

物中只含有少量含 2 个、3 个、4 个糖基的黄酮醇苷,总含量仅为 3.44%左右,其他黄酮类成分均不存在,说明聚酰胺树脂对于银杏来源的原花青素分离纯化效果较好。

银杏叶原花青素主要由儿茶素(分子量 290)、表儿茶素(分子量 290)、没食子儿茶素(分子量 306)和表没食子儿茶素(分子量 306)4 种单体组成^[4],葡萄籽原花青素只有儿茶素和表儿茶素 2 种单体。因此银杏叶原花青素的组成更为复杂,同一聚合度的原花青素可能会存在多个不同分子量的组成,因此用 NP-HPLC 分析发现^[7],银杏叶原花青素每个聚合体有 2~3 个峰,而葡萄籽原花青素每个聚合体均只有 1 个峰。

本研究通过二次柱层析的方法,制备得到了高纯度的银杏原花青素提取物,方法简单,重复性好,所得的原花青素不但可以作为测定银杏叶提取物及其制剂中原花青素含量的对照品,同时其抗氧化活性较等剂量的葡萄籽原花青素更强。但是该方法在制备过程中,由于要尽量去除黄酮杂质,因此,在大孔树脂纯化步骤中损失了部分原花青素。如何通过改进工艺,增加原花青素的转移率,减少损失的同时,有效的去除黄酮杂质,需要更深入的研究解决。

REFERENCES

- [1] LUAN L J, LEI H L, ZHOU Y, et al. Extraction and purification of proanthocyanidins from Nelumbinis Receptaculum and evaluation of its antioxidant activity [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(9): 1069-1073.
- [2] NIE C, ZHOU J, QIN X, et al. Reduction of apoptosis by proanthocyanidin-induced autophagy in the human gastric cancer cell line MGC-803 [J]. Oncol Rep, 2016, 35(2): 649-658.
- [3] DENG M F, LIAO L N, ZHANG M M, et al. Study on the inhibition of experimental atherosclerosis in rabbits by grape seed proanthocyanidin and its composition [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(12): 1285-1289.
- [4] STAFFORD H A, KREITOW K S, LESTER H H. Comparison of proanthocyanidins and related compounds in leaves and Leaf-derived cell cultures of *Ginkgo biloba* L., *Pseudotsuga menziesii* Franco, and *Ribes sanguineum* Pursh [J]. Plant Physiol, 1986, 82(4), 1132-1138.
- [5] USP39-NF34 [S]: 6748.
- [6] 李艳丽, 黄强, 班春兰, 等. 分光光度法测定银杏叶提取液中总黄酮含量[J]. 河南化工, 2006, 23(1): 35-36.
- [7] CHEN Y, QIAO H X, YE J F, et al. HPLC determination of proanthocyanidins in Ginkgo Folium preparation [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(13): 1774-1778.
- [8] HASLER A, STICHER O, MEIER B. Identification and determination of the flavonoids from Ginkgo biloba by high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 1992, 605(1): 41-48.
- [9] 中国药典. 一部[S]. 2015: 316-317.

收稿日期: 2016-01-20

壮骨止痛胶囊抗绝经后骨质疏松的 ERR_{α} 作用机制研究

李劲平¹, 李伟娟¹, 曾英², 章文娟¹, 莫新民² (1.中南大学药学院, 长沙 410013; 2.湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007)

