

· 基础研究 ·

# 基于中药系统药理学方法研究六味地黄丸 治疗骨质疏松症的药效成分、作用靶点及作用特点

梁博程, 史晓林, 许超, 吴连国, 何滨, 李琰华, 李敏  
(浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州 310005)

**摘要 目的:**基于中药系统药理学方法探讨六味地黄丸治疗骨质疏松症(osteoporosis, OP)的药效成分、作用靶点及作用特点。**方法:**在中药综合数据库中检索六味地黄丸中的已知化学成分,然后使用中医药分子机制生物信息学分析工具预测六味地黄丸已知化学成分的作用靶点。通过检索 DisGeNET 数据库和人工阅读文献,查找 OP 相关靶基因和蛋白,通过与预测得到的作用靶点进行交叠,筛选六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点。利用 Cytoscape 3.7 软件自带的 BiNGO 和 ClueGO 插件,分别对筛选出的靶点进行基因注释和信号通路富集分析。最后选取前期构建的绝经后 OP 疾病模型中的 87 个差异表达蛋白(基于血清蛋白质组学筛选的绝经后 OP 女性与绝经后骨量正常女性的血清差异表达蛋白),与筛选出的六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点进行交叠,筛选六味地黄丸治疗 OP 的关键靶点,通过分析原始数据,确定相应的中药及其药效成分。**结果:**通过检索发现六味地黄丸化学成分 130 个,其中熟地黄化学成分 8 个、山药化学成分 20 个、山茱萸化学成分 46 个、泽泻化学成分 21 个、牡丹皮化学成分 18 个、茯苓化学成分 21 个;茯苓与山茱萸、山茱萸与牡丹皮各含有 1 个相同化学成分,泽泻与山茱萸含有 2 个相同化学成分。根据六味地黄丸化学成分共预测到 1169 个作用靶点,其中君药熟地黄作用靶点 42 个,臣药山茱萸和山药作用靶点 997 个,佐药泽泻、牡丹皮和茯苓作用靶点共 622 个;君药与臣药共有 12 个共同作用靶点,君药与佐药有 14 个共同作用靶点,臣药与佐药有 472 个共同作用靶点,君药、臣药、佐药共有 6 个共同作用靶点。经检索 DisGeNET 数据库和人工阅读文献,共检索到 OP 相关靶点 687 个,通过与预测到的六味地黄丸作用靶点交叠,共筛选出六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点 142 个。靶点基因注释发现,六味地黄丸治疗 OP 的 142 个作用靶点主要参与了 20 种生物学过程,分布于 8 种细胞成分中,具有 10 种分子功能,其作用涉及骨重建、骨化、血管重塑、软骨发育、肌肉发育、骨骼发育、维生素 D 代谢、维生素应答、雌激素刺激应答、破骨细胞分化、成骨细胞分化、骨矿化、Wnt 信号通路和 Samd 信号通路等生物学行为的调控。信号通路富集分析发现,119 个信号通路被显著富集,破骨细胞分化、NF- $\kappa$ B 信号通路和卵巢类固醇生成等 24 个功能组被显著富集,其中 Wnt 信号通路和与绝经后 OP 密切相关的雌激素调控信号通路等在 24 个功能组中广泛分布。通过将 87 个差异表达蛋白与筛选出的六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点交叠,筛选出血管紧张素原、载脂蛋白 E、Dickkopf 相关蛋白 3、RAS 相关蛋白 7a 和蛋白质二硫键异构酶共 5 个关键靶点,对应山茱萸、山药、茯苓的 6 个药效成分,包括马兜铃酮、 $\alpha$ -考来烯醇、豆甾醇、尿囊素、鞘氨醇 A 及齿孔醇。**结论:**六味地黄丸治疗 OP 的药效成分包括山药、山茱萸和茯苓所含化合物马兜铃酮、 $\alpha$ -考来烯醇、豆甾醇、尿囊素、鞘氨醇 A 及齿孔醇,主要作用靶点包括血管紧张素原、载脂蛋白 E、Dickkopf 相关蛋白 3、RAS 相关蛋白 7a 和蛋白质二硫键异构酶。六味地黄丸治疗 OP 具有多靶点、多系统协同作用的特点。

**关键词** 骨质疏松;六味地黄丸;药理作用;基因本体论;信号通路

## A study of pharmacodynamic components, action targets and characteristics of Liuwei Dihuang Wan(六味地黄丸) in treatment of osteoporosis using traditional Chinese medicine systems pharmacology approach

LIANG Bocheng, SHI Xiaolin, XU Chao, WU Lianguo, HE Bin, LI Yanhua, LI Min

The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, Zhejiang, China

**ABSTRACT Objective:** To explore the pharmacodynamic components, action targets and characteristics of Liuwei Dihuang Wan(六味地黄丸, LWDHW) in treatment of osteoporosis(OP) using traditional Chinese medicine(TCM) systems pharmacology approach. **Methods:** The known chemical components of LWDHW were searched out from traditional Chinese medicine integrative database(TCMID), and the action targets of known chemical components of LWDHW were predicted by using a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of

