

# 针刺防治骨质疏松症:基于动物实验 机制研究的最新进展

朱 婵<sup>1,2</sup>, 张 强<sup>3</sup>, 韩栩珂<sup>1,2</sup>, 姚承佼<sup>1,2</sup>, 陈 秋<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 成都中医药大学附属医院 成都 610072; 2. 成都中医药大学研究生院 成都 610075;

3. 四川省骨科医院 成都 610041)

**摘 要:**目的 基于动物实验模型,总结针刺治疗骨质疏松的研究现状及进展。方法 采用计算机检索近5年中国知网(CNKI)、维普数据库(VIP)、万方数据库(WanFang Data)、中国生物医学文献数据库(CBM)以及PubMed、EMbase、The Cochrane Library等数据库中有关针刺治疗骨质疏松动物模型的研究资料进行评价分析。结果 总结15项实验研究,发现针刺防治骨质疏松的作用机制主要体现在调节成骨和破骨相关的OPG/RANK/RANKL、Wnt/ $\beta$ -catenin、MAPKs信号传导通路,调节肠道钙吸收,上调成骨相关蛋白BMP-2、RUNX2的表达,提高雌激素水平,抑制瘦素释放,调整胰岛功能及协调组蛋白修饰等方面。结论 近5年来,针刺治疗骨质疏松的作用机制研究更加深入,在影响表观遗传、中枢调控和调节肠道物质吸收等方面有新发现。

**关键词:**针刺 骨质疏松症 机制 动物模型 综述

doi: 10.11842/wst.20210914017 中图分类号: R446;R332;R592 文献标识码: A

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以骨量低,骨组织微结构损坏,导致骨脆性增加,易发生骨折为特征的全身性骨病<sup>[1]</sup>。OP的发病与绝经、增龄导致的性激素下降、内分泌失调、体力活动下降、维生素D缺乏、钙吸收减少有关<sup>[1]</sup>。全身炎症、氧化应激、糖基化等因素也参与OP的进展<sup>[1-2]</sup>。目前,以抑制破骨细胞为代表的双膦酸盐是治疗OP的主流药物,但存在花费较高、不良反应多的问题<sup>[1]</sup>。荟萃分析显示针刺治疗在改善OP患者症状、骨密度,协同提高抗骨质疏松药物疗效方面具有一定优势<sup>[3-4]</sup>。动物实验是研究针刺防治OP作用机制的重要手段。1999年我国率先开展相关研究<sup>[5]</sup>,2015年,有学者总结针刺治疗OP的研究进展,发现针刺可影响骨组织形态学、骨生物力学、骨代谢生化指标;对血清雌激素及部分骨代谢相关细胞因子亦有积极影响<sup>[6]</sup>,初步阐明了针刺治疗OP的生物学机制。

但近5年来,分子生物学快速发展,国内外学者从表观遗传、中枢调控、调节肠道钙吸收等新角度对针刺防治OP深入研究,提出了新的见解。因此,本文运用科学的文献筛选方法,梳理相关高质量文献,总结针刺防治OP的模型选择、选穴规律、干预时机,并着重归纳总结针刺干预骨质疏松症的分子生物学机制进展,旨在为针刺防治OP的后续研究提供参考。

## 1 文献资料与方法

### 1.1 检索策略

计算机检索近5年中国知网(CNKI)、维普数据库(VIP)、万方数据(WanFang Data)、中国生物医学文献数据库(CBM)以及PubMed、EMbase、The Cochrane Library等数据库,搜集有关针刺防治OP的动物实验研究文献。检索采用主题词和款目相结合的方式,

收稿日期:2021-09-14

修回日期:2022-06-12

\*\* 通讯作者:陈秋,教授,博士研究生导师,主要研究方向:内分泌代谢性疾病的中西医结合防治研究。

并追溯纳入文献的参考文献,以补充获取相关文献。中文检索词包括:“骨质疏松症”“骨质疏松”“骨痿”“骨萎”“针刺”“电针”“动物模型”“鼠”“猴”“兔”等;以CNKI为例,专业检索式为:SU=骨质疏松症+骨萎+骨痿 and SU=针刺+针灸+电针+温针+水针 and AB=兔+鼠+猴+动物。英文检索词包括:“Osteoporosis”“Osteoporoses”“acupuncture”“electropuncture”“animal model”“experimental study”。另外手工检索其他的相关杂志、会议论文等资料。

## 1.2 文献纳入标准

①文献发表年限在2016年1月1日至2021年4月11日;②研究类型为动物实验研究,文种限中文、英文;③干预措施为普通针刺或电针为主的中医疗法;④同一研究团队针对同一机制研究的不同文献归为一项研究。

## 1.3 文献排除标准

①重复检出或重复发表的文献;②无法获得全文

的文献;③临床试验研究的文献;④无法确定针刺干预主效应的文献;⑤采用功能核磁共振、真电子发射计算机断层显像(PET)的方法观察针刺防治OP模型效应的文献;⑥综述文献;⑦硕博学位论文及会议论文;⑧中文非核心期刊;⑨阅读全文后发现研究结果不能支撑研究结论的文献。

## 1.4 文献筛选流程

根据检索词检索到相关文献197篇,剔除不相关及重复文献,余45篇,通过阅读文献内容筛选符合纳排标准的文献,最终纳入17篇,其中中文文献13篇,英文文献4篇,经合并同一研究团队针对同一机制的不同文献后,最终得到15项研究。筛选流程图具体见图1。

