doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.20.012

没食子水提物对实验性牙周炎的改善作用*

艾 林[1],高 鹏[1],李 恺[1],张若冰[2△]

(1. 中国人民解放军空军军医大学空军第九八六医院,陕西 西安 710054; 2. 陕西省药品监督管理局,陕西 西安 710065)

摘要:目的 探讨没食子水提物对实验性牙周炎的改善作用。**方法** 用不同浓度(10,20 μmol/L)没食子(即 B 组、C 组)分别在脂多糖(LPS)诱导下培养牙龈成纤维细胞并设 A 组(1 μg/mL LPS)和 D 组(20 μmol/L 没食子水提物);采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定细胞培养上清液中白细胞介素 1β(IL－1β)、肿瘤坏死因子－α(TNF－α)、骨保护素(OPG)和可溶性核因子受体激活剂(sRANKL)的浓度;采用 Western blot 法检测核因子 κB(NF－κB)的活性。通过结扎牙颈部以复制牙周炎大鼠模型,没食子水提物涂抹给药,实验设 E 组(模型)和 F_1,F_2 组(30,100 μg/g 没食子水提物);采用 ELISA 法检测 OPG 和 sRANKL 水平;采用天狼星红染色观察胶原纤维,并通过显微 CT 分析牙槽骨的吸收情况。**结果** B 组和 C 组与 D 组成纤维细胞活力比较无显著差异($P>0.05$)。与 D 组比较,A 组 TNF－α 和 IL－1β 表达水平明显升高($P<0.05$);与 A 组比较,B 组和 C 组 TNF－α 和 IL－1β 表达水平明显降低($P<0.05$)。与 D 组比较,A 组 sRANKL 及 NF－κB 中 p－p65 和 p－IκBα 表达水平明显升高,OPG/sRANKL 明显降低($P<0.05$);与 A 组比较,B 组和 C 组 sRANKL 显著降低,OPG/sRANKL 显著升高($P<0.05$)。3 组大鼠均出现牙槽骨缺损,其中 E 组牙槽骨嵴高度明显降低,第一与第二磨牙间可见明显的牙槽骨缺损,F_1 和 F_2 组牙槽骨缺损减少;E 组胶原纤维破坏严重,纤维束分散无序,F_1 组和 F_2 组的胶原纤维破坏较轻。**结论** 没食子水提物可通过抑制 LPS 诱导的 NF－κB 活化和降低 OPG/sRANKL 比值来改善牙周炎,该研究为牙周病的中药抗炎治疗提供了新思路。

关键词:没食子;牙周炎;大鼠;抗炎治疗;作用机制

中图分类号:R932;R285.5 **文献标志码:A** **文章编号:1006－4931(2021)20－0039－05**

Improvement Effect of Aqueous Extract from Turkish Galls on Experimental Periodontitis

AI Lin[1], *GAO Peng*[1], *LI Kai*[1], *ZHANG Ruobing*[2]

(*1. No. 986 Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, China 710054; 2. Shaanxi Medical Products Administration, Xi'an, Shaanxi, China 710065*)

Abstract: Objective To investigate the improvement effect of aqueous extract from Turkish galls on experimental periodontitis. **Methods** The

*基金项目:"十三五"军队后勤科研项目[CKJ20J027]。

第一作者:艾林,男,博士研究生,副主任医师,研究方向为口腔生物学及口腔生物力学,(电子信箱)173861355@qq.com。

△通信作者:张若冰,女,博士研究生,副主任药师,研究方向为口腔医学及药品监管,(电子信箱)375578739@qq.com。

ATP酶活性来促进水钠排泄,从而维持电解质和体液平衡,但不引起肾脏组织的变化,这为连翘的利尿作用机制提供了理论依据。

参考文献

[1] 简永耀,靳龙文. 连翘的化学成分及药理学研究[J]. 淮海医药,2009,27(4):349－350.

[2] 赵海焦,徐卫康,贾志华,等. 连翘酯苷脂质体在雏鸡体内的药动学研究[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(2):153－158.

[3] 李 敬,尤 颖,赵庆生,等. 连翘叶成分及生物活性研究进展[J]. 食品工业科技,2020,41(18):344－352.

[4] 张天锡,史 磊,刘 雯. 连翘化学成分、药理活性现代研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18(12):67－69.

[5] 李仪奎. 中药药理实验方法学(第二版)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:10.