基金项目:国家自然科学基金项目(81803902)

通讯作者:李敏 E-mail:liminist@163.com

traditional Chinese medicine (BATMAN-TCM). The OP-related target genes and proteins were searched out through retrieving DisGeNET database and reading the articles, and the action targets of LWDHW for treatment of OP were selected out through overlapping the OP-related target genes and proteins with the predicted action targets. Gene annotation and signal pathway enrichment analysis were performed on the selected targets respectively by using BiNGO and ClueGO plug-ins in Cytoscape 3.7 software. Eighty-seven proteins, which differentially expressed in serum of females with PMOP and postmenopausal females with normal bone mass, were selected out from the PMOP models to overlap with the selected action targets of LWDHW for treatment of OP, and the key targets of LWDHW for treatment of OP were selected out finally. The corresponding TCMs and their pharmacodynamic components were determined through analyzing the original data.

**Results:** One hundred and thirty chemical components of LWDHW were found out through retrieving TCMID, including the chemical components of *radix rehmanniae praeparata* (8), *rhizoma dioscoreae* (20), *fructus corni* (46), *rhizoma alismatis* (21), *cortex moutan radicis* (18) and *poria cocos* (21). One identical chemical component was found in *poria cocos* and *fructus corni* and in *fructus corni* and *cortex moutan radicis* respectively, and two identical chemical components were found in *rhizoma alismatis* and *fructus corni*. One thousand one hundred and sixty-nine action targets were predicted according to the chemical components of LWDHW, including the action targets of *radix rehmanniae praeparata* (sovereign drug, 42), *fructus corni* and *rhizoma dioscoreae* (minister drug, 997) and *rhizoma alismatis*, *cortex moutan radicis* and *poria cocos* (assistant drug, 622). The common action targets were found in sovereign drug and minister drug (12), sovereign drug and assistant drug (14), minister drug and assistant drug (472) and sovereign drug, minister drug and assistant drug (6). Six hundred and eighty-seven OP-related targets were searched out through retrieving DisGeNET database and reading the articles, and 142 action targets of LWDHW for treatment of OP were selected out by overlapping the OP-related targets with the predicted action targets of LWDHW. The results of gene annotation for the targets demonstrated that the 142 action targets of LWDHW for treatment of OP were mainly involved in 20 kinds of biological processes, distributed in 8 kinds of cell components and had 10 kinds of molecular functions, and played a role in the regulation of biological behaviors such as bone reconstruction, ossification, vascular remodeling, cartilage development, muscle development, bone development, vitamin D metabolism, response to vitamin, response to estrogen stimulation, osteoclast differentiation, osteoblast differentiation, bone mineralization, Wnt signaling pathway and Samd signaling pathway. The results of signal pathway enrichment analysis of the targets demonstrated that 119 signaling pathways were significantly enriched, and 24 functional groups including osteoclast differentiation, NF- $\kappa$ B signaling pathway and ovarian steroidogenesis were significantly enriched, and Wnt signaling pathway and PMOP-related estrogen regulation signaling pathway were widely distributed in the 24 functional groups. Five key targets, including angiotensinogen (AGT), apolipoprotein E (APOE), Dickkopf-related protein 3 (DKK3), RAB7A and protein disulfide isomerase (PDI), were selected out through overlapping the 87 differentially expressed proteins with the selected action targets of LWDHW for treatment of OP, and they corresponded to the 6 pharmacodynamic components of *fructus corni*, *rhizoma dioscoreae* and *poria cocos*, including aristolone,  $\alpha$ -corocalene, stigmasterol, allantoin, sphingosine A and eburicol. **Conclusion:** The pharmacodynamic components of LWDHW for treatment of OP include aristolone,  $\alpha$ -corocalene, stigmasterol, allantoin, sphingosine A and eburicol, which are contained in *rhizoma dioscoreae*, *fructus corni* and *poria cocos*, and their main action targets include AGT, APOE, DKK3, RAB7A and PDI. LWDHW is characterized by synergistic effect of multiple targets and multiple systems in treatment of OP.