摘要:目的 通过检测 ERR_{α} 特异抑制剂 XCT790 对壮骨止痛胶囊(Zhuanggu Zhitong Capsule, ZGZTC)抗骨质疏松作用的影响,探讨 ZGZTC 抗骨质疏松作用机理。方法 70 只 8 月龄 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、XCT790 组、ZGZTC 组、XCT790 高剂量+ZGZTC 组、XCT790 中剂量+ZGZTC 组、XCT790 低剂量+ZGZTC 组,每组 10 只,切除卵巢后 1 周, XCT790 组每隔 3 d 皮下注射 XCT790 橄榄油溶液,非 XCT790 组皮下注射无菌橄榄油, ZGZTC 组每天灌胃给药 1 次,连续 12 周,最后一次给药后 1 h 腹腔注射水合氯醛麻醉,腹主动脉放血处死,取右股骨检测骨密度和骨生物力学,左股骨 ELISA 检测 ERR_{α} 蛋白水平,左胫骨 RT-PCR 检测 ERR_{α} mRNA 的表达,右胫骨病理切片免疫组化染色检测 ERR_{α} 蛋白水平。结果 XCT790 显著降低去卵巢大鼠骨密度和骨生物力学强度($P<0.05$),轻微降低骨组织 ERR_{α} 表达水平。ZGZTC 显著提高去卵巢大鼠骨密度和骨生物力学强度($P<0.05$),且该作用可被 XCT790 剂量依赖性降低。ZGZTC 能显著增强去卵巢大鼠骨组织 ERR_{α} 表达水平($P<0.05$),且这种促进作用可被 XCT790 明显降低。结论 ZGZTC 可通过调节雌激素相关受体信号通路发挥抗骨质疏松作用。

关键词: 壮骨止痛胶囊; 雌激素; 雌激素相关受体; XCT790

基金项目: 国家自然科学基金项目(81273816)

作者简介: 李劲平, 男, 博士, 副教授 Tel: (0731)82650340 E-mail: pjingli@163.com

Zhuanggu Zhitong Capsule Protect Against Postmenopausal Osteoporosis Induced by Ovariectomy Via Estrogen Receptor-Related Receptor in Rats

LI Jinping¹, LI Weijuan¹, ZENG Ying², ZHANG Wenjuan¹, MO Xinming²(1.School of Pharmacy Science, Central South University, Changsha, 410013, China; 2.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To unveil the mechanism of Zhuanggu Zhitong Capsule (ZGZTC) protecting against postmenopausal osteoporosis induced by ovariectomy with XCT790 blocking estrogen receptor-related receptor. **METHODS** Seventy 8-month old Sprague Dawley female rats were randomly allocated into sham-operation group, model group, XCT790 group, ZGZTC group, XCT790 high dose + ZGZTC group, XCT790 middle dose + ZGZTC group, XCT790 low dose + ZGZTC group, 10 rats in each group. The rats in sham-operation group were retained ovary with only removing some fat near ovary, those rats in other groups were performed bilateral ovariectomy. One week later, the rats in sham-operation group, model group and ZGZTC group were injected subcutaneously with olive oil every 3 days, other rats were injected subcutaneously with XCT790 dissolved in olive oil every 3 days. Rats in sham-operation group, model group, XCT790 group were administered with distilled water, those rats in other groups were administered ZGZTC with the same dosage for 12 weeks. Then all rats were anaesthetized intraperitoneally with injection of chloral hydrate and abdominal aortic exsanguinated. Right femurs were collected for bone mineral density and biomechanics detection, left femurs for ELISA of ERR_{α} , left tibias for RT-PCR of ERR_{α} , right tibias for immunohistochemical detection of ERR_{α} . **RESULTS** XCT790 significantly decreased bone mineral density and bone biomechanics ($P < 0.05$) in ovariectomized rats, and decreased the expression of ERR_{α} in bone tissue. ZGZTC could increase the bone mineral density and bone biomechanics ($P < 0.05$) and the role could be decreased with a dose-dependent pattern by XCT790. ZGZTC significantly enhanced the expression of ERR_{α} ($P < 0.05$) in ovariectomized rats, and the promoting effect was significantly decreased by XCT790. **CONCLUSION** ZGZTC plays the role of protecting against postmenopausal osteoporosis through regulating estrogen receptor-related receptor signaling pathway.

