

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)17-0034-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.17.009



# 基于 Wnt / $\beta$ - 联蛋白信号通路探讨坚骨胶囊对骨质疏松症模型大鼠骨代谢的影响\*

金颖慧, 闫国强, 张俊艳, 张倩, 丁洪青, 董晶晶, 李宝芬, 冯娜娜, 孙越

(河北省沧州中西医结合医院, 河北 沧州 061000)

**摘要:**目的 基于 Wnt /  $\beta$  - 联蛋白( $\beta$  - catenin)信号通路探讨坚骨胶囊对骨质疏松症模型大鼠骨代谢的影响。方法 将 48 只 Wistar 大鼠随机分为空白对照组(A 组, 等量生理盐水), 模型对照组(B 组, 等量生理盐水), 仙灵骨葆组[C 组, 468 mg / (kg·d)], 坚骨胶囊高、中、低剂量组[D<sub>1</sub>组、D<sub>2</sub>组、D<sub>3</sub>组, 2 184, 1 092, 546 mg / (kg·d)], 各 8 只。A 组大鼠每日灌服纯化水; B 组、C 组、D<sub>1</sub>组、D<sub>2</sub>组、D<sub>3</sub>组大鼠每日灌服维甲酸 100 mg / kg, 连续 4 周, 以复制大鼠骨质疏松症模型。建模成功后, 均灌胃相应药物或生理盐水, 每日 1 次, 连续 8 周。检测大鼠股骨结构模型指数(SMI)、骨密度(BMD)、骨表面积与组织体积比(BV / TV)、骨表面积与骨体积比(BS / BV)、骨小梁数量(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)、骨小梁分离度(Tb. Sp); 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测大鼠血清中降钙素(CT)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)、骨保护素(OPG)、生长激素(GH)的表达水平; 采用免疫印迹(Western blot)法检测大鼠股骨组织中 Wnt1、 $\beta$  - catenin、糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )、骨形成蛋白-2(BMP-2)的蛋白表达水平。结果 与 B 组比较, D<sub>1</sub>组大鼠 SMI 和 Tb. Sp 均显著降低( $P < 0.01$ ), BMD, BV / TV, BS / BV, Tb. N, Tb. Th 均显著升高( $P < 0.05$ ); 血清中 CT, OPG, GH 水平均显著升高( $P < 0.05$ ), TRACP 水平显著降低( $P < 0.01$ ); 股骨组织中 Wnt1,  $\beta$  - catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2 蛋白表达水平均显著升高( $P < 0.01$ )。结论 坚骨胶囊可通过上调 Wnt1,  $\beta$  - catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2 蛋白表达影响骨质疏松症模型大鼠的骨代谢, 发挥改善骨质疏松的作用, 其作用机制可能与 Wnt /  $\beta$  - catenin 信号通路相关。

**关键词:** 坚骨胶囊; 骨质疏松症; 骨代谢; Wnt /  $\beta$  - 联蛋白信号通路

## Effect of Jiangu Capsules on Bone Metabolism in Osteoporotic Model Rats Based on Wnt / $\beta$ - Catenin Signaling Pathway

JIN Yinghui, YAN Guoqiang, ZHANG Junyan, ZHANG Qian, DING Hongqing, DONG Jingjing, LI Baofen, FENG Nana, SUN Yue

(Hebei Cangzhou Hospital of Integrated TCM - WM, Cangzhou, Hebei, China 061000)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Jiangu Capsules on bone metabolism in osteoporosis model rats based on Wnt /  $\beta$  - catenin signaling pathway. **Methods** Forty - eight Wistar rats were randomly divided into the blank control group (group A, equal volume of normal saline), the model control group (group B, equal volume of normal saline), the Xianlinggubao group [group C, 468 mg / (kg·d)], and the high -, medium -, and low - dose group of Jiangu Capsules [groups D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, 2 184, 1 092, 546 mg / (kg·d)], with eight rats in each group. Rats in group A were fed with purified water daily, while rats in groups B, C, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub> were fed with retinoic acid (100 mg / kg) daily for four weeks to replicate the osteoporosis model rat. After successful modeling, corresponding drugs or normal saline were administered orally once a day for eight weeks. The femoral structure model index (SMI), bone density (BMD), bone surface area to tissue volume ratio (BV / TV), bone surface area to bone volume ratio (BS / BV),

\* 基金项目: 河北省中医药管理局 2020 年度中医药类科研计划课题[2020518]。

第一作者: 金颖慧, 女, 满族, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药制剂的开发, (电子信箱)394307477@qq.com。



Brain Res, 2006, 1110(1): 221 - 225.