**Keywords** osteoporosis; Liuwei Dihuang Wan; pharmacologic actions; gene ontology; signaling pathway

老年人骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 的发生率为 36%<sup>[1]</sup>。当前用于治疗 OP 的药物以西药为主, 主要分为钙剂、维生素 D、抗骨吸收药物及促骨形成药物, 可以有效降低骨质疏松性骨折的风险, 但长期疗效尚无法确定, 且不良反应较多, 整体疗效并不满意<sup>[2]</sup>。六味地黄丸为治疗 OP 肾阴虚证的推荐方药<sup>[3-4]</sup>, 但其具有多组分、多靶点协同干预的特点<sup>[5]</sup>, 以往无法进行多重机制分析<sup>[6]</sup>, 使得其治疗 OP 的作用机制尚不明确。

中药系统药理学是基于系统生物学理论, 通过对

生物系统的网络分析, 选取特定信号节点进行多靶点药物分子设计的新学科, 为研究中药活性物质及组合、作用靶点、药效物质和疾病关系提供了技术支持, 使研究中药及复方的作用机制成为可能<sup>[7]</sup>。本研究通过中药系统药理学方法探讨了六味地黄丸治疗 OP 的药效成分、作用靶点及作用特点, 现总结报告如下。

## 1 材料与仪器

中药综合数据库 (traditional Chinese medicine integrated database, TCMID)<sup>[8]</sup>; PubChem Compound 数

数据库;中医药分子机制生物信息学分析工具(a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine, BATMAN - TCM)<sup>[9]</sup>;疾病基因网络数据库(disease gene network database, DisGeNET)<sup>[10]</sup>;UniProt 数据库;Cytoscape 3.7 软件<sup>[11]</sup>,其中 BiNGO 和 ClueGO(2.5.3)插件自带数据集更新时间为 2018 年 9 月 4 日;Venny 2.1 软件。

## 2 方法

**2.1 六味地黄丸化学成分分析及作用靶点预测** 在 TCMID 数据库中检索六味地黄丸组方中的 6 味中药(熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、牡丹皮、茯苓)已知化学成分,在 PubChem Compound 数据库逐一进行人工确认。将六味地黄丸组方中的 6 味药按配伍的君臣佐使关系输入 BATMAN - TCM 对应检索框,设置检索条件为:得分 $\geq 20$ 分、 $P < 0.05$ ,预测六味地黄丸已知化学成分的作用靶点。

**2.2 六味地黄丸治疗 OP 作用靶点筛选** 通过检索 DisGeNET 数据库和人工阅读文献,查找 OP 相关靶基因和蛋白,并通过 UniProt 数据库进行基因、蛋白名称转换。通过将预测得到的六味地黄丸作用靶点与检索到的 OP 相关靶点交叠的方法筛选六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点。

**2.3 六味地黄丸治疗 OP 作用靶点基因注释及信号通路富集分析** 利用 Cytoscape 3.7 软件自带的 BiNGO 和 ClueGO 插件,分别对筛选出的靶点进行基因注释和信号通路富集分析。基因功能注释统计方法选择 Hypergeometric test 和 Benjamini and Hochberg FDR correction,注释文件先后选择 GOSlim\_GOA 和 GO\_Biological\_Process 数据集,设置条件  $P < 0.05$ ,基因生物族群选择 Homo Sapiens;信号通路富集分析选择 ClueGO 中的功能性分析,可视化风格选择 Groups,设置条件  $P < 0.05$ 。

## 2.4 六味地黄丸治疗 OP 关键靶点和药效成分筛选

选取前期构建的绝经后 OP 疾病模型中的 87 个差异表达蛋白(基于血清蛋白质组学筛选的绝经后 OP 女性与绝经后骨量正常女性的血清差异表达蛋白)<sup>[12]</sup>,与筛选出的六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点进行交叠,筛选六味地黄丸治疗 OP 的关键靶点。基于筛选出的关键靶点,通过分析原始数据,确定相应的中药及其药效成分,并构建中药 - 药效成分 - 靶点关系图。

## 3 结果

### 3.1 六味地黄丸化学成分分析及作用靶点预测结果

通过检索发现六味地黄丸化学成分 130 个,其中熟地黄化学成分 8 个、山药化学成分 20 个、山茱萸化学成分 46 个、泽泻化学成分 21 个、牡丹皮化学成分 18 个、茯苓化学成分 21 个;茯苓与山茱萸、山茱萸与牡丹皮各含有 1 个相同化学成分,泽泻与山茱萸含有 2 个相同化学成分。根据六味地黄丸化学成分预测其作用靶点,去除重复后共 1169 个,其中君药熟地黄作用靶点 42 个,臣药山茱萸和山药作用靶点 997 个,佐药泽泻、牡丹皮和茯苓作用靶点共 622 个;君药与臣药共有 12 个共同作用靶点,君药与佐药有 14 个共同作用靶点,臣药与佐药有 472 个共同作用靶点,君药、臣药、佐药共有 6 个共同作用靶点。六味地黄丸君臣佐药预测靶点交叠韦恩图见图 1。

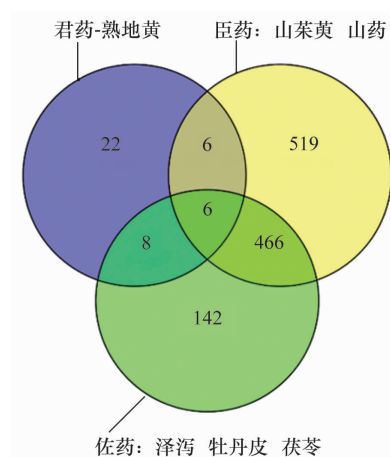


图 1 六味地黄丸君臣佐药预测靶点交叠韦恩图

**3.2 六味地黄丸治疗 OP 作用靶点筛选结果** 共检索到 OP 相关靶点 687 个,通过与预测到的六味地黄丸作用靶点交叠,共筛选出六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点 142 个(图 2)。

