·论著·一次研究·

青娥方调控“肠道菌群-炎症-骨代谢”轴改善绝经后骨质疏松症大鼠骨损伤的作用及机制研究

戴 燚，范彦博，唐光平，胡丽娟，刘 静，徐 平，鲁 铭

武汉市中医医院（武汉 430000）

【摘要】目的 探讨青娥方在绝经后骨质疏松症治疗中的效果，分析其对骨代谢、肠道菌群、炎症的影响。**方法** 采用去卵巢法构建骨质疏松大鼠模型，分为正常组、模型组和低、中、高剂量青娥方治疗组。显微CT检测骨密度（BMD）及骨结构参数；HE染色观察骨组织病理形态；ELISA测定血清Ⅰ型前胶原N端前肽（PINP）、骨钙素（BGP）、骨特异性碱性磷酸酶（BALP）、Ⅰ型胶原交联C端肽（CTX）、抗酒石酸酸性磷酸酶（TRAP）、血钙、血磷和炎症因子IL-1β、IL-6、TNF-α；采用肠道菌定植培养法分析菌群变化；Western blot检测p-P65表达。**结果** 与正常组相比，模型组骨小梁稀疏、结构紊乱，BMD、骨量百分比（BV/TV）、骨小梁厚度（Tb.Th）、骨小梁数量（Tb.N）及血清PINP均显著降低，而骨小梁分离度（Tb.Sp）、BGP、BALP、CTX、TRAP、IL-1β、IL-6、TNF-α及p-P65显著升高。与模型组相比，高剂量青娥方组骨小梁形态排列规则，BMD、BV/TV、Tb.Th、Tb.N及PINP显著升高，Tb.Sp、BGP、BALP、CTX、TRAP、IL-1β、IL-6、TNF-α及p-P65显著降低；益生菌种乳酸菌和双歧杆菌的丰度显著升高，致病菌种变形杆菌和拟杆菌的丰度显著降低。**结论** 青娥方可调节肠道菌群并抑制炎症因子释放，发挥抗炎和促骨形成作用，具有抗骨质疏松潜力。

【关键词】骨质疏松症；青娥方；骨代谢；肠道菌群；炎症

【中图分类号】R285.5 **【文献标志码】**A

Study on the effect and mechanism of Qing'e formula in improving bone injury in rats with postmenopausal osteoporosis by regulating the "gut microbiota-inflammation-bone metabolism" axis

DAI Yi, FAN Yanbo, TANG Guangping, HU Lijuan, LIU Jing, XU Ping, LU Ming

Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430000, China
Corresponding author: LU Ming, Email: d17702309@126.com

【Abstract】Objective To investigate the therapeutic effects of Qing'e formula on postmenopausal osteoporosis, analyze its influence on bone metabolism, gut microbiota, and inflammation. **Methods** An ovariectomized (OVX) rat model of osteoporosis was established. Animals were divided into a normal group, an OVX model group, and low-, medium-, and high-dose Qing'e formula treatment groups. Bone mineral density (BMD) and micro-architectural parameters were assessed by micro-computed tomography. Hematoxylin-eosin staining was used to

DOI: 10.12173/j.issn.1005-0698.202511052
基金项目：武汉市卫健委重大项目（WZ21M02）；湖北省中医药管理局中医药联合基金项目（ZY2025L074）；湖北省自然科学基金中医药创新发展联合基金项目（2025AFD514）
通信作者：鲁铭，主任护师，硕士研究生导师，Email：d17702309@126.com

observe histopathological changes in bone tissue. Serum levels of procollagen type I N-terminal propeptide (PINP), osteocalcin (BGP), bone-specific alkaline phosphatase (BALP), collagen type I cross-linking C-telopeptide (CTX), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), calcium, phosphorus, and the inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α were measured by ELISA. Changes in the gut microbiota were analyzed by bacterial culture. Expression of p-P65 was determined by Western blot. **Results** Compared with the normal group, OVX rats exhibited sparse, disordered trabeculae and significantly lower BMD, bone volume/tissue volume (BV/TV), trabecular thickness (Tb. Th), trabecular number (Tb. N), and serum PINP. Trabecular separation (Tb.Sp), serum BGP, BALP, CTX, TRAP, IL-1β, IL-6, TNF-α, and p-P65 expression were markedly increased. Compared with the model group, the high-dose Qing'e formula group exhibited regularly arranged trabecular bone morphology, with significant increases in BMD, BV/TV, Tb.Th, Tb.N, and PINP, as well as significant decreases in Tb.Sp, BGP, BALP, CTX, TRAP, IL-1β, IL-6, TNF-α, and p-P65. The abundances of the probiotic bacteria *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were significantly increased, whereas those of the pathogenic bacteria *Proteus* and *Bacteroides* were significantly decreased. **Conclusion** Qing'e formula exerts anti-osteoporotic potential by modulating gut microbiota composition and suppressing inflammatory cytokine release, thereby attenuating inflammation and enhancing bone formation.

