

薯蓣皂苷通过信号通路对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响

颜国标¹ 宋浩民¹ 林南星^{1△}

[摘要] 目的:探讨薯蓣皂苷对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)成骨分化及 Hedgehog 信号通路的影响。方法:分离培养大鼠骨髓间充质干细胞,分为对照组、薯蓣皂苷低(15%胎牛血清的 DMEM 培养基中加 1 $\mu\text{mol/mL}$ 薯蓣皂苷)、中(15%胎牛血清的 DMEM 培养基中加 3 $\mu\text{mol/mL}$ 薯蓣皂苷)、高(15%胎牛血清的 DMEM 培养基中加 9 $\mu\text{mol/mL}$ 薯蓣皂苷)浓度组、阳性对照组(15%胎牛血清的 DMEM 培养基中加成骨诱导液),培养 7 d 后,茜素红染色观察骨髓间充质干细胞矿化结节;细胞计数试剂盒-8 法检测骨髓间充质干细胞增殖能力;检测碱性磷酸酶(ALP)水平;荧光定量 PCR 法检测骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 信使 RNA(mRNA)表达水平;蛋白免疫印迹法检测骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平。结果:对照组可见点状矿化结节,与对照组相比,薯蓣皂苷低、中、高浓度组的矿化结节数目依次增多,体积依次增大,骨髓间充质干细胞增殖率、碱性磷酸酶水平,SHH、IHH、Runx2 mRNA, Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平依次升高,差异有统计学意义($P<0.05$);阳性对照组的矿化结节数目最多,连接成片,体积较大,且骨髓间充质干细胞增殖率、碱性磷酸酶水平,SHH、IHH、Runx2 mRNA, Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平高于薯蓣皂苷高浓度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:薯蓣皂苷可以促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化,可能与 Hedgehog 信号通路的激活有关。

[关键词] 薯蓣皂苷;骨髓间充质干细胞;信号通路;成骨分化

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2023)07-0001-05

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 230701

Effect of Dioscin on Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells by Hedgehog Signaling Pathway

YAN Guobiao¹ SONG Haomin¹ LIN Nanxing^{1△}

¹ Department of Pharmacy, Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China.

Abstract Objective: To explore the effect of dioscin on osteogenic differentiation and Hedgehog signaling pathway of rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs). **Methods:** Rat BMSCs were isolated and cultured, and divided into control group, dioscin low (15% fetal bovine serum DMEM medium supplemented with 1 $\mu\text{mol/mL}$ dioscin), medium (15% fetal bovine serum DMEM medium supplemented with 3 $\mu\text{mol/mL}$ dioscin), high (15% fetal bovine serum DMEM medium supplemented with 9 $\mu\text{mol/mL}$ dioscin) concentration groups and positive control group (DMEM medium with 15% fetal bovine serum was supplemented with osteogenic induction solution). After 7 d of culture, the mineralized nodules of BMSCs were observed by Alizarin red staining, and Cell Count Kit-8 assay was used to detect the proliferation of BMSCs. Alkaline phosphatase (ALP) detection kit was used to detect ALP level. The mRNA expression levels of SHH, IHH, and Runx2 in BMSCs were detected by real-time PCR. The protein expression levels of Smo, Gli1, and Ptch1 in BMSCs were detected by Western Blot. **Results:** Punctate mineralized nodules were observed in the control group. Compared with the control group, the number and volume of mineralized nodules in the dioscin low, medium, high concentration groups were increased in sequence, and the proliferation rate, ALP level, SHH, IHH, Runx2 mRNA, Smo, Gli1, Ptch1 protein expression levels of BMSCs were increased in sequence ($P<0.05$).

The positive control group had the most mineralized nodules, which connected into slices and had a large volume, and the proliferation rate, ALP level, SHH, IHH, Runx2 mRNA, Smo, Gli1, Ptch1 protein expression levels of BMSCs were higher than those in the dioscin high concentration group

基金项目:北京市科学技术委员会科研计划项目
(D201300006317016)

¹ 中国中医科学院望京医院药学部(北京, 100102)

[△]通信作者 E-mail: Nanson_lin@126. com

($P < 0.05$). **Conclusion:** Dioscin can promote the osteogenic differentiation of BMSCs in rats, which may be related to the activation of Hedgehog signaling pathway.