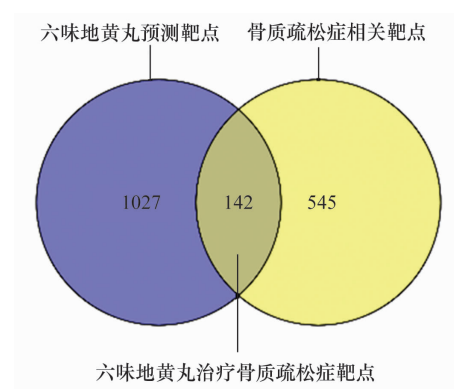


图 2 六味地黄丸治疗骨质疏松症作用靶点筛选示意图

### 3.3 六味地黄丸治疗 OP 作用靶点基因注释及信号

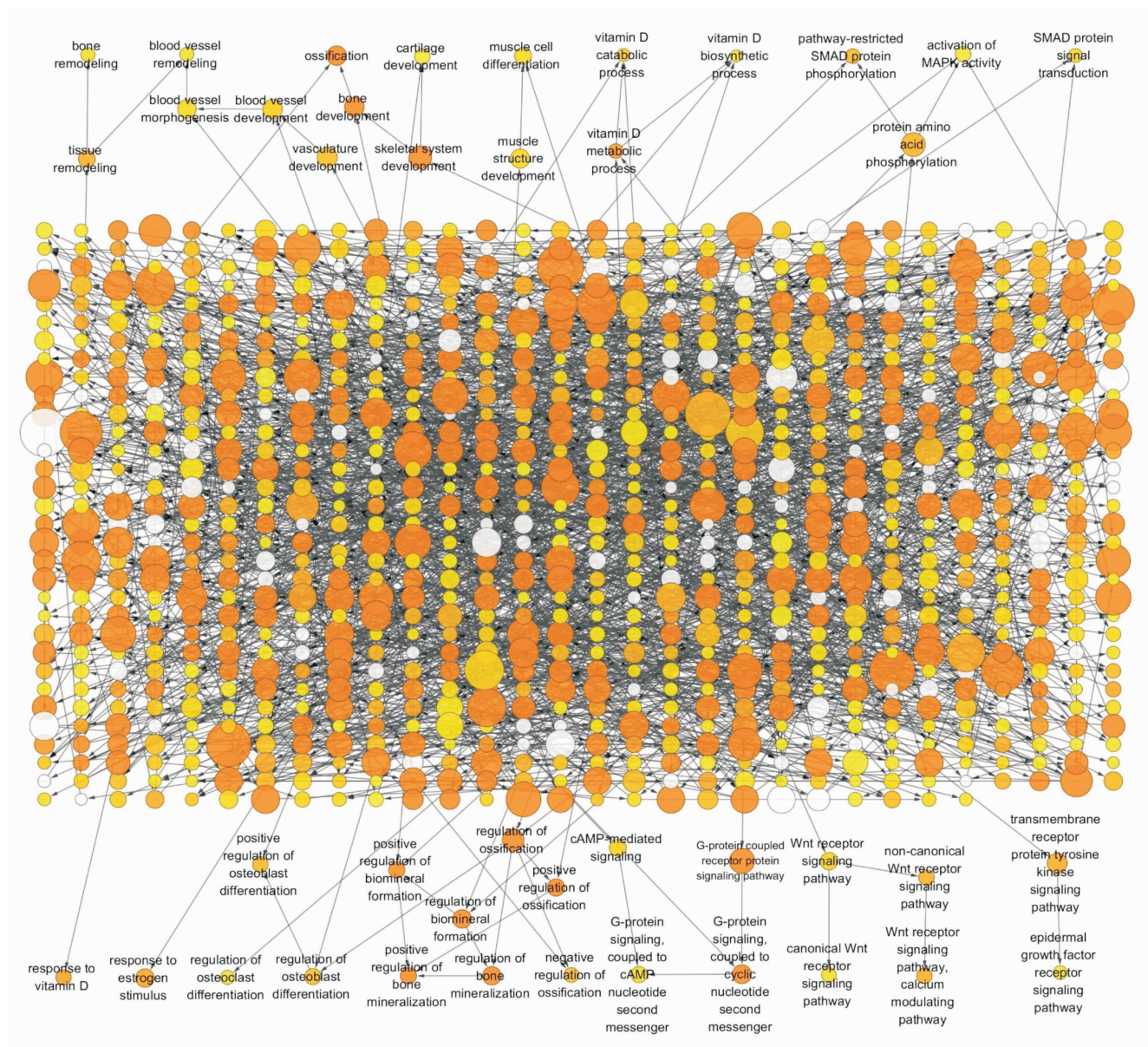


**通路富集分析结果** 靶点基因注释发现, 六味地黄丸治疗 OP 的 142 个作用靶点主要参与了 20 种生物学过程, 分布于 8 种细胞成分中, 具有 10 种分子功能, 其作用涉及骨重建、骨化、血管重塑、软骨发育、肌肉发育、骨骼发育、维生素 D 代谢、维生素应答、雌激素刺激应答、破骨细胞分化、成骨细胞分化、骨矿化、Wnt 信号通路和 Samd 信号通路等生物学行为的调控 (图 3)。

