

· 基础研究 ·

柚皮苷抑制小鼠气囊模型中 PMMA 颗粒诱导的骨溶解

李念虎, 徐展望

(山东中医药大学附属医院骨科, 山东 济南 250014)

【摘要】 目的:采用小鼠气囊模型评价柚皮苷对聚甲基丙烯酸甲酯(Polymethylmethacrylate, PMMA)诱发的破骨细胞性骨溶解的作用。**方法:**选取 48 只雌性 8~10 周龄 Balb/c 小鼠纳入研究,采用背部注入空气法在其中的 32 只小鼠中建立气囊模型,植入同种系小鼠颅骨(颅骨源自其余的 16 只小鼠)。实验共分为 4 组(150 mg/kg 柚皮苷治疗组、30 mg/kg 柚皮苷治疗组、PBS 空白对照组、DMSO 载体对照组),每组 8 只动物。对两个柚皮苷治疗组和 DMSO 载体对照组的小鼠使用 PMMA 颗粒刺激,每组 8 只相应浓度进行处理,颗粒刺激第 7 天收集囊膜和囊内植入骨进行抗酒石酸酸性磷酸酶(Tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)染色、Ca²⁺释放以及改良 Masson 染色病理分析进行评价,观察柚皮苷的治疗作用。**结果:**与 DMSO 载体组相比,柚皮苷治疗组降低了 TRAP 阳性细胞浸润的数量,差异有统计学意义($P < 0.01$);其中 150 mg/kg 浓度优于 30 mg/kg 浓度(8.90 ± 1.75 vs 15.23 ± 1.86)。在气囊模型骨吸收冲洗液中,柚皮苷能降低钙的释放,特别是 150 mg/kg 浓度组更为明显($P < 0.05$)。改良的 Masson 染色显示柚皮苷可减少 PMMA 刺激所致的骨胶原的丢失,但 150 mg/kg 浓度组作用大于 30 mg/kg 浓度组。大体及病理切片显示两种浓度的柚皮苷显著降低 PMMA 刺激所致的炎症反应,表现为气囊厚度的减低和炎症细胞浸润数量的减少。**结论:**柚皮苷抑制 PMMA 诱导的破骨细胞形成,有效缓解 PMMA 诱发的炎症反应以及随后发生的急性骨吸收。

【关键词】 柚皮苷; 破骨细胞形成; 骨吸收; 假体周围骨溶解

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2015.04.012

Naringin reduced polymethylmethacrylate-induced osteolysis in the mouse air sacs model LI Nian-hu and XU Zhan-wang. Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital to Shandong University of TCM, Jinan 250014, Shandong, China

ABSTRACT Objective: To evaluate the influence of naringin on PMMA-induced osteoclastic bone resorption using the mouse air sacs model. **Methods:** Total 48 female Balb/c mice with the age of 8 to 10 weeks were chosen in the study. Air were injected into the back in 32 mice and formed the air sacs, 6 d later, the skulls (originated from other 16 mice) were implanted to the air sacs. Thirty-two animals were divided into naringin treatment group (with 2 concentrations of 150 mg/kg and 30 mg/kg), DMSO group and PBS blank group, 8 animals in each group. Polymethylmethacrylate (PMMA) particles were injected into the air sacs in naringin treatment groups and DMSO group so as to irritate inflammatory reaction. Naringin with 2 concentrations of 150 mg/kg and 30 mg/kg were dissolved in DMSO of 0.2 ml, and were injected into air sacs, respectively. In PBS blank group, no stimulation with PMMA particles, only injected PBS, and in DMSO group, injected DMSO without naringin. Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), Ca²⁺ release, modified Masson stain and histological analysis were performed on the 7th day after stimulation. **Results:** Compared with DMSO group, naringin treatment group's cellular infiltration decreased ($P < 0.01$); concentration of 150 mg/kg was better than that of concentrations of 30 mg/kg (8.90 ± 1.75 vs 15.23 ± 1.86). Naringin can decrease calcium release in the lavage of the air sacs bone resorption model, especially obvious in naringin with concentration of 150 mg/kg. Naringin can ameliorate the inflammatory reaction and the subsequent bone resorption (including bone collagen loss, TRAP positive cells amount and so on) in air sacs with bone implant and PMMA particles. Naringin with concentration of 150 mg/kg appeared to be an optimal dosage to deliver the therapeutic effects. **Conclusion:** Naringin inhibits PMMA-induced osteoclastogenesis and ameliorates the PMMA-associated inflammatory reaction and the subsequent bone resorption.