1663:29 - 37.

[41] SCHAAF MJ, DE JONG J, DE KLOET ER, et al. Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone[J]. Brain Res, 1998, 813(1): 112 - 120.

[44] MOYA - ALVARADO G, TIBURCIO - FELIX R, IBÁÑEZ MR, et al. BDNF / TrkB signaling endosomes in axons coordinate CREB / mTOR activation and protein synthesis in the cell body to induce dendritic growth in cortical neurons[J]. Elife, 2023, 12:e77455.

[42] ALONSO M, MEDINA JH, POZZO - MILLER L. ERK1 / 2 activation is necessary for BDNF to increase dendritic spine density in hippocampal CA1 pyramidal neurons[J]. Learn Mem, 2004, 11(2): 172 - 178.

[45] JEE HJ, RYU D, KIM S, et al. Fermented Perilla frutescens Ameliorates Depression - like Behavior in Sleep - Deprivation - Induced Stress Model [J]. Int J Mol Sci, 2022, 24(1):622.

[43] QIAO H, AN SC, XU C, et al. Role of proBDNF and BDNF in dendritic spine plasticity and depressive - like behaviors induced by an animal model of depression[J]. Brain Res, 2017,

(收稿日期: 2022 - 12 - 30; 修回日期: 2023 - 03 - 17)

number of trabeculae (Tb. N), thickness of trabeculae (Tb. Th), and trabecular separation (Tb. Sp) of rats were detected. The expression levels of calcitonin (CT), tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP), osteoprotegerin (OPG), and growth hormone (GH) in the rat of serum were detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The protein expression levels of Wnt1,  $\beta$ -catenin, glycogen synthesis kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) in rat femoral tissue were detected by the Western blot. **Results** Compared with those in group B, the SMI and Tb. Sp of rats in group D<sub>1</sub> were significantly lower ( $P < 0.01$ ), while the BMD, BV/TV, BS/BV, Tb. N, and Tb. Th of rats in group D<sub>1</sub> were significantly higher ( $P < 0.05$ ); the levels of CT, OPG, and GH in the serum of rats in group D<sub>1</sub> were significantly higher ( $P < 0.05$ ), while the level of TRACP of rats in group D<sub>1</sub> were significantly lower ( $P < 0.01$ ); the expression level of Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , and BMP-2 protein in femoral tissue of rats in group D<sub>1</sub> were significantly higher ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Jiangu Capsules may affect bone metabolism and improve osteoporosis in osteoporosis model rats by upregulating the expression of Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , and BMP-2 proteins, and its mechanism of action may be related to Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

**Key words:** Jiangu Capsules; osteoporosis; bone metabolism; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

骨质疏松症是以骨密度降低、骨微结构损坏、骨脆性增加为特征的一种全身慢性代谢性疾病,骨代谢失衡为其主要发病机制<sup>[1-2]</sup>。Wnt/ $\beta$ -联蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路通过调控成骨细胞、破骨细胞,影响骨形成和骨代谢,可达到改善骨质疏松症的作用<sup>[3]</sup>。坚骨胶囊为医院制剂,主要由黄芪、三七、制川乌、制草乌、醋乳香、醋没药、川芎、红花、胆南星、鳖甲、珍珠等组方,具有补肾益气、祛瘀止痛作用,治疗骨质疏松症疗效较好,但作用机制尚不明确。前期研究证明,坚骨胶囊可有效预防大鼠骨质疏松<sup>[4]</sup>,但其对骨质疏松的治疗效果尚不明确。故本研究中基于Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路探讨了坚骨胶囊对骨质疏松症模型大鼠骨代谢的影响及其作用机制,为其治疗骨质疏松症提供动物实验依据。现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、试剂与动物