【Keywords】Osteoporosis; Qing'e formula; Bone metabolism; Gut microbiota; Inflammation

骨质疏松症以骨密度降低、微观架构退化及力学性能下降为特征，显著增加病理性骨折风险，损害患者活动能力与健康[1]。全球老龄化加剧使骨骼脆性疾病发生率攀升，其中绝经后女性因雌激素骤降致骨量快速丢失，成为高危人群[2]。雌激素下降不仅促进骨吸收、抑制骨形成，还通过调控体成分分布间接影响骨代谢。近年来，“肠道菌群–骨代谢”轴为骨质疏松症机制研究提供了新视角。绝经后雌激素缺乏可致肠道菌群失调（产丁酸菌减少、致病菌增殖），通过LPS/TLR4/NF-κB通路激活破骨细胞，同时短链脂肪酸（short-chain fatty acids，SCFAs）减少削弱Treg/Th17平衡及WNT10B信号，导致骨形成受抑、骨吸收增强[3-4]，但靶向该轴的中药干预研究尚处起步阶段。现有药物虽能抑制破骨细胞活性，但长期应用易引发消化道不良反应及骨坏死等并发症[5]，且单一靶点干预难以纠正绝经后雌激素缺乏所致肠道菌群紊乱及“肠–骨轴”失衡的复杂病理[6]。因此，开发兼具促骨形成与抑骨吸收双重调节、安全性更高的策略，已成为该领域亟待解决的关键问题。

传统中药复方因其多靶点、多机制的特点，在慢性病和代谢性疾病的治疗中获得了重点关注。青娥方作为经典中药复方，包含杜仲、补骨脂、炒核桃仁和大蒜等多种生物活性植物，具有抗炎、抗氧化及调节代谢等功效[7]。研究证实，青娥方具有抑制破骨细胞生物活性的作用，通过调控骨吸收过程实现骨代谢动态平衡的重建[8]。研究进一步揭示，该复方可促进骨矿物质沉积、提升股骨生物力学载荷耐受性以及增大股骨颈区域骨小梁结构占比，同时能有效减缓去势（ovariectomized，OVX）动物模型的骨代谢速率[7]。然而，上述研究多聚焦于青娥方对骨代谢终末指标的观察，对其系统调控机制—特别是“肠道菌群–炎症–骨代谢”轴的整合作用—尚未深入阐释。本研究基于OVX大鼠骨质疏松模型，系统评估青娥方对骨密度、骨微结构及生物力学性能的改善作用，并从调节骨代谢、改善肠道菌群及抑制炎症通路三个层面阐释其作用机制，旨在为骨质疏松症提供安全有效治疗的理论基础和实验数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验药物

青娥方配方包括杜仲480 g、补骨脂240 g、炒核桃仁150 g和大蒜120 g[8-9]。上述药材均购自湖北天济药业有限公司，并经本院药事部主任药师鉴定为正品，符合《中华人民共和国药典》相关项下规定。用清水煎煮，第一次30 min，第二次20 min，然后合并药液，浓缩至1 g/mL，4 ℃保存备用。根据体表面积转换公式，低、中、高剂量组的浓度分别为1.26 g/kg、2.52 g/kg、5.04 g/kg[10]。

1.1.2 试剂和仪器

4%多聚甲醛（G1101，批号：GP2409306）购买于武汉赛维尔生物科技有限公司，苏木素染色液（H9627，批号：SHBS4701）购买于西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司（Sigma-Aldrich），伊红染色液（G1120，批号：2500020601）购买于北京索莱宝科技有限公司；大鼠肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）（ER1393，批号：R1393I059C）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）（ER0042，批号：R0042I059C）、白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）（ER1094，批号：R1094I059C）、骨钙素（bone gla protein，BGP）（ER1205，批号：R1205I059C）、I型前胶原氨基端原肽（N-terminal propeptide of type I procollagen，PINP）（ER1265，批号：R1265I059C）、骨特异性碱性磷酸酶（bone-specific alkaline phosphatase，BALP）（ER0761，批号：R0761I059C）和I型胶原交联C端肽（collagen type I cross-linked C-telopeptide，CTX-I）ELISA试剂盒（ER0876，批号：R0876I059C）购买于武汉菲恩生物科技有限公司。抗酒石酸酸性磷酸酶（tartrate-resistant acid phosphatase，TRAP）检测试剂盒（R22113，批号：JR247266）购买于上海源叶生物科技有限公司。钙测定试剂盒（methylthymol blue微板，C004-2-1，批号：20230529）和磷测定试剂盒（磷钼酸法，C006-1-1，批号：20230527）购买于南京建成生物工程研究所。乳酸杆菌琼脂培养基（HB8636-1，批号：20240304）购买于青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。辣根过氧化物酶HRP标记二抗（ab205718，批号：1000032-19）购买于英国Abcam plc公司。NF-κB p65一抗（8242T，批号：16）和磷酸化NF-κB p65（p-P65）一抗（3033T，批号：19）购买于美国Cell Signaling Technology公司。GAPDH（ab128915，批号：1000015-12）购买于英国Abcam plc公司。

