

# 熟地鳖甲与系膜细胞协同上调成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达\*\*☆

林日阳<sup>1</sup>, 吴 锋<sup>1,2</sup>, 何立群<sup>1,2,3</sup>

## Shudi Biejia and mesangial cells cooperatively up-regulate the gene and protein expression of osteocalcin in osteoblasts

Lin Ri-yang<sup>1</sup>, Wu Feng<sup>1,2</sup>, He Li-qun<sup>1,2,3</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Serum containing *Shudi* and *Biejia* up-regulates the gene expression of osteocalcin in osteoblasts; the mesangial cells supernatant can also up-regulate the gene expression of osteocalcin in osteoblasts.

**OBJECTIVE:** To detect if there are additive effects of the mesangial cells supernatant and serum containing *Shudi* and *Biejia* on the gene and protein expression of osteocalcin in osteoblasts.

**METHODS:** Primary cultured osteoblasts of SD rats were divided into four groups after identification. Control group contained blank rat serum. *Shudi Biejia* group contained rat serum containing *Shudi Biejia*. Mesangial cell supernatant group contained blank rat serum and mesangial cell supernatant. *Shudi Biejia* plus mesangial cell supernatant group contained mesangial cell supernatant and rat serum containing *Shudi Biejia*. Culture medium was collected on day 6 after cultivation and was well mixed with the culture medium collected on day 3 after cultivation for detection.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with the control group, the mRNA expression of osteocalcin in *Shudi Biejia* group, mesangial cell supernatant group and *Shudi Biejia* plus mesangial cell supernatant group was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ); the expression rate of osteocalcin mRNA in the *Shudi Biejia* plus mesangial cell supernatant group was significantly higher than that in the *Shudi Biejia* group and mesangial cell supernatant group. The absorbance value of osteoblastic osteocalcin concentration in the *Shudi Biejia* group and mesangial cell supernatant group was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). Compared with *Shudi Biejia* group, the absorbance value of osteoblastic osteocalcin concentration in the *Shudi Biejia* plus mesangial cell supernatant group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). These findings indicate that the mesangial cell supernatant and serum containing *Shudi Biejia* both can increase the gene expression of osteocalcin in osteoblast; the combined action of the two can further up-regulate the gene expression of osteocalcin; meanwhile the osteocalcin secretion also increases significantly.

Lin RY, Wu F, He LQ. Shudi Biejia and mesangial cells cooperatively up-regulate the gene and protein expression of osteocalcin in osteoblasts. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(20): 3725-3729. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 熟地鳖甲含药血清可上调成骨细胞骨钙素基因表达, 系膜细胞上清液亦可促进成骨细胞该基因的表达。

**目的:** 验证熟地鳖甲含药血清与系膜细胞上清液对成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达的影响是否有叠加作用。

**方法:** 原代培养经鉴定的 SD 大鼠成骨细胞分为 4 组培养: ①空白对照组含空白血清培养液。②含药血清组含熟地鳖甲含药血清培养液。③无药系膜组含空白血清培养液+空白系膜细胞上清。④含药系膜组含熟地鳖甲血清培养液+含药系膜细胞上清液。6 d 后收集培养液, 并与 3 d 所收集的培养液混匀进行检测。

**结果与结论:** 与空白对照组比较, 含药血清组、无药系膜组、含药系膜组骨钙素 mRNA 表达率明显上调( $P < 0.05$ ), 含药系膜组骨钙素 mRNA 表达率明显高于含药血清组或无药系膜组。含药系膜组成骨细胞骨钙素浓度/MTT A 值明显高于空白对照组( $P < 0.05$ )。与含药血清组比较, 含药系膜组成骨细胞骨钙素浓度/MTT A 值明显升高( $P < 0.05$ )。提示系膜细胞上清液及含药血清可上调成骨细胞骨钙素基因表达, 二者共同作用进一步上调骨钙素基因的表达量, 此时骨钙素分泌量亦明显增加。

**关键词:** 熟地; 鳖甲; 成骨细胞; 系膜细胞; 骨钙素  
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.20.026

林日阳, 吴锋, 何立群. 熟地鳖甲与系膜细胞协同上调成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(20): 3725-3729. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

