

基于 Notch 信号通路探索补肾活血方改善大鼠骨质疏松的作用及机制

李正兴¹ 韩庭良^{1△} 王国军¹ 陶宝琛² 田林¹

[摘要] 目的:探索补肾活血方对骨质疏松症模型大鼠骨密度的影响及其作用机制。方法:选取 40 只 6 个月龄雌性 SD 大鼠,运用随机数字表法将其分为正常组、模型组、中药治疗组和阳性对照组,每组 10 只。正常组仅切除卵巢周围脂肪组织,模型组、中药治疗组和阳性对照组切除双侧卵巢,饲养 13 周后,正常组及模型组予以蒸馏水灌胃,中药治疗组予以补肾活血方汤剂灌胃,阳性对照组予以利塞膦酸钠水溶液灌胃 12 周,测量大鼠脊柱骨密度后处死大鼠,分离大鼠双侧后肢股骨组织。Western Blot 及免疫组化检测 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达水平。RT-PCR 检测 Notch1、Jagged1、Hes1 mRNA 表达水平。结果:与正常组相比,模型组骨密度明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,中药治疗组及阳性对照组骨密度明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与正常组相比,Notch1、Jagged1 蛋白表达量及基因表达量均明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$),Hes1 蛋白表达量及基因表达量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,中药治疗组及阳性对照组 Notch1、Jagged1 蛋白表达量及基因表达量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),Hes1 蛋白表达量及基因表达量均明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。从 Western Blot 及 PCR 检测结果可见,与阳性对照组相比,中药治疗组 Notch1 蛋白表达量更高,差异有统计学意义($P<0.05$),Notch1 基因表达量明显高于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。Jagged1 蛋白和基因表达量均明显低于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。两组 Hes1 蛋白和基因表达量对比差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:补肾活血方能够改善骨质疏松症大鼠骨密度,其作用机制可能与 Notch 信号通路有关。

[关键词] 补肾活血方;肾虚血瘀;信号通路;骨质疏松;作用机制

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)11-0013-06

Mechanism of Bushen Huoxue Recipe Improving Osteoporosis in Ovariectomized Rats Based on Notch Signaling Pathway

LI Zhengxing¹ HAN Tingliang^{1△} WANG Guojun¹ TAO Baochen² TIAN Lin¹

¹ Yancheng Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Yancheng 224001, Jiangsu China;

² Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 710021, China.

Abstract Objective: To explore the effect of Bushen Huoxue recipe on bone mineral density and Notch signal pathway in model rats with osteoporosis. **Methods:** 40 cases of 6-month-old female SD rats were randomly divided into normal group, model group, traditional Chinese medicine treatment group and positive control group with 10 rats in each group. The normal group only removed the adipose tissue around the ovary. The model group, the traditional Chinese medicine treatment group and the positive control group were removed both ovaries. After 13 weeks of feeding, the normal group and the model group were perfused with distilled water, the traditional Chinese medicine treatment group was perfused with

Bushen Huoxue decoction, and the positive control group was perfused with sodium risedronate aqueous solution for 12 weeks. After measuring the bone mineral density of the spine, the rats were killed and the femoral tissues of both hind limbs were separated. The protein expression levels of Notch1, Jagged1 and Hes1 were detected by Western Blot and immunohistochemistry. The mRNA expression levels of

基金项目:第三批江苏省老中医药专家学术经验传承工作(苏中政 2019(8)号)

盐城市医学科技发展计划项目(YK2018024)

¹ 南京中医药大学附属盐城市中医院骨伤科(江苏 盐城,224001)

