

三黄糖肾康对 2 型糖尿病大鼠骨组织肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6 表达的影响

王冠,王静怡,奚悦[△]

摘要:目的 观察三黄糖肾康颗粒对 2 型糖尿病大鼠骨组织肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6 表达的影响。**方法** 取雌性 Wistar 大鼠,正常对照组 10 只,制作骨质疏松模型 10 只和糖尿病模型 50 只。糖尿病模型大鼠进一步分成模型对照组,中药预防、高、低剂量组和钙尔奇碳酸钙 D3(西药)组,每组 10 只。7 组分别给予相应干预,喂养 20 周后取材,全自动生化仪检测空腹血糖(FBG);酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 TNF- α 和 IL-6 水平;双能 X 线骨密度仪(DXA)检测骨密度,实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测骨组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测骨组织 TNF- α 和 IL-6 蛋白水平。**结果** 与骨质疏松模型组比较,中药预防、高、低剂量组及西药组骨密度升高,血清 TNF- α 、IL-6 下降,骨组织 IL-6 mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$),中药预防、高剂量组和西药组骨组织 TNF- α mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$)。与糖尿病模型对照组比较,中药预防、高、低剂量组及西药组 FBG、血清 TNF- α 、IL-6 均明显下降($P < 0.05$),中药预防组、中药高剂量组和西药组骨组织 TNF- α mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$),中药预防、低剂量和西药组骨组织 IL-6 mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$)。**结论** 糖尿病大鼠血清和骨组织 TNF- α 、IL-6 表达增高,三黄糖肾康颗粒能够改善糖尿病大鼠的炎症状况。

关键词:糖尿病,2 型;肿瘤坏死因子 α ;白细胞介素 6;骨和骨组织;骨折;大鼠,Wistar;疾病模型,动物;三黄糖肾康
中图分类号:R587.1 **文献标志码:**A **DOI:**10.11958/j.issn.0253-9896.2015.11.019

Effects of Sanhuangtangshenkang particles on expressions of TNF- α and IL-6 in bone tissue of T2DM rats

WANG Guan, WANG Jingyi, XI Yue[△]

The Third Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, China

[△] Corresponding Author E-mail:xiyue-ln@163.com

Abstract: Objective To observe the effects of Sanhuangtangshenkang particles on the expression levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-6 in bone tissue of type 2 diabetic (T2DM) rat model. **Methods** There were seven groups of rats in this study. Ten female Wistar rats were used as control. Ten rats were established for osteoporosis model, and fifty rats were established for diabetic model. Fifty diabetic model rats were further divided into model control group, traditional Chinese medicine (TCM) prevention group (high-dose TCM group, low-dose TCM group) and Western medicine group, with 10 rats for each group. All rats were given the corresponding intervention for 20 weeks. Automatic biochemistry analyzer was used to determine fasting blood glucose (FBG). ELISA was used to detect serum TNF- α and IL-6. Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) was used to assess bone density. Real-time PCR was used to appraise the mRNA of TNF- α and IL-6 in bone tissue. Western blot assay was used to measure protein expressions of TNF- α and IL-6 in bone tissue. **Results** Compared with osteoporosis model group, bone density was significantly increased, serum levels of TNF- α and IL-6, the mRNA and protein expression level of IL-6 were significantly decreased in bone tissue of TCM groups and Western medicine group ($P < 0.05$). The expression levels of TNF- α mRNA and protein were significantly decreased in bone tissue of high-dose TCM prevention group and Western medicine group ($P < 0.05$). Compared with the diabetic model group, the serum levels of FBG, TNF- α and IL-6 were significantly decreased in TCM groups and Western medicine group ($P < 0.05$). The expression levels of TNF- α mRNA and protein were significantly decreased in high-dose TCM prevention group and Western medicine group ($P < 0.05$). The mRNA and protein expression levels of IL-6 were significantly decreased in low-dose TCM prevention group and Western medicine group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of TNF- α and IL-6 are increased in serum and bone tissue of diabetic rats. Sanhuangtangshenkang particles can improve the inflammatory

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(201202147);锦州市科学技术计划项目(11B2E03)

作者单位:辽宁省锦州市,辽宁医学院附属第三医院内分泌与代谢病科(邮编 121000)

作者简介:王冠(1987),男,医学学士,主要从事糖尿病并发症的研究

[△]通讯作者 E-mail:xiyue-ln@163.com

state to play prevention and therapeutic effect on diabetic rats.