KEYWORDS Naringin; Osteoclastogenesis; Bone resorption; Periprosthetic osteolysis

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2015, 28(4): 345-349 www.zggszz.com

基金项目:山东省自然科学基金项目(编号:Y2008C147)

Fund program: Shandong Provincial Natural Science Foundation of China

(No. Y2008C147)

通讯作者:徐展望 E-mail: xzw6001@163.com

Corresponding author: XU Zhan-wang E-mail: xzw6001@163.com

骨吸收是无菌松动以及骨质疏松所共有的病理过程,以骨矿物质丢失造成骨结构的薄弱为特征。全关节置换是重建、修复因创伤和骨性关节炎或肥胖所致关节损坏的有效外科手段。近年来虽然因感染

与外科失误所致的手术失败大大减少,但假体周围无菌松动依然是全关节置换术后最常见的并发症,成为假体是否能够长期留存的最大问题^[1]。骨与内植物界面所产生的磨屑可能在激发局部炎症以及假体周围骨丢失方面起重要作用,并最终导致关节假体的松动^[2]。本文研究旨在评价柚皮苷是否抑制 PMMA 颗粒诱导的骨溶解,并应用颗粒刺激骨溶解的小鼠气囊模型来判断其治疗效果。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

雌性 8~10 周龄 Jax Balb/c 小鼠 48 只,体重(22.35±1.76)g,由美国 Jackson 实验室提供。

1.2 主要仪器与试剂

颗粒形式的骨科生物材料 PMMA。PMMA 颗粒平均直径(0.33±0.02) μm,购自 Polysciences 公司。Coulter 颗粒计数器(Beckman Coulter 公司,美国),扫描电镜(Hitachi S-2400,日本)(图 1)。柚皮苷购自美国 Sigma-Aldrich 公司(Cat# 71162, Lot#BCBD-7489V),纯度超过 95%(HPLC),分子量为 580.53。实验用柚皮苷采用二甲基亚砜(DMSO)重构,原液浓度为 100 μg/ml。普通手术器械及眼科手术器械。TRAP 染色试剂盒(美国 Sigma-Aldrich 公司),苏木精-伊红染色液、Masson 染色试剂盒(美国 Sigma-Aldrich 公司),钙离子浓度检测试剂盒(美国 Pointe scientific 公司)。

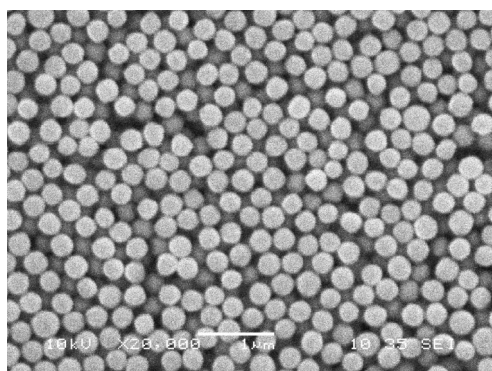


图 1 PMMA 颗粒在扫描电镜下(×20 000)

Fig.1 PMMA particles used on the study in SEM(×20 000)