信号通路富集分析发现, 119 个信号通路被显著富集, 破骨细胞分化、NF- $\kappa$ B 信号通路和卵巢类固醇生成等 24 个功能组被显著富集 (图 4), 其中 Wnt 信号通路、与绝经后 OP 密切相关的雌激素调控信号通

路等在 24 个功能组中广泛分布。该结果与基于基因注释的生物学行为结果一致。这表明六味地黄丸通过 142 个作用靶点经多达 119 个信号通路多靶点相互协调治疗 OP。

**3.4 六味地黄丸治疗 OP 关键靶点和药效成分筛选结果** 通过将 87 个差异表达蛋白与筛选出的六味地黄丸治疗 OP 的作用靶点交叠, 筛选出血管紧张素原、载脂蛋白 E、Dickkopf 相关蛋白 3、RAS 相关蛋白 7a 和蛋白质二硫键异构酶共 5 个关键靶点 (图 5), 对应山茱萸、山药、茯苓的 6 个药效成分, 包括马兜铃酮、 $\alpha$ -考绕咖烯、豆甾醇、尿囊素、鞘氨醇 A 及齿孔醇。相应的中药-药效成分-靶点关系图见图 6。



图中圆圈的颜色深浅代表富集显著性程度, 颜色越深提示富集程度越高

图 3 六味地黄丸治疗骨质疏松症的 142 个作用靶点生物学过程深入分析网络关系图



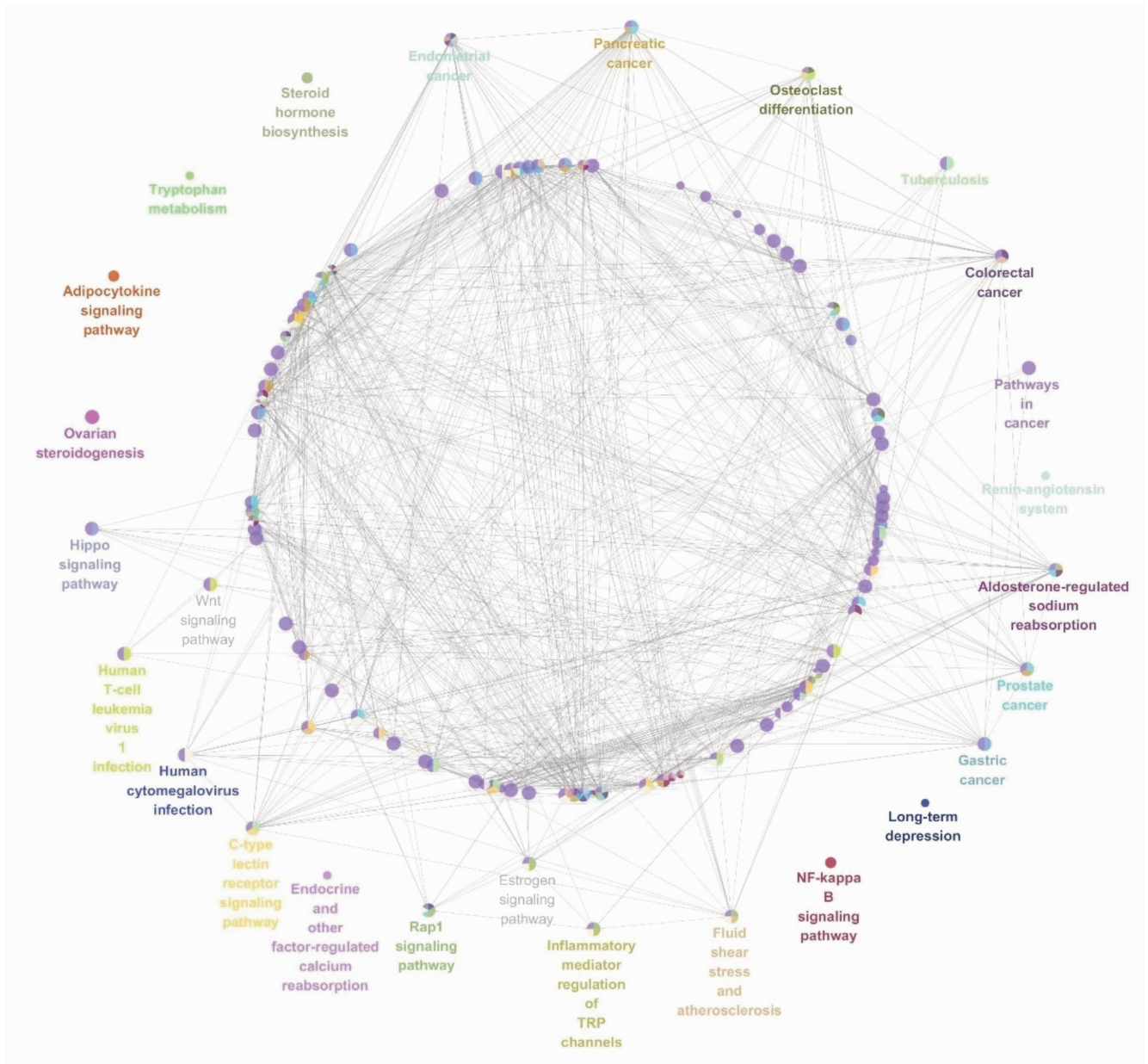


图 4 六味地黄丸治疗骨质疏松症的 142 个作用靶点的信号通路组群富集分析网络关系图

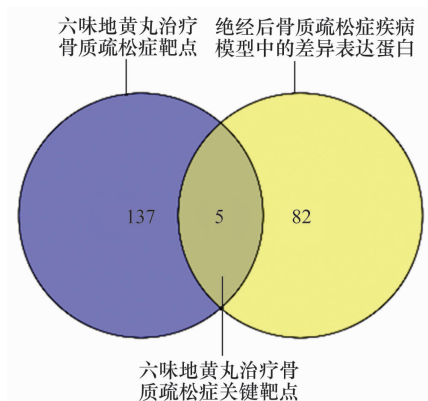


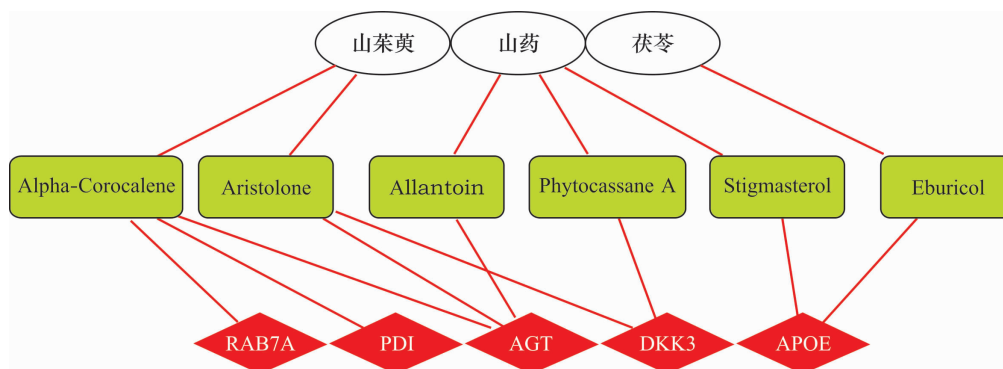
图 5 六味地黄丸治疗骨质疏松症关键靶点筛选示意图

#### 4 讨论

应用六味地黄丸治疗 OP 肾阴虚证,不仅能够增