² 陕西中医药大学附属西安市中医医院骨伤科

[△]通信作者 E-mail:2017172134@qq.com

Notch1, Jagged1 and Hes1 were detected by RT-PCR. **Results:** Compared with the normal group, the bone mineral density in the model group decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, the bone mineral density in the traditional Chinese medicine treatment group and the positive control group increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the normal group, the protein expression and gene expression of Notch1 and Jagged1 decreased significantly ($P < 0.01$), and the protein expression and gene expression of Hes1 increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, the protein expression and gene expression of Notch1 and Jagged1 in the traditional Chinese medicine treatment group and the positive control group were significantly increased ($P < 0.01$), and the protein expression and gene expression of Hes1 were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the positive control group, the expression of Notch1 protein in the traditional Chinese medicine treatment group was higher ($P < 0.05$), and the expression of Notch1 gene was significantly higher than that in the positive control group ($P < 0.01$). The expression levels of Jagged1 protein and gene were significantly lower than those in the positive control group ($P < 0.01$). There was no difference in Hes1 protein and gene expression between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion:** Bushen Huoxue recipe can effectively improve bone mineral density in osteoporosis rats, which may be related to Notch signaling pathway.

Keywords: Bushen Huoxue recipe; kidney deficiency and blood stasis; signaling pathway; osteoporosis; mechanism of action

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量降低,骨组织微结构破坏,导致骨脆性增加的全身性疾病^[1]。我国 65 岁以上女性骨质疏松症的患病率高达 51.6%,致残致死率较高^[2-6]。本院前期研究^[7]证实了补肾活血方在抗骨质疏松中的疗效,已有研究报道^[8-9] Notch 信号通路在维系骨代谢平衡中起着重要的调控作用,但是补肾活血方是否能够通过调控 Notch 信号通路对骨质疏松症起到治疗作用尚未明确。本研究从分子生物学角度探索补肾活血方对骨质疏松症的防治作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

选取 SPF 级 6 月龄健康雌性 SD 大鼠 40 只,实验动物由江苏省医药职业学院实验动物中心提供,许可证号为 SYXK(苏)2018-0008。SD 大鼠体重为 210~230 g,分笼饲养,自由进食水,实验室温度(20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $60\% \pm 5\%$,昼夜交替 12 h/12 h。SD 大鼠适应性饲养 1 周后进入实验研究。依据随机数字表法将大鼠分为正常组、模型组、中药治疗组、阳性对照组,每组 10 只。

1.2 实验药物

补肾活血方组成药物为:杜仲 20 g,熟地黄 15 g,淮山药 15 g,肉苁蓉 6 g,骨碎补 10 g,续断 10 g,川牛膝 10 g,桃仁 5 g,红花 5 g,赤芍 10 g,川芎 10 g,当归 15 g,黄芪 15 g,茯苓 15 g,木香 10 g,陈皮 10 g,炙甘草 6 g。上述中草药由盐城市中医院药剂科提供,生药含量为 1.87 g/mL(批准文号为 020708)。利塞膦酸钠片由江苏正大清江制药有限公司提供(批准文号为国药准字 H20100136)。

1.3 主要试剂及仪器

抗 Notch1 抗体(批号为 XY-120355)、抗 Jagged1 抗体(批号为 XY-1448R)、抗 Hes1 抗体(批号为 XY-

2972R)购自美国 Abcam 公司。Trizol 试剂盒(批号为 abs9331)购自上海爱必信生物科技有限公司,逆转录试剂盒(批号为 RT3)购自美国 EZBioscience 公司,聚合酶链反应(PCR)扩增试剂盒(批号为 TQ2104-01)购自美国 Omega Bio-Tek 公司。双能 X 线骨密度分析仪(美国 NORLAND 公司);低温高速离心机(法国 SIGMA 公司)、电泳仪(日本 Mini-Slab 公司)、凝胶成像仪(德国 NIPPON Genetics 公司)。实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher 公司)。