## 2 结果

针刺防治OP动物实验的选穴部位集中在躯干和下肢,以足少阳胆经、足太阳膀胱经和督脉为主要归

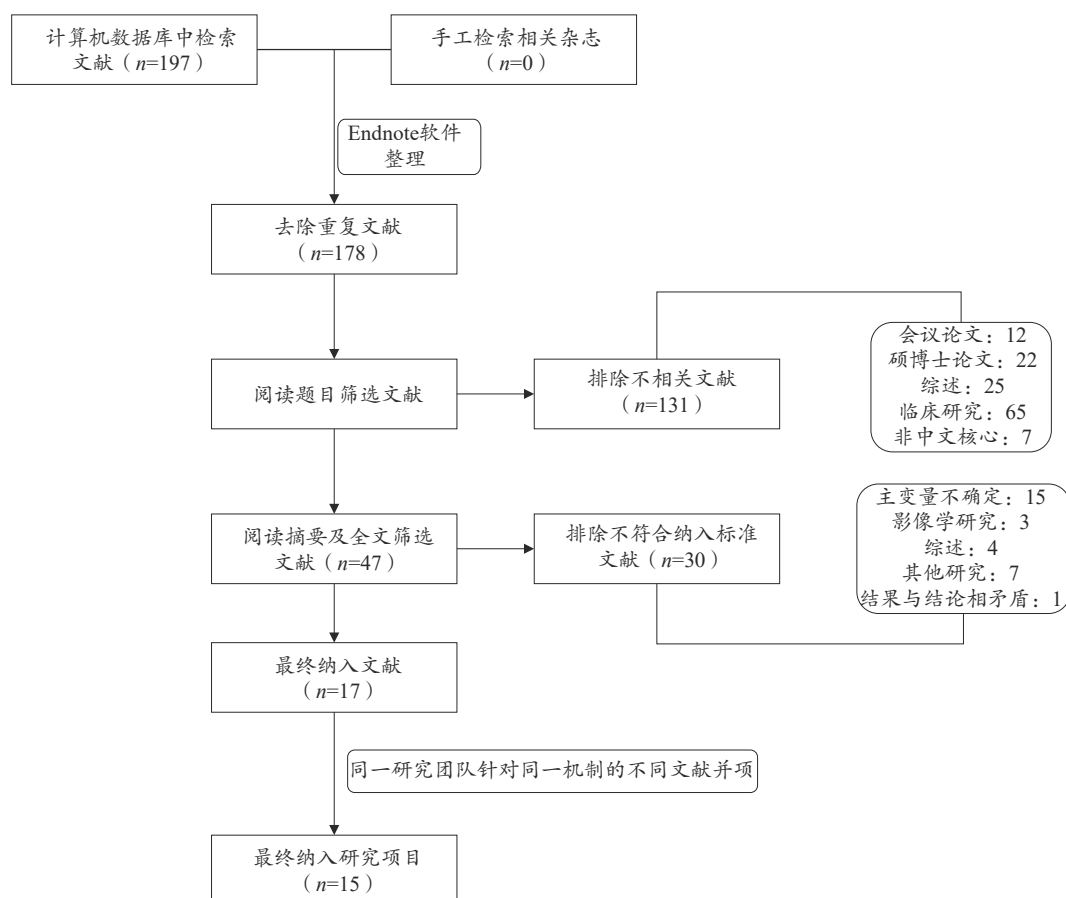


图1 针刺防治骨质疏松症的动物实验文献筛选流程图

经。其中,肾俞是选择频次最高的穴位,足(后)三里次之;肾俞配伍脾俞出现频次最高,肾俞配伍足(后)三里次之。模型动物一般选择SD大鼠或Wistar大鼠,月龄集中在3~6个月。卵巢去势导致的骨丢失模型使用频率最高(86.67%),少部分研究采用药物诱导继发性骨

丢失模型和下肢废用法诱导局限性骨丢失模型(表1)。

针刺干预OP的生物学作用机制主要体现在影响骨代谢相关信号传导通路;促进成骨相关细胞因子表达;调节胰岛素、雌激素、瘦素等信号物质的分泌;帮助钙质吸收和基因修饰等方面(表1、图2)。

表1 2016年至2021年针刺防治骨质疏松症的动物实验研究汇总

| 研究文献                                                          | 动物             | 造模方式              | 治疗时机         | 取穴                         | 针刺方式 | 干预方法                | 作用机制                                                                              | 语种 |
|---------------------------------------------------------------|----------------|-------------------|--------------|----------------------------|------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 陈赓 <sup>[7]</sup> 等<br>2021                                   | 雌性SD大鼠         | 双侧卵巢摘除去势          | 造模2月后        | 肾俞、足三里                     | 电针   | 2次/天,共12周           | 降低RUNX2甲基化启动子CpG1、CpG2、CpG3、CpG4.5的表达水平,增强骨密度,改善股骨的生物力学性能等                        | 中文 |
| 张楚穹 <sup>[8]</sup> 等<br>2020                                  | 3月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模2周后        | 关元、三阴交(双)、肾俞、后三里(双)        | 电针   | 1次/天,治疗5天休息2天,共12周  | 增强肠道内参与钙离子吸收的TRPV5、PMCA1b、ZO-1、occludin表达,提高骨密度。                                  | 中文 |
| 邵雨薇 <sup>[9]</sup> 等<br>2020                                  | 3月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模1周后        | 肾俞、脾俞                      | 电针   | 每周一三五治疗1次,共8周       | 通过组蛋白H3乙酰化修饰上调RUNX2的表达。                                                           | 中文 |
| 王亚军 <sup>[10-11]</sup> 等<br>2018                              | 2月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模13周后       | 肾俞、脾俞、三阴交、足三里              | 电针   | 1次/天,治疗5天休息2天,共60天  | 上调Wnt3a和 $\beta$ -catenin的基因和蛋白表达从而调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,调节骨重建系统的平衡从而增强骨密度。 | 中文 |
| 孙光华 <sup>[12]</sup> 等<br>2018                                 | 3月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模后          | 三阴交、阳陵泉、阴陵泉、足三里            | 电针   | 1次/天,治疗5天休息2天,共12周  | 调节OPG/RANK/RANKL信号通路抑制去卵巢大鼠软骨下骨骨质疏松。                                              | 中文 |
| 谢菊英 <sup>[13]</sup> 等<br>2016<br>肖丽 <sup>[14]</sup> 等<br>2016 | 3月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模完成待大鼠情况稳定后 | 肾俞、足三里、关元、三阴交              | 电针   | 1次/天,治疗9天休息1天,共90天  | 下调下丘脑中瘦素及其受体的含量,抑制其中枢抗骨形成效应。                                                      | 中文 |
| 秦玮 <sup>[15]</sup> 等<br>2016                                  | 4~5月龄SD雌性大鼠    | 双侧卵巢摘除去势          | 造模成功后        | 命门穴                        | 电针   | 1次/天,共30天           | 上调去卵巢骨质疏松症模型大鼠下丘脑BMP-2及Smad1/5的表达                                                 | 中文 |
| 潘小燕 <sup>[16]</sup> 等<br>2017                                 | 12月龄Wistar雌性大鼠 | 双侧卵巢摘除去势          | 造模3个月        | 阳陵泉、环跳、悬钟、京门               | 电针   | 1次/天,治疗10天休息5天,共60天 | 通过抑制OPG和RANKL表达,提高OPG/RANKL两者比值,刺激CBF $\alpha$ 1表达,抑制骨吸收,增强骨形成,调控骨重建。             | 中文 |
| 陈玉敏 <sup>[17]</sup> 等<br>2016                                 | 2月龄未孕Wistar大鼠  | 双侧卵巢摘除去势          | 造模7d大鼠伤口愈合后  | 大杼、肾俞、脾俞+尾静脉注射人羊膜间充质细胞     | 针刺   | 1次/天,共12周           | 针刺联合人羊膜间充质细胞提升骨密度和骨钙含量,升高血清25-HVD、CTX-I、BAP、TRAP5P、TGF- $\beta$ 1mRNA的表达。         | 中文 |
| 罗成斌 <sup>[18]</sup> 等<br>2017                                 | 6月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势          | 造模3个月        | 足三里、肾俞、大杼                  | 针刺   | 1次/天,治疗5天休息2天,共6个月  | 促进骨的形态适应、增加骨密度、调高骨的抗外力性能。                                                         | 中文 |
| 程斌 <sup>[19]</sup> 等<br>2016                                  | SD雄性大鼠         | 链脲佐菌素腹腔注射结合高脂高糖饮食 | 造模成功24h后开始   | T8~L2背部夹脊穴+二甲双胍片混悬液(各组均使用) | 针刺   | 1次/天,共6周            | 降低血糖和提高血清胰岛素水平,提升血清中Ca、INS、IGF-1含量。                                               | 中文 |