Key words: diabetes mellitus, type 2; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6; bone and bones; osteoporosis; rats, Wistar; disease models, animal; Sanhuangtangshenkang particles

糖尿病是一种慢性低度炎症性疾病,患病过程会有持续的低度炎症反应^[1]。肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白细胞介素(IL)-6 伴随糖尿病病情的发展,可诱发胰岛素抵抗^[2],也参与骨质疏松的发病进程^[3]。糖尿病性骨质疏松是一种常见且严重的慢性并发症,临床缺乏有效治疗药物。三黄糖肾康是由多味中药组成的验方,前期研究证明其可有效防治糖尿病肾病^[4],而其对糖尿病性骨质疏松的作用尚少见相关报道。本研究旨在观察三黄糖肾康对 2 型糖尿病大鼠骨组织 TNF- α 和 IL-6 表达的影响。

1 资料与方法

1.1 实验动物 3 月龄 SPF 级雌性 Wistar 大鼠 90 只购于辽宁长生生物技术有限公司,体质量(280 $\pm$ 20)g(动物合格证号:SCDK2010-0001)。自由进食饮水,室温 21~24℃。

1.2 主要药品及试剂 三黄糖肾康方剂为:黄精 40 g、黄芪 40 g、黄连 6 g、虎杖 30 g、泽兰 20 g、水蛭粉 6 g。常规水冲煮,以上为成人 1 日服用量。免煎颗粒为江阴制药厂生产。钙尔奇碳酸钙 D3 片(惠氏制药有限公司,产品编号:C1320203236),普通饲料、高脂饲料(沈阳市前民饲料加工厂),链脲佐菌素(STZ, Sigma 公司),血清 TNF- α 和 IL-6 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海江莱生物科技有限公司),Trizol(Invitrogen 公司),RT-PCR 试剂盒、DNA marker。

1.3 方法

1.3.1 造模 90 只 Wistar 大鼠随机数字表法分为正常对照组 10 只,骨质疏松造模组 15 只,糖尿病造模组 65 只。骨质疏松造模组于正常饲料喂养 1 周时行双侧卵巢切除术,5 周时处死 3 只取股骨测骨密度,组织学观察骨组织微观结构,可见股骨上段、中段、下段骨密度明显降低;骨组织形态学改变:骨小梁稀疏,细小,厚度变薄,排列紊乱,体积明显减少,提示骨质疏松模型成功。糖尿病造模组于高糖高脂饲料喂养 5 周时,按 35 mg/kg 一次性尾静脉注射溶于枸橼酸盐缓冲液(pH 4.2)的 STZ,3 d 后取尾血测空腹血糖(FBG) $\geq$ 16.7 mmol/L 为糖尿病大鼠造模成功,未成模及死亡大鼠淘汰出组 9 只。

1.3.2 分组 造模成功后,12 只骨质疏松模型大鼠中随机抽取 10 只入骨质疏松模型组,56 只糖尿病模型大鼠中随机抽取 50 只,分为糖尿病模型对照组、中药预防组、中药高剂量组、中药低剂量组及西药组,每组各 10 只。正常对照组、骨质疏松模型组和糖尿病模型对照组均于造模成功 2 周始给予 1 mL $\cdot$ 100 g⁻¹ $\cdot$ d⁻¹蒸馏水灌胃,连续给药 18 周。三黄糖肾康颗粒溶于蒸馏水制成浓度为 3.84 g/mL 的药液,中药预防组自糖尿病造模成功之日起连续以 3.84 g $\cdot$ mL⁻¹ $\cdot$ 100 g⁻¹ $\cdot$ d⁻¹灌胃给药 20 周。中药高剂量组和低剂量组均于造模成功 2