仪器:MultiSkan3型全自动酶标分析仪,Fresco型低温冷冻离心机,均购于美国Thermo公司;056型电泳仪(美国Bio-Rad公司);GENIUS 5K型电动组织匀浆器(美国Fluka公司);sky can1076型Micro-CT仪(上海赛新生物科技有限公司)。

试剂:坚骨胶囊(医院制剂,批号为191107,规格为每粒0.35 g);仙灵骨葆胶囊(国药集团同济堂<贵州>制药有限公司,批号为Z20025357,规格为每粒0.3 g);降钙素(CT)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号为M-0571R2),抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)ELISA试剂盒(批号为MM0689R2),骨保护素(OPG)ELISA试剂盒(批号为M-0115R1),生长激素(GH)ELISA试剂盒(批号为MM-0502R2),均购于江苏酶免实业有限公司;Wnt检测试剂盒(批号为YM2373), $\beta$ -catenin检测试剂盒(批号为YM3403),糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )检测试剂盒(批号为YM3507),骨形成蛋白-2(BMP-2)检测试剂盒(批号为YM2507),均购于

美国Immunoway公司。

动物:SPF级Wistar大鼠48只,雌性,体质量180~220 g,购于河北医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号为SCXK(冀)2018-004,饲养环境温度22℃,相对湿度60%,自然光源,标准饲养,自由饮水1周,适应环境。动物实验经我院伦理委员会批准(审查意见编号为2020KY038)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 分组、造模与给药

将48只Wistar大鼠随机分为空白对照组(A组,等量生理盐水),模型对照组(B组,等量生理盐水),仙灵骨葆组[C组,468 mg/(kg·d)],以及坚骨胶囊高、中、低剂量组[D<sub>1</sub>组、D<sub>2</sub>组、D<sub>3</sub>组,2184,1092,546 mg/(kg·d)],各8只。除A组大鼠灌服纯化水外,其余各组大鼠每日灌服维甲酸100 mg/kg,连续4周,建立骨质疏松症模型<sup>[5]</sup>;造模成功4周后,各组大鼠灌胃相应药物或生理盐水,每日1次,连续8周。

#### 1.2.2 观察指标

股骨微结构及其指标:取血后,各组大鼠脱颈处死,取左侧股骨,用浸润生理盐水的纱布包裹,冷冻保存。采用Micro-CT仪扫描重建股骨,检测远心端感兴趣区股骨结构模型指数(SMI)、骨密度(BMD)、骨表面积与组织体积比(BV/TV)、骨表面积与骨体积比(BS/BV)、骨小梁数量(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)、骨小梁分离度(Tb. Sp)。

骨代谢生化指标:于大鼠眼球后静脉丛采血2 mL,离心,取血清,采用ELISA检测各组大鼠血清中CT, TRACP, OPG, GH的含量。严格按试剂盒标准步骤操作。

蛋白表达:取大鼠右侧股骨,采用RIPA蛋白抽提试剂提取组织中蛋白并定量,加入缓冲液煮沸变性,20  $\mu$ g上样;300 mA横流转模3 h,用3%牛血清白蛋白(BSA)封闭30 min;加入Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2一抗(稀释度均为1:1000),室温孵育10 min,4℃过夜,

室温孵育 30 min; TBST 洗膜 5 次, 每次 3 min; 加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(稀释度均为 1:10 000), 室温封闭 2 h, TBST 洗膜 6 次, 每次 3 min; 采用电致化学发光(ECL)试剂盒显色、曝光、定影, 采用凝胶定量分析软件 TotalLab Quant 读取条带的积分光密度(IOD)值, 以  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)为内参, 采用 Image 软件计算 Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2 蛋白的相对表达水平。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件分析。计量资料以  $\bar{X} \pm s$  表示, 行  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠股骨微结构及其指标