加患者骨密度,提高患者生活质量,还可促进骨折愈合,其作用通路可能与 JAK/STAT 信号通路<sup>[13]</sup>、雌激素受体  $\alpha$  甲基化、心肌营养蛋白样细胞因子 1 靶点<sup>[14-15]</sup>, Wnt 信号通路<sup>[16]</sup> 有关。以往研究多是从单一机制和靶点进行研究,本研究采用中药系统药理学的方法对其药效成分和靶点进行了多组分、多靶点的研究,首次对其多靶点作用机制进行同时分析。

靶点注释表明,六味地黄丸作用靶点主要位于 8 种细胞成分中,其靶点分子功能多样,涉及成骨细胞调控、破骨细胞调控、雌激素应答、维生素 D 应答等多个生物过程,这些生物过程与骨重建过程密切相关,提示六味地黄丸直接参与 OP 发展的病理生理过程。信号通路分析结果显示,六味地黄丸治疗 OP 的 142



Alpha - Corocalene:  $\alpha$  - 考绕咖烯; Aristolone: 马兜铃酮; Allantoin: 尿囊素; Phytocassane A: 鞘氨醇 A; Stigmasterol: 甾甾醇; Eburicol: 齿孔醇; RAB7A: RAS 相关蛋白 7a; PDI: 蛋白质二硫键异构酶; AGT: 血管紧张素原; DKK3: Dickkopf 相关蛋白 3; APOE: 载脂蛋白 E

图 6 基于六味地黄丸治疗骨质疏松症关键靶点的中药 - 药效成分 - 靶点关系图

个靶点在 119 个信号通路中被显著富集,其中破骨细胞分化、内分泌和其他因子调控的钙吸收、雌激素信号通路、Wnt 信号通路、NF -  $\kappa$ B 信号通路等骨代谢和骨免疫通路被显著富集,且这些信号通路间相互联系,关系密切。