周开始,以三黄糖肾康颗粒浓度 3.84 g/mL 和 1.28 g/mL 连续以 3.84 和 1.28 g $\cdot$ mL⁻¹ $\cdot$ 100 g⁻¹ $\cdot$ d⁻¹灌胃给药 18 周。西药组以钙尔奇碳酸钙 D3 片溶于蒸馏水制成的 0.18 g/L 的药液,以 0.18 g⁻¹ $\cdot$ L⁻¹ $\cdot$ 200 g⁻¹ $\cdot$ d⁻¹连续灌胃给药 18 周。

1.4 指标检测 第 20 周,禁食 12 h 后处死各组大鼠。1%氯胺酮麻醉后,心尖取血约 5 mL,离心取上层血清,-20℃保存。完整离断腰椎(L3~L6)、左侧股骨,仔细剥离软组织,生理盐水浸湿的纱布包裹,-20℃保存。右侧胫骨近端置于 70%乙醇溶液中,4℃保存。(1)比较各组血糖、骨密度和血清 TNF- α 、IL-6 水平。全自动生化仪检测 FBG,酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测血清 TNF- α 和 IL-6。双能 X 线骨密度仪(DXA)测定骨密度。(2)比较各组骨组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 及蛋白的表达水平。RT-PCR 法测定骨组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 表达。各组大鼠骨组织以 Trizol 法提取总 RNA,反转录成 cDNA,PCR 扩增,目的基因及引物序列,见表 1。总反应体系 50 μ L:2 $\times$ SuperMix II 25 μ L,上下游引物 10 μ mol/L 各 1 μ L, cDNA 2 μ L,焦磷酸二乙酯(DEPC)水 21 μ L。TNF- α 反应条件:94℃预变性 5 min,94℃30 s,55℃30 s,72℃30 s,30 个循环;终末延伸 72℃10 min。IL-6 反应条件:94℃预变性 5 min,94℃30 s,55℃30 s,72℃40 s,35 个循环;终末延伸 72℃10 min。 β -actin:94℃预变性 5 min,94℃30 s,60℃30 s,72℃40 s,40 个循环;终末延伸 72℃10 min。PCR 产物行琼脂糖凝胶电泳,紫外透射仪下观察拍照,各组扩增靶基因产物与相应内参 β -actin 条带的光密度积分值的比值即 mRNA 的表达水平。骨组织 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达采用 Western Blot 检测,各组蛋白条带的灰度值与相应内参 β -actin 条带灰度值的比值即为蛋白相对表达量。

Tab. 1 The target gene and primer sequences

表 1 目的基因及引物序列

基因	引物序列(5'→3')	扩增产物长度
TNF- α	上游:TCTCAAACTCGAGTGACAAG	446 bp
	下游:AGTTGGTTGTCTTTGAGATCC	
IL-6	上游:GACTGATGTTGTTGACAGCCACTGC	509 bp
	下游:TAGCCACTCCTTCTGTGACTCTAACT	
β -actin	上游:CCAAGGCCAACCGCGAGAAGATGAC	577 bp
	下游:AGGGTACATGTTGTTGGCGCCAGAC	

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间均数比较用方差分析,组间多重比较用 LSD- t 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 FBG、骨密度和血清 TNF- α 、IL-6 的比较 与正常对照组比较,骨质疏松模型组骨密度下

降, TNF- α 、IL-6 升高(均 $P < 0.05$); 糖尿病模型对照组 FBG、血清 TNF- α 、IL-6 升高, 骨密度下降(均 $P < 0.05$)。药物干预后, 与糖尿病模型对照组比较, 中药低剂量组骨密度升高, 中药各治疗组与西药组 FBG、TNF- α 和 IL-6 水平降低, 且中药预防组血清 TNF- α 和 IL-6 水平低于西药组(均 $P < 0.05$), 见表 2。

2.2 各组大鼠骨组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 及蛋白的表达水平比较 与正常对照组比较, 骨质疏松模型组和糖尿病模型对照组 TNF- α mRNA、IL-6 mRNA 及蛋白表达增高($P < 0.05$)。药物干预后, 与骨质疏松模型组和糖尿病模型对照组比较, 中药预防组、中药高剂量组和西药组骨组织 TNF- α mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$); 与糖尿病模型对照组比较, 中药预防组、中药低剂量组和西药组 IL-6 mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