1.3 骨吸收气囊模型的建立以及柚皮苷干预

所有实验步骤和程序经 Wichita 州立大学动物保护与应用协会(Institutional Animal Care and Use Committees, IACUC)批准。参照 Ren 等^[3]方法建立气囊模型。具体步骤如下:将无菌空气注射到从 48 只中随机选取的 32 只雌性 Balb/c 小鼠背部皮下,形成一个气囊。气囊形成后 6 d,选取剩余的同窝 16 只动物作为供体,取颅骨植入气囊。实验共分为 4 组

(150 mg/kg 柚皮苷治疗组、30 mg/kg 柚皮苷治疗组、PBS 空白对照组、DMSO 载体对照组),每组 8 只动物。植入后第 2 天,将 0.3 ml 浓度为 10 mg/ml 的 PMMA 颗粒注射进气囊以刺激炎症反应。柚皮苷治疗组按 150 mg/kg 或 30 mg/kg 的浓度溶于 0.2 ml DMSO 中,并分别注射至各组气囊中。空白对照组只注射 PBS,不用 PMMA 颗粒刺激。DMSO 载体对照组则注射不含柚皮苷的 DMSO,采用颗粒刺激。颗粒刺激后第 7 天,CO₂ 箱处死动物,收集囊膜和植入的骨组织。0.2 ml 盐水冲洗气囊,收集冲洗液以及囊液进行钙离子的检测。包含完整植入骨组织的剩余气囊组织进行冰冻切片 TRAP 染色(颅骨)或在 10%的甲醛缓冲液中固定,石蜡包埋。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 气囊组织的 HE 病理染色和图像分析 常规 HE 染色检测骨的侵蚀以及 PMMA 颗粒诱导的炎症细胞反应。采用图像分析软件 ImageProPlus 6.0 分析图像。

1.4.2 气囊组织内颅骨的 TRAP 染色及图像分析 采用试剂盒(387A-1 KT, SIGMA 公司)对植入颅骨的气囊组织进行 TRAP 染色^[4]。先将组织切片在丙酮缓冲液中固定,然后浸入萘酚 AS-BI 磷酸、快速石榴酸 GBC 以及酒石酸钠混合溶液中置于 37 °C 孵育 1 h。非离子水冲洗后,风干并在光镜下观察拍照。

1.4.3 组织内骨的 Masson 染色及图像分析 对 5 μm 厚石蜡包埋的气囊组织切片采用改良 Masson 三色染色法^[5]染色,图像分析软件下量化骨胶原的容量。

1.4.4 气囊骨吸收模型的钙释放实验 在气囊骨吸收实验中囊内的冲洗液采用试剂盒(Pointe scientific)检测钙离子浓度^[6]。将 10 μl 培养液加入 190 μl 0.11 mM 邻甲酚酞络合氨(OCPC)/17 mM 8-羟基喹啉/976mM2-氨基-2-甲基-1-丙醇/2 mM 氰化钾溶液。Ca-OCPC 复合物的密度在 570 nm 检测。液相钙溶液(10 mg/dL = 2.5 mM)用作标准钙。钙浓度使用如下公式计算:钙(mol)=样本吸收/标准钙吸收×标准钙浓度(2.5 mM)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 进行统计学分析,计量资料数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验进行比较;计数资料采用单因素变量分析(ANOVA)及 post hoc LSD 进行比较。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 气囊组织大体观察及病理染色

