

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2019.03.004

## 左归丸对绝经后骨质疏松妇女 Th17/Treg 亚群偏移的影响\*

谢宝华<sup>1</sup> 赵 霖<sup>2</sup> 朱肖肖<sup>2</sup> 尹训强<sup>2</sup> 周宪宾<sup>2</sup> 李 霞<sup>2Δ</sup>(<sup>1</sup> 济宁医学院基础医学院, 济宁 272067; <sup>2</sup> 山东省医学科学院, 济南 250062)

**摘 要** **目的** 探讨左归丸对绝经后妇女骨密度和 Th17/Treg 亚群偏移的影响及其机制。**方法** 选择 2016 年 1 月至 2017 年 11 月在山东中医药大学附属医院查体妇女共 45 例纳入未绝经组、绝经组和左归丸组各 15 例为研究对象, 电化学发光法检测血清雌二醇 ( $E_2$ ) 水平, 双能 X 线骨密度仪测定第 2~4 腰椎 ( $L_{2-4}$ ) 前后位骨密度 (BMD), 流式细胞术检测血清 Th17/Treg 亚群比例, Western blot 法检测血清 Th17/Treg 亚群特异性核转录因子 (ROR $\gamma$ t、Foxp3) 蛋白表达水平, RT-PCR 法检测血清 Th17/Treg 亚群特征性细胞因子 (IL-17AmRNA、IL-10mRNA) 表达水平。**结果** 与未绝经组比较, 绝经组血清  $E_2$  水平及 BMD 均明显降低, Th17 亚群比例明显升高, Treg 亚群比例明显降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), T 细胞向 Th17 亚群偏移; 左归丸治疗后, 与绝经组比较, 左归丸组 BMD 明显升高, Th17 亚群比例明显降低, Treg 亚群比例明显升高, T 细胞向 Treg 亚群偏移, ROR $\gamma$ t 蛋白表达明显降低, Foxp3 蛋白表达明显升高, IL-17AmRNA 表达降低, IL-10mRNA 表达升高, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 血清  $E_2$  表达无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 相关性分析表明, BMD 与 Th17 亚群水平呈显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与 Treg 亚群水平呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。**结论** 女性绝经后骨密度降低与 Th17/Treg 亚群向 Th17 偏移有密切关系, 左归丸能调节 T 细胞亚群特异性核转录因子表达, 诱导 Treg 亚群分化, 逆转 Th17/Treg 亚群失衡状态, 提高骨密度。

**关键词** 绝经后骨质疏松; Th17; Treg; 左归丸; 雌激素**中图分类号**: R259 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2019)06-166-05

### Regulating effect of Zuoguiwan on Th17/Treg shift in postmenopausal osteoporosis

XIE Baohua<sup>1</sup>, ZHAO Lin<sup>2</sup>, ZHU Xiaoxiao<sup>2</sup>, YIN Xunqiang<sup>2</sup>, ZHOU Xianbin<sup>2</sup>, LI Xia<sup>2</sup>(<sup>1</sup> College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China;<sup>2</sup> Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect and the mechanism of Zuoguiwan on bone mineral density (BMD) and shift of Th17/Treg of postmenopause women. **Methods** 45 cases of healthy examined women (15 cases of premenopause women, 15 cases of postmenopause women and 15 cases of postmenopause women taking Zuoguiwan) in hospital were selected in this study. The serum estradiol ( $E_2$ ) was assessed by electrochemiluminescence immunoassay. Bone mineral density (BMD) of lumbar vertebrae 2~4 was measured with dual energy X-ray absorptiometry. The percentages of Th17/Treg subsets were detected by flow cytometry. ROR $\gamma$ t and Foxp3 were detected by Western blot. IL-17A mRNA and IL-10 mRNA were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with premenopause women, both  $E_2$  and BMD of postmenopause women were decreased obviously. The percentage of Th17 subset was increased obviously, and the percentage of Treg subset were decreased obviously. The difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). T-cells subsets offset into Th17 subset. After Zuoguiwan administration, BMD of postmenopause women was increased obviously. The percentage of Th17 subset was decreased obviously,

\* [基金项目] 国家自然科学基金项目 (81373670, 81704116); 济宁医学院青年基金项目 (JYQ14KJ29)