血管紧张素原水平与雌激素水平有关,且可经肾素酶催化生成血管紧张素。徐君翔等<sup>[17]</sup>的研究发现,血管紧张素转换酶抑制剂不仅可以很好地控制血压,还可维持骨密度。崔燎等<sup>[18]</sup>的研究发现,肾素 - 血管紧张素系统可通过 RANKL 诱导激活破骨细胞,加速骨量丢失。RAS 相关蛋白 7a 主要位于破骨细胞皱褶膜缘,参与破骨细胞的骨吸收<sup>[12]</sup>。载脂蛋白 E 可通过 ERK 途径促进成骨细胞分化,维持骨量<sup>[19]</sup>。Dickkopf 相关蛋白 3 基因在骨组织中广泛表达,对骨生长发育具有重要作用<sup>[20]</sup>。Bardai 等<sup>[21]</sup>的研究表明,蛋白质二硫键异构酶是导致脆骨病 - 成骨不全症的一个重要靶点,表明其可能与骨代谢存在重要关联。结合前面的六味地黄丸药效成分分析及靶点预测结果,这 5 个关键靶点是六味地黄丸组方中山药、山茱萸和茯苓所含化合物马兜铃酮、 $\alpha$  - 考绕咖烯、甾甾醇、尿囊素、鞘氨醇 A 及齿孔醇的作用靶点。

本研究的结果提示,六味地黄丸治疗 OP 的药效成分包括山药、山茱萸和茯苓所含化合物马兜铃酮、 $\alpha$  - 考绕咖烯、甾甾醇、尿囊素、鞘氨醇 A 及齿孔醇,主要作用靶点包括血管紧张素原、载脂蛋白 E、Dickkopf 相关蛋白 3、RAS 相关蛋白 7a 和蛋白质二硫键异构酶。六味地黄丸治疗 OP 具有多靶点、多系统协同作用的特点。

## 5 参考文献

[1] 《中国老年骨质疏松症诊疗指南》(2018)工作组,中国

老年学和老年医学学会骨质疏松分会. 中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(12): 1541 - 1567.

[2] 李继钢. 骨质疏松药物治疗研究进展[J]. 中国处方药, 2018, 16(4): 17 - 18.

[3] 中国老年学学会骨质疏松委员会中医药与骨病学科组. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(9): 1023 - 1028.

[4] 魏戎, 章铁立, 谢雁鸣. 原发性骨质疏松症中医药防治策略与研究方法[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(1): 5 - 9.

[5] 郑春松, 叶蕻芝, 蔡亮亮, 等. 基于计算机模拟探讨六味地黄丸治疗骨关节炎的多成分 - 多靶点作用[J]. 中医正骨, 2013, 25(1): 11 - 13.

[6] 王乐, 徐无忌. 六味地黄丸对兔椎间盘退变模型椎间盘组织中 I、II 型胶原表达的影响[J]. 中医正骨, 2016, 28(8): 1 - 7.

[7] 赖艳妮, 严一文, 徐培平. 基于系统药理学探索莪术有效成分的药理作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 177 - 182.

[8] HUANG L, XIE D L, YU Y R, et al. TCMID 2.0: a comprehensive resource for TCM[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D1117 - D1120.

[9] LIU Z, GUO F, WANG Y, et al. BATMAN - TCM: a bioinformatics analysis Tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21146.

[10] PIÑERO J, BRAVO À, QUERALT - ROSINACH N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease - associated genes and variants[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D833 - D839.

[11] FRANZ M, LOPES CT, HUCK G, et al. Cytoscape.js: a graph theory library for visualisation and analysis[J]. Bioin-

- formatics, 2016, 32(2): 309 - 311.
- [12] 史晓林, 梁博程, 姚建亮, 等. 基于 TMT 标记联合 LC - ESI - MS/MS 技术筛选绝经后骨质疏松症的血清分子标志物研究[J]. 中华骨科杂志, 2015, 35(10): 1004 - 1010.
- [13] 谢丽华, 陈娟, 李生强, 等. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松症肾阴虚证 JAK/STAT 信号通路基因的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(7): 741 - 746.
- [14] 卢严方, 林贯川, 刘倩倩, 等. 六味地黄丸对绝经期肾阴虚骨质疏松症的基因表达调控数据分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(3): 350 - 356.
- [15] 倪晨波. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松症肾阴虚证相关基因 CLCF1 mRNA 表达的影响[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [16] 陈攀, 徐志伟, 敖海清. 四逆散、六味地黄丸诱导神经干细胞向神经元分化及对 Wnt1、Wnt3a、 $\beta$  - catenin mRNA 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(4): 777 - 780.
- [17] 徐君翔, 刘晨, 张鹏, 等. 高血压与中老年女性骨密度的关系[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(4): 872 - 876.
- [18] 崔燎, 陈槐卿. 心血管药物与骨质疏松[J]. 中国骨质疏松杂志, 2004, 10(4): 141 - 148.
- [19] NOGUCHI T, EBINA K, HIRAO M, et al. Apolipoprotein E plays crucial roles in maintaining bone mass by promoting osteoblast differentiation via ERK1/2 pathway and by suppressing osteoclast differentiation via c - Fos, NFATc1, and NF -  $\kappa$ B pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2): 644 - 650.
- [20] 吕丹, 陈炜, 王书美, 等. Dkk3 系统性表达转基因小鼠的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(9): 16 - 19.
- [21] BARDAI G, MOFFATT P, GLORIEUX F H, et al. DNA sequence analysis in 598 individuals with a clinical diagnosis of osteogenesis imperfecta: diagnostic yield and mutation spectrum[J]. Osteoporos Int, 2016, 27(12): 3607 - 3613.
- (收稿日期: 2018-12-28 本文编辑: 李晓乐)