从小鼠气囊的表现可以看出柚皮苷处理的样品炎症反应明显减轻(图 2a),而 PMMA 颗粒刺激的气

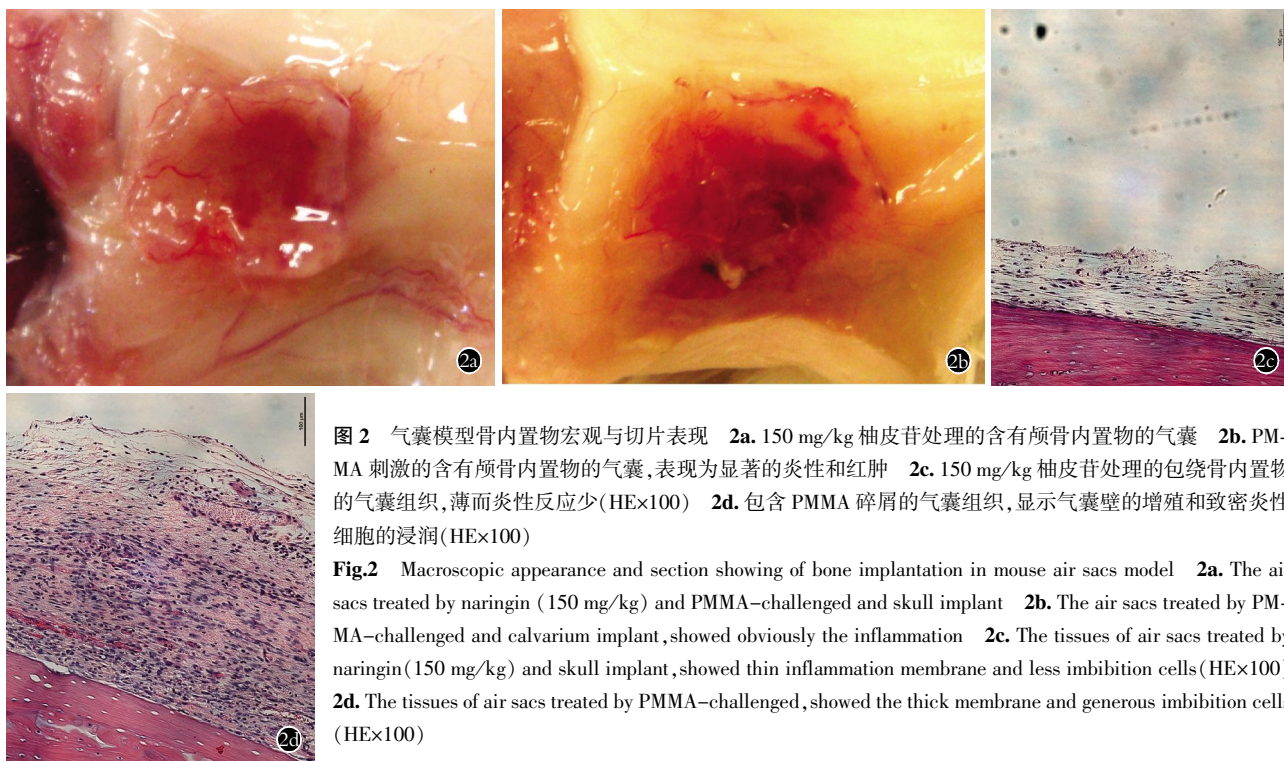


图 2 气囊模型骨内置物宏观与切片表现 **2a.** 150 mg/kg 柚皮苷处理的含有颅骨内置物的气囊 **2b.** PMMA 刺激的含有颅骨内置物的气囊, 表现为显著的炎性和红肿 **2c.** 150 mg/kg 柚皮苷处理的包绕骨内置物的气囊组织, 薄而炎性反应少(HE×100) **2d.** 包含 PMMA 碎屑的气囊组织, 显示气囊壁的增殖和致密炎性细胞的浸润(HE×100)

Fig.2 Macroscopic appearance and section showing of bone implantation in mouse air sacs model **2a.** The air sacs treated by naringin (150 mg/kg) and PMMA-challenged and skull implant **2b.** The air sacs treated by PMMA-challenged and calvarium implant, showed obviously the inflammation **2c.** The tissues of air sacs treated by naringin (150 mg/kg) and skull implant, showed thin inflammation membrane and less imbibition cells (HE×100) **2d.** The tissues of air sacs treated by PMMA-challenged, showed the thick membrane and generous imbibition cells (HE×100)