1.4 造模、给药、处理

SD 大鼠适应性饲养 1 周,所有大鼠称重后,以 40 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射实施麻醉,麻醉成功后取俯卧位,备皮刀刮除术野毛发,碘伏消毒,沿脊柱中线作长约 2 cm 切口,向双侧分离,沿脊柱旁 1 cm、肋弓下方 1 cm 进入,暴露卵巢及周围脂肪组织,模型组、阳性对照组、中药治疗组大鼠予以结扎卵巢下方输卵管,切除大鼠双侧卵巢组织。正常组仅切除卵巢周围脂肪组织,止血后缝合皮肤。术后按组别分笼饲养,连续 3 d 每日给予青霉素 20×10^4 U/kg 肌肉注射每 12 h 1 次预防感染。手术后自由饲养 13 周,以成人给药量的 6.3 倍剂量灌胃给药,中药治疗组给予补肾活血方 10 mL/kg 灌胃,阳性对照组给予利塞膦酸钠($0.525 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$)溶解于 10 mL/kg 的蒸馏水中灌胃,正常组与模型组按 1 g/kg 比例予以蒸馏水灌胃,连续给药 12 周。处死大鼠,分离大鼠双侧后肢股骨组织,置 -80°C 冰箱保存备用。

1.5 指标检测及方法

双能 X 线骨密度分析仪测量大鼠处死前脊柱骨密度值。Western Blot 检测 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达水平。取左侧股骨组织称重后,剪碎骨组织,按照说明书比例加入 RIPA 裂解液,以 12 000 r/min

研磨 10~15 min,冰上静置 30 min 后离心取上清液,测定蛋白浓度,98 ℃变性 5 min 后放置于-20 ℃冰箱保存。取样,制胶,电泳后转膜,室温封闭 2 h,一抗孵育过夜,二抗室温孵育 2 h,ECL 显色曝光。分析条带灰度值,计算灰度系数。实时 PCR 检测 Notch1、Jagged1、Hes1 mRNA 表达水平。取出左侧股骨组织,液氮研磨,置入 Trizol 匀浆管中匀浆,根据 Trizol 试剂盒说明书方法提取总 RNA。根据试剂盒说明书配制 20 μL 反应体系,逆转 cDNA。再加入引物配制成 20 μL qPCR 反应体系,使用实时荧光定量 PCR 仪

进行扩增。以 GAPDH 为内参,所用引物由上海生物工程有限公司提供(表 1)。采用 2^{-ΔΔCt} 方法对相应基因进行定量分析。免疫组化检测 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达水平。取大鼠右侧股骨组织,常规脱钙,包埋,切片,脱蜡,复水,室温孵育 10 min,抗原修复液 10 min,山羊血清封闭液 20 min,滴加一抗 4 ℃过夜,滴加二抗室温孵育 50 min;DAB 显色,复染,封片,显微镜拍片。使用 Image Pro Plus6.0 测定 Notch1、Jagged1、Hes1 免疫组化染色平均光密度值(MOD)。

表 1 实时 PCR 引物设计

基因	正向引物	反向引物
Notch1	5'-GGCACTTTCTGTGAGGAGGA-3'	5'GCAGTCAGGCGTGTGTTCT-3'
Jagged1	5'-ATCGTGCTGCCTTTCAGTTT-3'	5'GATCATGCCCGAGTGAGAA-3'
Hes1	5'-AGGCTGGAGAGGCGGCTAAG-3'	5'-TGGAAGGTGACACTGCGTTGG-3'
GAPDH	5'-GTGTGAACCATGAGAAGTATGA-3'	5'-TAGAGGCAGGGATGATGTT-3'

1.6 统计学方法

运用 SPSS 16.0 统计学软件进行数据分析,均采用 $\bar{x}\pm s$ 形式表示。正态分布及方差齐性检验后,若 4 组数据服从正态分布及方差齐性,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),若方差非齐性,采用非参数检验(Kruskal-Wallis *H*)。两组之间数据分析,若服从正态分布及方差齐性,采用 *t* 检验或 *t'* 检验,若方差非齐性,采用 Wilcoxon 秩和检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 补肾活血方对骨密度的影响

与正常组相比,模型组骨密度明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组相比,中药治疗组及阳性对照组骨密度明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);中药治疗组与阳性对照组骨密度升高值差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠离体脊柱骨密度比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	骨密度/(g·cm ⁻²)
正常组	9	0.186±0.015
模型组	9	0.134±0.017 ¹⁾
中药治疗组	10	0.172±0.017 ²⁾
阳性对照组	9	0.171±0.023 ²⁾