下转续表

续表

| 研究文献                              | 动物             | 造模方式       | 治疗时机   | 取穴                          | 针刺方式 | 干预方法                | 作用机制                                                                                        | 语种 |
|-----------------------------------|----------------|------------|--------|-----------------------------|------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Atsushi <sup>[20]</sup> 等<br>2018 | 7周龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势   | 造模术1周后 | 肾俞                          | 针刺   | 1次/天,每周3次,连续15周     | 提高E2的含量,降低尿NTx水平,提升骨矿含量和骨密度。                                                                | 英文 |
| Qin <sup>[21]</sup> 等             | 6月龄雌性SD大鼠      | 双侧卵巢摘除去势   | 未提及    | 肾俞、脾俞                       | 电针   | 隔日1次,共8周            | 抑制HDAC2的活性,并增加了股骨组织中组蛋白H3的乙酰化,上调了RUNX2的表达,降低了RANKL的表达                                       | 英文 |
| Zheng <sup>[22]</sup> 等           | 6月龄,雌性SD大鼠     | 双侧卵巢摘除去势   | 造模术后1周 | 督脉组(命门、脊中)versus膀胱经组(脾俞、肾俞) | 电针   | 1次/天,治疗10天休息5天,共90天 | 电针治疗上调OPG,LRP5, RUNX2, $\beta$ -Catenin; 下调RANKL, 磷酸化和总ERK1/2, JNK, p38的表达量。督脉组和膀胱经组无显著性差异。 | 英文 |
| Wang <sup>[23]</sup> 等            | 10周龄雄性Wistar大鼠 | 尾部悬吊,下肢不负重 | 边造模边干预 | 脾俞、肾俞、三阴交                   | 电针   | 1次/天,共30天           | 骨体积/总体积和小梁数目显著降低,骨碱性磷酸酶和骨钙素的水平升高。                                                           | 英文 |

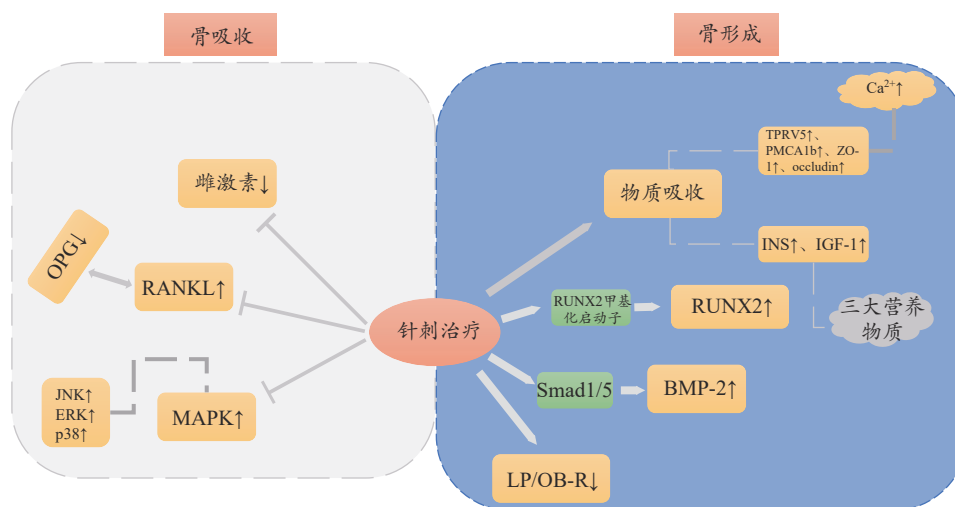


图2 近5年针刺防治骨质疏松症的主要机制

## 2.1 OPG/RANK/RANKL信号传导通路

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)/核因子 $\kappa$ B受体活化因子(RANK)/RANKL信号通路是调节骨吸收的最后通路,在骨重塑和矿物质代谢紊乱中起关键作用<sup>[24]</sup>。RANKL在巨噬细胞分化为破骨细胞的过程中发挥重要作用<sup>[26]</sup>,而OPG通过竞争性结合RANKL来防止骨吸收<sup>[27-28]</sup>。去除卵巢可使大鼠RANKL水平升高,OPG水平下降<sup>[29-30]</sup>。核心结合因子(core binding factor  $\alpha$ 1, CBF $\alpha$ 1)是一种特异性转录因子,参与间充质干细胞分化为成骨细胞过程,也是成骨分化和形成的关键调控因子,对维持骨骼生长、正常生长发育起关键性作用<sup>[31]</sup>。电针三阴交、阳陵泉、阴陵泉、足三里可上调