石蜡切片机（LeicaRM2235）购自德国徕卡公司；显微镜（Nikon E100）购自日本尼康公司；微型CT仪（SkyScan 1176）购自比利时Bruker公司；酶标仪（Synergy H1）购自美国BioTek公司；高速离心机（5424 R）购自德国Eppendorf公司；微量分光光度计（NanoDrop 2000）购自美国Thermo Fisher公司；凝胶成像仪（ChemiDoc MP）购自德国BioRad公司。

1.2 实验动物

选取健康、未孕的无特定病原体级雌性SD大鼠（200~230 g，7周），来源于湖北省实验动物研究中心，使用许可证为SYXK（鄂）2022-0065。饲养条件包括室温控制在20±2 ℃，12 h昼夜交替光照，通风良好，提供充足饲料和饮水。动物实验获得湖北省预防医学科学院（湖北省疾病预防控制中心）实验动物管理与使用委员会批准［批号：安评中心动（福）第202520049号］。

1.3 动物造模与分组

通过OVX法建立绝经后骨质疏松大鼠模型：术前SD大鼠禁食12 h，将大鼠放入麻醉诱导盒，以5%异氟烷诱导麻醉完成后，转呼吸面罩以2%异氟烷维持麻醉（气体流量保持1 L/min），背部腰部两侧切开约1.5 cm，分离脂肪组织暴露卵巢，随后在输卵管处结扎并切除卵巢；对另一侧卵巢重复操作后，分层缝合肌层和皮肤。大鼠随机分为五组：正常组、模型组（OVX手术）及低、中、高剂量组（OVX大鼠+青娥方），每组6只。药物治疗组的大鼠在术后进行8周的灌胃给药，实验结束后收集血液和骨组织样本，进行相关指标的检测。术后4周尾静脉采血，化学发光法测得血清17β-雌二醇：模型组为（15.3±2.1）pmol·L^{-1}，仅为正常组的23%（P<0.012 5），进一步确认去势成功。

1.4 苏木素伊红（HE）染色

股骨4%多聚甲醛固定24 h，10% EDTA 37 ℃脱钙2周、每周换液2次；梯度乙醇脱水后石蜡包埋，切片厚5 μm。切片经二甲苯脱蜡，苏木素染5 min，盐酸酒精分化、氨水返蓝，伊红染1 min，梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理，中性树胶封片，光镜观察骨小梁形态。

1.5 CT扫描观察

将大鼠股骨洗净并剔除软组织，生理盐水保持湿润后行显微CT检测：仪器电压50~60 kVp、电流200 μA、分辨率18 μm，全骨扫描获取断层图像并重建三维模型。随后测定骨密度（bone mineral density，BMD）、骨小梁数量（trabecular number，Tb. N）、骨小梁厚度（trabecular thickness，Tb.Th）、骨小梁分离度（trabecular separation/spacing，Tb.Sp）及骨量百分比（bone volume/tissue volume，BV/TV）。

1.6 ELISA法检测骨代谢标志物和炎症因子

采集眼眶血，室温静置30 min后4 ℃、3 000 rpm离心10 min，取上清-80 ℃保存。按试剂盒说明书加标准品、空白液与待测血清，37 ℃孵育30 min后洗板；加酶结合物37 ℃再孵育30 min并洗板，避光室温显色10 min，加终止液；酶标仪450 nm测OD值，依据标准曲线计算样本浓度，比较组间骨代谢标志物（BGP、PINP、BALP、CTX-I）及炎症因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）差异。

1.7 比色法检测血清钙、磷及TRAP水平

通过钙-偶氮紫比色法、磷钼蓝比色法及对硝基苯酚法检测大鼠血清中的钙、磷和TRAP活性。取无溶血血清，采用钙检测试剂盒检测血清钙含量（10 μL血清+工作液，570 nm读吸光度），无机磷检测试剂盒检测磷含量（20 min反应，660 nm读吸光度），TRAP检测试剂盒检测TRAP活性（37 ℃避光孵育30 min，540 nm读数）；均用同步标准曲线换算浓度或活性，评估骨代谢变化。

