Ovariectomized Rats by Regulating Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Signaling Pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **89**, 1136-1141. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.073>
- [17] 高云, 周重光, 陈燕平, 等. 骨质疏松症实验大白鼠的骨密度与红细胞内 SOD 活力的相关性研究[J]. 北京针灸骨伤学院学报, 2000(1): 7-8.
- [18] 杨英, 王庆, 彭溢. 血清骨碱性磷酸酶水平与老年骨质疏松症患者骨容积的相关性[J]. 实用骨科杂志, 2023, 29(3): 219-223.
- [19] 王换新, 闫振界, 程学锋. 补肾活血壮骨汤对老年骨质疏松性髌部骨折内固定术后骨代谢、骨密度及骨愈合的影响[J]. 中医学报, 2024, 39(3): 658-664.
- [20] 王昭华. 高龄老年人股骨粗隆间骨折锁定接骨板固定术后口服速骨汤对骨愈合进程、骨代谢水平的影响[J]. 光明中医, 2020, 35(10): 1458-1460.
- [21] 杜梦凡, 张燕, 刘俊宁, 等. 龟鹿二仙胶对绝经后骨质疏松性骨折愈合的影响[J/OL]. 中医学报, 1-9. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=VKFFI0Cm57ZyE42F9-xl7g8uJPAFJwbaXRGW1l-JWaV0eicxaGnW5vCVqDjDqa9J0aF-5IM5PcTETsCN5uyDd3VyPNWETeBqaa1T52gNyiGo7yK7Hcz9sbdOSoc3\\_p0aPn9dYveTc=&uniplatform=NZKPT&flag=copy](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=VKFFI0Cm57ZyE42F9-xl7g8uJPAFJwbaXRGW1l-JWaV0eicxaGnW5vCVqDjDqa9J0aF-5IM5PcTETsCN5uyDd3VyPNWETeBqaa1T52gNyiGo7yK7Hcz9sbdOSoc3_p0aPn9dYveTc=&uniplatform=NZKPT&flag=copy), 2024-03-22.
- [22] 何紫妍, 张萌, 贾颖宇, 等. 异荜草素-玉米醇溶蛋白/阿拉伯胶纳米纤维膜的制备表征及其愈伤作用[J/OL]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 1-11. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=9UjK0-enmQghxfEJRuKGO8TX3J2XlaXwAiYKpdwHBjHTOrppVca4OE1kfzwt9n8Rqoi3gC7yqjJ7vCascAZBtGZJbnMpayj4C1SrHM3whA8sqCtNWi2GC49aophwT9yJLc7ncc\\_raw=&uniplatform=NZKPT&language=CHS](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=9UjK0-enmQghxfEJRuKGO8TX3J2XlaXwAiYKpdwHBjHTOrppVca4OE1kfzwt9n8Rqoi3gC7yqjJ7vCascAZBtGZJbnMpayj4C1SrHM3whA8sqCtNWi2GC49aophwT9yJLc7ncc_raw=&uniplatform=NZKPT&language=CHS), 2024-05-14.
- [23] 于子轩, 于永生. 线粒体在成骨细胞功能中的相关研究进展[J]. 中南药学, 2023, 21(12): 3109-3115.
- [24] 赵付琳, 罗祥, 魏强, 等. ApoE 与骨质疏松症相关性的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(10): 1544-1549.