表 1 小鼠气囊模型中颅骨钙释放、气囊厚度、气囊细胞数、TRAP 染色细胞数以及胶原丢失百分比情况($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Calcium release of skull, thickness and cell numbers of air sacs, TRAP positive stained cells and bone collagen loss in mouse air sacs model($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	钙释放值(μM)	气囊厚度(μm)	气囊细胞数(个/ mm^2)	TRAP 染色细胞数(个)	胶原丢失(%)
150 mg/kg 柚皮苷治疗组	8	50.12±15.94*	96.18±7.67*	2219.42±914.13**	8.90±1.75**	12.70±4.74**
30 mg/kg 柚皮苷治疗组	8	95.61±18.26	135.02±9.89*	3930.38±483.40**	15.23±1.86**	20.15±5.55**
DMSO 载体对照组	8	137.42±24.20	256.69±84.82	5067.13±85.60	21.06±2.03	34.42±7.32
PBS 空白对照组	8	55.32±19.00*	140.37±40.31	3105.22±956.68**	7.07±0.78**	12.84±6.76**

注:与 DMSO 载体对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Compared with DMSO group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

囊表现为显著的炎性和红肿(图 2b)。从微观角度对骨植入气囊切片进行的 HE 染色病理分析显示经过 PMMA 颗粒刺激后有明显的炎性细胞浸润以及膜的增生(图 2c), 而柚皮苷治疗组炎性反应显著减轻(图 2d)。从气囊膜厚度与气囊膜炎性细胞浸润数量看(表 1), 柚皮苷治疗组(150 mg/kg)的气囊膜厚度较 DMSO 载体对照组明显变薄($P < 0.01$)。150 mg/kg 柚皮苷治疗组气囊膜的炎性细胞浸润密度较 DMSO 载体对照组明显减少($P < 0.01$), 见表 1。从两组不同浓度柚皮苷的治疗效果来看, 150 mg/kg 浓度组的作用优于 30 mg/kg 浓度组, 在气囊膜厚度方面两者差异无统计学意义, 而炎性细胞浸润方面 150 mg/kg 浓度柚皮苷的作用明显优于 30 mg/kg 浓度组($P < 0.05$)。

2.2 气囊内颅骨 TRAP 染色与分析

颅骨-气囊模型的组织化学 TRAP 染色显示破

骨细胞沿着骨-膜界面普遍聚集, 呈暗棕色。柚皮苷(150 mg/kg) 治疗组样本中只有少量 TRAP 阳性细胞(图 3a)。PMMA 刺激的骨-气囊中 TRAP 阳性细胞的聚集与骨侵蚀陷窝形成(图 3b), 与 DMSO 载体对照组相比, 柚皮苷显著降低了 TRAP 阳性细胞浸润的数量($P < 0.05$); 而 150 mg/kg 浓度组优于 30 mg/kg 浓度组($P < 0.05$)。

2.3 骨胶原 Masson 染色与分析

改良 Masson 染色显示与炎性囊膜接触的骨表面蓝染(骨胶原)减少。柚皮苷治疗组则将大部分骨胶原很好的保留(图 4a), 而 DMSO 载体对照组(图 4b)可见骨表面骨胶原与骨的中心部分对比染色浅, 表明骨表面部分骨胶原有丢失现象。150 mg/kg 浓度组作用大于 30 mg/kg 浓度组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