1.8 肠道菌定植培养

末次给药后24 h，无菌采集各组大鼠新鲜粪便，液氮速冻后-80 ℃保存；实验前于4 ℃解冻。取0.1 g粪样加0.9 mL无菌生理盐水涡旋混匀，制备成10^{-1}菌悬液，十倍系列稀释至10^{-6}。各稀释液分别涂布于相应选择性培养基：乳酸菌、双歧杆菌与拟杆菌采用乳酸杆菌琼脂培养基（40.5 g·L^{-1}），乳酸菌和拟杆菌在厌氧培养袋中37 ℃培养48 h；双歧杆菌在厌氧条件下37 ℃培养72 h。变形杆菌用基础营养琼脂（牛肉膏3 g、蛋白胨10 g、NaCl 5 g、琼脂15 g、去离子水1 L），在好氧环境中37 ℃培养72 h。每样3皿平行，计数取均值，菌群丰度以菌落形成单位（CFU/mL）表示，再按取样量和稀释倍数折算为CFU/g内容物，用以定量评价菌群定植水平。

1.9 Western Blot法检测

取大鼠股骨，剔除软组织，预冷PBS洗净。先用0.5 M EDTA 4 ℃脱钙48 h、氯仿-甲醇脱脂后，再液氮研磨成粉，加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液，4 ℃裂解30 min，12 000 rpm离心15 min，取上清。BCA法测蛋白浓度后，样品经10%~12% SDS-PAGE分离并转至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭1 h，4 ℃一抗（p-P65、P65、GAPDH）孵育过夜，室温HRP标记二抗孵育1 h。ECL显影，凝胶成像系统采集条带，ImageJ分析灰度值，计算相对表达量。

1.10 统计学分析

统计学分析使用SPSS Statistics 22.0软件进行，所有实验数据均以均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。组间差异采用单因素方差分析进行比较，若有显著差异，进一步采用Bonferroni检验进行两两比较分析，本研究共预设4次两两比较（正常组与模型组比较，低、中、高剂量组与模型组比较），经Bonferroni校正后，显著性检验水准α=0.012 5，P<0.012 5认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 青娥方对OVX模型大鼠组织病理形态变化的影响

HE染色结果显示（图1），正常组大鼠骨小梁形态完好，骨胶原面积较大，染色较为均一。相对于正常组，模型组骨小梁排列稀疏、断裂明显，空骨陷窝明显增多；青娥方各剂量干预后，骨小梁形态排列规则，较为整齐、连续、紧密，空骨陷窝数量均有不同程度的改善，以高剂量组更为显著。

2.2 青娥方对OVX模型大鼠骨密度和骨结构的影响

Micro-CT图像表明，模型组大鼠右侧股骨远端干骺端骨小梁明显减少、排列稀疏、结构紊乱、骨髓腔扩大、骨小梁间距较大，有断裂现象；青娥方干预后骨小梁数量明显增多，排列规则、结构逐渐恢复，以高剂量组最为显著（图2）。模型组BMD、BV/TV、Tb.Th及Tb.N均显

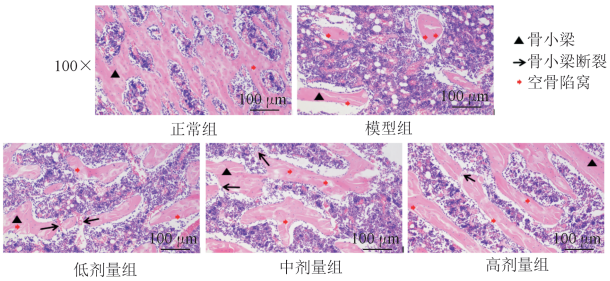


图1 各组大鼠骨组织病理形态变化

Figure 1. Histopathological changes of bone tissue in rats of each group

注：放大倍数100×，标尺长度100 μm。

著低于正常组，Tb.Sp 明显升高（P<0.012 5）。中、高剂量青娥方可改善上述改变，BMD、BV/TV、Tb.Th 及 Tb.N 均较模型组显著升高，而 Tb.Sp 显著降低（P<0.012 5），且随剂量增加骨密度和微结构指标呈递增趋势，提示青娥方具有剂量依赖性地促进骨密度与骨质量的作用（图 2 和表 1）。

2.3 青娥方对 OVX 模型大鼠骨代谢的影响

与正常组相比，模型组大鼠血清 PINP 含量显著降低，BGP、BALP、CTX 和 TRAP 明显升高（P<0.012 5）。相对于模型组，高剂量青娥方组的 PINP 含量升高，BGP、BALP、CTX 和 TRAP 显著降低（P<0.012 5）。然而，各组血清中钙和磷的含量无明显统计学差异（P>0.012 5），见表 2。