KEY WORDS: Zhuanggu Zhitong Capsule; estrogen; estrogen receptor-related receptor; XCT790

雌激素相关受体(estrogen receptor-related receptor, ERR)与雌激素受体(estrogen receptor, ER)同属于核转录因子,在骨组织核基因组上具有相同DNA顺式作用元件,参与雌激素信号的调控而对骨细胞功能活动进行调控^[1]。壮骨止痛胶囊(Zhuanggu Zhitong Capsule, ZGZTC)对绝经后骨质疏松症具有良好治疗作用,提高雌激素和雌激素受体水平是其重要作用机理之一^[2-5]。前期研究表明ZGZTC显著升高去卵巢骨质疏松大鼠骨组织 ERR_{α} 的表达,初步显示 ERR_{α} 信号通路可能是ZGZTC的作用靶点。本次研究采用去卵巢绝经后骨质疏松模型联合 ERR_{α} 特异拮抗剂XCT790阻断雌激素相关受体信号途径,检测ZGZTC对绝经后骨质疏松大鼠骨密度、骨生物力学指标及 ERR_{α} 基因和蛋白表达的影响,进一步确认ZGZTC是否通过雌激素相关受体信号通路发挥抗绝经后骨质疏松作用。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级SD大鼠,♀,70只,8月龄,体质量为280~310g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限

公司,动物质量合格证号:NO.43004700005517,中南大学湘雅三医院动物实验中心屏蔽动物实验设施许可证号:SYXK(湘)2013-0001。中南大学动物实验伦理委员会批准号:2013-003。

1.2 药物

ZGZTC(四川美大康药业股份有限公司,批号:Z20050118);青霉素钠(哈药集团制药总厂,批号:A1301022417)。XCT790(英国Tocris Bioscience, Bristol),用橄榄油配制相应浓度油溶液。橄榄油(特级,苏格拉蒂,用0.22 μm无菌滤膜过滤)。

1.3 试剂

TRIZOL试剂(美国Invitrogen公司,批号:28218);Go Taq Green Master Mix(美国Promega);PCR引物由上海生物工程有限公司合成;大鼠 ERR_{α} ELISA检测试剂盒(美国Cygnus,批号:201412);兔抗大鼠 ERR_{α} 抗体(美国Santa Cruz Biotechnology,批号:201501);山羊抗兔IgG抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:20150123);HRP-链霉卵白素(北京中杉金桥生物技

术有限公司,批号:20141227);DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:20150115)。

1.4 仪器

Gel Doc XR+型凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad);WD-9402A型PCR扩增仪(北京六一仪器厂);GPS-9160MBE型核酸蛋白分析仪(Eppendorf Biophotometer plus);DYY-8c型电泳仪(北京六一仪器厂);infinite 200 pro型多功能酶标仪(Tecan Austria GmbH);GK99-UNIGAMMA X-RAY PLUS双能X线骨密度仪(意大利LACN);WDW-200万能试验机(长春方锐科技有限公司);MIAS医学图象分析系统(北航公司)。

1.5 造模分组及给药

70只SD大鼠用2%水合氯醛 $0.35\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 腹腔注射麻醉后,无菌操作从背部两侧距第1腰椎外1 cm处纵向切开皮肤和肌肉,其中10只仅切除少许脂肪组织作为假手术组,其余大鼠摘除双侧卵巢,结扎止血后分肌皮两层缝合切口。术后连续3 d肌注兽用青霉素($40\ 000\text{ U}\cdot\text{d}^{-1}$),第5天拆线。术后1周按体质量随机分为假手术组、模型组、XCT790组、ZGZTC组、XCT790高剂量+ZGZTC组、XCT790中剂量+ZGZTC组、XCT790低剂量+ZGZTC组,每组10只。XCT790组每隔3 d背部皮下注射相应剂量的XCT790橄榄油溶液,非XCT790组按 $1\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 皮下注射无菌橄榄油,ZGZTC组每天1次灌胃给予ZGZTC $0.64\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,实验期间大鼠自由饮水摄食,每10 d称1次体质量并调整给药量,连续12周。