注:1)与空白组比较, $P<0.01$;2)与模型组比较, $P<0.01$ 。

2.2 Western Blot 检测大鼠骨组织 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达水平

Western Blot 结果见图 1 和图 2,可见模型组 Notch1、Jagged1 蛋白的表达量明显低于正常组大鼠,差异有统计学意义($P<0.01$),中医治疗组和阳性对照组 Notch1、Jagged1 蛋白的表达量明显高于模型组,差异有统计学意义($F=161.582,P<0.01$)。中药治

疗组 Notch1 蛋白的表达量略高于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。中药治疗组 Jagged1 蛋白的表达明显低于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。模型组 Hes1 蛋白的表达量明显高于正常组大鼠,差异有统计学意义($P<0.01$),中药治疗组和阳性对照组 Hes1 蛋白的表达量明显低于模型组,差异有统计学意义($P<0.01$)。中药治疗组和阳性对照组在 Hes1 蛋白的表达上差异无统计学意义($P>0.05$)。

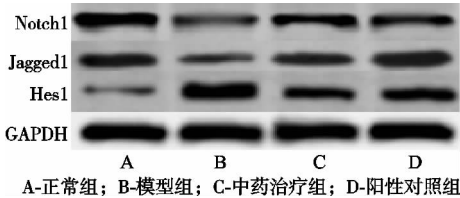


图 1 各组大鼠 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达免疫印迹图

2.3 免疫组化检测大鼠骨组织 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达水平

免疫组化结果见图 3 和图 4,可见模型组 Notch1、Jagged1 蛋白表达量明显低于正常组大鼠,差异有统计学意义($P<0.01$),模型组 Hes1 蛋白表达量明显高于正常组大鼠,差异有统计学意义($P<0.01$)。中药治疗组和阳性对照组 Notch1、Jagged1 蛋白表达量显著高于模型组,Hes1 蛋白表达量明显低于模型组,差异有统计学意义($P<0.01$)。中药治疗组 Notch1 蛋白的表达量与阳性对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 PCR 大鼠骨组织 Notch1、Jagged1、Hes1 基因表达水平