A 组大鼠股骨远心端骨小梁多呈板状, 致密均匀; B 组大鼠股骨远心端骨小梁多呈杆状, 稀疏; C 组、D<sub>1</sub>组

大鼠骨小梁结构最完整, 与 A 组接近。详见图 1。

与 A 组比较, B 组大鼠 SMI 和 Tb. Sp 均显著升高 ( $P < 0.05$ ), BMD, BV/TV, BS/BV, Tb. N, Tb. Th 均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与 B 组比较, C 组和 D<sub>1</sub> 组大鼠 SMI 和 Tb. Sp 均显著降低 ( $P < 0.05$ ), BMD, BV/TV, BS/BV, Tb. N, Tb. Th 均显著升高 ( $P < 0.05$ )。详见表 1。

### 2.2 大鼠骨代谢生化指标

与 A 组比较, B 组大鼠血清 CT, OPG, GH 水平均显著降低 ( $P < 0.01$ ), TRACP 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与 B 组比较, C 组和 D<sub>1</sub> 组大鼠血清 CT, OPG, GH 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ), TRACP 水平显著降低 ( $P < 0.01$ )。详见表 2。

### 2.3 大鼠股骨组织中蛋白表达水平

与 A 组比较, B 组大鼠股骨组织中 Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2 蛋白表达水平均显著降低

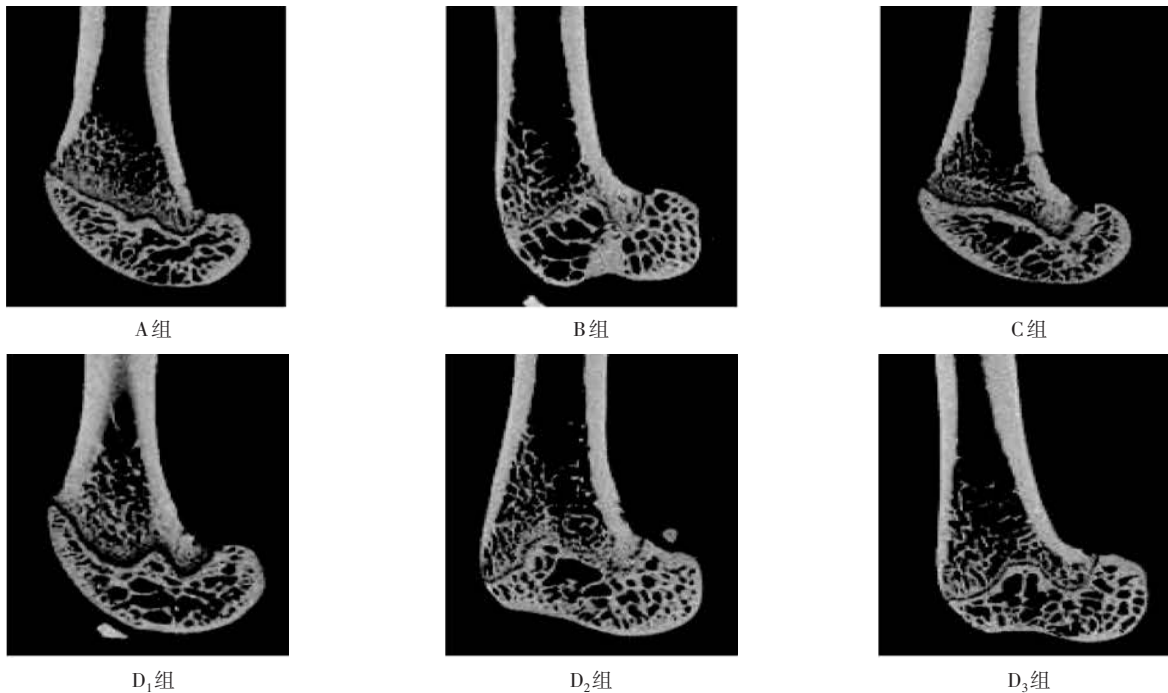


图 1 坚骨胶囊对骨质疏松症模型大鼠股骨微结构的影响

Fig. 1 Effect of Jiangu Capsules on microstructure of femur in osteoporosis model rats