1.6 指标检测

1.6.1 取材及ELISA、骨生物力学检测 最后1次给药后1 h,2%的水合氯醛 $0.35\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 腹腔注射麻醉,腹主动脉放血处死大鼠,快速剥取左股骨,精确称量,于研钵内剪成2 mm左右大小的碎块后加液氮研磨,挥干液氮,加相应组织提取液,离心取上清,ELISA检测ERR α 含量。右股骨剥去附着的肌肉后先用骨密度仪检测股骨颈骨密度,然后将右股骨置于万能试验机上进行三点弯曲试验,加载速度 $5\text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$,跨距16.5 mm。记录载荷-变形曲线,从曲线上直接获取最大抗弯强度、最大弹性应力等力学指标参数。

1.6.2 RT-PCR检测 冰块上快速剥取左胫骨,精确称量,剪成2 mm左右大小的碎块后加液氮研

磨,挥干液氮加入相应体积Trizol,抽提总RNA,紫外分光光度计测定总RNA浓度及纯度。采用20 μL 逆转录反应体系,内含2 μg 待测RNA,按照逆转录合成试剂盒说明书操作合成cDNA。cDNA合成反应完成后,取2 μL cDNA模板配成25 μL PCR反应体系扩增目的基因。ERR α (113 bp)正向链为5'-ACTCGATGCTCCCCTGGATG-3',反向链为5'-CAAACGCCTCTGCCTGGTCT-3'; β -actin(227 bp)正向链为5'-CCTAGCACCATGAA GATCAA-3',反向链为5'-TTTCTGCGCAAGTTA GGTTTT-3'。PCR扩增循环参数:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,退火54 $^{\circ}\text{C}$,30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s;35个循环,最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。分别取各基因PCR产物3 μL ,用2%琼脂糖电泳及溴化乙锭染色,经凝胶成像系统(Bio-Rad)进行拍照,用Image Lab 5.0软件进行定量分析。分别计算ERR α 的PCR产物电泳条带灰度与 β -actin的PCR产物电泳条带灰度比值。

1.6.3 免疫组化检测 快速取各组大鼠的完整右胫骨,去除附着的肌肉后浸泡在10%福尔马林PBS中脱钙后按常规切片、脱蜡至水洗后经抗原修复。加3% H_2O_2 PBS溶液室温孵育10 min,PBS冲洗3次,分别滴加正常羊血清(1:10)室温孵育10 min。滴加兔抗大鼠ERR α 多克隆抗体(1:150稀释),阴性对照切片采用正常羊血清代替一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。然后PBS浸洗3次,再滴加生物素标记羊抗兔IgG,室温反应30 min,PBS浸洗3次,然后滴加HRP链霉卵白素,室温反应20 min,PBS浸洗3次,然后用0.06% DAB显色8 min,苏木精复染,酒精脱水,二甲苯透明后中性树脂封片。Olympus BX51型显微镜下观察、拍照,进行图像分析。每张切片取15个视野,记录每张切片平均光密度值。

1.7 统计方法

所有数据先经方差齐性检验和正态性检验,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,方差齐用多组单因素方差分析。数据采用SPSS 17.0统计软件进行处理。

2 结果

2.1 XCT790干预对ZGZTC改善大鼠骨密度和骨生物力学的影响

与假手术组相比,去卵巢模型组大鼠骨密度、骨生物力学指标显著降低。与模型组比较,XCT790组去卵巢大鼠骨密度、骨生物力学强度显

著降低。ZGZTC 除了能显著提高单纯去卵巢大鼠骨密度、骨生物力学强度外, 还能显著提高不同剂量 XCT790 干预降低的去卵巢大鼠骨密度、骨生物力学强度, 且这种作用与 XCT790 剂量呈负相关。结果见表 1。

2.2 XCT790 干预对 ZGZTC 提高骨组织 ERR_{α} 表达的影响

与假手术组相比, 去卵巢大鼠骨组织 ERR_{α} 蛋

白和 ERR_{α} mRNA 均显著降低($P<0.01$), ZGZTC 能显著增强大鼠骨组织 ERR_{α} 蛋白和 ERR_{α} mRNA 表达($P<0.01$)。XCT790 有进一步降低去卵巢大鼠骨组织 ERR_{α} 蛋白和 ERR_{α} mRNA 表达的趋势, 与模型组比较没有统计学差异。但是 XCT790 却剂量依赖性降低 ZGZTC 提高去卵巢大鼠骨组织 ERR_{α} mRNA 表达和 ERR_{α} 蛋白水平的作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 1。