实时 PCR 结果见图 5,可见模型组 Notch1、Jagged1 基因的表达量明显低于正常组大鼠,差异无统

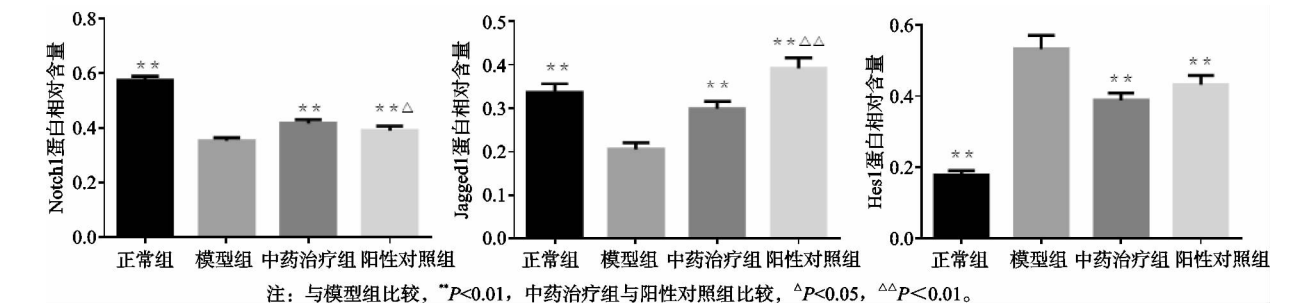


图2 Western Blot 检测各组大鼠 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达量

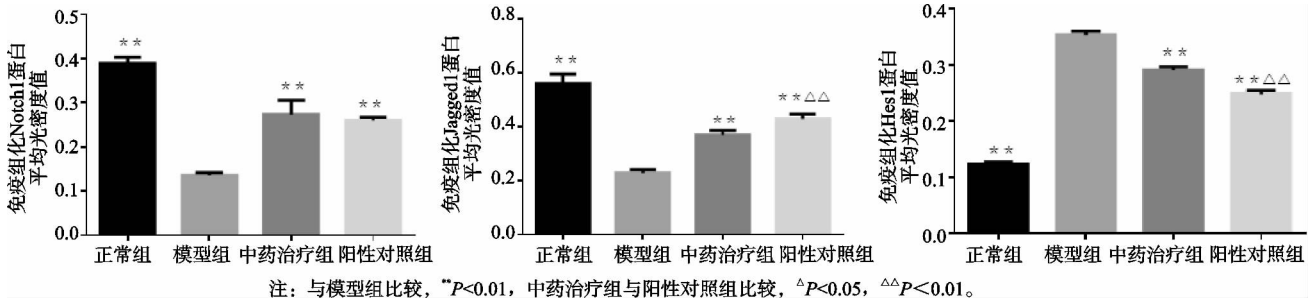


图3 免疫组化检测各组大鼠 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达量

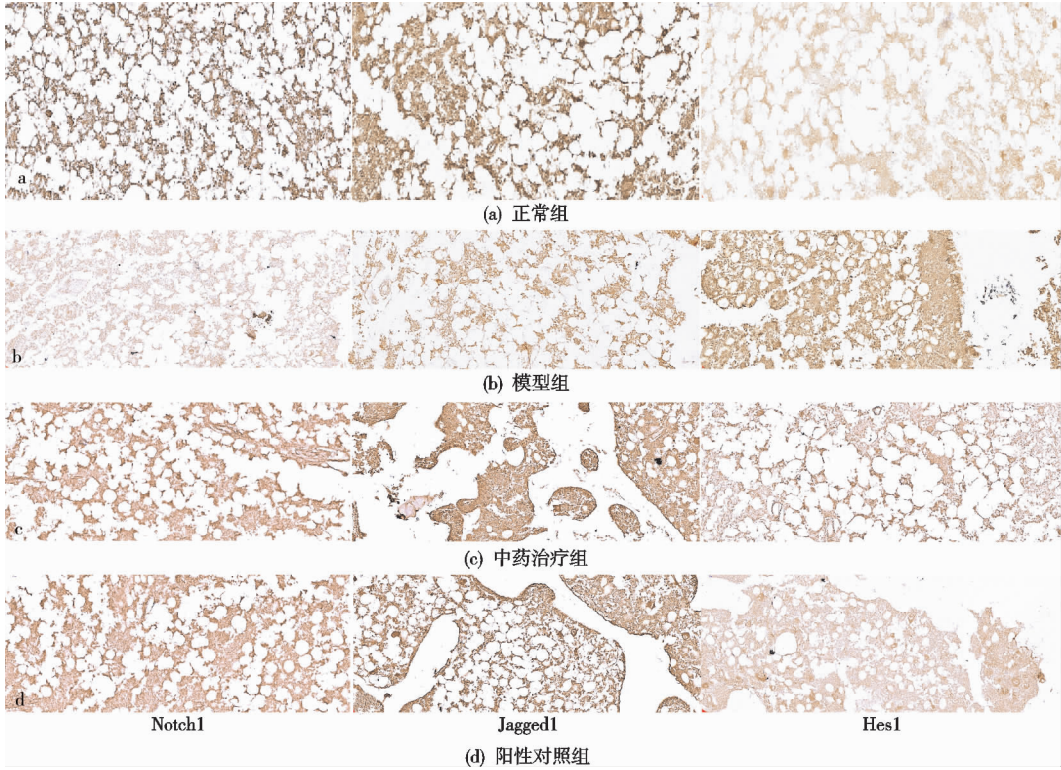


图4 各组大鼠股骨组织 Notch1、Jagged1、Hes1 蛋白表达结果(免疫组化染色，×400)

计学意义 ($P<0.01$)，中药治疗组和阳性对照组 Notch1、Jagged1 基因的表达量高于模型组，差异无统计学意义 ($\chi^2=10.458, P<0.05$)。中药治疗组 Notch1 基因的表达量明显高于阳性对照组表达量，差异无统计学意义 ($t=10.238, P<0.01$)。中药治疗组 Jagged1 基因的表达明显低于阳性对照组，差异无统计学意义 ($P<0.01$)。模型组 Hes1 基因的表达量明显高于正常组大鼠，差异无统计学意义 ($P<0.01$)，中