表 1 各组大鼠股骨微结构指标比较 ( $\bar{X} \pm s, n = 8$ )

Tab. 1 Comparison of microstructure indexes of femur of rats in each group ( $\bar{X} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量[mg/(kg·d)]	SMI	BMD(g/cm <sup>3</sup> )	BV/TV(%)	BS/BV(mm <sup>-1</sup> )	Tb. N(mm <sup>-1</sup> )	Tb. Th( $\mu$ m)	Tb. Sp( $\mu$ m)
A组		1.37 ± 0.07	0.23 ± 0.05	23.00 ± 2.58	49.01 ± 12.46	1.82 ± 0.64	98.09 ± 8.15	606.19 ± 88.75
B组		2.39 ± 0.36 <sup>△△</sup>	0.15 ± 0.02 <sup>△△</sup>	13.10 ± 2.96 <sup>△△</sup>	31.36 ± 9.53 <sup>△</sup>	1.24 ± 0.34 <sup>△</sup>	85.00 ± 5.91 <sup>△△</sup>	896.39 ± 78.37 <sup>△△</sup>
C组	468	1.50 ± 0.41 <sup>**</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>*</sup>	18.87 ± 2.50 <sup>**</sup>	42.76 ± 8.45 <sup>*</sup>	1.75 ± 0.52 <sup>*</sup>	93.66 ± 5.63 <sup>*</sup>	638.48 ± 34.75 <sup>**</sup>
D <sub>1</sub> 组	2 184	1.45 ± 0.29 <sup>**</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>*</sup>	18.06 ± 4.19 <sup>*</sup>	45.03 ± 7.54 <sup>*</sup>	1.70 ± 0.26 <sup>*</sup>	92.79 ± 5.31 <sup>*</sup>	650.58 ± 79.72 <sup>**</sup>
D <sub>2</sub> 组	1 092	2.08 ± 0.53	0.17 ± 0.04	15.09 ± 4.18	29.71 ± 10.11	1.46 ± 0.74	87.72 ± 9.25	833.49 ± 92.12
D <sub>3</sub> 组	546	2.21 ± 0.44	0.15 ± 0.06	14.20 ± 3.09	30.94 ± 9.69	1.30 ± 0.46	85.61 ± 9.55	853.40 ± 88.18

注:与 A 组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ ;与 B 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。表 2 和图 2 同。

Note:Compared with those in group A, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ ;compared with those in group B, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  (for Tab. 1-2 and Fig. 2).

表2 各组大鼠骨代谢生化指标比较( $\bar{X} \pm s, \text{ng} / \text{mL}, n = 8$ )

Tab. 2 Comparison of biochemical indexes of bone metabolism of rats in each group ( $\bar{X} \pm s, \text{ng} / \text{mL}, n = 8$ )

组别	剂量[ $\text{mg} / (\text{kg} \cdot \text{d})$ ]	CT	TRACP	OPG	GH
A组		4.48 ± 1.21	8.40 ± 1.16	5.33 ± 0.87	26.35 ± 3.91
B组		1.87 ± 0.58 <sup>△△</sup>	14.53 ± 2.78 <sup>△△</sup>	3.47 ± 0.47 <sup>△△</sup>	15.14 ± 3.11 <sup>△△</sup>
C组	468	3.28 ± 0.83 <sup>**</sup>	9.15 ± 2.83 <sup>**</sup>	4.42 ± 0.97 <sup>**</sup>	23.91 ± 2.60 <sup>**</sup>
D <sub>1</sub> 组	2 184	3.25 ± 0.56 <sup>**</sup>	9.41 ± 1.34 <sup>**</sup>	4.77 ± 1.17 <sup>*</sup>	24.05 ± 3.04 <sup>**</sup>
D <sub>2</sub> 组	1 092	2.05 ± 0.56	10.73 ± 1.26 <sup>*</sup>	4.26 ± 1.02	20.20 ± 4.45 <sup>*</sup>
D <sub>3</sub> 组	546	1.96 ± 0.73	11.98 ± 2.31	3.94 ± 0.61	16.62 ± 3.14