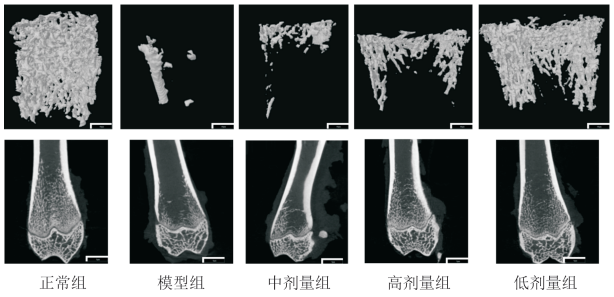


图 2 各组大鼠骨 Micro-CT 图像

Figure2. Micro-CT images of rat bone in each group

注：第一行为股骨远端松质骨三维重建结果；第二行为股骨远端 Micro-CT 扫描(矢状位)结果。

2.4 青娥方对 OVX 模型大鼠常见肠道菌的影响

与正常组比较，模型组大鼠乳酸菌和双歧杆菌丰度明显降低（P<0.012 5），而变形杆菌和拟杆菌丰度明显升高（P<0.012 5）。与模型组比较，青娥方高剂量组大鼠乳酸菌和双歧杆菌丰度明显升高（P<0.012 5），而变形杆菌和拟杆菌丰度明显降低（P<0.012 5），表明青娥方可使有益菌丰度回升、潜在致病菌丰度下降（表 3）。

2.5 青娥方对 NF-κB 信号通路及炎症因子的影响

如图 3 所示，与正常组比较，模型组大鼠 NF-κB 信号通路激活关键蛋白 p-P65 的表达水平均明显升高（P<0.012 5），同时炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平均显著升高（P<0.012 5）。与模型组比较，青娥方中和高剂量治疗组大鼠 p-P65 蛋白的表达水平均显著降低（P<0.012 5），同时炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平也显著降低（P<0.012 5）。

表 1 各组大鼠骨微结构参数变化（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table1. Changes in bone microstructural parameters of rats in each group（$\bar{x}\pm s$，n=6）

分组	BMD（g/cm^3）	BV/TV（%）	Tb.Th（mm）	Tb.N（1/mm）	Tb.Sp（mm）
正常组	0.234±0.017	17.862±0.076	0.098±0.000	1.868±0.008	0.371±0.002
模型组	0.135±0.007*	7.326±0.144*	0.079±0.002*	0.907±0.018*	0.516±0.006*
低剂量组	0.149±0.008*	7.482±0.029*	0.081±0.000*	0.926±0.004*	0.453±0.002*#
中剂量组	0.174±0.005*#	11.957±0.097*#	0.089±0.001*#	1.343±0.011*#	0.444±0.009*#
高剂量组	0.198±0.016*#	13.598±0.160*#	0.096±0.001#	1.428±0.017*#	0.409±0.003*#
F	35.201	4 721.802	246.341	2 993.869	337.924
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：BMD.骨密度；BV/TV.骨量百分比；Tb.Th.骨小梁厚度；Tb.N.骨小梁数量；Tb.Sp.骨小梁分离度。与正常组比较，*P<0.012 5；与模型组比较，#P<0.012 5。

表 2 各组大鼠骨代谢指标（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table 2. Bone metabolism markers in rats of each group（$\bar{x}\pm s$，n=6）

分组	BGP（ng/mL）	PINP（pg/mL）	BALP（ng/mL）	CTX（ng/mL）	TRAP（U/mL）	钙（mmol/L）	磷（mmol/L）
正常组	0.302±0.055	2 143.066±193.976	2.852±0.465	4.012±0.306	2.906±0.269	3.739±1.487	4.371±0.685
模型组	1.004±0.108*	1 241.371±73.027*	6.832±0.788*	8.269±0.543*	10.826±0.574*	3.469±1.037	4.627±0.714
低剂量组	0.901±0.027*	1 329.896±75.620*	6.010±0.419*	8.282±0.440*	9.974±0.392*	3.638±0.913	4.656±0.468
中剂量组	0.728±0.041*#	1 463.88±145.997*	5.267±0.638*	6.620±0.398*#	8.509±0.461*#	3.353±1.167	4.557±0.776
高剂量组	0.535±0.053#	1 722.996±191.875#	4.282±0.440#	5.760±0.686*#	5.173±0.506*#	3.614±0.918	4.411±0.718
F	59.461	18.545	22.245	40.314	163.779	0.055	0.106
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.993	0.978

注：BGP.骨钙素；PINP.Ⅰ型前胶原氨基端原肽；BALP.骨特异性碱性磷酸酶；CTX.Ⅰ型胶原 C 端肽；TRAP.抗酒石酸酸性磷酸酶；与正常组比较，*P<0.012 5；与模型组比较，#P<0.012 5。

表3 各组大鼠肠道菌丰度（$\bar{x}\pm s$，n=6，CFU/mL）

Table 3. Abundance of intestinal microbiota in rats of each group（$\bar{x}\pm s$，n=6，CFU/mL）