## · 通 知 ·

# 全国水针刀微创技术及中医筋骨三针法学习班通知

水针刀微创技术、中医筋骨三针疗法是由北京世针联中医微创针法研究院院长吴汉卿教授经过 30 余年潜心研究, 在传统九针、刀针、水针疗法、针挑疗法、运动针法及太极针法基础上, 根据中医经筋学说及软组织解剖学所总结的融中西医针法于一体的中医微创技术。该技术已被纳入国家中医药管理局“中医医疗适宜技术”, 写入全国高等中医药院校创新教材, 确定为中医药 I 类继续教育推广项目。该技术问世以来, 全国性培训班已成功举办 200 余期, 培训学员数万名, 学员来自国内包括台湾、香港等地区及国外, 如: 马来西亚、新加坡、韩国、俄罗斯、澳大利亚、美国等, 其“短、平、快”的治疗特点受到了国内外专家及广大学员的好评。为满足广大医师要求, 继续举办学习班, 培训内容如下。

**水针刀微创技术、三氧融盘技术** ①水针刀微创技术结合三氧融盘技术治疗软组织损伤病, 如: 颈椎病、肩关节周围炎、肘关节病变、腕管综合征、腰椎间盘突出症、膝关节病变、坐骨神经痛、臀上皮神经痛、风湿类风湿关节炎、腱鞘炎、跟痛症等骨伤疼痛疾病。②水针刀尸体解剖微创入路内容: 该班在医学院解剖馆进行, 结合新鲜尸体全面讲解人体全身三维解剖以及三针法定位、进针方向、针下层次、危险区的划分、常用针法及操作技巧等内容, 学员能自己动手练习。

**中医筋骨三针疗法** 中医筋骨三针疗法分为微型筋骨三针疗法与巨型筋骨三针疗法 2 种, 微型筋骨三针疗法的优点: 该针具针体细如银针, 创伤微、痛苦小, 融合了中医针法和西医刀法, 定位独特, 针法灵活多变, 既有微创针刀的松解分离功能, 又有针灸的补泻候气、疏通经络功能; 该疗法主治: 中风偏瘫、失语症、三叉神经痛、面瘫、肋间神经痛、坐骨神经痛、皮神经卡压症、四肢末端病等。巨型筋骨三针疗法的优点: 该针法有钝性松解、安全可靠、通透力强、松解力度大等特点。其主要针法有: 筋膜扇形撬拨法、筋骨减压术、椎间孔针旋转术等 10 大针法; 该疗法主治: 颈腰椎术后综合征、椎管狭窄症、强直性脊柱炎驼背、颈 1 横突综合征、颈 7 棘突综合征等临床疑难病。同时培训水针刀松解埋线技术内容: 脊背九大诊疗区, 应用水针刀松解、注射、磁线留置并配合整脊手法快速治愈颈性心脏病、颈性咽炎、面瘫、癫痫、慢性支气管炎、哮喘、胃炎、胃溃疡、结肠炎、生殖疾病等; 并教授三氧自血疗法治疗心脑血管疾病, 乙肝、丙肝、脂肪肝等肝病, 妇科疾病及皮肤病性病等。

**培训时间:** 每月 1 日正式上课, 学期 12 天, 请提前 1 天报到。

**培训方式及待遇:** 学习班由吴汉卿教授主讲, 采用小班授课, 理论结合临床实习和尸体解剖操作, 学期结束后颁发培训证书及 I 类继续教育学分证书。

**培训地址:** ①北京班地址: 北京市东城区广渠门内夕照寺街东玖大厦 B 座 703 室, 北京世针联中医微创针法研究院。②河南南阳班地址: 河南省南阳市仲景路与天山路口, 水针刀研究院。

**联系电话:** 400 8377 618 **联系人:** 黄建老师 13721820657, 0377 - 63282507

**网址:** www. shuizhendao. com (中华水针刀微创网)