[6] 高建华,邢凯霞,董 玉. 蒙药复方协日嘎－4 利尿作用实验研究[J]. 中国药业,2015,24(21):28－30.

[7] 晁 志,马丽玲,周秀佳. 益母草中生物碱成分对大鼠的利尿作用研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(11):11－12.

[8] 刘 明. 中药连翘药理作用的研究近况[J]. 现代医药卫生,2007,23(16):2438－2439.

[9] 胡泉东,陈琼锋,曹 畏. 肾素－血管紧张素－醛固酮系统在肺部疾病作用中的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版),2019,59(1):92－95.

[10] WEBER MA, SCHIFFRIN EL, WHITE WB, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension[J]. Journal of Clinical Hypertension, 2014, 16(1): 14－26.

[11] SEMLER MW, MARNEY AM, RICE TW, et al. B－type natriuretic peptide, aldosterone, and fluid management in acute respiratory distress syndrome[J]. Chest J, 2016, 150(1): 102－111.

[12] 马香芹,张 琨,黄显峰,等. 替米沙坦、氨氯地平对肾性高血压大鼠心钠素、醛固酮水平和左室重构的影响[J]. 实用医学杂志,2013,29(11):1750－1753.

[13] 邵水金,朱大诚. 解剖生理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2016:370－371,379－382.

[14] 葛顺娜. 硫化氢对大鼠肾脏水钠排泄的作用及其机制[D]. 上海:复旦大学,2010.

(收稿日期:2021－03－29;修回日期:2021－05－25)

gingival fibroblasts stimulated by lipopolysaccharide (LPS) were incubated with different concentrations of Turkish galls[10 μmol/L (group B), 20 μmol/L(group C)], group A(1 μg/mL LPS) and group B(20 μmol/L aqueous extract from Turkish galls) were established. The concentrations of interleukin-1β(IL-1β), tumor necrosis factor-α(TNF-α), osteoprotegerin (OPG) and soluble receptor activator of nuclear factor-κB ligand (sRANKL) in cell culture supernatant were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The activity of nuclear factor-κB (NF-κB) was assessed by Western blot. The rat model of periodontitis was established by ligating the tooth neck, and the aqueous extract from Turkish galls was applied. The group E(model) and groups F_1, F_2(30, 100 μg/g aqueous extract from Turkish galls)The levels of OPG and sRANKL were detected by the ELISA. Collagen fibers were observed by picro-sirius red staining. Alveolar bone loss was assessed by micro-CT analysis. **Results** There was no significant difference in the activity of fibroblasts among group B, group C and group D ($P > 0.05$). Compared with those in group D, the expression levels of TNF-α and IL-1β in group A increased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group A, the expression levels of TNF-α and IL-1β in group B and group C decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group D, the expression level of sRANKL and the expression levels of p-p65 and p-IκBα in NF-κB in group A increased significantly, while the expression levels of OPG/sRANKL decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group A, the sRANKL in groups B and C decreased significantly, while the OPG/sRANKL in groups B and C increased significantly($P < 0.05$). Alveolar bone loss was found in all three groups, the height of alveolar bone ridge decreased significantly, obvious alveolar bone loss was observed between the first and second molars in group E, and alveolar bone loss was reduced in groups F_1 and F_2. The collagen fibers in group E were seriously damaged, and the fiber bundles were scattered and disordered, while the collagen fibers in groups F_1 and F_2 were slightly broken. **Conclusion** Aqueous Extract from Turkish galls can improve periodontitis by inhibiting LPS-induced NF-κB activation and reducing the OPG/sRANKL ratio. This study provides a new idea for the anti-inflammatory treatment of periodontal disease with traditional Chinese medicine.

Key words: Aqueous Extract from Turkish galls; periodontitis; rats; anti-inflammatory treatment; mechanism

牙周炎临床治疗多采用刮治和根面平整方式,以降低菌群水平[1]。强力霉素等抗菌药物可通过破坏基质金属蛋白酶的作用而改变宿主对牙周病原体的反应,从而减少宿主自体介导的组织破坏,但全身使用抗菌药物会导致多种不良后果[2]。牙龈组织是牙周炎初期最先受影响的组织,牙龈成纤维细胞是牙龈的主要细胞类型,可通过脂多糖(LPS)激活核因子 κB(NF-κB)信号通路,产生白细胞介素 1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)等炎性细胞因子。转录因子 NF-κB 是炎性反应的关键成分[3],骨保护素(OPG)和核因子 κB 受体活化因子配体(RANKL)的表达和激活对牙槽骨的吸收和代谢也起重要作用[4]。中药或天然物质药物治疗牙周炎具有独特优势[5]。没食子性寒、味苦,具有固涩、收敛、燥湿、止血功效,以及抗炎活性[6-8]。本研究中探讨了没食子水提物对 LPS 诱导的大鼠牙龈成纤维细胞炎性反应和结扎诱导的实验性牙周炎的抑制作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药与动物