去势大鼠膝关节软骨下骨的OPG表达,并下调RANKL的表达,从而提升骨体积分数、骨小梁数量、骨小梁厚度,降低骨小梁分离度<sup>[12]</sup>。电针督脉穴(命门、脊中)或电针足太阳膀胱经穴(肾俞、脾俞)均可使去势大鼠循环血液中的OPG表达上升,RANKL的表达下降<sup>[22]</sup>;电针足少阳胆经穴(阳陵泉、环跳、悬钟、京门)明显下调股骨中OPG mRNA和RANKL mRNA含量,提高CBF $\alpha$ 1 mRNA表达,抑制骨吸收,促进骨形成<sup>[16]</sup>。

## 2.2 Wnt/ $\beta$ -catenin信号传导通路

Wnt/ $\beta$ -catenin信号传导在胚胎发育及组织稳态中起至关重要的作用<sup>[32]</sup>,经典Wnt信号通路在骨骼形成中起重要作用<sup>[33]</sup>,非经典Wnt信号通路的作用及其

潜在的骨-肠相互作用也初见端倪<sup>[34]</sup>。低密度脂蛋白相关受体 5 (low-density lipoprotein-related receptor 5, LRP5) 是单跨膜蛋白, 是 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号传导过程中必不可少的共同受体, LRP5 丢失会导致骨细胞功能不良和骨量降低<sup>[35]</sup>, 转录共激活因子  $\beta$ -Catenin 是 Wnt 信号通路最主要调控因子, 在骨形成中发挥关键作用<sup>[36]</sup>。电针督脉穴(命门、脊中)或电针足太阳膀胱经穴(肾俞、脾俞)可使去势大鼠股骨中 LRP5 和  $\beta$ -Catenin 含量升高, 提示针刺可通过 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路调节骨稳态<sup>[22]</sup>。Wnt3a 是 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路起始因子<sup>[37]</sup>, 电针脾俞、肾俞、三阴交、足三里可显著提高股骨、胫骨组织内 Wnt3a mRNA、 $\beta$ -Catenin mRNA 的表达量, 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号调节骨重建从而改善骨密度, 减缓骨力学退变<sup>[110-111]</sup>。

### 2.3 MAPKs 信号传导通路

有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPKs)是一组由多个家族成员组成的高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 在调节多种细胞功能中起重要作用, 包括生长、分化、增殖和凋亡<sup>[38-39]</sup>。其中, JNK<sup>[40]</sup>、ERK<sup>[41]</sup>和 p38<sup>[42]</sup>被认为由 RANKL 刺激激活, 抑制相关激酶活性可减少破骨细胞生成。电针督脉穴(命门、脊中)或电针足太阳膀胱经穴(肾俞、脾俞)可使去势大鼠股骨中的 p38, 磷酸化及总的 JNK, 磷酸化及总的 ERK 表达上调, 提示 MAPKs 通路激活抑制破骨, 维持骨量<sup>[22]</sup>。

### 2.4 调节 RUNX2 表达

Runt 相关转录因子 2 (Runx-related transcription factor 2, RUNX2) 是骨骼发育必不可少的转录因子, 是间充质干细胞分化成骨细胞的关键因素<sup>[43]</sup>, 可通过多种相互作用调控骨特异性基因, 并协同调控蛋白和染色质重构因子。新近研究表明, 去卵巢造成骨组织 RUNX2 启动子高甲基化, 抑制其转录, 从而导致骨质疏松发生<sup>[25]</sup>。电针命门、脊中、肾俞、脾俞可上调 RUNX2 表达<sup>[44]</sup>。电针督脉穴(命门、脊中)、电针足太阳膀胱经穴(肾俞、脾俞)均可使去势大鼠循环及骨组织中的 RUNX2 表达上调<sup>[9, 22]</sup>促进成骨。电针肾俞、足三里可下调去势 SD 大鼠双侧股骨头中 RUNX2 甲基化启动子 CpG1、CpG2、CpG3、CpG4.5 的表达从而促进 RUNX2 的转录, 促进成骨<sup>[7]</sup>。

### 2.5 调节 BMP-2 的表达

骨形态发生蛋白-2 (BMP-2) 是转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 家族成员之一, 可促进多种细胞生长、分化,

抑制细胞凋亡。BMP-2 是生长发育过程中调节成骨的重要生长因子, 对成骨细胞、成骨基因及成骨功能均有调节作用<sup>[45]</sup>。Smad1/5 蛋白是近年发现的新的细胞内信号转导蛋白, 直接参与骨形态发生蛋白等多个成员的信号转导<sup>[46]</sup>。Smad1/5 信号失调抑制了 BMP-2 介导的成骨细胞分化, Smad 蛋白的失活抑制了 BMP-2 介导的软骨的形成, 提示 Smad 蛋白在 BMP-2 诱导软骨骨形成过程中起到重要作用<sup>[47]</sup>。电针命门穴可以调节去势大鼠下丘脑 BMP-2 及其信号转导蛋白 Smad1/5 的表达<sup>[15]</sup>从而促进成骨。