中药补肾药物常用于骨质疏松症的治疗, 临床研究及动物实验均已证实这类中药的有效性, 然而其具体作用机制尚不完全清楚。

以往研究发现补肾中药可上调成骨细胞成骨相关基因的表达。本课题组发现熟地鳖甲可

预防肾衰大鼠骨质流失, 进一步研究发现熟地鳖甲含药血清可促进成骨细胞增殖, 上调骨钙素的分泌(未发表)。

近来研究发现系膜细胞上清液培养3 d后, 成骨细胞骨钙素基因表达上调。实验进一步观察培养6 d骨钙素基因表达及蛋白分泌量的变化, 同时探讨熟地鳖甲与系膜细胞对成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达是否具有叠加甚至协同效应。

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Clinical Study for Traditional Chinese Medicine of Shanghai, Shanghai 201203, China; <sup>3</sup>the Ministry of Education Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, E-Institute of Chinese Internal Medicine of Shanghai Colleges and Universities, Shanghai 200021, China

Lin Ri-yang☆, Studying for doctorate, Department of Nephrology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China  
lin\_ri\_yang@126.com

Corresponding author: He Li-qun, Doctor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Nephrology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China; Key Laboratory of clinical Study for Traditional Chinese Medicine of Shanghai, Shanghai 201203, China; the Ministry of Education Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, E-Institute of Chinese Internal Medicine of Shanghai Colleges and Universities, Shanghai 200021, China

Supported by: the Key Basic Research Project of Shanghai Committee of Science and Technology, No. 09JC1413700\*; the Innovation Team of Shanghai Municipal Education Commission\*

Received: 2011-09-20  
Accepted: 2011-10-24

<sup>1</sup>上海中医药大学附属曙光医院肾内科, 上海市200021; <sup>2</sup>上海市中医临床重点实验室, 上海市200021; <sup>3</sup>上海市高校中医内科E-研究院, 上海市200021

林日阳☆, 男, 1982年生, 浙江省温州市人, 汉族, 上海中医药大学在读博士, 主要从事肾性骨病研究。  
lin\_ri\_yang@126.com

通讯作者: 何立群, 博士, 主任医师, 博士生导师, 上海中医药大学附属曙光医院肾内科, 上海市200021; 上海市中医临床重点实验室, 上海市200021; 上海市高校中医内科E-研究院, 上海市200021

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225(2012)20-03725-05

收稿日期: 2011-09-20  
修回日期: 2011-10-24  
(20110720002/W LX)

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 实验于2010-02/2011-03在上海曙光医院中医内科实验室完成。

**材料:**

**实验动物:** 清洁级SD大鼠12只, 体质量190~220 g, 雄性; 清洁级新生(出生24 h以内)红皮SD大鼠8只, 雄性, 由上海斯莱克动物有限公司提供, 实验动物生产许可证: SCXK(沪)2003-0003; 实验动物使用许可证: SYXK(苏)2002-0053。上海中医药大学代购。

**试剂:**

试剂	来源
RPMI-1640 培养液(含酚红)、胰蛋白酶、II型胶原酶	GIBCO
RNA 提取试剂盒(Trizol 法)、mRNA CDNA 第一链合成试剂盒、一步 RT-Real time PCR 染料法 Premix	BioTNT 公司

**实验方法:**

**成骨细胞及培养鉴定:** 原代成骨细胞提取、培养传代及鉴定参照文献[1]: 取新生24 h内SD大鼠8只, 参照文献的改良酶消化法行大鼠原代成骨细胞培养及传代。根据形态及碱性磷酸酶染色法进行鉴定, 取第3~7代成骨细胞进行实验。

**系膜细胞及培养鉴定:** 参照文献[2], 无菌操作网筛过滤法获取肾小球, I型胶原酶消化至肾小球松解后接种于经多聚赖氨酸包被的培养瓶中, 1个月后形态一致的梭形细胞, 5 g/L胰蛋白酶消化2 min传代, 取第3代细胞, 根据形态及 $\alpha$ -SMA(+), Vimentin(+), VIII因子相关抗原(-)鉴定, 第3~5代系膜细胞用于实验。