仪器:Western blot 荧光分析仪、聚合酶链反应仪、酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);SkyScan 1176 型微计算机断层扫描仪(美国 Bruker 公司);Ambion-PARIS 系统。

试药:没食子(新疆奇康哈博维药有限责任公司,批号为 20161112);NF-κB、p-p65(批号 ab32536),p-IκBα(批号 ab109300),胎牛血清(批号 12103C),胰蛋白酶(批号 T2600000),DMEM 培养基(批号 D08919);IL-1β(批号 I2393),TNF-α(批号 RAB0479),OPG(批号 RAB1134)和可溶性 RANKL(sRANKL)酶联免疫吸附试剂盒(美国 Sigma 公司);抗体(英国 Abcam 公司);二甲基亚砜(DMSO)。

动物:Wistar 大鼠,由空军军医大学实验动物中心提供,实验动物使用许可证号 SYXK(陕)2018-002。本研究经空军军医大学第九八六医院动物伦理委员会批准。

1.2 方法

水提取物制备:取没食适量子,粉碎为粗粉,加 6 倍量水浸泡 2 h,煎煮 4 次,每次 1 h,合并煎液,滤过,取续滤液;真空干燥为浸膏后称定质量,待用。

细胞培养与分组给药:切取无牙周病的 6 周龄雄性 Wistar 大鼠的正常牙龈组织,在含 20% 胎牛血清(FBS)、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的DMEM 培养基中进行酶消化。细胞汇合后,用 0.25% 胰蛋白酶分离,在含 10% FBS 及 100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素溶液的 DMEM 中传代培养。培养基每 48 h 换液1 次,以第 5~7 代间的牙龈成纤维细胞进行试验。取成纤维细胞 32 个,随机分为 A 组、B 组、C 组、D 组,各 8 个。A 组予 1 μg/mL LPS,B 组予 LPS+10 μmol/L 没食子水提物,C 组予 LPS+20 μmol/L 没食子水提物,D 组予 20 μmol/L 没食子水提物+正常成纤维细胞,作为空白对照。

大鼠分组、给药与模型复制:取雄性 Wistar 大鼠 24 只,

随机分为 E 组、F_1 组、F_2 组，各 8 只。F_1 组、F_2 组从结扎前 1 d 开始每天用棉签涂抹牙周组织 30，100 μg/g 没食子水提物，每天 3 次，E 组予等体积 0.9% 氯化钠溶液。将正畸结扎丝固定在右侧第一下磨牙的牙颈部，并用牙科探针划破牙龈以复制牙周炎大鼠模型。

1.3 观察指标

细胞活力：采用 MTT 法，将牙龈成纤维细胞接种于 96 孔板（每孔 1×10^4 个细胞）中，CO_2 培养箱（5% CO_2、37 ℃、饱和湿度；孔内含 50 U/mL 青霉素、10 mg/mL 链霉素及 10% FBS 的无血清 DMEM 培养液）中培养 12 h。各组细胞再用不同浓度的没食子水提物再次孵育 24 h，然后向每孔中添加 20 μL MTT（5 mg/mL），培养 4 h。去除培养基，并向每孔中添加 150 μL DMSO。检测 450 nm 波长处的吸光度（OD_{450}）值。

相关因子水平：采用 ELISA 法则各组细胞上清液中 IL－1β，TNF－α，OPG，sRANKL 的水平。计算时所有检测结果均减去空白对照值，根据标准液的检测结果拟合出标准曲线，求出标本大鼠血清中 OPG 和 RANKL 水平。

NF－κB 蛋白表达：提取牙龈成纤维细胞核，采用双辛酸定量法检测 NF－κB 蛋白含量。各组取 20 μg 上样，10% SDS－PAGE 电泳后湿法电转，5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h，TBST 清洗 3 次，加入一抗，4 ℃孵育过夜，回收一抗，TBST 清洗 3 次，加入二抗，室温振摇 1 h，回收二抗，TBST 清洗 3 次，加入 ECL 化学发光剂，将 PVDF 膜放入暗盒中，压上 X 胶片，取出胶片后显影、定影、清洗。以条带数字化后的目的条带与内参条带的变化值为各目的蛋白的相对表达量。