药治疗组和阳性对照组 Hes1 基因的表达量明显低于模型组，差异无统计学意义 ($P<0.01$)。中药治疗组和阳性对照组在 Hes1 基因表达上对比差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

骨质疏松症属中医学“骨痿”“骨枯”“骨痹”范畴。《医经精义》记载“肾藏精，精生髓，髓养骨”。《素问·痿论》曰：肾气热，则腰脊不举，骨枯而髓减，发为骨

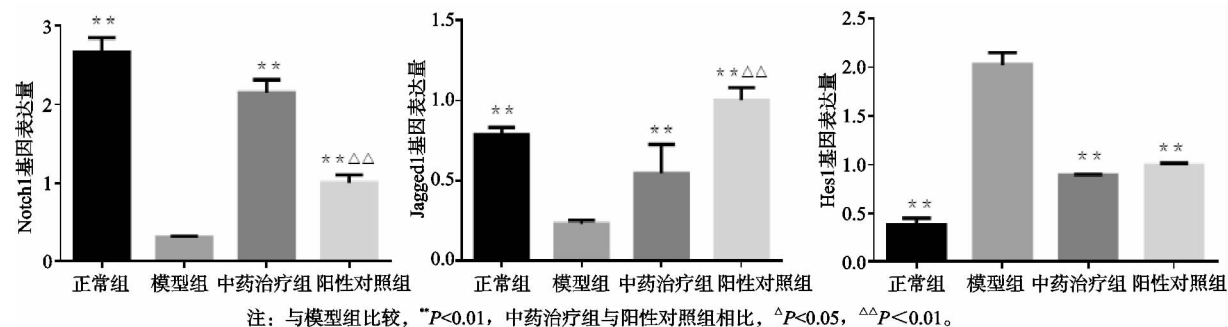


图 5 实时 PCR 检测各组大鼠 Notch1、Jagged1、Hes1 基因表达量

痿。……肾者水藏也，今水不胜火，则骨枯而髓虚，故足不任身，发为骨痿。肾为脏腑阴阳之本，生命之源，肾主骨。因此肾精亏虚是骨质疏松症发病的首要病机。同时，女子以肝为先天，以血为本，乙癸同源，肾精化生乏源，筋脉失于濡养，筋骨不能为用。脾为后天之本，脾之健运需借助肾阳温煦，肾中精气有赖于水谷精微充养。所以肝血不足、脾胃虚弱亦可发为骨痿。《肾虚血瘀论》中提出“久病则虚，久病则瘀，……虚则气血运行不畅，瘀滞即生；瘀则机体生新不顺，虚弱乃成”。说明肾虚可致血瘀，瘀血不去，新血不生，精血亏虚，骨骼不能得以濡养，骨枯髓减，发为骨痿。血瘀与骨质疏松症的发病密不可分。综合可见，骨质疏松症的发病机制以肝脾肾亏虚为本，肾虚为主，血瘀为标，两者互为因果。

补肾活血方是本院省名中医董松林教授结合多年临床经验，以肾虚血瘀理论为指导所创立，方中以杜仲、熟地黄、淮山药为君，肝脾肾三脏并补。骨碎补、续断、肉苁蓉补肝肾，强筋骨，同时骨碎补兼有活血之功；熟地黄柔肝补血，填精益髓，木香、陈皮疏肝行气，气行则血行；山药、黄芪健脾益气，气能生血；牛膝、川芎、桃仁活血化瘀，调经止痛，牛膝兼有补益肝肾之效，川芎为血中之气药，辅以太子参、当归补血活血；甘草调和诸药。组方具有补肾益精、活血化瘀的功效。已有实验结果^[10-11]证实补肾活血方对骨质疏松症的临床疗效，进一步探索补肾活血方防治骨质疏松的作用机理更有必要。有研究报道^[12]补肾活血方汤剂干预骨髓间充质干细胞，发现 Wnt5a、SAPK/JNK 和 CaMKII 的表达均显著增加，证实了补肾活血方汤剂通过 Wnt5a 信号通路促进骨髓间充质干细胞迁移，促进成骨，达到抗骨质疏松作用。本研究结果显示，模型组骨密度较正常组明显下降，说明本实验运用去势法制造骨质疏松症大鼠模型成功。中药治疗组及阳性对照组骨密度较模型组显著上升，同时中药治疗组与阳性对照组相比无差异性，证实了补肾活血方具有利塞磷酸钠阻止骨吸收、改善骨密度的作用。