**制备含药血清:** 将药物浓煎成生药1 300 g/L浓煎溶液, 雄性SD大鼠12只随机分为药物组和空白组, 每组各6只。药物组浓煎溶液1.25 mL /g灌胃; 空白组等量蒸馏水灌胃, 2次/d, 3 d后动脉取血, 离心取上清液。

**制备系膜细胞上清液:** 取第3~5代系膜细胞均匀接种于25 cm<sup>2</sup>培养瓶中, 每周3次换液至细胞占瓶底约80%。无菌灭活的空白或含药组大鼠血清按10%以RPMI-1640配成完全培养液, 10 mL/瓶, 3 d后收集上清液即得空白或含药系膜细胞上清液。

**实验分组:** 按下表加样于6孔板, 置于37 °C, 体积分数5% CO<sub>2</sub>培养箱培养6 d。

**成骨细胞分组(6孔板)加样:**

组成成分	空白对照组	含药血清组	无药系膜组	含药系膜组
细胞悬液 (5×10 <sup>7</sup> L <sup>-1</sup> )	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
37 °C培养4 h后弃原培养液, 更换无血清培养液, 培养12 h				
10%空白对照血清培养液	2.5 mL	-	2 mL	-
10%熟地鳖甲含药血清培养液	-	2.5 mL	-	2 mL
空白系膜细胞上清	-	-	0.5 mL	-
含药系膜细胞上清液	-	-	-	0.5 mL

**总RNA提取及鉴定:** ①利用Trizol试剂提取总RNA。②酶标仪测定A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>为1.75, 在1.60~1.80之间, 说明纯度较好。

**实时荧光定量PCR检测:** 引物由PremierPrimer5.0软件设计, blast验证, 合成的引物经过PAGE纯化, 复溶, 并使用对应的模板进行real time PCR实验验证成功, 由上海Biotnt (上海)设计合成。以 $\beta$ -actin( $\beta$ -肌动蛋白)为内参基因。

**基因序列表:**

基因名称	序列	温度	产物长度
骨钙素	上游 5' GAA CAG ACA AGT CCC ACA CAG 3'	86.3 °C	108 bp
	下游 5' CAG GTC AGA GAG GCA GAA TG 3'		
$\beta$ -actin (内参)	上游 5' CCT CTA TGC CAA CAC AGT 3'	86.1 °C	155 bp
	下游 5' AGC CAC CAA TCC ACA CAG 3'		

按试剂说明书反转录为第一链cDNA, qPCR扩增收集荧光信号, 每个样本做3个复孔, 取3孔的平均值分析。

**成骨细胞A值和骨钙素含量检测:** MTT检测成骨细胞A值, ELISA法检测各组成骨细胞上清液骨钙素含量。

**主要观察指标:** 成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达。

**统计学分析:** 利用livak法<sup>[3]</sup>计算各组成骨细胞相对于空白对照组骨钙素相对表达率, 以 $\beta$ -actin作为校正基因,  $\Delta\Delta Ct(\text{col I}) = (\text{Ct col I} - \text{Ct}\beta\text{-actin})_{\text{系膜细胞上清液组}} - (\text{Ct col I} - \text{Ct}\beta\text{-actin})_{\text{空白对照组}}$ 。各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式描述, 并利用SPSS17.0统计软件对符合正态分布计量资料做单因素方差分析, 对非正态分布资料做非参数检验,  $P < 0.05$ 时差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 成骨细胞分离培养和鉴定

**形态学观察:** 原代细胞接种4 h后即可贴壁, 隔日换液培养10 d后细胞铺满瓶底, 经胰酶消化差速贴壁法纯化后, 所得细胞形态一致, 呈梭形, 多突起; 细胞核呈卵圆形, 偏于一侧; 胞体大, 胞浆丰富。细胞贴壁生长连成片后, 逐渐变为长梭形, 如不及时传代, 继续生长, 细胞密度增大, 可逐渐失去极性, 细胞形态不易辨认; 有些部位细胞可有重叠生长现象。

**碱性磷酸酶染色:** 第3代和第7代细胞经碱性磷酸酶染色后观察, 胞浆中有许多染成灰黑色的颗粒, 局部色较深, 表示酶含量较多, 见图1。而对照片(成纤维细胞)中无酶反应, 见图2。

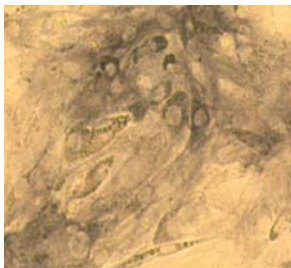


Figure 1 Alkaline phosphatase staining of the osteoblasts (+) ( $\times 100$ )  
图1 成骨细胞碱性磷酸酶染色(+)( $\times 100$ )