骨吸收：对 E，F_1，F_2 组大鼠进行显微 CT 分析（65 kV，380 μA），扫描分辨率为 9 μm。三维分析和重建下颌骨组织，使用标准化灰度值计算体积。

胶原纤维：腹腔麻醉，处死 E，F_1，F_2 组大鼠，分离下颌骨，硬组织切片，脱矿，然后用 0.1% 天狼星红染色 60 min，用 0.01 mol/L 盐酸冲洗 2 min，并固定密封，偏光显微镜下分析牙龈纤维。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析。数据行单因素方差分析，组间比较采用 SNK－q 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 牙龈成纤维细胞活力

B 组和 C 组与 D 组成纤维细胞活力比较无显著差异（$P>0.05$），详见图 1。

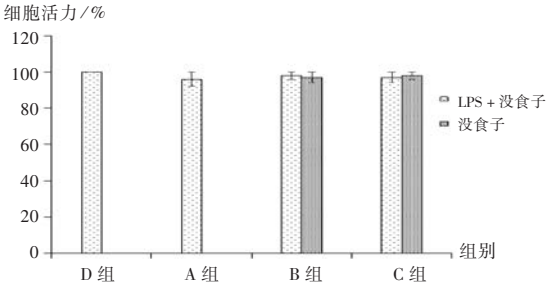
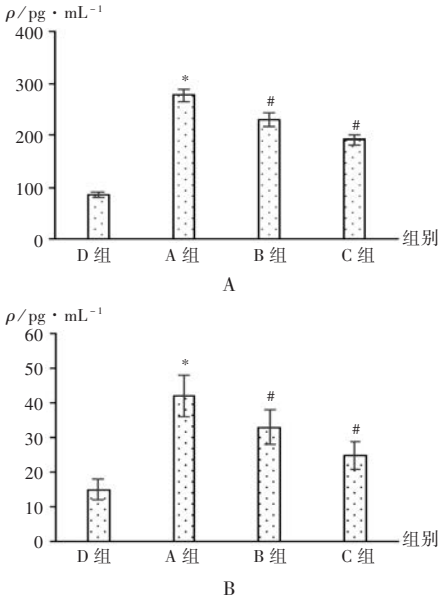


图 1 各组大鼠牙龈成纤维细胞活力

Fig. 1 The viability of gingival fibroblasts in each group

2.2 细胞及血清中炎性因子水平表达水平

与 D 组比较，A 组大鼠的 TNF－α 和 IL－1β 表达水平明显升高（$P<0.05$）。与 A 组比较，B 组和 C 组大鼠的 TNF－α 和IL－1β 表达水平明显降低（$P<0.05$）。详见图 2。



A. TNF－α　B. IL－1β

注：与 D 组比较，* $P<0.05$；与 A 组比较，# $P<0.05$。图 3 及图 4 同。

图 2 各组 TNF－α 和 IL－1β 表达水平

A. TNF－α　B. IL－1β

Note: Compared with those in group D, * $P<0.05$; compared with those in group A, # $P<0.05$; as well as Fig. 3 and Fig. 4.

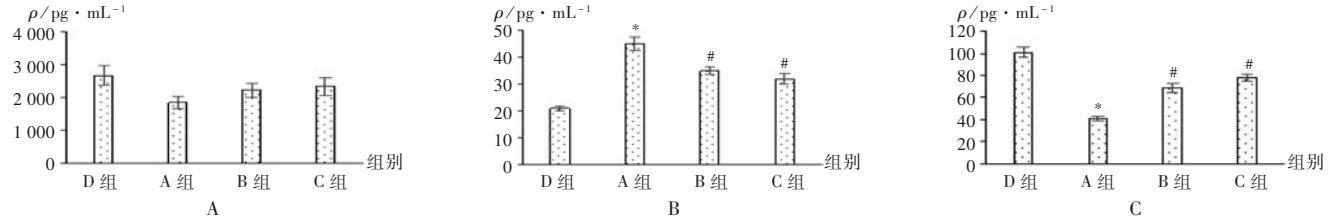
Fig. 2 The expression levels of TNF－α and IL－1β in each group