### 2.6 调节组蛋白修饰

组蛋白是存在于所有真核生物核质中的碱性蛋白质, 作为 DNA 缠绕的线轴参与构成染色质, 组蛋白乙酰化是重要的表观遗传表现形式。通过组蛋白乙酰化可以释放染色质结构, 允许转录因子和 RNA 聚合酶 III 进入 DNA, 促进转录<sup>[48]</sup>, 在不改变 DNA 结构的情况下调控基因的表达。组蛋白脱乙酰酶 2 (histone deacetylases 2, HDAC2) 广泛表达于骨组织中, 可通过调控主转录因子 RUNX2 来调节骨形成; 不仅如此, HDAC2 还可通过激活 Akt 从而抑制叉头盒转录因子 O1 (Forkhead box transcription factor O1, FOXO1) 转录, 诱导 RANKL 源性的破骨细胞形成<sup>[49]</sup>。电针肾俞、脾俞可抑制股骨组织中 HDAC2 的活性, 并增加组蛋白 H3 乙酰化, 上调 RUNX2 的表达<sup>[9, 21]</sup>, 降低 RANKL 表达从而抑制骨吸收, 促进骨形成<sup>[21]</sup>。

### 2.7 调节雌激素水平

雌激素对维持骨形成至关重要, 绝经后雌激素水平下降, 对破骨细胞的抑制作用减弱, 破骨细胞形成增多, 活性增强, 骨形成受到抑制, 导致骨吸收功能增强<sup>[50]</sup>。因此, 雌激素被认为是最强大而持久的骨保护措施<sup>[51]</sup>。电针肾俞、脾俞、足三里、大椎可显著上调去势大鼠循环中雌激素的含量<sup>[9]</sup>; 肾俞的普通针刺也可以上调去势大鼠循环中雌激素含量, 从而提升骨矿含量和骨密度<sup>[20]</sup>。

### 2.8 调节胰岛功能

高血糖会导致渗透性利尿, 钙、磷、镁的排泄增加。高血糖及肾血流动力学的改变会抑制肾小管对钙、磷、镁的重吸收, 而低血钙、低血镁刺激甲状旁腺激素分泌, 溶骨作用增强, 骨质脱钙, 骨密度下降<sup>[52, 53]</sup>。胰岛素分泌不足可多种途径影响骨代谢<sup>[54]</sup>。血清胰岛素分泌不足, 引起糖、蛋白质、脂肪三大营养物质代谢

障碍,导致骨胶原合成减少,骨基质消耗增多,骨矿物质因骨基质形成不足无处沉着<sup>[55]</sup>。向动物体内注射胰岛素能增加成骨细胞数量,促进骨量恢复<sup>[56]</sup>。胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)是长骨生长必需因子<sup>[57]</sup>,作用于骨原细胞,促进成骨细胞分化,增加骨细胞的数目,同时IGF-1可抑制骨胶原降解而调节骨吸收,维持骨量平衡<sup>[58]</sup>。针刺夹脊穴可明显降低糖尿病性骨质疏松动物模型的血糖水平,增加血清中INS、IGF-1和钙离子水平,改善骨质疏松<sup>[19]</sup>。

## 2.9 影响瘦素分泌

瘦素(leptin, LP)是由肥胖基因编码的具有内分泌作用的肽类激素,主要由外周白色脂肪组织产生,也可从骨髓中的脂肪组织产生。LP是调节体重与进食的重要激素<sup>[59]</sup>,最新研究发现其具有骨代谢调节作用<sup>[60]</sup>。随着同位素示踪等技术的发展,目前倾向于认为LP是一种中枢性抗骨形成因子,作用靶点位于丘脑内侧基底部<sup>[61]</sup>。雌二醇可促进女性LP的分泌与释放<sup>[62]</sup>。瘦素受体(leptin receptor, OB-R)是单跨膜蛋白,与白介素-6受体,粒细胞集落刺激因子受体和白血病抑制因子受体的gp130信号转导通路最相关,也在下丘脑中表达<sup>[60]</sup>。电针肾俞、足三里、关元、三阴交能明显下调去势大鼠下丘脑中LP及OB-R的含量而降低去卵巢大鼠骨量的丢失,提示电针可能通过降低LP对骨形成的中枢抑制作用来防治骨质疏松<sup>[13, 14]</sup>。

## 2.10 调节钙吸收

钙离子的吸收形式包括经肠道细胞吸收途径和细胞旁途径<sup>[63]</sup>。瞬时感受器电位香草酸受体5(transient receptor potential cation channel subfamily V member 5, TRPV5)是小肠内钙离子吸收和转运过程的关键受体,在细胞内途径中,TRPV5在钙吸收过程中起关键作用<sup>[64-65]</sup>。在细胞旁途径中,钙离子可从肠上皮细胞间主要由紧密连接蛋白-1(zonula occludens 1, ZO-1)、occludin、claudin等蛋白构成的紧密连接中扩散出去,进入细胞外间隙<sup>[66]</sup>。细胞膜钙离子三磷酸腺苷水解酶(plasma membrane calcium adenosine triphosphate hydrolase, PMCA)是细胞质膜中的一类转运蛋白,主要功能是从细胞中转运钙,其对于调节所有真核细胞内的钙离子含量、维持正常生理功能至关重要<sup>[63-65]</sup>。电针关元、三阴交、肾俞、足三里可上调去势大鼠肠粘膜中TRPV5、PMCA1b、ZO-1、occludin mRNA和蛋白的表达,改善骨代谢,提高骨密度<sup>[8]</sup>。

## 3 讨论

### 3.1 近5年针刺防治骨质疏松症的选穴规律

本文梳理近5年针刺防治OP动物实验中选穴部位集中在躯干和下肢。被高频选用的是归属于足太阳膀胱经的肾俞、脾俞和归属足少阳胆经的足三里,均为补肾健脾要穴,与临床报道的治疗OP常用选穴相一致<sup>[57]</sup>。中医理论认为OP属“骨痿”范畴,《素问·痿论》指出“肾者水脏也,今水不胜火,则骨枯而髓虚,故足不任身,发为骨痿”,阐明了OP以肾虚为本的基本病机。脾主四肢,《脾胃论·脾胃胜衰论》指出“脾病则下流乘肾,土克水,则骨乏无力,是为骨蚀,令人骨髓空虚,足不能履地”。脾肾亏虚导致“骨肉不相亲”是OP的重要中医病机。