Notch 信号通路由 Notch 受体、Notch 配体及

CSL DNA 结合蛋白三部分构成。Notch 受体主要包含 Notch1、Notch2、Notch3、Notch4；Notch 配体包含 Jagged1、Jagged2、Delta1、Delta3、Delta4 组成。Hes1、5、7 家族为 Notch 信号下游靶基因^[12]。近年来，关于 Notch 信号通路参与调节骨代谢、骨重建的研究越来越多。Liang 等^[13]研究发现 N1aICD 在成骨细胞中的过度表达导致斑马鱼的柱状区骨质增生。Notch 过度表达导致斑马鱼骨密度升高，对雌性的骨密度影响更为显著。Liu 等^[14]利用转基因小鼠，发现 Notch 通过构建成骨细胞刺激骨骼矿化。Notch 胞内结构域在小鼠体内的过度表达导致骨量增加，防止卵巢切除后和衰老期间的骨丢失，并促进骨折愈合。研究发现^[15]Notch 信号通路在维持骨代谢平衡的过程中起着双向调节的作用。Lee 等^[16]通过 Jagged1 或 Notch2 胞内结构域激活 Notch 信号抑制骨髓间充质祖细胞原代培养中的糖代谢和成骨细胞分化。Notch 降低糖酵解和线粒体复合物 I 基因的表达，导致 AMPK 活性降低。抑制糖代谢有助于 Notch 限制骨髓间充质祖细胞成骨。

Notch 受体与配体结合激活 Notch 信号通路，Jagged1 是 Notch1 的主要配体，随着 S2、S3、S4 位点的断裂，释放出的 NICD 与 CSL、MAM 结合成复合体启动下游 Hes 靶基因表达。有研究报道^[17]在骨髓间充质细胞向成骨细胞分化的过程中，miR-30a-5p 的表达显著上调，Notch1 是 miR-30a-5p 的靶蛋白，实验发现 Notch1 的上调逆转了 miR-30a-5p 对 BMSCs 成骨分化的影响。有研究报道^[18]Jagged1 通过增加碱性磷酸酶的活性和 RUNX2、ALP、COL1、BSP 基因的表达，促进间充质细胞向成骨细胞转化。Hes1 是 Notch 信号通路典型的下游转录因子，Yin 等^[19]发现，在老龄人和骨质疏松症大鼠中 Hes1 表达明显增加，微管微丝交联因子 1(MACF1)通过抑制 Hes1 的表达和活性促进骨形成。Notch 信号通路不仅参与骨形成的过程，也参与骨吸收的调控。Goel 等^[20]研究显示，dnMAML 通过结合 NICD 和 RBPJ κ 竞争性地抑制转录复合物的形成，抑制 Notch 信号通路的表达，可以抑制破骨细胞骨吸收，为增加骨形成、再生、重建提供

了新的平衡。本研究结果显示,模型组中 Notch1、Jagged1蛋白和基因的表达量较正常组均下降,Hes1蛋白和基因的表达量较正常组上升。补肾活血方及利塞膦酸钠干预后,Notch1、Jagged1蛋白和基因的表达增加,但阳性对照组的 Jagged1 蛋白表达量较模型组增加更明显,Hes1 蛋白和基因的表达量较模型组下降。这也进一步证实了补肾活血方通过调控 Notch 信号通路促进成骨细胞分化、抑制破骨细胞形成来维持骨重建的平衡状态。