Δ [通信作者] 李霞, E-mail: 786735868@qq.com

and the percentage of Treg was increased obviously. T-cells subsets offset into Treg subset. The expression of ROR $\gamma$ t was decreased obviously, while the expression of Foxp3 was increased obviously. The expression of IL-17A mRNA was decreased obviously, while the expression of IL-10 mRNA was increased obviously. The difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the expression of serum E<sub>2</sub> ( $P > 0.05$ ). BMD was positively correlated with the percentage of Treg subset ( $P < 0.05$ ) and was negatively correlated with the percentage of Th17 subset ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** There was a close correlation between BMD and Th17/Treg shifts to Th17 after menopause. Zuoguiwan could improve BMD of postmenopausal women via regulating the differentiation of Th17/Treg subgroups.

**Keywords:** Postmenopausal osteoporosis; Th17; Treg; Zuoguiwan; Estradiol

骨质疏松症(OP)是绝经后女性常见的骨代谢性疾病,我国 50 岁以上女性骨质疏松症患病率为 20.7%<sup>[1]</sup>。研究表明绝经后骨质疏松症与雌激素水平降低密切相关<sup>[2]</sup>,临床上雌激素替代疗法治疗绝经后骨质疏松有明确疗效,但长期使用可能会导致中风、静脉栓塞等风险增加,且存在诱发肿瘤的风险<sup>[3]</sup>。左归丸是补肾滋阴经典方剂,治疗骨质疏松症取得良好临床疗效,但其作用机制尚不明确<sup>[4]</sup>。T 细胞是重要的免疫细胞,T 细胞亚群相关细胞因子表达与雌激素水平存在显著相关性<sup>[5]</sup>。我们前期研究发现左归丸能调节 Th1/Th2 亚群平衡改善雌激素缺乏导致的骨密度下降<sup>[6]</sup>,但 Th17/Treg 亚群在本病中的作用尚缺乏临床研究。本研究通过观察女性绝经前后雌激素水平、骨密度和静脉血 Th17/Treg 亚群变化,从免疫学角度探讨女性绝经后骨量丢失的发病机制,阐释左归丸调节 Th17/Treg 亚群平衡治疗绝经后骨质疏松症的机制,为指导临床用药提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2016 年 1 月至 2017 年 11 月在山东中医药大学附属医院查体妇女 45 例,其中健康未绝经妇女 15 例为未绝经组,自然绝经妇女 30 例。未绝经组妇女,年龄 25 ~ 35 岁,平均(31.2 ± 2.6)岁,平素身体健康,月经规律,未妊娠,纳入未绝经组。自然绝经妇女,年龄在 55 ~ 65 岁,平均(60.3 ± 3.8)岁,绝经时间均在 2 年以上,随机分为绝经组与左归丸组各 15 例,2 组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有研究对象均被详细询问病史,没有影响骨代谢的其它疾病,未用雌激素替代治疗,并签署知情同意书。本研究已经通过

山东中医药大学附属医院伦理委员会的批准。

### 1.2 主要试剂及仪器

雌二醇 ELISA 试剂盒购于德国罗氏公司;人外周血淋巴细胞分离液购于 TBD sciences 公司;RT-PCR 试剂(M-MLV、dNTP、RNA 酶抑制剂等)购于生工生物工程(上海)有限公司;PMA、Ionomycin 购于 Sigma 公司;氯仿、无水乙醇、异丙醇购于天津市广成化学试剂有限公司;IL-17A、IL-10、 $\beta$ -actin 引物购于上海博尚生物技术有限公司,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列及长度

| 基因             | 序列                             | 产物长度  |
|----------------|--------------------------------|-------|
| IL-17A         | Forward: TCCACCGCAATGAAGACC    | 420bp |
|                | Reverse: CACGAAGCAGTTTGGGAC    |       |
| IL-10          | Forward: AGGGCACCCAGTCTGAGAACA | 351bp |
|                | Reverse: CGGCCTTGCTCTTGTTCAC   |       |
| $\beta$ -actin | Forward: GTGGGGCGCCCCAGGCACC   | 500bp |
|                | Reverse: CACCTTAATGTCACGCACCA  |       |