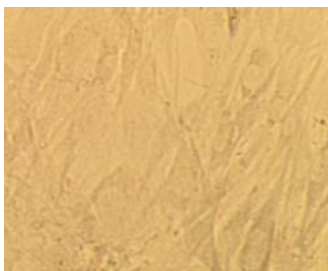


Figure 2 Alkaline phosphatase staining of the control slides (-) ( $\times 100$ )  
图2 对照片碱性磷酸酶染色(-)( $\times 100$ )

### 2.2 肾系膜细胞分离培养和鉴定

**形态学观察:** 肾小球种植5 d后, 约50%贴壁, 可见卵圆形上皮细胞和星状或三角形系膜细胞同时生长, 上皮细胞迅速生长逐渐呈象铺路石样紧密成片排列, 系膜细胞生长缓慢, 13 d左右上皮细胞逐渐死亡, 逐渐代之以星状或三角形系膜细胞。21 d后细胞生长密集, 细胞团簇之间形成网络, 28 d长满瓶底时呈梭形, 胞核位于细胞中央呈清晰的卵圆形。见图3。

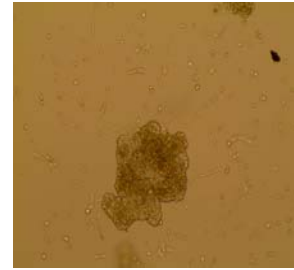


Figure 3 Epithelial cells and mesangial cells could be seen growing out of the glomeruli on 5 d after cultivation ( $\times 50$ )  
图3 肾小球种植5 d后, 上皮细胞和星形或三角形系膜细胞自肾小球移出( $\times 50$ )

**免疫荧光鉴定:** a-SMA(+), vimentin(+), VIII因子相关抗原抗体(-)证实纯度为90%的系膜细胞。见图4, 5。

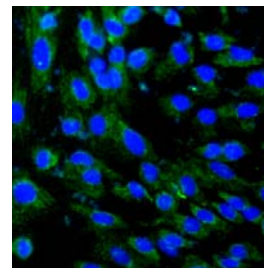


Figure 4 Immunofluorescence staining of mesangial cell a-smooth muscle actin (+) ( $\times 100$ )  
图4 免疫荧光染色系膜细胞 a-SMA(+)( $\times 100$ )

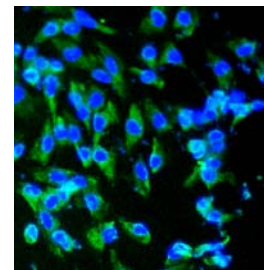


Figure 5 Immunofluorescence staining of mesangial cells (+) ( $\times 100$ )  
图5 免疫荧光染色系膜细胞 vimentin (+)( $\times 100$ )

2.3 各组成骨细胞骨钙素mRNA相对表达比率 见表1。

表1 各组成骨细胞骨钙素 mRNA 表达  
Table 1 mRNA expression of osteoblastic osteocalcin (OC) in each group (x±s, n=3)

Group	OC mRNA expression
Control	1.00±0.02
Shudi Biejia	2.31±0.69 <sup>a</sup>
Mesangial cell supernatant	2.55±0.32 <sup>a</sup>
Shudi Biejia plus mesangial cell supernatant	4.85±1.09 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, vs. control group, <sup>b</sup>P < 0.05, vs. Shudi Biejia group

以空白对照组骨钙素mRNA表达率作为参照, 设表达率为“1”。与空白对照组比较, 含药血清组、无药系膜组、含药系膜组骨钙素mRNA表达率明显上调(P < 0.05), 含药系膜组骨钙素mRNA表达率明显高于含药血清组或无药系膜组。

2.4 各组成骨细胞骨钙素分泌 见表2。

表2 各组成骨细胞骨钙素分泌量  
Table 2 Secretion levels of osteoblastic osteocalcin in each group (x±s, µg/L)