此外,有研究<sup>[22]</sup>发现分别针刺督脉和足太阳膀胱经穴位对治疗OP均有疗效,且两组之间并无显著差别,提示针刺可能存在多方位、多环节、多途径、多靶点作用,也提示针刺治疗OP的生物学基础并非只是机体某一方面或是某一生物功能的变化,而是整体生理病理变化的综合,单独研究某一方面可能无法触及针刺干预OP的全面。

### 3.2 近5年针刺防治骨质疏松的动物模型

OP分为原发性和继发性,尽可能建立更接近人体骨质疏松病理生理状态的OP动物模型是开展动物实验的关键。继发性OP可以根据不同病因,选择相应造模方式,如链脲佐菌素腹腔注射结合高脂高糖饮食制造糖尿病合并骨质疏松模型,下肢悬吊制造废用性骨质疏松模型都属于成功的继发性OP模型。原发性OP是临床最常见的OP类型,分为I型(绝经后)和II型(老年性),在本次研究中有11项研究选用3-6个月大鼠的卵巢去势模型模拟绝经后OP;仅1项研究选用12月龄老化动物联合卵巢去势模型模拟老年性OP。中国已全面进入老龄化时代,且老年性OP患病危害更大、后果更严重,宜开展更多针刺干预老年性OP的相关研究。一般认为12-18月龄大鼠为老龄大鼠,但因购买困难,往往需要长时间自行饲养,且1岁龄后大鼠自发肿瘤率持续增高,增加了对研究结果的干扰。因此,选用快速老龄化的转基因动物模型可能更适用于评估针刺治疗老年型OP的治疗效果。

此外,可能基于中医“治未病”的思想,近5年针刺干预OP的动物实验文献中多数研究选择在造模后数日内(1-14天)即进行干预;仅有4项研究选择OP成模后

进行干预,且不同文献的造模后干预时机有所不同。目前缺乏最佳干预时机的研究,需要进一步评估针刺干预OP机制更多在于预防或更多在于治疗或二者皆有。

### 3.3 针刺防治骨质疏松模型生物学机制展望

骨重建失衡是OP发病核心,稳态骨改造需要多种细胞信号转导途径的生物信号协调整合,针刺能够影响多种涉及成骨与破骨的关键信号通路<sup>[6,33]</sup>。近5年针刺干预骨质疏松作用机制研究仍围绕影响骨形成与骨吸收的关键分子、信号通路以及性激素调节展开。在针刺影响表观遗传、抑制中枢抗骨形成、调节肠道钙质吸收进而影响骨代谢方面有新发现。表观遗传是在没有细胞核DNA序列改变的情况下,基因的功能发生可逆、可遗传的改变,近5年针刺治疗OP的动物研究中,借助表观遗传学方法和技术,深入揭示了针刺可以影响成骨关键转录因子RUNX2的DNA甲基化<sup>[7]</sup>和组蛋白乙酰化<sup>[9,21]</sup>从而防治OP的生物学机制。骨组织是神经系统重要的靶器官,针刺治疗可影响中枢神经系统释放的瘦素作用于特定的信号通路,调节人体的成骨细胞和破骨细胞的动态变化<sup>[67]</sup>。但目前这些研究的证据链尚不够完整,如能加入特异性靶点抑制剂或激动剂进行反向验证,其结果会更具说服力。

近年来受血清药理学启发,有学者提出针刺血清学的全新研究思路和方法,发现电针三阴交、足三里、脾俞、肾俞的大鼠血清可以在体外有效提高成骨细胞内OPG的表达、降低RANKL蛋白的表达<sup>[68]</sup>,与动物实验结果一致,如能打破针刺的体外实验方法学壁垒,更有助于在分子层面进行更深入研究。此外,现代研究认为OP与肌少症常相伴而行,随年龄增长,肌肉逐渐减少,但肌肉量每增加一个标准差,OP发生率便下降约30%<sup>[69-70]</sup>。有文献报道<sup>[71]</sup>针刺可以提高肌球蛋白重链水平,改善糖尿病大鼠腓肠肌的萎缩,提示针刺可以通过抑制骨骼肌降解从而达到防治骨质疏松的目的,从肌肉角度探讨肌骨关系进而研究针刺干预骨质疏松机制值得关注。

总之,近5年针刺调控骨代谢相关基因的表观遗传,针刺的中枢调控作用以及针刺调节肠道物质吸收的新机制探索拓宽了OP治疗的研究视野,为针刺治疗OP的有效性提供了新证据。但还需进一步提升实验设计,同时增加针刺治疗老年性OP的实验研究,重点关注针刺与骨骼、肌肉的相互关系。此外,为进一步探究针刺影响效应的微观世界,还可考虑运用针刺血清学的理念与实践,以期在本研究领域继续取得进展。