分组	乳酸菌	双歧杆菌	变形杆菌	拟杆菌
正常组	214 333±18 339	23 867±1 518	53 333±7 506	3 533±839
模型组	63 667±6 506*	4 833±896*	214 667±30 271*	16 000±1 664*
低剂量组	68 000±8 888*	7 000±1 179*	193 000±25 515*	12 667±1 193*
中剂量组	104 333±10 786*#	12 900±954*#	153 667±16 653*#	9 500±1 217*#
高剂量组	170 000±17 521*#	16 300±1 311*#	102 333±12 097#	7 233±907*#
F	74.229	121.907	31.949	48.232
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常组比较，*P<0.012 5；与模型组比较，#P<0.012 5。

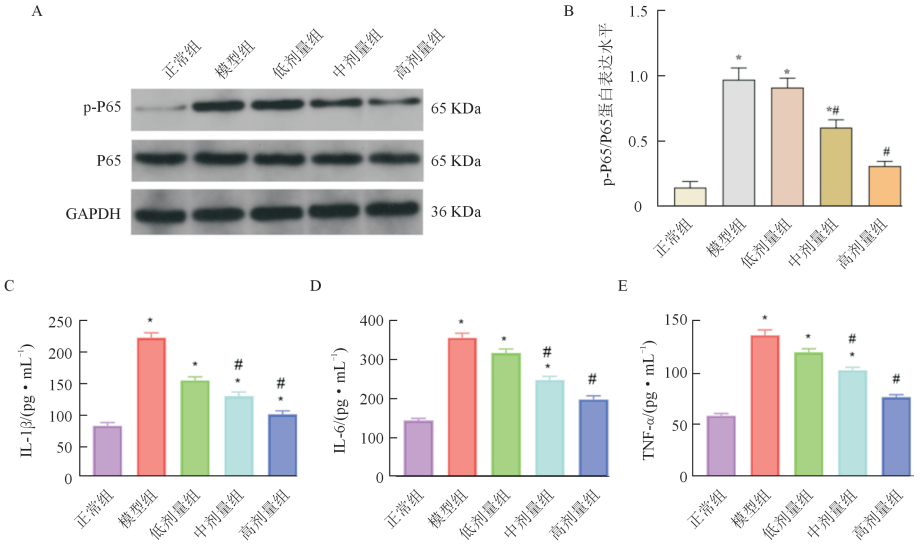


图3 青娥方对蛋白表达和炎症因子的影响

Figure 3. Effects of Qing´e formula on the protein expression and inflammatory factors

注：与正常组比较，*P<0.012 5；与模型组比较，#P<0.012 5。

3 讨论

绝经期骨质流失疾病的核心发病机理源于雌性激素分泌衰减，引发破骨活性异常增强，致使骨吸收作用占据优势地位，最终导致骨矿含量和基质成分的减少，进而引发BMD的下降[11]。作为诊断骨质疏松的金标准[12]，BMD的提高对于治疗至关重要。本研究采用OVX大鼠作为骨质疏松模型，结果表明，OVX大鼠出现骨小梁减少、结构紊乱、骨髓腔扩张、BMD下降、骨吸收增加而骨形成减少等绝经后骨质疏松典型改变，证明该模型可靠。

中医认为，绝经后骨质疏松症与肾亏脾虚、肝血不足、血瘀气滞密切相关，尤其以肾虚为根本病因[13]。肾主骨生髓，肾精充盈有助于骨骼健康，反之则导致骨质脆弱。青娥方基于“补先后天”的理论，针对“肾亏脾虚”病机进行治疗。方中的杜仲能补益肝肾、强筋健骨，补骨脂温补脾肾、促进骨骼与气血生化，核桃滋补肾精、强骨润肠，大蒜则有温经通络、祛寒宣通的作用[8]。临床与基础实验均证实，青娥方通过多靶点、多环节发挥抗骨质疏松效应：一项RCT表明其可显著提升肾阳虚型绝经后骨质疏松患者骨强度并缓解骨痛[14]；动物研究显示，青娥方下调TNF-α/IL-6减轻炎症，重塑肠道菌群[15]、激活H型血管[16]，从而抑制骨量丢失，Meta分析亦验证其提高腰椎BMD与降低骨折风险的有效性及安全性[17]。研究指出，绝经后骨质疏松不仅源于雌激素骤降所致骨重建失衡，近年更发现与“肠-骨轴”紊乱密切相关：OVX大鼠肠道产丁酸的乳酸菌、双歧杆菌显著减少，促炎的变形杆菌、拟杆菌增多[18]，这与本研究结果一致，青娥方干预后上述菌群紊乱得以纠正。菌群失衡后，脂多糖经血循环激活NF-κB并上调核因子κB受体活化因子配体及IL-1β、IL-6、TNF-α，引发成骨与破骨失衡，血清成骨标志物BGP、PINP、BALP降