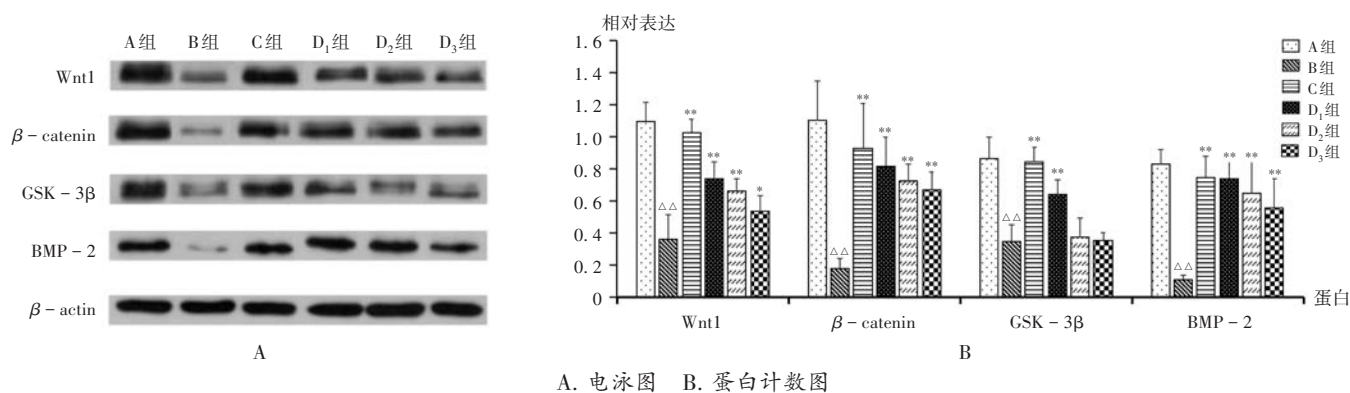


图2 各组大鼠股骨组织中蛋白表达水平比较

A. Electrophoresis chart B. Protein count

Fig. 2 Protein expression levels in femoral tissue of rats in each group

( $P < 0.01$ );与B组比较,C组和D<sub>1</sub>组大鼠股骨组织中Wnt1,  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , BMP-2蛋白表达水平均显著升高( $P < 0.01$ )。详见图2。

### 3 讨论

骨质疏松症主要分为原发性、继发性及特发性<sup>[6]</sup>。其中,原发性骨质疏松症最常见,可分为绝经后骨质疏松症和老年性骨质疏松症。绝经后骨质疏松症在原发性骨质疏松症中占比较高,属中医“骨痿”“骨痹”等范畴。肾虚是绝经后骨质疏松症发生、发展的重要病机<sup>[7]</sup>。坚骨胶囊具有补肾益气、活血止痛之功效<sup>[8]</sup>。仙灵骨葆胶囊可促进成骨细胞增加与繁殖,抑制破骨细胞的相关通路而增加骨量,还可作用于免疫及血管生成相关通路,有助于改善骨微环境,治疗骨质疏松症<sup>[9-10]</sup>。故本研究中选用仙灵骨葆胶囊为阳性对照药物。

骨微结构是反映骨质疏松症的重要指标,SMI, BMD, BV / TV, BS / BV, Tb. N, Tb. Th, Tb. Sp等反映骨小梁结构状况,对骨质疏松症的判断有重要作用<sup>[11]</sup>。由图1可知,D<sub>1</sub>组大鼠骨小梁呈板状,与A组接近;由表1可知,与B组比较,D<sub>1</sub>组大鼠SMI和Tb. Sp均显著降低( $P < 0.01$ ),BMD, BV / TV, BS / BV, Tb. N, Tb. Th均显著升高( $P < 0.05$ ),表明坚骨胶囊可明显改善大鼠的骨小梁结构和骨质疏松。