Group	n	Osteocalcin level/absorbance
Control	5	53.76±7.98
Shudi Biejia	5	56.95±13.55
Mesangial cell supernatant	6	62.57±18.16
Shudi Biejia plus mesangial cell supernatant	5	91.36±17.33 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, vs. control group, <sup>b</sup>P < 0.05, vs. Shudi Biejia group

将各组所得骨钙素分泌量浓度除以相应组别MTT所得A值, 所得骨钙素浓度/MTT A值, 含药系膜组成骨细胞骨钙素浓度/MTT A值明显高于空白对照组(P < 0.05)。与含药血清组比较, 含药系膜组成骨细胞骨钙素浓度/MTT A值明显升高(P < 0.05)。

3 讨论

中国传统医学中没有明确的“骨质疏松症”概念, 但对于该病研究和治疗方法的探讨可散见于“腰痛”、“萎证”等各章节。骨质疏松症可归属于“本虚和(或)标实证”, 以肾虚为主<sup>[4-9]</sup>, 用补肾药物对该病的治疗效果已被近代临床及动物实验所证实<sup>[10-12]</sup>, 然而具体的作用机制尚不完全清楚。大量实验研究发现补肾中药可上调成骨细胞成骨相关基因的表达<sup>[13]</sup>, 促进骨钙素、骨桥蛋白等成骨相关蛋白的合成。骨质疏松症常用处方中, 熟地出现率约 80%<sup>[6]</sup>, 以熟地为主药的中药复方可明显改善各种病因引起的骨质疏松症<sup>[14-19]</sup>, 鳖甲也是滋补肝肾的常用药物<sup>[20-21]</sup>, 本课题组动物实验也发现熟地鳖甲

可有效预防肾衰大鼠骨质流失(未发表), 熟地鳖甲含药血清培养的成骨细胞增殖率及骨钙素的表达量均比相对应的空白对照组成骨细胞有所上调。本课题组既往发现肾小球系膜细胞上清液也可以上调成骨细胞骨钙素基因及蛋白的表达, 熟地鳖甲与系膜细胞对成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达的共同作用成了本研究的重点。

骨钙素又称维生素 K 的骨 γ 羧基谷氨酸蛋白, 由 49~50 个氨基酸组成, 是由非增殖期成骨细胞合成分泌的特异性产物, 是一种含量最丰富的骨非胶原蛋白<sup>[22]</sup>, 占 15%~20%, 占骨蛋白总量的 1%~2%, 可维持骨的正常矿化速率, 抑制异常的羟基磷灰石结晶的形成, 抑制软骨矿化速率, 参与骨转换调节。本研究观察含药血清、系膜细胞上清及含药系膜细胞上清对成骨细胞骨钙素基因表达的影响, 发现培养 6 d 后 3 组骨钙素基因的表达量与空白组比较均上调, 含药系膜细胞上清组骨钙素基因的表达量是系膜细胞或熟地鳖甲单独作用的 2 倍。除去各组成骨细胞增殖率的影响后, 含药系膜细胞上清组成骨细胞骨钙素的表达量仍明显高于空白组, 提示系膜细胞与熟地鳖甲对成骨细胞熟地鳖甲基因及蛋白表达的影响可相互叠加。

本实验对补肾药物作用机制研究提供了新的思路: 补肾药物经肾脏固有细胞处理后可能进一步上调药物本身对成骨细胞的作用。然而系膜细胞与熟地鳖甲对成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达上调作用的具体分子机制仍有待进一步研究。与系膜细胞共育时成骨细胞的状态及此时含药血清对其的影响是否与本研究结果一致有待深入研究。

总之, 系膜细胞上清液及含药血清可上调成骨细胞骨钙素基因表达, 二者共同作用进一步上调骨钙素基因的表达量, 此时骨钙素分泌量亦明显增加。目前, 关于系膜细胞与成骨细胞关系的研究刚刚起步, 进一步深入探讨可能为骨骼疾病及肾脏相关性骨病的防治提供新的理论依据, 并为开发新型抗骨质疏松药物提供线索。

4 参考文献

[1] Wu PL, Zhong DB, Qu WJ, et al. Gansu Nongye Daxue Xuebao. 2004,39(5):512-515.  
吴培福, 钟代彬, 曲伟杰, 等. 小鼠成骨细胞改良酶的消化分离培养[J]. 甘肃农业大学学报, 2004,39(5):512-515.