综上所述,骨质疏松症以肾虚血瘀为基本病机,补肾活血方具有明确的抗骨质疏松疗效。补肾活血方可能是通过激活 Notch 信号通路,促进 Notch1、Jagged1,抑制 Hes1 的表达,促进骨形成,抑制骨破坏,共建骨代谢平衡,达到提高骨密度的作用。Notch 信号通路可能成为治疗骨质疏松症的新的靶点。然而,补肾活血方为复方制剂,需要更多的临床及基础研究以明确补肾活血方中活性成分以及其在体内达到改善骨代谢的作用机制。

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(2017)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(3):281-309.
- [2] 汪纯. 原发性骨质疏松症发病及诊治的现状与展望[J]. 诊断学理论与实践, 2020, 19(3):209-213.
- [3] OUYANG W Y, LAI C C, TSOU M T, et al. Development of machine learning models for prediction of osteoporosis from clinical health examination data[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(14):7635.
- [4] MO X Y, SHEN G Z, ZHEN X W, et al. High prevalence of osteoporosis in patients undergoing spine surgery in China[J]. BMC Geriatr, 2021, 21(1):361.
- [5] 胡洁枚, 刘晨. 骨质疏松症流行病学概况及相关危险因素[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(42):55-57.
- [6] KANIS J A, COOPER C, RIZZOLI R, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women[J]. Osteoporos Int, 2019, 30(1):3-44.
- [7] 李正兴, 韩庭良, 尹佩玉, 等. 补肾活血方联合 PKP 术治疗骨质疏松性椎体骨折的临床疗效[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(10):16-18.
- [8] TOBIAS M B, SHAN J, ANKE B, et al. Relevance of notch signaling for bone metabolism and regeneration[J].

- Int J Mol Sci, 2021, 22(3):1325.
- [9] CONG X, VAN V D, KAI K, et al. Induction of osteogenesis by bone-targeted Notch activation[J]. eLife, 2022, 11:e60183.
- [10] 韩庭良, 王国军, 尹佩玉, 等. PKP 联合补肾活血方治疗骨质疏松椎体压缩骨折的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(10):35-39.
- [11] SHEN W, LUO H, XU L L, et al. Wnt5a mediates the effects of bushen huoxue decoction on the migration of bone marrow mesenchymal stem cells in vitro[J]. Chin Med, 2018, 13:45.
- [12] JENNIFER T Z, YI T C, BRENDAN H L, et al. Notch signaling in skeletal development, homeostasis and pathogenesis[J]. Biomolecules, 2020, 10(2):332.
- [13] LIANG S T, CHEN J R, TSAI J J, et al. Overexpression of notch signaling induces hyperosteogeny in zebrafish[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(15):3613.
- [14] LIU P, PING Y L, MA M, et al. Anabolic actions of notch on mature bone[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(15):E2152-E2161.
- [15] SACHIN T, BITHIAH G J. Signaling network regulating osteogenesis in mesenchymal stem cells[J]. J Cell Commun Signal, 2022, 16(1):47-61.
- [16] LEE S Y, LONG F X. Notch signaling suppresses glucose metabolism in mesenchymal progenitors to restrict osteoblast differentiation[J]. J Clin Invest, 2018, 128(12):5573-5586.
- [17] CHE M X, GONG W Q, ZHAO Y, et al. Long noncoding RNA HCG18 inhibits the differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in osteoporosis by targeting miR-30a-5p/Notch1 axis[J]. Mol Med, 2020, 26(1):106.
- [18] JEAN D L, YVONNE S, MICHAEL E D, et al. Controlled Jagged1 delivery induces human embryonic palate mesenchymal cells to form osteoblasts[J]. J Biomed Mater Res A, 2018, 106(2):552-560.
- [19] YIN C, TIAN Y, HU L F, et al. MACF1 alleviates aging-related osteoporosis via Hes1[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(13):6242-6257.
- [20] PEEYUSH N G, YASAMAN M, JOHN H H, et al. Suppression of Notch signaling in osteoclasts improves bone regeneration and healing[J]. J Orthop Res, 2019, 37(10):2089-2103.

(收稿日期:2022-04-09)