糖尿病的炎症学说是近年来有关 2 型糖尿病发病机制的新观念, 该学说认为糖尿病可能是免疫功能异常和相关细胞因子所致的炎症反应^[5-7]。Mirza 等^[8]的一项横断面研究表明, 糖尿病患者血清 TNF- α 、IL-6 较正常者均升高。国内一项 Meta 分析显示, 血清 IL-6 增高与糖尿病发生发展密切相关, 证

实糖尿病是一种慢性炎症^[9]。一般情况下, 在骨质疏松发病过程中, 体内炎症因子水平均异常增高, 尤以血清 TNF- α 、IL-6 增高最常见。本研究显示, 与正常对照组比较, 骨质疏松模型组和糖尿病模型对照组骨密度下降, 同时血清 TNF- α 、IL-6 升高, 与以上研究结果一致, 表明血清 TNF- α 、IL-6 可能与骨密度有关, TNF- α 、IL-6 增高可能引起糖尿病并发骨质疏松。TNF- α 可刺激基质细胞分泌核因子 κ B 配体受体激活剂(RANKL)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF), 进而促进破骨细胞分化, 增强成熟破骨细胞活性, 使骨吸收增强, 并刺激 IL-6、基质金属蛋白酶-1 和 2 的产生, 抑制骨形成^[10]。研究显示, IL-6 刺激破骨前体细胞分裂增殖, 形成骨吸收陷窝, 增加胶原酶释放, 进而加强骨基质降解, IL-6 又可调节 TNF- α 对破骨细胞的影响, 介导 TNF- α 激活的下丘脑肾上腺轴引起的糖皮质激素的释放, 而糖皮质激素也可引起骨丢失^[11]。TNF- α 的过度分泌又诱导胰岛素抵抗, 直接或间接影响胰岛素信号传导通路^[12]。因此, TNF- α 和 IL-6 通过多途径多环节参与糖尿病性骨质疏松的发生发展。

临床上治疗骨质疏松症的西药包括钙剂、雌激素及双磷酸盐等, 但价格昂贵, 长期使用不良反应大。常用中药有淫羊藿、强骨康疏胶囊等, 但多针对

Tab. 2 Comparison of rat blood glucose, bone density and serum TNF- α and IL-6 between different groups

表 2 各组大鼠 FBG、骨密度和血清 TNF- α 、IL-6 比较

($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	FBG (mmol/L)	骨密度 (g/cm ²)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
正常对照组	6.75 $\pm$ 0.97	0.217 $\pm$ 0.010	26.277 $\pm$ 2.527	9.196 $\pm$ 0.977
骨质疏松模型组	7.06 $\pm$ 1.19	0.180 $\pm$ 0.012 ^a	78.506 $\pm$ 7.697 ^a	23.050 $\pm$ 2.084 ^a
糖尿病模型对照组	29.92 $\pm$ 1.66 ^{ab}	0.198 $\pm$ 0.010 ^{ab}	69.727 $\pm$ 8.108 ^{ab}	21.005 $\pm$ 2.082 ^{ab}
中药预防组	20.43 $\pm$ 1.63 ^{abc}	0.208 $\pm$ 0.011 ^{ab}	46.011 $\pm$ 4.611 ^{abc}	14.572 $\pm$ 1.184 ^{abcd}
中药高剂量组	22.12 $\pm$ 1.53 ^{abc}	0.203 $\pm$ 0.012 ^{ab}	54.734 $\pm$ 4.569 ^{abc}	16.929 $\pm$ 1.335 ^{abc}
中药低剂量组	23.59 $\pm$ 1.70 ^{abcd}	0.210 $\pm$ 0.010 ^{bc}	56.200 $\pm$ 4.976 ^{abc}	17.470 $\pm$ 1.353 ^{abc}
西药组	21.21 $\pm$ 1.76 ^{abc}	0.205 $\pm$ 0.013 ^{ab}	54.077 $\pm$ 4.741 ^{abcd}	16.864 $\pm$ 1.321 ^{abcd}
<i>F</i>	324.299 ^{**}	10.588 ^{**}	88.662 ^{**}	85.189 ^{**}