## 参考文献

- 夏维波,章振林,林华,等.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017).中国骨质疏松杂志,2019,25(3):281-309.
- 中国健康促进基金会骨质疏松防治中国白皮书编委会.骨质疏松症中国白皮书.中华健康管理学杂志,2009,3(3):148-154.
- Pan H, Jin R, Li M, et al. The effectiveness of acupuncture for osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Am J Chin Med*, 2018, 46(3):489-513.
- Xu G, Xiao Q, Zhou J, et al. Acupuncture and moxibustion for primary osteoporosis: An overview of systematic review. *Medicine*, 2020, 99(9): e19334.
- 赵英侠,余安胜,邵水金,等.针刺对切除卵巢的大鼠骨松质结构的影响.中医正骨,2000(8):3-4,63.
- 乔思雨,赵英侠.针灸治疗绝经后骨质疏松症的实验研究进展.中国骨质疏松杂志,2015,21(10):1258-1262.
- 陈赵,莫雨晴,唐宏宇.电针干预去卵巢骨质疏松模型大鼠骨组织Runx2启动子甲基化水平的变化.中国组织工程研究,2021,25(29):4644-4649.
- 张楚穹,石娜,欧阳钢.针刺对去卵巢大鼠骨密度及肠黏膜跨膜钙转运相关受体表达的影响.针刺研究,2020,45(9):702-707.
- 邵雨薇,舒晴,刘若兰,等.基于组蛋白去乙酰化酶2介导的成骨细胞分化通路探讨电针治疗骨质疏松症的效应机制.针刺研究,2020,45(6):438-445.
- 王亚军,张来举,浪万英,等.电针对去卵巢大鼠Wnt3a和 $\beta$ -catenin的基因及蛋白表达的影响.中国骨质疏松杂志,2019,25(1):6-11.
- 王亚军,张来举,宋凯,等.电针对去卵巢大鼠骨密度及生物力学的影响.中国骨质疏松杂志,2018,24(5):577-581.
- 孙光华,廖瑛,廖源,等.电针对去卵巢大鼠关节软骨退变及软骨下骨骨质疏松的影响.针刺研究,2018,43(12):781-787.
- 谢菊英,薛智慧,龙抗胜,等.电针对去势大鼠骨密度及外周血清瘦素及其受体的影响.时珍国医国药,2016,27(10):2552-2554.
- 肖丽,龙抗胜,薛智慧,等.电针对去势大鼠骨密度及下丘脑中瘦素与瘦素受体的影响.时珍国医国药,2016,27(8):2031-2033.
- 秦玮,纪峰,林莺,等.电针命门穴对去卵巢骨质疏松大鼠下丘脑骨形成蛋白BMP-2及其信号转导蛋白Smad1/5表达的影响.时珍国医国药,2016,27(6):1530-1532.
- 潘小燕,王鸿度,岳荣超,等.电针足少阳经穴对去卵巢大鼠骨质疏松症骨组织OPG、RANKL及CBF $\alpha$ 1 mRNA表达的影响.中华中医药杂志,2017,32(11):5132-5134.
- 陈玉敏,陈涛平,韩翠玉,等.针刺对人羊膜间充质细胞移植治疗去卵巢大鼠骨质疏松的协同效应.中国比较医学杂志,2016,26(10):43-49.
- 罗成斌,蒋春彦,朱珠,等.针刺对实验性骨质疏松大鼠股骨骨折的

- 预防作用. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(1):102-106.
- 19 程斌, 张莉莉, 张昕, 等. 针刺夹脊穴对糖尿病大鼠骨质疏松的作用. 中华中医药学刊, 2016, 34(9):2101-2103.
  - 20 Atsushi T, Atsushi T, Shigeru U, *et al.* Effect of acupuncture at acupoint of Shenshu (BL 23) on the bones of ovariectomized rats. *J Tradit Chin Med*, 2018, 38(1):54-60.
  - 21 Shu Q, Shao Y, Liu R, *et al.* Mechanisms by which electroacupuncture-mediated histone acetylation mitigates bone loss in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. *Mol Med Rep*, 2020, 22(4):3453-3463.
  - 22 Zheng X, Nie Y, Sun C, *et al.* Long-term electroacupuncture stimulation prevents osteoporosis in ovariectomised osteopaenic rats through multiple signalling pathways. *Acupunct Med*, 2018, 36(3):176-182.
  - 23 Wang H, Wang D, Li Z, *et al.* Electroacupuncture stimulation at BL20, BL23 and SP6 prevents hind limb unloading-induced osteoporosis in rats. *Acupunct Med*, 2021, 39(6):656-662.
  - 24 Boyce B F, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473(2):139-146.
  - 25 王剑, 李屹, 王实, 等. 基于骨组织 Runx2、Osterix 启动子甲基化探究鹿茸中药复方对去卵巢骨质疏松症大鼠的疗效机制. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(5):1744-1749.
  - 26 Ono T, Nakashima T. Recent advances in osteoclast biology. *Histochem Cell Biol*, 2018, 149(4):325-341.
  - 27 Burgess T L, Qian Y, Faukufman S, *et al.* The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol*, 1999, 145(3):527-538.
  - 28 Lacey D L, Timms E, Fau-Tan H, *et al.* Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, 1998, 93(2):165-176.
  - 29 Wang F S, Ko J Y, Lin C L, *et al.* Knocking down dickkopf-1 alleviates estrogen deficiency induction of bone loss. A histomorphological study in ovariectomized rats. *Bone*, 2007, 40(2):485-492.
  - 30 Zhou J, Chen S, Guo H, *et al.* Pulsed electromagnetic field stimulates osteoprotegerin and reduces RANKL expression in ovariectomized rats. *Rheumatol Int*, 2013, 33(5):1135-1141.
  - 31 Komori T, Yagi H, Nomura S, *et al.* Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*, 1997, 89(5):755-764.
  - 32 Kim W, Kim M, Jho E H. Wnt/ $\beta$ -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus. *Biochem J*, 2013, 450(1):9-21.
  - 33 Rodda S J, McMahon A P. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. *Development (Cambridge, England)*, 2006, 133(16):3231-3244.
  - 34 Milat F, Ng K W. Is Wnt signalling the final common pathway leading to bone formation?. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 310(1-2):52-62.
  - 35 Williams B O. LRP5: From bedside to bench to bone. *Bone*, 2017, 102:26-30.
  - 36 Macdonald B T, Tamai K, He X. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*, 2009, 17(1):9-26.
  - 37 Van Amerongen R, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development (Cambridge, England)*, 2009, 136(19):3205-3214.
  - 38 Roux P P, Blenis J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68(2):320-344.
  - 39 Cargnello M, Roux P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75(1):50-83.
  - 40 Ikeda F, Nishimura R, Matsubara T, *et al.* Critical roles of c-Jun signaling in regulation of NFAT family and RANKL-regulated osteoclast differentiation. *J Clin Invest*, 2004, 114(4):475-484.
  - 41 Monje P, Hern N L J, Lyons R J, *et al.* Regulation of the transcriptional activity of c-Fos by ERK. A novel role for the prolyl isomerase PIN1. *J Biol Chem*, 2005, 280(42):35081-35084.
  - 42 Matsumoto M, Sudo T, Saito T, *et al.* Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway in osteoclastogenesis mediated by receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL). *J Biol Chem*, 2000, 275(40):31155-31161.
  - 43 Komori T. Molecular mechanism of runx2-dependent bone development. *Mol Cells*, 2020, 43(2):168-175.
  - 44 Zheng X, Wu G, Nie Y, *et al.* Electroacupuncture at the governor vessel and bladder meridian acupoints improves postmenopausal osteoporosis through osteoprotegerin/RANKL/RANK and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways. *Exp Ther Med*, 2015, 10(2):541-548.
  - 45 杨洁, 李玉坤. 骨形态发生蛋白与骨代谢. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2013, 6(1):89-94.
  - 46 Nakao A, Imamura T, Souchelnytskyi S, *et al.* TGF- $\beta$  receptor-mediated signalling through Smad2, Smad3 and Smad4. *EMBO J*, 1997, 16(17):5353-5362.
  - 47 Ebara S, Nakayama K. Mechanism for the action of bone morphogenetic proteins and regulation of their activity. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002, 27(16 Suppl 1):S10-15.
  - 48 Gr F F J, Tsai L H. Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(2):97-111.
  - 49 Orimo H, Shiraki M, Inoue S. Estrogen and bone. *Osteoporosis Int*, 1993, 3 Suppl 1:153-156.
  - 50 Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporosis Int*, 2005, 16 Suppl 2: S3-7.
  - 51 朱翔, 章秋. 糖尿病性骨质疏松及其影响因素. 实用糖尿病杂志, 2006(4):6-8.
  - 52 Yaturu S. Diabetes and skeletal health. *J Diabetes*, 2009, 1(4):246-54.
  - 53 张菱, 文世林, 梁秋蓉. 糖尿病人胰岛素分泌功能差异对骨代谢的影响. 中国骨质疏松杂志, 2000(4):38-41.
  - 54 郭常辉, 张万钟, 沈鼎明, 等. 糖尿病性骨量减少及其影响因素探讨. 中国骨质疏松杂志, 1996(1):6-8, 34.
  - 55 Paschou S A, Vryonidou A. Diabetes mellitus and osteoporosis. *Minerva Endocrinol*, 2019, 44(4):333-335.
  - 56 王珊玺, 谢菊英, 谢玉英, 等. 针灸治疗原发性骨质疏松症腧穴选取的研究. 中医研究, 2017, 30(3):57-58.
  - 57 Napoli N, Chandran M, Pierroz D D, *et al.* Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(4):208-219.
  - 58 Considine R V, Sinha M K, Heimann M L, *et al.* Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J*