低而骨吸收标志物CTX、TRAP升高，最终骨小梁破坏、加速骨流失[9, 19]。本研究观察到OVX大鼠p-P65表达明显升高，经青娥方干预后NF-κB通路受抑，下游炎症因子下调，同时PINP上调、CTX及TRAP降低，双向调节成骨-破骨功能；BALP因促炎刺激减弱而代偿性降低，BGP因骨吸收抑制、基质降解释放减少而回落[20-21]，提示青娥方可逆转病理性骨转换亢进。综上，青娥方通过“调节肠道菌群平衡—抑制NF-κB炎症通路—重塑骨代谢平衡”级联网络改善骨代谢紊乱，提升产丁酸有益菌丰度、降低促炎致病菌占比以促进SCFAs分泌，进而抑制NF-κB通路过度活化双向调控骨细胞活性，发挥防治骨质疏松的功效[22-24]。

虽然本研究探讨了青娥方在治疗骨质疏松症中的作用及其可能的机制，但依然存在一定局限性。第一，本研究为青娥方抗骨质疏松作用的初步探索，未设置阳性对照及核转移验证实验，故无法评价其相对于标准治疗的疗效强弱，亦不能确证NF-κB核转移阻断机制，上述局限将在后续研究中完善。第二，本研究仅通过动物实验验证了青娥方的疗效，未来需要通过临床研究进一步评估其对绝经后骨质疏松症患者的安全性和疗效。第三，本研究未对青娥方的具体成分进行深入分析，未来可通过成分分离与鉴定，明确其主要活性成分及作用机制。第四，青娥方在调节肠道菌群方面的具体机制尚不明确，未来可通过宏基因组学、益生菌补充、粪菌移植等手段进行深度解析。第五，青娥方是否能够在长期使用中维持其疗效，尚需通过更长周期的实验研究加以验证。

综上所述，本研究为青娥方作为骨质疏松症治疗药物的临床应用提供了实验依据，同时为未来的临床转化研究奠定了基础。通过更深入的研究，有望为绝经后骨质疏松症的治疗提供新的方案，同时为中药在骨代谢疾病中的应用提供更多的证据支持。

利益冲突声明：作者声明本研究不存在任何经济或非经济利益冲突。

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(2022)[J]. 中国全科医学, 2023, 26(14): 1671-1691. [Chinese Society of Osteoporosis and Bone Mineral Research. Guidelines for the diagnosis and treatment of primary osteoporosis (2022)[J]. Chinese General Practice, 2023, 26(14): 1671-1691.] DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0121.

2 中国康复医学会骨质疏松预防与康复专业委员会. 骨质疏松性骨折二级预防中国专家共识[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(45): 3581-3591. [Professional Committee on Osteoporosis Prevention and Rehabilitation, Chinese Association of Rehabilitation Medicine. Chinese expert consensus on secondary prevention of osteoporotic fractures[J]. National Medical Journal of China, 2022, 102(45): 3581-3591.] DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220923-02011.

3 Mann ER, Lam YK, Uhlig HH. Short-chain fatty acids: linking diet, the microbiome and immunity[J]. Nat Rev Immunol, 2024, 24: 577-595. DOI: 10.1038/s41577-024-01014-8.

4 Zhang YW, Wu Y, Liu XF, Chen X, Su JC. Targeting the gut microbiota-related metabolites for osteoporosis: the inextricable connection of gut-bone axis[J]. Ageing Res Rev, 2024, 94: 102196. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102196.

5 姚阳阳, 李天友, 王延宙. 双膦酸盐治疗成骨不全的疗效与争议[J]. 中华小儿外科杂志, 2021, 42(10): 956-960. [Yao YY, Li TY, Wang YZ. Efficacy and controversy of bisphosphonates in the treatment of osteogenesis imperfecta[J]. Chinese Journal of Pediatric Surgery, 2021, 42(10): 956-960.] DOI: 10.3760/cma.j.cn421158-20200430-00304.

6 Guan Z, Xuanqi Z, Zhu J, et al. Estrogen deficiency induces bone loss through the gut microbiota[J]. Pharmacol Res, 2023, 196: 106930. DOI: 10.1016/j.phrs.2023.106930.

7 郭世明, 吴志君, 何亚标, 等. 青娥方对去卵巢大鼠骨组织Src/p130Cas/CRK信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4347-4351. [Guo SM, Wu ZJ, He YB, et al. Effects of Qing′e Formula on the Src/p130Cas/CRK signaling pathway in bone tissue of ovariectomized rats[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 35(9): 4347-4351.] DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.09.012.

8 唐崇曦, 戴燚, 唐光平, 等. 青娥方对膝骨关节炎伴骨质疏松模型大鼠早期软骨下骨整合素及抑癌基因表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30(5): 1-5. [Tang CX, Dai Y, Tang GP, et al. Influence of Qing′e Formula on integrin and tumor-suppressor gene expression in early subchondral bone of rats with knee osteoarthritis and osteoporosis[J]. Chinese Journal of Traditional Medical Traumatology & Orthopedics, 2022, 30(5): 1-5.] DOI: 10.12209/j.issn.1005-0205.202205001.