骨质疏松症由骨转换失调所致,CT, TRACP,

OPG, GH为常见骨代谢生化指标,在骨转换过程中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。CT是一种多肽类激素,参与调节钙磷代谢,对破骨细胞和成骨细胞有一定影响<sup>[12]</sup>。OPG为骨形成标志物,具有抑制破骨细胞产生、促进破骨细胞凋亡作用,进而影响骨代谢<sup>[13]</sup>,绝经后女性雌激素水平降低,破骨细胞活性升高,机体转为代偿性骨吸收,骨形成增加,导致OPG升高<sup>[14]</sup>。TRACP为骨吸收标志物,多数存在于肺泡巨噬细胞和破骨细胞中,在正常人血清中以TRACP-5a和TRACP-5b的形式存在,其中TRACP-5a主要存在于炎性巨噬细胞中,TRACP-5b主要存在于破骨细胞中。绝经后骨质疏松症患者雌激素水平降低,破骨细胞活跃,骨重建失衡,骨吸收大于骨形成,导致TRACP-5b水平升高。GH具有促进细胞分化、增殖的作用<sup>[15]</sup>,通过影响破骨细胞的前体细胞及成熟破骨细胞,达到调节骨吸收的作用,并能刺激前体细胞向成骨细胞分化,促进骨细胞、软骨细胞增殖<sup>[16-17]</sup>。GH分泌不足者的BMD低于正常人,其分泌水平随着年龄的增长而逐渐降低,BMD也随之降低<sup>[18]</sup>。由表2可知,与B组比较,D<sub>1</sub>组大鼠血清中CT, OPG, GH水平均显著升高,TRACP水平显著降低,提示坚骨胶囊通过调节骨代谢达到治疗骨质疏松症的目的。

当激活Wnt /  $\beta$ -catenin信号通路时,Wnts会发生

一系列下游事件的联级反应,使 $\beta$ -catenin进入细胞核,启动大量靶基因的转录<sup>[19]</sup>。Wnt具有影响前体细胞向成骨细胞分化的作用,成骨细胞外Wnt蛋白与细胞膜上受体LRP5/6结合后,通过与细胞质中的Dsh蛋白(Dsh)、GSK-3 $\beta$ 、轴蛋白(Axin)、Dickkopf相关蛋白(DKKs)等彼此作用形成二聚体,导致 $\beta$ -catenin水平升高并进入细胞核,TCF/LEF1影响Runx相关转录因子(Runx2)和Osterix的表达,从而促进成骨细胞的增殖与分化<sup>[20-22]</sup>。BMP在成骨细胞分化中具有重要作用,BMP-2激活后会与磷酸化的Smad1/5/8和Smad4形成复合物,将其转入细胞核以激活Runx2的转录<sup>[23]</sup>。BMP在参与成骨细胞调节的过程中,以多种机制促进Wnt/ $\beta$ -catenin信号的传导<sup>[24]</sup>。由图2可知,与B组比较,D<sub>1</sub>组大鼠股骨组织中Wnt1, $\beta$ -catenin,GSK-3 $\beta$ ,BMP-2蛋白表达水平均显著升高,表明坚骨胶囊可能通过影响Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进骨形成,抑制骨吸收,调节骨代谢,进而减少骨量丢失。

综上所述,坚骨胶囊能有效增强骨质疏松症模型大鼠的BMD和骨强度,调节骨代谢平衡,其作用机制可能与Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路密切相关。