[2] Mene P. Mesangial cell cultures. J Nephrol.2001;14(3):198-203.

[3] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2-ΔΔCt Method. Methods.2001;25: 402.

[4] Ge L, Liang J, Zhang HD. Zhonghua zhongyiyao Zazhi.2011;26(1): 100-102.  
葛琳, 梁军, 张华东. 类风湿关节炎继发骨质疏松症病理探析[J]. 中华中医药杂志, 2011,26(1):100-102.

[5] Deng AL, Zhou ZM, Jiang HZ, et al. Hubei Zhongyi Zazhi.2011; 33(2): 7-9.  
邓阿黎, 周忠明, 姜惠中, 等. 滋补肝肾方对去卵巢骨质疏松模型大鼠血清性激素的影响[J]. 湖北中医杂志, 2011,33(2):7-9.

[6] Guo Y, Ma Y. Zhongguo Shiyan Fanjixue Zazhi.2010;16(7): 188-191.  
郭杨, 马勇. 中医药治疗骨质疏松症的常用处方分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(7):188-191.

- [7] Jing MT, Zheng HX. Liaoning Zhongyiyao Daxue Xuebao. 2009; 11(3):35-36.  
金珉廷, 郑洪新. 中医肾藏精生髓主骨理论与骨质疏松症[J]. 辽宁中医药大学学报. 2009, 11(3):35-36.
- [8] Jiang HQ. Zhongguo Shequ Yishi: Yixue Zhuanye Banyuekan. 2009; 23:14.  
姜慧强. 补肾与骨质疏松症[J]. 中国社区医师(医学专业半月刊), 2009, 23:14.
- [9] Wang XX, Zhang YL, Huang QF. Zhongxiyi Jiehe Xuebao. 2010; 8(12):1119-1123.  
王新祥, 张允岭, 黄启福. 对骨质疏松症中医病机和现代病因学的认识与探讨[J]. 中西医结合学报, 2010, 8(12):1119-1123.
- [10] Wang YC, Ding Y, Fan QY, et al. Disi Junyi Daxue Xuebao. 2009; 30(11):1001-1003.  
王育才, 丁勇, 范清宇, 等. 益肾中药复方防治大鼠继发性骨质疏松症的实验研究[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(11):1001-1003.
- [11] Mo XS. Zhongguo Mingzu Mingjian Yiyao. 2009; 15:89-90.  
莫小汕. 滋补肝肾法治疗骨质疏松症临床观察[J]. 中国民族民间医药, 2009, 15:89-90.
- [12] Hu J, Zheng HX. Zhonghua Zhongyiyao Xuekan. 2009; 27(12): 2628-2630.  
胡静, 郑洪新. 益肾填精壮骨法防治骨质疏松症研究探要[J]. 中华中医药学报, 2009, 27(12):2628-2630.
- [13] Cai XF, Xu XZ, Yu HH, et al. Zhongguo Guzhishusong Zazhi. 2008; 14(7):98-501.  
蔡险峰, 徐贤柱, 郁晖晖, 等. 杜仲叶活性部位 I 调控骨代谢平衡作用研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(7):98-501.
- [14] Wang XY, Xu MZ, Chun L, et al. Guangzhou Zhongyiyao Daxue Xuebao. 1998; 15(2):84-87.  
王小云, 徐珉, 张春玲, 等. 补肾益骨膏治疗更年期妇女骨质疏松症的临床观察[J]. 广州中医药大学学报, 1998, 15(2):84-87.
- [15] Fang R, Deng YJ, Meng QC, et al. Zhongguo Zuzhi Gongchen yu Linchuan Kangfu Zazhi. 2009; 13(37):7254-7259.  
方锐, 邓迎杰, 孟庆才, 等. 补肾通络方对SD大鼠骨性关节炎、骨质疏松症及骨性关节炎并骨质疏松症模型骨密度的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(37):7254-7259.
- [16] Wei HW, Lin YF, Qu CZ, et al. Zhongguo Zuzhi Gongchen yu Linchuan Kangfu Zazhi. 2008; 18(37):7290-7293.  
魏合伟, 林一峰, 曲崇正, 等. 中药骨康含药血清对骨质疏松性骨折愈合过程中血小板衍生生长因子表达的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 18(37):7290-7293.
- [17] Zeng WX, Sheng PY, Shu YY, et al. Zhongguo Zuzhi Gongchen yu Linchuan Kangfu Zazhi. 2007; 11(27):5421-5423.  
曾武雄, 盛璞义, 舒友元, 等. 补肾活血复方中药与激素替代治疗绝经后骨质疏松患者血清细胞因子水平的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(27):5421-5423.
- [18] Yang L, Zhang RH, Zhu XF, et al. Zhongguo Zuzhi Gongchen yu Linchuan Kangfu Zazhi. 2006, 10(3):190-192.  
杨丽, 张荣华, 朱晓峰, 等. 益肾胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织骨形态发生蛋白2表达的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2006, 10(3):190-192.
- [19] Ke Q, Liu HQ, Niu W, et al. Zhongguo Linchuan Kanfu. 2005; 9(31): 186, 189.  
柯青, 刘海全, 牛维, 等. 补肾方药对绝经后骨质疏松症患者骨密度及血清碱性磷酸酶的影响[J]. 中国临床康复, 2005, 9(31):186, 189.
- [20] Han XL, Lou ZJ. Zhongyi Zazhi. 2010; 10(51):255-256.  
韩向莉, 娄志杰. 骨质疏松症中医药治疗进展[J]. 中医杂志, 2010, 10(51): 255-256.
- [21] Wang JA, Lin DK. Zhongguo Guzhishusong Zazhi. 2001; 7(4): 372-374.  
王君鳌, 林定坤. 骨质疏松症的研究和进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2001, 7(4):372-374.
- [22] Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, et al. Osteocalcin and matrix protein: vitamin K-dependent proteins in bone. Physiol Rev. 1989; 69(3): 990-1047.