9 吴永贵, 胡霞, 李章青, 等. 补肾法对绝经后骨质疏松症肠道菌群的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 504-507. [Wu YG, Hu X, Li ZQ, et al. Effect of kidney-tonifying therapy on intestinal flora in postmenopausal osteoporosis[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2022, 33(2): 504-507.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2022.02.71.

10 孙鑫, 杨铠宁, 王庆谚, 等. 基于"肾-血-骨"理论探究GH/IGF-1系统在青娥丸防治骨质疏松症中的作用机制[J]. 海南医学学报, 2022, 28(23): 1785-1791. [Sun X, Yang KN, Wang QY, et

al. Mechanism of GH/IGF-1 system in Qing'e Pill against osteoporosis based on "kidney-blood-bone" theory[J]. Journal of Hainan Medical University, 2022, 28(23): 1785-1791.] DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20220825.003.

11 Bhatnagar A, Kekatpure AL. Postmenopausal osteoporosis: a literature review[J]. Cureus, 2022, 14(9): e29367. DOI: 10.7759/cureus.29367.

12 Chen M, Gerges M, Raynor WY, et al. State of the art imaging of osteoporosis[J]. Semin Nucl Med, 2024, 54(3): 415-426. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2023.10.008.

13 中国中西医结合学会骨伤科专业委员会. 骨质疏松症中西医结合诊疗指南[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(45): 3524-3533. [Professional Committee of Orthopedics and Traumatology, Chinese Association of Integrative Medicine. Guidelines for integrated traditional Chinese and Western medicine diagnosis and treatment of osteoporosis[J]. National Medical Journal of China, 2019, 99(45): 3524-3533.] DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.45.002.

14 陆思成, 向昱阳, 唐正. 青娥丸联合钙尔奇D3治疗绝经后骨质疏松症肾阳虚型临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2019, 35(12): 1428-1430. [Lu SC, Xiang YY, Tang Z. Clinical observation of Qing'e Pill combined with Caltrate D3 in treating postmenopausal osteoporosis of kidney-yang deficiency type[J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2019, 35(12): 1428-1430.] DOI: 10.3969/j.issn.1004-2814.2019.12.012.

15 Xie H, Hua Z, Guo M, et al. Gut microbiota and metabonomics used to explore the mechanism of Qing'e Pills in alleviating osteoporosis[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 785-800. DOI: 10.1080/13880209.2022.2056208.

16 Lu J, Hu D, Ma C, et al. Modified Qing' e Pills exerts anti-osteoporosis effects and prevents bone loss by enhancing type H blood vessel formation[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 998971. DOI: 10.3389/fendo.2022.998971.

17 陈帆, 魏戊, 崔鑫, 等. 青娥丸治疗绝经后骨质疏松症的系统评价及Meta分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(2): 179-189. [Chen F, Wei X, Cui X, et al. Systematic review and Meta-analysis of Qing'e Pill in the treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research, 2021, 27(2): 179-189.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2021.02.006.

18 Zhu F, Liu H, Cao Y, et al. The combination of Butyricicoccus pullicaecorum and 3-hydroxyanthranilic acid prevents postmenopausal osteoporosis by modulating gut microbiota and Th17/Treg[J]. Eur J Nutr, 2024, 63(5): 1945-1959. DOI: 10.1007/s00394-024-03400-3.

19 Feng R, Wang Q, Yu T, et al. Quercetin ameliorates bone loss in OVX rats by modulating the intestinal flora-SCFAs-inflammatory signaling axis[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 136: 112341. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112341.

20 Wang N, Yang H, Tong X, et al. Ginkgolide B modulates the gut-bone axis to ameliorate bone loss in ovariectomized mice[J]. J Orthop Surg Res, 2025, 20(1): 804. DOI: 10.1186/s13018-025-06215-y.

21 Chen M, Wang J, Yang Y, et al. The interplay of estrogen, gut microbiome, and bone immunity in osteoporosis[J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 516. DOI: 10.1186/s12964-025-02538-9.

22 Yu M, Pal S, Paterson CW, et al. Ovariectomy induces bone loss via microbial-dependent trafficking of intestinal TNF+ T cells and Th17 cells[J]. J Clin Invest, 2021, 131(4): e143137. DOI: 10.1172/JCI143137.

23 Zaiss MM, Jones RM, Schett G, et al. The gut-bone axis: how bacterial metabolites bridge the distance[J]. J Clin Invest, 2019, 129(8): 3018-3028. DOI: 10.1172/JCI128521.

24 Tyagi AM, Yu M, Darby TM, et al. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via T regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression[J]. Immunity, 2018, 49(6): 1116-1131. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.10.013.

收稿日期：2025年11月12日 修回日期：2026年04月27日
本文编辑：周璐敏 冼静怡