2.3 NF－κB 蛋白表达水平

与 D 组比较，A 组 sRANKL 及 NF－κB 中 p－p65 和 p－IκBα 水平均明显升高，OPG/sRANKL 明显降低（$P<0.05$）；与 A 组比较，B 组和 C 组 sRANKL 及 NF－κB 中 p－p65 和 p－IκBα 水平均显著降低，OPG/sRANKL 显著升高（$P<0.05$）。详见图 3 和图 4。

2.4 骨吸收及胶原纤维形态学

显微 CT 观察，第一磨牙和第二磨牙间的下颌骨牙槽骨丢失。3D 重组图像显示，3 组大鼠均出现牙槽骨缺损。A 组牙槽骨嵴高度明显降低，第一与第二磨牙间可见明显的牙槽骨缺损；B_1 组和 B_2 组牙槽骨缺损减少（见图 5）。天狼星染色显示，A 组胶原纤维破坏严重，纤维束分散无序，B_1 和 B_2 组的胶原纤维破坏较轻（见图 6）。

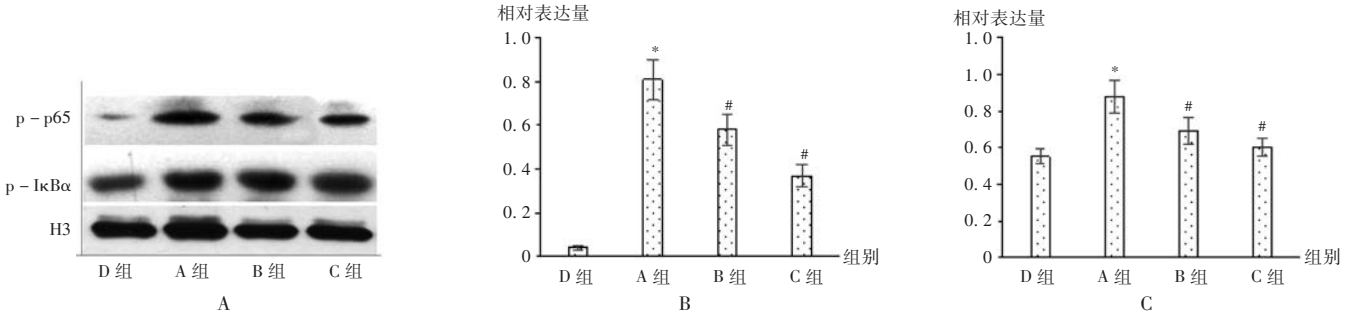


A. OPG B. sRANKL C. OPG/ sRANKL

图 3 各组 OPG 及 sRANKL 的表达水平

A. OPG B. sRANKL C. OPG/sRANKL

Fig. 3 The expression levels of OPG and sRANKL in each group

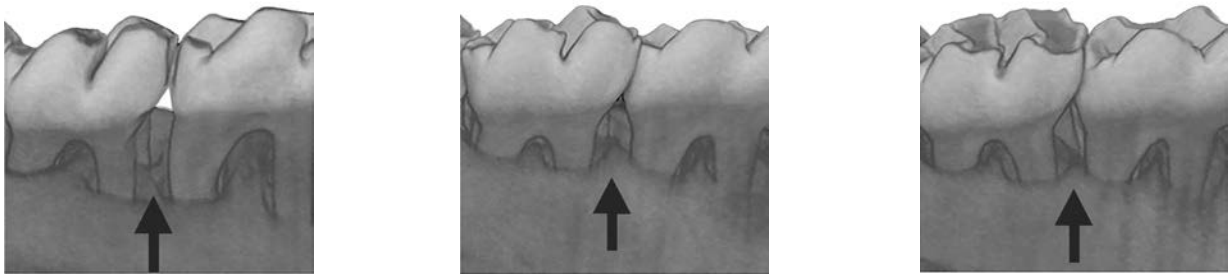


A. 电泳图 B. p – p65/H3 柱形图 C. p – IκBα/H3 柱形图

图 4 各组 NF – κB 表达水平

A. Electrophoretic diagram B. p – p65/H3 column diagram C. p – IκBα/H3 column diagram

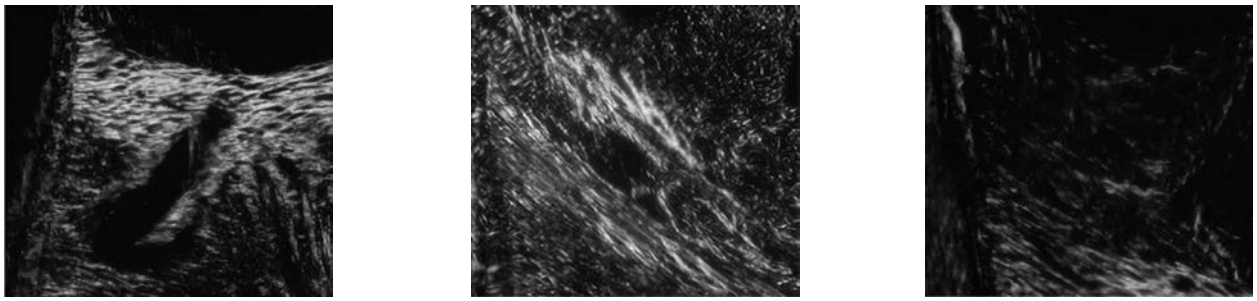
Fig. 4 The expression level of NF – κB in each group



E 组 F_1 组 F_2 组

图 5 3 组大鼠骨吸收情况

Fig. 5 The bone loss of rats in the three groups



E 组 F_1 组 F_2 组

图 6 3 组大鼠胶原纤维(天狼星红色染色,×40)

Fig. 6 The collagen fibers of rats in the three groups(picro – sirius red staining, ×40)

3 讨论