### 1.3 方法

**1.3.1 用药方法** 左归丸组绝经妇女予左归丸(河南省宛西制药股份有限公司,国药准字 Z41020696)9g/次,每日 2 次,口服。2 周为 1 疗程,连服 2 个疗程后,空腹抽取静脉血。

**1.3.2 标本采集** 取研究对象空腹静脉血 4ml,其中 2.5ml 采用 EDTA 抗凝,Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,用于流式细胞术、Western blot 及 RT-PCR 检测,1.5ml 离心后取血清用于电化学发光法检测血清雌二醇(E<sub>2</sub>)水平,

**1.3.3 流式细胞术** 收集外周血单个核细胞,1 × PBS 洗 2 遍,去上清,调整细胞浓度为 1 × 10<sup>6</sup> 个/ml,细胞重悬于 100 $\mu$ l 1 × PBS,将抗体按说明书加到细胞悬液中,4℃ 避光孵育 30min,1 × 穿膜 Buffer

洗 1 遍,  $1 \times \text{PBS}$  洗 1 遍, 去上清, 200ml  $1 \times \text{PBS}$  重悬细胞, 转管上机检测。

**1.3.4 Western blot** RIPA 裂解液裂解外周血单个核细胞 30min, 离心 12000r/min, 取上清蛋白, 混合摇匀, 沸水煮 3min, 取出, 电泳分离转膜; 25ml TBS 洗膜 5min, 室温下摇动; 置膜在 25ml 封闭缓冲液中 1h, 室温下摇动, 15ml TBS/T 洗 3 次 (5min/T), 加入 1:250 稀释的 ROR $\gamma$ t、Foxp3 一抗, 室温下孵育 1h, 缓慢摇动, 15ml TBS/T 洗 3 次 (5min/T); 加入 1:1000 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗, 室温孵育 1h, 摇动, 15ml TBS/T 洗 3 次 (5min/T), 15ml TBS 洗 1 次; 化学发光法测蛋白表达。

**1.3.5 RT-PCR** 外周血单个核细胞 mRNA 提取、RT 反应及 PCR 反应参考文献<sup>[5]</sup>报道。采用 Alpha 凝胶成像系统分析图像。

**1.3.6 腰椎 BMD (骨矿物质密度) 测定** 双能 X 线骨密度仪测定研究对象腰椎 2-4 ( $L_{2-4}$ ) 前后位 BMD。

#### 1.4 统计学方法

应用 SPSS11.5 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 One Way-ANOVA 方差分析, 两组间比较采用 Turkey 法检验, 数据间相关性用 Pearson 相关性分析。各组数据以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组血清 $E_2$ 及腰椎 BMD 水平

与未绝经组比较, 绝经组血清  $E_2$  和 BMD 表达明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与绝经组比较, 左归丸组  $E_2$  表达无明显差异 ( $P > 0.05$ ), BMD 水平明显升高 ( $P < 0.05$ ), 提示左归丸能提高绝经妇女的骨密度, 且对绝经妇女  $E_2$  表达无影响, 无明显雌激素样作用, 见表 2。

表 2 各组  $E_2$  及 BMD 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | n  | $E_2/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ | $\text{BMD}/\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ |
|------|----|-------------------------------------|--------------------------------------------|
| 未绝经组 | 15 | $91.11 \pm 10.01$                   | $1.28 \pm 0.07$                            |
| 绝经组  | 15 | $33.73 \pm 7.12^*$                  | $0.87 \pm 0.14^*$                          |
| 左归丸组 | 15 | $37.09 \pm 6.23$                    | $1.10 \pm 0.16^\Delta$                     |
| F 值  |    | 245.982                             | 38.809                                     |
| P    |    | 0.000                               | 0.000                                      |