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ^a与正常对照组比较, ^b与骨质疏松模型组比较, ^c与糖尿病模型对照组比较, ^d与中药预防组比较, $P < 0.05$; 表 3 同

Tab. 3 Comparison of the mRNA and protein expression levels of TNF- α and IL-6 between different groups

表 3 各组大鼠骨组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 及蛋白表达比较

($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α mRNA	TNF- α	IL-6 mRNA	IL-6
正常对照组	0.485 $\pm$ 0.053	0.498 $\pm$ 0.025	0.404 $\pm$ 0.042	0.471 $\pm$ 0.021
骨质疏松模型组	0.672 $\pm$ 0.053 ^a	0.584 $\pm$ 0.022 ^a	0.731 $\pm$ 0.064 ^a	0.622 $\pm$ 0.025 ^a
糖尿病模型对照组	0.668 $\pm$ 0.034 ^a	0.583 $\pm$ 0.016 ^a	0.680 $\pm$ 0.024 ^{ab}	0.599 $\pm$ 0.012 ^{ab}
中药预防组	0.597 $\pm$ 0.021 ^{abc}	0.550 $\pm$ 0.009 ^{abc}	0.613 $\pm$ 0.037 ^{abc}	0.568 $\pm$ 0.016 ^{abc}
中药高剂量组	0.602 $\pm$ 0.050 ^{abc}	0.552 $\pm$ 0.022 ^{abc}	0.650 $\pm$ 0.063 ^{abd}	0.585 $\pm$ 0.029 ^{abd}
中药低剂量组	0.642 $\pm$ 0.038 ^{ad}	0.570 $\pm$ 0.017 ^{ad}	0.638 $\pm$ 0.051 ^{abc}	0.579 $\pm$ 0.023 ^{abc}
西药组	0.620 $\pm$ 0.036 ^{abc}	0.561 $\pm$ 0.017 ^{abc}	0.622 $\pm$ 0.035 ^{abc}	0.572 $\pm$ 0.016 ^{abc}
<i>F</i>	22.573 ^{**}	22.808 ^{**}	47.848 ^{**}	51.029 ^{**}

骨质疏松单一病症。中医称糖尿病性骨质疏松为“消渴”合并“骨萎”，主要表现阴虚燥热，脾肾亏虚，血瘀痰湿等。因此，本研究基于中医“肾主骨”的理论，选择滋阴补肾验方三黄糖肾康作为治疗药物。

朱贵忱等^[13]研究认为，淫羊藿联合钙尔奇 D 可降低老年骨质疏松症患者血清 TNF- α 、IL-6 水平。本研究结果显示，经三黄糖肾康干预后，中药各治疗组血清 TNF- α 、IL-6 水平较骨质疏松组和糖尿病模型对照组下降，且中药预防组血清 TNF- α 、IL-6 水平低于西药组，提示三黄糖肾康对 2 型糖尿病性骨质疏松的发生有预防作用，且药效优于西药钙尔奇碳酸钙 D₃，可有效地减轻全身炎症反应，延缓骨质疏松的发生。中药预防组、高剂量组和西药组大鼠骨组织 TNF- α mRNA 及蛋白表达水平较糖尿病模型对照组大鼠下降，但中药低剂量组与其差异无统计学意义，表明预防给药、高剂量的三黄糖肾康和钙尔奇碳酸钙 D₃ 均可下调糖尿病大鼠骨组织 TNF- α 的表达，低剂量的三黄糖肾康发挥该作用并不明显。中药预防组、低剂量组和西药组大鼠骨组织 IL-6 mRNA 及蛋白表达水平较糖尿病模型对照组下降，但中药高剂量组与其差异无统计学意义，表明预防给药、低剂量的三黄糖肾康和钙尔奇碳酸钙 D₃ 均可下调糖尿病大鼠骨组织 IL-6 的表达，高剂量的三黄糖肾康发挥该作用并不明显。因此，笔者认为针对糖尿病大鼠骨组织不同炎症因子，三黄糖肾康发挥的抑制炎症因子表达的作用不同，且可能和给药剂量和时间相关。