没食子已被证明有抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒等多种生物学特性[9]。《新修本草》记载其味苦,性温,无毒;《本草从新》载其涩精固气;《现代实用中药学》载其主治湿热疾病,如牙龈肿痛等。为没食子治疗牙周炎提供了依据[10]。有研究发现,没食子提取物对大鼠进行灌肠,大鼠无明显毒性反应[11]。本研究中采用 MTT 法检测了没食子对大鼠牙龈成纤维细胞的细胞毒性作用。结果显

示，没食子水提物处理的成纤维细胞与正常成纤维细胞无明显差异，所以本课题组在动物实验时未使用任何阴性或安慰剂对照来进行一致性比较，主要探讨没食子的抗炎作用机制。

TNF－α 和 IL－1β 为重要的促炎介质[12]，牙周炎发病初期，牙周细菌及其代谢产物首先侵入和刺激牙龈组织，IL－1β 和 TNF－α 也会过度表达[13－14]。ELLSA 结果显示，没食子能抑制 LPS 诱导的大鼠牙龈成纤维细胞 IL－1β 和 TNF－α 的产生，表明没食子在调节牙周病相关免疫反应方面具有潜在作用。

本研究结果表明，没食子可显著抑制 LPS 诱导的 NF－κB 上调和磷酸化。NF－κB 的激活可刺激牙周病发展过程中发生的多种炎性反应，包括诱导黏附分子、激活基质金属蛋白酶等。牙龈成纤维细胞 NF－κB 的激活导致炎性细胞因子 IL－1β 和 TNF－α 的过度释放，进一步增强了牙周组织的破坏。IL－1β 和 TNF－α 也可增强破骨细胞的集聚和活化，激活 RANKL，促进骨破坏[15]。

OPG 和 RANKL 的表达和激活对牙槽骨的吸收和代谢至关重要[16]。破骨细胞在 RANKL/RANK 信号调控下与单核/巨噬细胞前体细胞分化。OPG 是一种分泌性蛋白质，通过与 RANKL 结合并阻止其与 RANK 结合来防止骨骼过度吸收。LPS 刺激牙龈成纤维细胞的 sRANKL 和 OPG 通过旁分泌阻断牙槽骨代谢。本研究结果表明，与 LPS、没食子共孵育后，牙龈成纤维细胞培养上清液中 OPG/sRANKL 升高，表明没食子可通过上调 OPG/sRANKL 而减轻 LPS 诱导的破骨细胞活化和牙槽骨吸收。

体内、组织学观察和显微 CT 结果显示，实验性牙周炎大鼠可见牙龈炎症和牙槽骨丢失，没食子水提物可减轻牙龈炎症和牙槽骨缺失程度。天狼星红染色显示，实验性牙周炎大鼠的牙龈纤维束呈散在、紊乱状态，而没食子能减轻胶原纤维的破坏。

综上所述，没食子水提物可显著减轻牙龈炎症，调节胶原纤维和牙槽骨丢失，并能显著抑制 LPS 诱导的 NF－κB 活化，降低 OPG/sRANKL。

参考文献

[1] 任起辉，司亚静，刘婉仪．三黄健齿汤治疗慢性牙周炎合并动脉粥样硬化疗效及对患者 IL－1β、IL－6 水平的影响研究[J]．陕西中医，2018，39(9)：1253－1256.