注: 与未绝经组相比较,  $*P < 0.05$ ; 与绝经组比较,  $\Delta P < 0.05$

### 2.2 Th17/Treg 亚群水平

与未绝经组相比, 绝经组 Th17 亚群比例显著升高, Treg 亚群比例降低 ( $P < 0.05$ ), T 细胞向 Th17 亚群偏移。与绝经组相比, 左归丸组 Th17 亚群比例显著降低, Treg 亚群比例升高, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 3 各组 Th17、Treg 亚群比例比较 ( $\%, \bar{x} \pm s$ )

| 组别   | n  | Th17                   | Treg                   |
|------|----|------------------------|------------------------|
| 未绝经组 | 15 | $3.65 \pm 1.64$        | $3.74 \pm 0.71$        |
| 绝经组  | 15 | $5.49 \pm 1.04^*$      | $1.92 \pm 0.68^*$      |
| 左归丸组 | 15 | $4.23 \pm 0.94^\Delta$ | $3.17 \pm 0.83^\Delta$ |
| F 值  |    | 8.567                  | 23.470                 |
| P    |    | 0.001                  | 0.000                  |

注: 与未绝经组相比较,  $*P < 0.05$ ; 与绝经组比较,  $\Delta P < 0.05$

### 2.3 $E_2$ 、骨密度、T 细胞亚群比例相关性

相关性分析显示,  $E_2$  表达与骨密度呈正相关 ( $P < 0.05$ ); 骨密度与 Th17 亚群比例呈负相关 ( $P < 0.05$ ), 与 Treg 亚群比例呈正相关 ( $P < 0.05$ );  $E_2$  表达与 Th17 亚群比例呈负相关 ( $P < 0.05$ ), 与 Treg 亚群比例呈正相关 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

表 4  $E_2$ 、BMD 与 T 细胞亚群比例的相关性分析

| 指标  | $E_2$ 与 BMD | $E_2$ 与 Th17 | $E_2$ 与 Treg | BMD 与 Th17 | BMD 与 Treg |
|-----|-------------|--------------|--------------|------------|------------|
| r 值 | 0.685       | -0.451       | 0.559        | -0.474     | 0.685      |
| P   | 0.000       | 0.002        | 0.000        | 0.001      | 0.000      |

### 2.4 Th17/Treg 亚群特异性核转录因子 (ROR $\gamma$ t、Foxp3) 蛋白表达水平

与未绝经组比较, 绝经组 Th17 亚群特异性核转录因子 ROR $\gamma$ t 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$ ), Treg 亚群特异性核转录因子 Foxp3 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与绝经组比较, 左归丸组 ROR $\gamma$ t 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ), Foxp3 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。

表 5 各组间 ROR $\gamma$ t、Foxp3 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | n  | ROR $\gamma$ t          | Foxp3                   |
|------|----|-------------------------|-------------------------|
| 未绝经组 | 15 | $38.64 \pm 9.33$        | $22.07 \pm 9.24$        |
| 绝经组  | 15 | $50.61 \pm 9.11^*$      | $11.86 \pm 5.39^*$      |
| 左归丸组 | 15 | $42.10 \pm 8.89^\Delta$ | $19.96 \pm 4.56^\Delta$ |
| F 值  |    | 6.852                   | 9.676                   |
| P    |    | 0.003                   | 0.000                   |

注: 与未绝经组相比较,  $*P < 0.05$ ; 与绝经组比较,  $\Delta P < 0.05$

## 2.5 Th17/Treg 亚群特征性细胞因子 IL-17A、IL-10 mRNA 表达水平

与未绝经组比较,绝经组 Th17 亚群特征性细胞因子 IL-17A mRNA 表达明显升高,Treg 亚群特征性细胞因子 IL-10mRNA 表达明显降低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );与绝经组相比,左归丸组 IL-17A mRNA 水平明显降低,IL-10 mRNA 水平明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 6。

表 6 各组间 IL-17AmRNA、IL-10mRNA 相对灰度值比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | n  | IL-17AmRNA                | IL-10mRNA                 |
|------|----|---------------------------|---------------------------|
| 未绝经组 | 15 | 20.25 ± 9.25              | 15.87 ± 7.64              |
| 绝经组  | 15 | 31.99 ± 9.01 *            | 8.27 ± 5.25 *             |
| 左归丸组 | 15 | 23.90 ± 7.40 <sup>△</sup> | 13.46 ± 4.35 <sup>△</sup> |
| F 值  |    | 7.341                     | 6.487                     |
| P    |    | 0.002                     | 0.004                     |