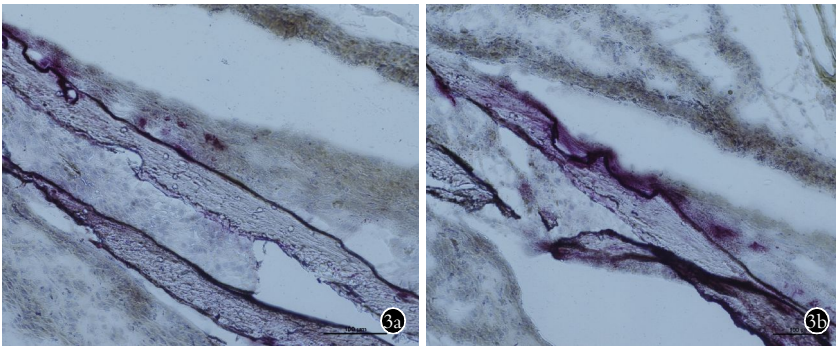


图 3 小鼠气囊颅骨内置物 TRAP 染色 (×100) 3a. 150 mg/kg 柚皮苷处理的包含颅骨内置物的气囊, 样本中只有少量 TRAP 阳性细胞 3b. 经过 PMMA 刺激的包含颅骨内置物气囊中 TRAP 阳性细胞聚集, 骨侵蚀陷窝形成

Fig. 3 The mice air sacs with skull implantation after TRAP staining (×100) 3a. The air sacs treated by naringin (150 mg/kg) and PMMA-challenged, and can find a few TRAP positive cell 3b. The air sacs treated by DMSO injection and PMMA-challenged, and can find collective TRAP positive cell, bone lacuna ahead formed

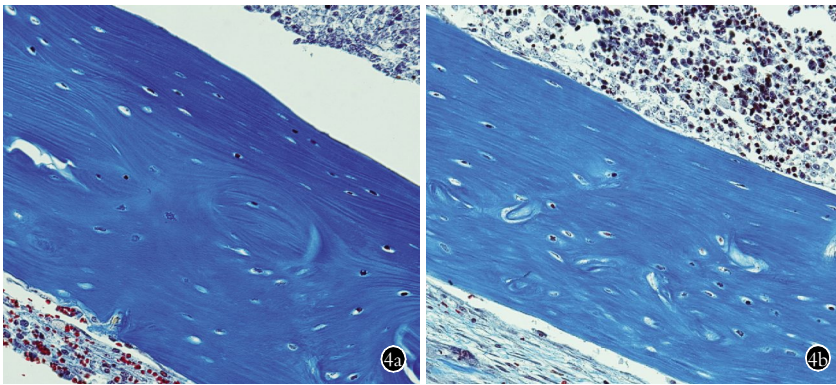


图 4 改良 Masson 染色显示内置物骨胶原的丢失 (Masson×100) 4a. 150 mg/kg 柚皮苷处理的气囊中的内置物蓝色均匀说明大部分骨胶原很好的保留 4b. PMMA 刺激的气囊中的内置物骨表面骨胶原与骨的中心部分对比有丢失, 颜色变淡

Fig. 4 Collagen loss of implanted bones illustrated by modified Masson stain (Masson×100) 4a. The air sacs treated by naringin (150 mg/kg), most bone collagen were reserved quite well 4b. The air sacs treated by DMSO injection and PMMA-challenged, faded color means bone collagen loss

2.4 气囊内骨的钙释放

在植入颅骨的气囊模型中, 柚皮苷减低了钙的释放(表 1)。冲洗液中钙的浓度依次为: PBS 空白对照组为 (55.32±19.00) μm, DMSO 载体对照组为 (137.42±24.20) μm, 30 mg/kg 柚皮苷治疗组为 (95.61±18.26) μm, 150 mg/kg 柚皮苷治疗组为 (50.12±15.94) μm。与 DMSO 载体对照组比较, 150 mg/kg 剂量的柚皮苷显著减低了钙释放 (P<0.05), 150 mg/kg 浓度与 30 mg/kg 浓度的柚皮苷比较差异无统计学意义 (P>0.05)。

3 讨论

3.1 气囊模型的特点

植入骨并用颗粒刺激的气囊模型^[3]提供了一个紧密包绕植入骨组织的滑膜样结构, 在其中颗粒刺

激骨并与其反应。此模型提供了对颗粒诱导的炎症反应和骨溶解反应的视角, 并模仿了许多磨屑相关无菌松动过程的病理特征。本实验通过对模型的宏观观察和微观病理检测说明模型成功的模拟了关节囊内骨水泥磨屑的病理环境, 并通过在模型内植入骨同时进行柚皮苷干预此模型的主要局限是植入骨缺乏血液供应, 因此只适于进行短期急性骨溶解的研究。