## 来自本文课题的更多信息--

**基金声明:** 上海市科委基础研究重点项目 (09JC1413700), 上海市教委创新团队。

**作者贡献:** 实验设计与指导为通讯作者, 实验实施为第一作者, 评估为第二作者, 非盲法评估。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物处置符合 2006 年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

**本文创新性:** 实验在既往研究的基础上观察发现系膜细胞对成骨细胞骨钙素基因及蛋白表达量的变化, 发现了系膜细胞对成骨细胞骨钙素基因及蛋白的影响可与熟地鳖甲药物作用相叠加, 将中医学“肾主骨”理论研究引入了细胞间信号传导, 揭示了肾脏固有细胞在“肾主骨”过程中可能起到的重要作用, 可能有助于开拓中医基础理论研究新领域。

## SCI 收录的《中国神经再生研究(英文版)》(NRR) 杂志 2012 年 10 大组稿重点

《中国神经再生研究(英文版)》(NRR) 杂志:  
2008年1月起已被SCI, CA, SCOPUS, EM, IC等国际重要数据库收录, 同时被中国统计源期刊(英文版), 中国科学引文数据库核心期刊收录, 并被美国OVID期刊全文数据库收录, 可同时被全球2000余家机构检索和阅读。  
2011年杂志以旬刊出版, 注重出版时效, 严格保证发行时间。  
2011年6月SCI首次公布NRR杂志影响因子为0.18。

## NRR杂志出版重点:

- 神经发生、神经可塑性与神经再生
- 神经干细胞与神经细胞的再生
- 组织工程与神经再生
- 神经退行性变与神经再生
- 中枢神经系统的再生
- 周围神经系统的再生
- 中医药与神经再生
- 基因治疗与神经再生
- 神经再生的新兴技术
- 神经再生的转化医学

## NRR杂志特色:

**高质量:** 坚持篇篇国际专家精审, 保证文章学术质量。坚持篇篇母语专家语言润色, 保证文章语言质量。  
**短时效:** 经同行评议后可采用稿件, 可于6月出版, 特殊优秀稿件可于3个月出版。  
**多元化:** 为作者提供其所需的服务, 如向SCI期刊投稿相关服务。  
NRR杂志文章体例: 研究原著、综述、学术探讨、循证医学、调查报告、典型病例等。