注:与未绝经组比较,\* $P < 0.05$ ;与绝经组比较, $\Delta P < 0.05$

## 3 讨论

在骨代谢过程中,成骨细胞(OB)参与骨的形成,破骨细胞(OC)参与骨的吸收,这一动态平衡被打破就会导致骨代谢疾病如骨质疏松症的发生。研究表明骨代谢受内分泌系统、免疫系统的调节,三者共享细胞因子、转录因子、受体及信号分子等多种调控分子<sup>[7-8]</sup>。雌激素是人体重要的内分泌激素,绝经后女性雌激素水平明显降低,T 细胞是重要的免疫调节细胞,雌激素、T 细胞、骨代谢三者之间的关系成为本领域研究的热点。

初始 T 细胞接受抗原刺激而活化,分化为不同的 T 细胞亚群分泌特征性细胞因子主导不同的免疫反应。Th17、Treg 是最新发现的 T 细胞亚群,产生于同一种前体细胞 CD4<sup>+</sup> T 细胞,在维持破骨细胞-成骨细胞平衡中发挥重要作用。Th17 是初始 T 细胞在 IL-6 和 IL-23 的刺激下分化而成的辅助性 T 细胞,主要分泌 IL-17、IL-22 等促炎症因子,ROR $\gamma$ t 是其重要的转录因子,在自身免疫中起重要的作用;Treg 是调节性 T 细胞,在肿瘤、移植耐受甚至是病原体感染等免疫反应调节中起重要作用。Th17 和 Treg 通过分泌 OC 分化关键调控因子对骨代谢发挥正向和负向调控作用。研究表明,Th17

亚群分泌的 IL-17A 能触发局部炎症反应并产生 TNF- $\alpha$  等炎症细胞因子,促进 OC 形成,导致骨质流失<sup>[9]</sup>。相关临床研究显示,Th17 细胞分泌的 IL-17 与绝经后骨质疏松的发生关系密切<sup>[10]</sup>。Treg 亚群分泌的 TGF- $\beta$  抑制 OC 生成,促进 OC 凋亡<sup>[11]</sup>。Th17 和 Treg 共享趋化因子受体,在一定的条件下可互相转化<sup>[12]</sup>。Th17/Treg 亚群的极化状态会导致骨代谢异常,而体内雌激素水平会影响 T 细胞亚群的极化状态。雌激素是人体重要的性激素,参与人体多种器官的发育和免疫调节,雌激素缺乏对骨代谢有重要影响。Cenci 等<sup>[13]</sup>研究认为 T 细胞上具有雌激素受体,雌激素缺乏会引起 T 细胞亚群极化,从而影响骨代谢。本文结果显示,女性绝经后血清 E<sub>2</sub> 水平与腰椎 BMD 均明显降低、血清 E<sub>2</sub> 表达与腰椎 BMD 呈正相关;Th17 亚群比例升高、Treg 亚群比例降低;血清 E<sub>2</sub> 表达、腰椎 BMD 与 Th17 亚群比例呈负相关,与 Treg 亚群比例呈正相关,并发现女性绝经后 ROR $\gamma$ t 蛋白表达、IL-17AmRNA 表达升高,Foxp3 蛋白表达、IL-10mRNA 表达降低,提示 Th17/Treg 亚群偏移参与了雌激素缺乏导致的骨丢失。

临床研究证明雌激素治疗女性绝经后骨质疏松疗效明确,但会增加女性患雌激素依赖性疾病如子宫内膜癌、乳腺癌等的风险<sup>[14-15]</sup>。中药治疗骨质疏松症能明显改善症状,且副作用小<sup>[1]</sup>。中医学中骨质疏松症属“骨痿”“骨痹”的范畴。《素问·痿论》指出:“肾主身之骨髓”。研究证实补肾中药能通过激活 Hedgehog 信号传导通路中骨组织的 SHH 和 GLI1,抑制骨吸收,促进骨形成,提高去卵巢大鼠的骨密度<sup>[16]</sup>。左归丸是补肾经典方剂,实验表明左归丸能改善骨质疏松症模型动物骨代谢相关指标,对促进骨形成,抑制骨吸收有积极作用<sup>[17]</sup>。本文结果显示绝经后妇女服用左归丸后,骨密度明显增高且血清 E<sub>2</sub> 水平无明显变化,提示左归丸治疗骨质疏松有效且无明显雌激素样作用;ROR $\gamma$ t 蛋白表达明显降低和 Foxp3 蛋白表达明显升高,表明左归丸能下调 Th17 亚群特异性核转录因子蛋白表达,上调 Treg 亚群特异性核转录因子蛋白表达,诱导 Th17/Treg 亚群向 Treg 偏移,抑制溶骨性细胞因子的产生,从而减少骨丢失。