3.2 磨屑颗粒导致破骨细胞形成及骨溶解

破骨细胞生成和分化分为几个步骤, 包括破骨细胞前体细胞的增殖, 向破骨细胞谱系的特定转化, 破骨细胞特有基因比如 TRAP 的表达, 以及融合成多核细胞。许多研究已经证实炎症性破骨细胞形成是无菌松动发展中的重要一步。假体磨屑, 包括聚甲基丙烯酸甲酯、高密度聚乙烯、以及钴铬和钛对促进破骨细胞形成和增加破骨细胞数目具有显著影响。PMMA 颗粒可单独诱发局部的骨吸收^[7]。事实上, PMMA 颗粒比高密度聚乙烯更有可能造成骨吸收, 至少在体外实验时结果如此^[8]。因此, 本研究着重探索 PMMA 单独作用于骨组织所致的骨吸收反应, 并采用柚皮苷进行

处理。根据 PMMA 颗粒作用于植入骨的气囊模拟关节所造成的宏观的红肿以及微观炎症细胞浸润, 以及 TRAP 染色和 Masson 染色所显示的 PMMA 颗粒造成的骨侵蚀以及骨胶原的丢失, 结合 PMMA 颗粒造成气囊内骨的钙释放, 充分说明了 PMMA 颗粒作用于含骨气囊模型, 很好地模拟了关节内骨溶解的部分机制。

3.3 柚皮苷对 PMMA 颗粒诱导的骨溶解的作用

柚皮苷是从中药骨碎补中提取的主要有效成分^[9], 对预防与治疗骨质疏松有效。体外研究证实柚皮苷有效促进基质干细胞向成骨细胞的分化。有体内研究^[10]报道了柚皮苷抑制破骨细胞形成, 另有应用不同破骨细胞前体细胞的研究表明柚皮苷通过抑制 RANK 诱导的 NF-κB 和 ERK 的活化来阻止破骨

细胞形成以及骨吸收^[11]。另一项研究^[12]发现柚皮苷在钛颗粒诱导的糖尿病小鼠颅骨骨溶解中有促进骨形成的作用。另外,柚皮苷可能通过抑制核因子 κ B 受体活化子配体 (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) 诱导的 NF- κ B 和 ERK 的活化从而废止破骨细胞的形成^[11]。在前述 PMMA 颗粒作用于含骨气囊模型很好地模拟了关节内骨溶解的部分机制的基础上,本研究采用模拟关节腔内注入柚皮苷的方法进行干预,显示了柚皮苷可以显著地抑制 PMMA 颗粒刺激所导致的骨溶解。其作用方式表现在以下几个方面:首先,柚皮苷抑制小鼠气囊模型中颅骨钙的释放,直接减少 PMMA 颗粒刺激所导致的骨溶解;其次,柚皮苷抑制植入气囊模型内颅骨的 TRAP 染色,说明其抑制破骨细胞形成,从而抑制破骨细胞性骨溶解;再次,柚皮苷抑制 PMMA 颗粒在气囊组织所诱发的急性的炎性反应,降低气囊炎性膜的厚度并减少颗粒骨周围炎性细胞浸润;最后,柚皮苷抑制磨屑颗粒对骨胶原的破坏,保护 PMMA 颗粒造成的骨有机质骨胶原的丢失。通过柚皮苷的作用方式,可以推断其作用机制可能是通过抑制 PMMA 颗粒所致的炎性反应从而抑制炎性细胞因子所致的破骨细胞的形成,进而抑制破骨细胞性的骨溶解。具体的分子机制将在以后的进一步研究中加以阐释。