综上所述，中药三黄糖肾康能够抑制全身炎症因子及骨组织局部炎症因子 TNF- α 、IL-6 的表达，改善糖尿病的低度炎症状态。

参考文献

- [1] Yan W, Chen Q. The analysis of inflammation mechanism of type 2 diabetes mellitus and insulin resistance[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2012, 23(9): 2299-2300. [颜巍, 陈秋. 2 型糖尿病/胰岛素抵抗炎症机制的浅析[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2299-2300]. doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2012.09.084.
- [2] Mauer J, Denson JL, Bruning JC. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer[J]. Trends Immunol, 2015, 36(2): 92-101. doi: 10.1016/j.it.2014.12.008.
- [3] Qian XG, Liu YH, Wang Q, et al. Inflammatory factors and pathogenesis of osteoporosis[J]. Chin J Rehabil Theory Pract, 2013, 19(7): 645-646. [钱兴皋, 刘宇恒, 王琴, 等. 炎症因子对骨质疏松症发病影响的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19(7): 645-646]. doi:10.3969/j.issn.1006-9771.2013.07.013.
- [4] Xi Y. Experimental study and clinical efficacy of San Huang Tang Shen Kang particles on microinflammation in early diabetic nephropathy rats[D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2013. [奚悦. 三黄糖肾康对早期 DN 大鼠微炎症状态影响的实验研究及临床疗效观察[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2013].
- [5] Zhong XM, Chen M. Study on the relative factors of diabetic osteoporosis [J]. Journal of North Sichuan Medical College, 2014, 29(4): 396-400. [钟雪梅, 陈敏. 糖尿病性骨质疏松症的相关因素研究[J]. 川北医学院学报, 2014, 29(4): 396-400]. doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2014.04.21.
- [6] Yang LY. Chronic low-grade inflammation and type 2 diabetes[J]. Chin J Diabetes Mellitus, 2013, 5(9): 527-530. [杨立勇. 低度慢性炎症与 2 型糖尿病[J]. 中华糖尿病杂志, 2013, 5(9): 527-530]. doi:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2013.09.003.
- [7] Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2014, 105(2): 141-150. doi:10.1016/j.diabres.2014.04.006.
- [8] Mirza S, Hossain M, Mathews C, et al. Type 2 diabetes is associated with elevated levels of TNF- α , IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: a cross-sectional study[J]. Cytokine, 2012, 57: 136-142. doi:10.1016/j.cyt.2011.09.029.
- [9] Wang X, Bao W, Liu J, et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. Diabetes Care, 2013, 36: 166-175. doi: 10.2337/dc12-0702.
- [10] Roy B. Biomolecular basis of the role of diabetes mellitus in osteoporosis and bone fractures[J]. World Journal of Diabetes, 2013, 4(4): 101-113. doi: 10.4239/wjcd.v4.i4.101.
- [11] Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(3): 234-250. doi:10.1038/nrd3669.
- [12] Jiao Y, Yu Y, Li B, et al. Protective effect of hydrogen on diabetic peripheral neuropathy by suppressing nuclear factor-kappaB pathway [J]. Chin J Contemp Neurol Neurosurg, 2013, 13(9): 772-777. [焦洋, 于洋, 李波, 等. 氢气抑制核因子- κ B 通路对糖尿病周围神经病变的保护作用[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2013, 13(9): 772-777]. doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.09.008.
- [13] Zhu GC, Liu MY, Song XH, et al. Effect of epimedium combined with caltrate D on serum levels of IL-6 and TNF- α in elderly patients with osteoporosis[J]. Hebei Medical Journal, 2014, 36(3): 325-326. [朱贵忱, 刘明雨, 宋雪花, 等. 淫羊藿联合钙尔奇 D 对老年骨质疏松症患者 IL-6 和 TNF- α 的影响[J]. 河北医药, 2014, 36(3): 325-326]. doi:10.3969/j.issn.1002-7386.2014.03.001.

(2015-02-12 收稿 2015-05-29 修回)

(本文编辑 陆荣宸)