本文结果显示,绝经后女性雌激素水平降低促

进骨吸收细胞因子的表达,诱导 Th17/Treg 亚群向 Th17 偏移,左归丸能逆转 Th17/Treg 亚群失衡状态,减少骨丢失,增加骨密度,从而减轻绝经后妇女骨质疏松的症状。本文结果进一步揭示了 Th17/Treg 亚群偏移对绝经后骨质增生症的影响,阐释了左归丸逆转 Th17/Treg 亚群偏移减少骨丢失的免疫学机制,为指导绝经后骨质疏松症的临床中药治疗提供了新的依据。

### 参考文献:

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(5): 413-444.
- [2] 赵心, 白小涓, 汉雯, 等. 绝经后女性雌激素水平与骨质疏松症和动脉粥样硬化风险相关性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2017, 19(10): 1033-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2017.10.007.
- [3] 王俊玲, 黄思敏, 梁启瑶, 等. 雌激素的来源及其在骨代谢中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(6): 729-732.
- [4] 柴毅, 樊巧玲. 左归丸治疗骨质疏松症相关机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 201-208. DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20181530.
- [5] 李霞, 孙建丽, 王彬, 等. 绝经妇女外周血单个核细胞骨代谢调控因子表达变化[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(8): 721-725. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2011.08.010.
- [6] 谢宝华, 鞠红梅, 王丽, 等. 左归丸逆转 Th1/Th2 亚群偏移减轻雌激素缺乏骨丢失[J]. 济宁医学院学报, 2013, 36(3): 174-178. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2013.03.006.
- [7] 孙葳, 陆大祥. 神经-内分泌-免疫调节网络与疾病[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(8): 761-763. DOI: 10.3321/j.issn:1000-4718.2000.08.026.
- [8] 常志芳, 冯成龙, 史晓霞, 等. 免疫与骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(4): 508-513. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2015.04.026.
- [9] Ciucci T, Ibáñez L, Boucoiran A, et al. Bone marrow Th17 TNF $\alpha$  cells induce osteoclast differentiation, and link bone destruction to IBD[J]. Gut, 2015, 64(7): 1072-1081. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-306947.
- [10] 刘连勇, 陆志仁, 游利, 等. Th17 细胞及相关因子 IL-17 与绝经后骨质疏松的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(5): 545-549. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2016.05.007.
- [11] Fox SW, Evans KE, Lovibond AC. Transforming growth factor-beta enables NFATc1 expression during osteoclastogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 366(1): 123-128. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.11.120.
- [12] Cheng LS, Liu Y, Jiang W. Restoring homeostasis of CD4<sup>+</sup>T cells in hepatitis-B-virus-related liver fibrosis[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(38): 10721-10731. DOI: 10.3748/wjg.v21.i38.10721.
- [13] Cenci S, Weitzmann MN, Roggia C, et al. Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF-alpha[J]. J Clin Invest, 2000, 106(10): 1229-1237. DOI: 10.1172/JCI1066.
- [14] ACOG, SGO. Practice bulletin No. 149: endometrial cancer[J]. Obstet Gynecol, 2015, 125(4): 1006-1026. DOI: 10.1097/01.aog.0000462977.61229.de.
- [15] Sampson JN, Falk RT, Schairer C, et al. Association of estrogen metabolism with breast cancer risk in different cohorts of postmenopausal women[J]. Cancer Res, 2017, 77(4): 918-925. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1717.
- [16] 邓洋洋, 李佳, 孙鑫, 等. 中医不同治法对绝经后骨质疏松症大鼠骨组织 Hedgehog 信号通路 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(12): 1643-1647. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2017.12.023.
- [17] Yin H, Wang SF, Zhang YF, et al. Zuogui Pill improves the dexamethasone-induced osteoporosis progression in zebrafish larvae[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 995-999. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.029.

(收稿日期 2018-09-12)

(本文编辑:石俊强)