3.4 柚皮苷抑制破骨细胞性骨溶解的量效关系

本研究发现,150 mg/kg 浓度的柚皮苷在抑制 PMMA 颗粒所致的炎性浸润、减低 PMMA 颗粒诱发的 TRAP 阳性细胞的数量、保护 PMMA 颗粒诱发的骨胶原的丢失以及降低 PMMA 颗粒所致的植入气囊内的骨钙释放等都优于 30 mg/kg 浓度所产生的作用。在炎性细胞浸润、TRAP 染色阳性细胞数目方面差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在保护 PMMA 颗粒诱发的骨胶原丢失方面差异也有统计学意义 ($P < 0.05$), 而在降低骨钙释放方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。关于柚皮苷的剂量问题,基于笔者以往的研究经验^[12],300 mg/kg 剂量的柚皮苷对去卵巢大鼠的骨质疏松具有良好的作用,为笔者在选择治疗浓度上提供了参考。

总之,本研究采用小鼠的气囊模型模拟关节囊,气囊中植入骨模拟关节骨端,加入 PMMA 颗粒模拟

关节腔内的骨水泥磨屑,然后采用柚皮苷进行干预,证实了柚皮苷可以有效抑制 PMMA 颗粒诱发的关节炎性反应以及骨的降解。

参考文献

- [1] Holt G, Murnaghan C, Reilly J, et al. The biology of aseptic osteolysis[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 460: 240-252.
- [2] Purdue PE, Koulouvaris P, Potter HG, et al. The cellular and molecular biology of periprosthetic osteolysis[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 454: 251-261.
- [3] Ren W, Yang SY, Wooley PH. A novel murine model of orthopaedic wear-debris associated osteolysis[J]. Scand J Rheumatol, 2004, 33(5): 349-357.
- [4] Ren W, Wu B, Mayton L, et al. Polyethylene and methyl methacrylate particle-stimulated inflammatory tissue and macrophages up-regulate bone resorption in a murine neonatal calvaria in vitro organ system[J]. J Orthop Res, 2002, 20(5): 1031-1037.
- [5] FL, C. Histotechnology. A Self-Instructional Text[M]. 3rd Edition. Chicago: L ASCP Press, 2009: 139-165.
- [6] Baltzer AW, Lattermann C, Whalen JD, et al. Genetic enhancement of fracture repair: healing of an experimental segmental defect by adenoviral transfer of the BMP-2 gene[J]. Gene Ther, 2000, 7(9): 734-739.
- [7] Tsuchiya S, Simmer JP, Hu JC, et al. Astacin proteases cleave dentin sialophosphoprotein (Dspp) to generate dentin phosphoprotein (Dpp)[J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(1): 220-228.
- [8] Willert HG, Bertram H, Buchhorn GH. Osteolysis in alloarthroplasty of the hip. The role of bone cement fragmentation[J]. Clin Orthop Relat Res, 1990, 258: 108-121.
- [9] Pandey R, Quinn J, Joyner C, et al. Arthroplasty implant biomaterial particle associated macrophages differentiate into lacunar bone resorbing cells[J]. Ann Rheum Dis, 1996, 55(6): 388-395.
- [10] 朱慧锋,王唯佳,王珠美. 骨碎补研究进展[J]. 中国骨伤, 2009, 22(1): 66-68.
Zhu HF, Wang WJ, Wang ZM. Recent advances of drynaria fortunei[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2009, 22(1): 66-68. Chinese with abstract in English.
- [11] Ang ES, Yang X, Chen H, et al. Naringin abrogates osteoclastogenesis and bone resorption via the inhibition of RANKL-induced NF- κ B and ERK activation[J]. FEBS Lett, 2011, 585(17): 2755-2762.
- [12] Zhou X, Zhang P, Zhang C, et al. Promotion of bone formation by naringin in a titanium particle-induced diabetic murine calvarial osteolysis model[J]. J Orthop Res, 2010, 28(4): 451-456.
- [13] 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.

(收稿日期: 2014-05-01 本文编辑: 李宜)