表 1 XCT790 干预对 ZGZTC 改善大鼠骨密度和骨生物力学的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The effect on the improvement of ZGZTC on bone density and biomechanics induced by XCT790 in rats($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		骨密度/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$	最大抗弯强度/MPa	最大弹性应力/MPa
	XCT790	ZGZTC			
假手术组	-	-	$0.376 \pm 0.018^{1)}$	$343.26 \pm 15.26^{1)}$	$287.68 \pm 18.39^{1)}$
模型组	-	-	0.312 ± 0.017	288.57 ± 12.31	236.45 ± 13.61
XCT790 组	1	-	$0.262 \pm 0.011^{1)}$	$247.18 \pm 11.79^{1)}$	$204.77 \pm 12.03^{1)}$
ZGZTC 组	-	640	$0.357 \pm 0.016^{1)}$	$329.38 \pm 14.04^{1)}$	$277.48 \pm 15.74^{1)}$
XCT790 高剂量+ZGZTC 组	2	640	$0.304 \pm 0.014^{3)}$	$284.52 \pm 13.03^{3)}$	$241.07 \pm 12.28^{3)}$
XCT790 中剂量+ZGZTC 组	1	640	$0.331 \pm 0.014^{2)}$	$304.35 \pm 11.55^{3)}$	$253.17 \pm 13.69^{2)}$
XCT790 低剂量+ZGZTC 组	0.5	640	0.347 ± 0.015	$312.76 \pm 14.12^{2)}$	$260.64 \pm 15.52^{2)}$

注: 与模型组比较, $^{1)}P<0.01$; 与 ZGZTC 组比较, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$ 。

Note: compared with model group, $^{1)}P<0.01$; compared with ZGZTC group, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$ 。