[2] 孔燕凌，徐月启，张乃晨，等．加味清胃汤治疗慢性牙周炎疗效及对患者牙周菌斑分布、炎症水平、PGE_2 水平的影响[J]．陕西中医，2018，39(7)：928－930.

[3] PHUSUNTORNSAKUL P，JITPUKDEEBODINTRA S，PAVASANT P，et al. Vibration activates the actin/NF－kappaB axis and upregulates IL－6 and IL－8 expression in human periodontal ligament cells[J]. Cell Biol Int，2020，44(2)：661－670.

[4] TOBEIHA M，MOGHADASIAN MH，AMIN N，et al. RANKL/RANK/OPG Pathway：A Mechanism Involved in Exercise－Induced Bone Remodeling[J]．Biomed Res Int，2020，2020：6910312.

[5] 孟红军，王守儒．养阴清火方治疗慢性牙周炎疗效及对患者 TNF－α、IL－1β、IL－6 影响的研究[J]．陕西中医，2018，39(12)：1731－1734.

[6] GONG J，LI L，LIN YX，et al. Simultaneous determination of gallic acid，methyl gallate，and 1，3，6－tri－*O*－galloyl－β－D－glucose from *Turkish galls* in rat plasma using liquid chromatography－tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetics study[J]. Biomedical Chromatography，2020，34(10)：e4916.

[7] 杨琳媛，赵　燕，吕　卓，等．HPLC 法测定不同产地叶下珠中没食子酸的含量[J]．陕西中医，2014，35(10)：1416－1417.

[8] 艾泽馨，李　家，吴洋欧，等．茶黄素－3，3′－双没食子酸酯对骨质疏松的作用及机制初探[J]．口腔颌面外科杂志，2020，30(4)：206－210.

[9] YU W，SU X，CHEN W，et al. Three types of gut bacteria collaborating to improve Kui Jie′an enema treat DSS－induced colitis in mice[J]. Biomed Pharmacother，2019，113：108751.

[10] KARAHAN F，OZYIGIT II，SARACOGLU IA，et al. Heavy Metal Levels and Mineral Nutrient Status in Different Parts of Various Medicinal Plants Collected from Eastern Mediterranean Region of Turkey[J]. Biol Trace Elem Res，2020，197(1)：316－329.

[11] 斯拉甫·艾白，努尔买买提·艾买提，肖开提，等．维药西帕依溃结灌肠液一般毒理学研究[J]．中国民族医药杂志，2008(8)：28－30.

[12] GOMES AM，DOUGLAS－DE－OLIVEIRA DW，FERREIRA SD，et al. Periodontal disease，peri－implant disease and levels of salivary biomarkers IL－1beta，IL－10，RANK，OPG，MMP－2，TGF－beta and TNF－alpha：follow－up over 5 years[J]. J Appl Oral Sci，2019，27：e20180316.

[13] BENJAKUL S，UNAT B，THAMMANICHANON P，et al. Vibration synergistically enhances IL－1beta and TNF－alpha in compressed human periodontal ligament cells in the frequency－dependent manner[J]．J Oral Biol Craniofac Res，2020，10(4)：412－416.

[14] OHTA M，CHOSA N，KYAKUMOTO S，et al. IL－1β and TNF－α suppress TGF－β－promoted NGF expression in periodontal ligament－derived fibroblasts through inactivation of TGF－β－induced Smad 2/3－ and p38 MAPK－mediated signals[J]. Int J Mol Med，2018，42(3)：1484－1494.

[15] DE CASTRO LF，BURKE AB，WANG HD，et al. Activation of RANK/RANKL/OPG Pathway is Involved in the Pathophysiology of Fibrous Dysplasia and Associated With Disease Burden[J]. J Bone Miner Res，2019，34(2)：290－294.

[16] AMIN N，BOCCARDI V，TAGHIZADEH M，et al. Probiotics and bone disorders：the role of RANKL/RANK/OPG pathway[J]. Aging Clin Exp Res，2020，32(3)：363－371.

（收稿日期：2021－01－05；修回日期：2021－04－23）