#### 参考文献

- [1] 李 杨,关雪峰. 中药对骨质疏松症骨代谢影响研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2019,21(5):5-8.
- [2] ENSRUD KE, CRANDALL CJ. Osteoporosis [J]. Ann Intern Med, 2018, 168(4):306.
- [3] 肖启程,严光文,田一男,等. Wnt信号配体种类及其在骨代谢中的作用[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018, 11(6):613-619.
- [4] 金颖慧,闫国强,张 倩,等. 坚骨胶囊调控Wnt/ $\beta$ -联蛋白信号通路对骨质疏松症模型大鼠的作用及机制[J]. 中国药业, 2023,32(7):56-60.
- [5] 孙世栋,梁其彬,范为之,等. 不同剂量维甲酸诱导骨质疏松大鼠模型的稳定性[J]. 中国组织工程研究,2017, 21(20):3164.
- [6] 刘 峰. 骨质疏松流行病学及防治研究进展[J]. 医学理论与实践,2017,30(22):35-36.
- [7] 邓洋洋,刘明欣,孙 鑫,等. Hedgehog信号通路与“肾虚血瘀”骨代谢失常的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2021, 27(8):1112-1116.
- [8] 武 晔,王晓磊,平利峰,等. 坚骨胶囊治疗强直性脊柱炎伴骨质疏松临床观察[J]. 风湿病与关节炎,2016,5(4):21-27.
- [9] 刘美芳,杨 锋,曾莉娟. 仙灵骨葆胶囊治疗绝经后女性骨质疏松症的疗效观察[J]. 云南中医中药杂志,2021,46(6): 37-39.
- [10] 关健雷,王秋园,刘 沛,等. 基于网络药理学及分子对接探究复方“仙灵骨葆”治疗骨质疏松分子机制[J]. 辽宁中医药大学学报,2021,23(2):57-65.
- [11] 赵 晋,谢燕燕,张立智,等. 膝关节炎患者软骨和软骨下骨微结构改变[J]. 中华实验外科杂志,2019,36(7):1313-1315.
- [12] 张萌萌,张秀珍,邓伟民,等. 骨代谢生化指标临床应用专家共识(2020)[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(6):781-796.
- [13] LACEY DL, TAN HL, LU J, et al. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival *in vitro* and *in vivo* [J]. Am J Pathol, 2006, 157(2):435-448.
- [14] SANCHEZ C, GABAY O, SALVAT C, et al. Mechanical loading highly increase IL-6 production and decrease OPG expression by osteoblasts [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17(4): 473-481.
- [15] 廖二元,曹 旭. 湘雅代谢性骨病学[M]. 北京:科学出版社, 2013:71-224.
- [16] 于 萍,侯佳彤,陈 适,等. 重组人生长激素的替代治疗对颅内肿瘤复发的研究进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2015,9(1):113-116.
- [17] 李 莉. 血清IGF-1、IGFBP-3与生长激素治疗SGA矮小患儿的疗效[J]. 热带医学杂志,2016,16(4):493-495.
- [18] JORGENSEN AP, FOUGENSER KJ, UELAND T, et al. Favorable long term effects of growth hormone replacement therapy on quality of life, bone metabolism, body composition and lipid levels in patients with adult-onset growth hormone deficiency [J]. Growth Hormone and IGF Res, 2011, 21(2): 6975.
- [19] TAO JH, ZHAO M, JIANG S, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based metabolic profiling comparison of four major bioactive components in normal and CKD rat plasma, urine and feces following oral administration of *Cornus officinalis* Sieb and *Rehmannia glutinosa* Libosch herb couple extract [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 161:254-261.
- [20] 徐轶尔,孙贵才,于雪峰,等. Wnt信号传导途径与骨质疏松[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(2):228-232.
- [21] ZHANG H, ZHANG GP, JIANG H. (2R, 3S) Pinobanksin 3 cinnamate promotes osteoblast differentiation through cAMP and cGMP pathways [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2018,28(4):468-473.
- [22] 许 兵,刘 慧,许应星,等. 成骨细胞中经典Wnt/ $\beta$ -catenin通路研究进展[J]. 生命科学,2011,23(5):477-481.
- [23] 李 洁,孙雅楠,解光越,等. 熊果酸通过BMP-2/Smad4/Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路介导对去卵巢大鼠骨量流失的保护作用[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(12):1810-1814.
- [24] MENG J, ZHANG W, WANG C, et al. Catalpol suppresses osteoclastogenesis and attenuates osteoclast derived bone resorption by modulating PTEN activity [J]. Biochemistry & Pharmacology, 2020, 171(1):113-122.

(收稿日期:2023-01-28;修回日期:2023-05-07)