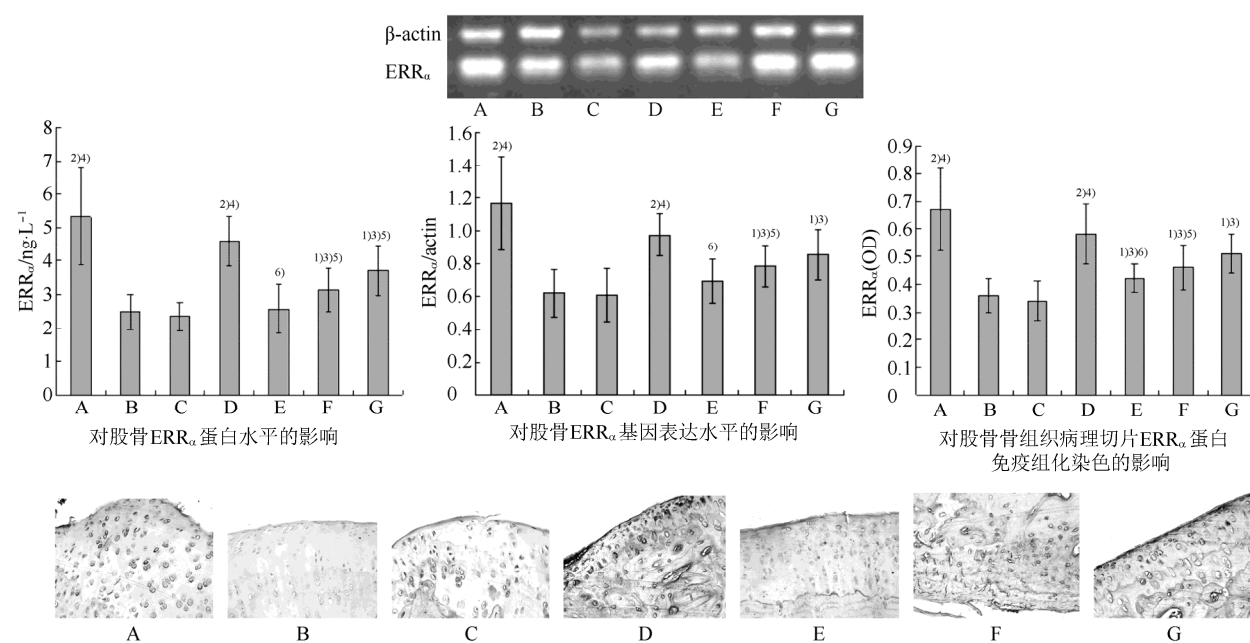


图 1 XCT790 干预对 ZGZTC 提高骨组织 ERR_{α} 表达的影响

A-假手术组; B-模型组; C-XCT790 组; D-ZGZTC 组; E-XCT790 高剂量+ZGZTC 组; F-XCT790 中剂量+ZGZTC 组; G-XCT790 低剂量+ZGZTC 组; 与模型组比较, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$; 与 XCT790 组比较, $^{3)}P<0.05$, $^{4)}P<0.01$; 与 ZGZTC 组比较, $^{5)}P<0.05$, $^{6)}P<0.01$ 。

Fig. 1 The blocking effect of XCT790 on the improvement of ERR_{α} expression induced by ZGZTC in rats

A-Sham group; B-PMO model group; C-XCT790 group; D-ZGZTC group; E-XCT790 high dose + ZGZTC group; F-XCT790 middle dose + ZGZTC group; G-XCT790 low dose + ZGZTC group; compared with model group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$; compared with XCT790 group, $^{3)}P<0.05$, $^{4)}P<0.01$; compared with ZGZTC group, $^{5)}P<0.05$, $^{6)}P<0.01$ 。

3 讨论

ERR 分为 α 、 β 、 γ 3 种亚型, 至今尚未发现其配体, 其中 ERR_{α} 的功能研究比较多, 其在肿瘤、冠心病、糖尿病等疾病中的作用受到较大的关注^[6]。近年来, ERR_{α} 在骨质疏松(尤其绝经后骨质疏松)发生发展中的作用也受到重视, 有可能成为防治骨质疏松的新作用靶点^[5]。由于 ERR_{α} 与 ER 在骨核基因组中存在相同的 DNA 顺式作用元件, 并且 ERR_{α} 也受到 ER 和 PGC-1 α 的调节^[7]。关于 ERR_{α} 在骨质疏松中的作用也还没有统一的认识, 体内外研究结果经常出现不一致的情况^[8-9]。本课题组前期利用 3 月龄 SD 大鼠去卵巢复制骨质疏松模型, 股骨组织的 ERR_{α} mRNA 表达水平下降^[10]。本次实验采用 8 月龄 SD 大鼠去卵巢复制骨质疏松模型, 结果股骨组织的 ERR_{α} mRNA 表达水平下降。3 月龄和 8 月龄 2 种不同月龄 SD 大鼠去卵巢复制骨质疏松模型均表明骨组织 ERR_{α} mRNA 表达水平下降, 与 Bonnelye 等研究结果一致^[11], 但与邓伟明等人的研究结果相反^[12]。本课题组前后 2 次不同月龄组 SD 大鼠实验均表明 ERR_{α} 表达降低与绝经后骨质疏松相关。