- Med*, 1996, 334(5):292-295.
- 59 Whipple T, Sharkey N, Demers L, *et al.* Leptin and the skeleton. *Clin Endocrinol*, 2002, 57(6):701-711.
  - 60 Whitfield J F. Leptin: brains and bones. *Expert opinion on investigational drugs*, 2001, 10(9):1617-1622.
  - 61 Eleftheriou F, Ahn J D, Takeda S, *et al.* Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature*, 2005, 434(7032):514-520.
  - 62 Perez A V, Picotto G, Carpentieri A R, *et al.* Minireview on regulation of intestinal calcium absorption. Emphasis on molecular mechanisms of transcellular pathway. *Digestion*, 2008, 77(1):22-34.
  - 63 Peng J B, Suzuki Y, Gyimesi G, *et al.* TRPV5 and TRPV6 calcium-selective channels. calcium entry channels in non-excitable cells. *Boca Raton (FL)*, 2018, :241-274.
  - 64 Song T, Lin T, Ma J, *et al.* Regulation of TRPV5 transcription and expression by E2/ER $\alpha$  signalling contributes to inhibition of osteoclastogenesis. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(10):4738-4750.
  - 65 Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, *et al.* Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca<sup>2+</sup> absorption between enterocytes. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(5):1912-1921.
  - 66 龙域丰, 朱古力, 易伟宏, 等. 神经肽类物质在骨代谢与骨再生中的调控作用. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(11):2131-2136.
  - 67 浪万英, 王亚军, 宋亚文, 等. 电针对去卵巢大鼠骨形成及骨吸收活性的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(5):585-590.
  - 68 郭郡浩, 姚茹冰, 赵智明, 等. 全身骨密度与肌肉、脂肪的相关性分析. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(9):1061-1064.
  - 69 毛小明. 绝经妇女骨密度、肌肉脂肪含量与骨质疏松的关系. *齐齐哈尔医学院学报*, 2017, 38(20):2436-2438.
  - 70 陈晓琳, 吴宗辉, 范蕊, 等. 电针对糖尿病大鼠腓肠肌中肌球蛋白重链降解的影响. *针刺研究*, 2019, 44(9):653-658.

## Research Progress in Animal Experimental Studies on the Mechanism of Acupuncture for Osteoporosis

Zhu Chan<sup>1,2</sup>, Zhang Qiang<sup>3</sup>, Han Xuke<sup>1,2</sup>, Yao Chengjiao<sup>1,2</sup>, Chen Qiu<sup>1,2</sup>

(1. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China ;

2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611130, China ; 3. Sichuan Provincial

Orthopedic Hospital, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Objective To review the therapeutic mechanism of acupuncture for osteoporosis on animal models. Methods Databases including PubMed, EMBASE, Cochrane Library, Chinese Biomedical database (CBM), Chinese National Knowledge Infrastructure (CNKI), Chinese Science and Technology Periodical database (VIP) and WanFang database were searched to collect experimental studies on acupuncture for osteoporosis from Jan. 1st, 2016 to Apr. 11th, 2021. Results According to 15 selected experimental studies, we found that the mechanism of acupuncture for osteoporosis including modulating bone metabolism related signaling transductions through OPG/RANK/RANKL, Wnt/ $\beta$ -catenin and MAPKs pathways, promoting the absorption of intestinal calcium, enhancing the expression of osteoblast related protein BMP-2 and RUNX2, increasing the secretion of estrogen, suppressing the release of leptin, regulating the function of islet and gene modification. Conclusion In recent 5 years, the studies on the mechanism of acupuncture in the treatment of osteoporosis has been more prosperous, especially in the aspects of affecting epigenetics, central regulation and regulating intestinal material absorption, which updates the insights for the effectiveness of acupuncture on the treatment for osteoporosis.

**Keywords:** Acupuncture, Osteoporosis, Mechanism, Animal model, Review

(责任编辑: 周阿剑、李青, 责任译审: 周阿剑, 审稿人: 王瑀、张志华)