ZGZTC 能显著提高去卵巢骨质疏松模型大鼠骨密度和骨生物力学强度, 增强模型大鼠骨组织 ERR_{α} mRNA 的表达。XCT790 作为 ERR_{α} 特异抑制剂, 不仅阻断 ER 与 ERR_{α} 结合, 同时也阻断 PGC-1 α 与 ERR_{α} 结合^[13]。为了反证 ZGZTC 是否真正通过 ERR_{α} 信号通路调节骨代谢, 在去卵巢基础上采用 ERR_{α} 特异抑制剂 XCT790 阻断 ERR_{α} 信号通路, 探讨其对 ZGZTC 抗骨质疏松作用的影响。结果表明 XCT790 可在去卵巢基础上进一步降低大鼠的骨密度和骨生物力学强度, 同时对骨组织 ERR_{α} 的表达有轻微抑制作用。XCT790 不仅剂量依赖性地降低 ZGZTC 提升去卵巢骨质疏松模型大鼠骨密度和骨生物力学强度的作用, 而且显著抑制 ZGZTC 促进骨组织 ERR_{α} 表达的作用。结果证明 ERR_{α} 是 ZGZTC 的作用靶点之一, 也说明 ZGZTC 的多途径、多环节作用特点。至于 ZGZTC 药效物质基础及对 ERR_{α} 信号通路的详细作用细节, 有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] CARNESECCHI J, VANACKER J M. Estrogen-related receptors and the control of bone cell fate [J]. *Molecular and Cell Endocrinology*, 2015: 1-7. Doi:10.1016/j.mce.2015.07.019.
- [2] ZENG Y, MO X M, LEI X M, et al. Effects of Zhuanggu Zhitong Capsule on bone density and biochemical criterion in ovariectomized rats with osteoporosis [J]. *J TCM Univ Hunan(湖南中医药大学学报)*, 2008, 28(2): 10-12.
- [3] 莫新民, 曾英, 彭琼辉, 等. 壮骨止痛胶囊治疗去卵巢雌鼠骨质疏松症疗效的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(3): 195-198.
- [4] ZENG Y, MO X M, LEI X M, et al. Effect of Zhuanggu Zhitong Capsule on bone intensity and biomechanics of ovariectomy induced osteoporosis in rats [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志)*, 2007, 13(4): 292-295.
- [5] GAN G X, MO X M, LI J P, et al. Effective components of Zhuanggu Zhitong prescription and its influence on hormones related to bone metabolism in female rats [J]. *Chin J Exper Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2011, 17(15): 126-130.
- [6] HUSS J M, GARBACZ W G, XIE W. Constitutive activities of estrogen-related receptors: Transcriptional regulation of metabolism by the ERR pathways in health and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015(1852): 1912-1927.
- [7] SUN P M, GEE M, WEI L H, et al. An estrogen receptor dependent regulation of estrogen receptor related receptor α in the proliferation of endometrial carcinoma cells [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16(Suppl 2): 564-568.
- [8] BONNELYE E, MERDAD L, KUNG V, et al. The orphan nuclear estrogen receptor-related receptor α (ERR_{α}) is expressed throughout osteoblast differentiation and regulates bone formation *in vitro* [J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(5): 971-984.
- [9] DELHON I, GUTZWILLER S, MORVAN F, et al. Absence of estrogen receptor-related α increases osteoblast differentiation and cancellous bone mineral density [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(10): 4463-4472.
- [10] WANG W J, ZENG Y, LI J P, et al. Effects of Zhuanggu Zhitong prescription on gene expression of estrogen related receptor and serum E2 level in ovariectomized rats [J]. *Hunan J Tradit Chin Med(湖南中医杂志)*, 2015, 31(2): 122-124.
- [11] BONNELYE E, KUNG V, LAPLACE C, et al. Estrogen receptor related receptor α impinges on the estrogen axis in bone: potential function in osteoporosis [J]. *Endocrinology*, 2002(143): 3658-3670.
- [12] DENG W M, WEI Q S, TAN X, et al. Effect of kidney-tonifying, spleen-strengthening, and blood stasis removing recipe on the expression ERR_{α} and PGC-1 α mRNA in the bone marrow of the femurs in ovariectomized rat model [J]. *Chin J Osteoporos(广州中医药大学学报)*, 2014, 20(10): 1143-1148.
- [13] HU J Z, LONG H, WU T D, et al. The effect of estrogen-related receptor α on the regulation of angiogenesis after spinal cord injury [J]. *Neuroscience*, 2015(290): 570-580.

收稿日期: 2015-11-25