Keywords: dioscin; bone marrow mesenchymal stem cells; Hedgehog signaling pathway; osteogenic differentiation

成骨细胞调控的骨形成异常会导致骨量减少,引发骨质疏松症,从而导致骨折的风险增加,对公共卫生构成了重大挑战^[1]。最近的研究表明,成骨分化失调在成骨疾病和骨质疏松发育中起着关键作用^[2]。骨髓间充质干细胞(BMSCs)具有多能分化的能力,在骨稳态和骨再生中发挥重要作用,可分化为成骨细胞。多种信号通路参与对骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的调控作用。其中 Hedgehog 信号通路参与骨形成的转录过程,抑制 Hedgehog 信号通路的表达,可减弱骨髓间充质干细胞分化过程^[3]。成骨细胞的增殖和分化受 Hedgehog 信号通路的调节,从而影响骨质疏松症中的骨代谢^[4]。薯蓣皂苷是一种从中药穿山龙提取的活性化合物,具有许多药理特性^[5]。体外实验表明,薯蓣皂苷可促进矿化的骨结节的形成^[6]。然而,薯蓣皂苷是否可调控骨髓间充质干细胞成骨分化及潜在信号传导途径未见报道。因此,本研究以骨髓间充质干细胞为研究对象,探讨薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞成骨分化及 Hedgehog 信号通路的影响,为骨质疏松症的治疗药物研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠,6~8 周,体重为 182~235 g,雌雄各半,购自北京通和立泰生物技术有限公司,许可证号为 SCXK(渝)2021-0014,所有大鼠于 21~25 ℃,湿度为 55%~65%,12 h/12 h 明暗交替的饲养房中喂养。本研究经本院伦理委员会批准。

1.1.2 主要药物与试剂 薯蓣皂苷(批号 P2389-5,原料药,纯度 $\geq 99.5\%$)购自北京华阜康生物科技股份有限公司;DMEM 培养基、成骨诱导液、反转录试剂盒、蛋白裂解液(批号分别为 MD-39489、MD-28479、MD-48890、MD-18933)均购自杭州泽析生物科技股份有限公司;茜素红染液、细胞计数试剂盒-8(CCK-8)、PCR 试剂盒、胎牛血清、碱性磷酸酶(ALP)试剂盒、Trizol 试剂、BCA 试剂盒(批号分别为 kt90528、kt48744、kt23974、kt38478、kt24849、kt34980、kt72673)均购自宜昌东恒嘉生物技术有限公司;兔源 Smo、Gli1、Pth1、 β -actin 一抗、羊抗兔二抗(批号分别为 TR15021-1、TR37489-3、TR48839-1、TR58395-2、TR15021-1)均购自开封市康瑞生物技术有限公司。

1.1.3 主要仪器 CO₂培养箱(型号为 CCL-50L)购自武汉乾明科仪科技有限公司;显微镜(型号为 motic-BA210)购自广州格卢瑞生命科学有限公司;酶标仪

(型号为 Mithras LB 940)、荧光定量 PCR 仪(型号为 CFX384)均购自开封伟嘉生物技术有限公司;凝胶成像系统(型号为 UVsolo TS)购自南京精塞玛科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 骨髓间充质干细胞分离、培养及分组干预 颈椎脱位法处死 Wistar 大鼠,将双侧股骨和胫骨取出(置于无菌环境中),去除干骺端,用 DMEM 培养基(无血清)反复冲洗骨髓腔,收集冲洗液置于离心管中,1 300 r/min 离心 13 min,弃上清,用含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养基制成单细胞悬液,在 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养,待细胞汇合成单层后传代。在二次传代后,待细胞融合到 90% 左右时进行实验。

取第 2 代骨髓间充质干细胞制为 1×10^5 个/mL 的细胞悬液,胰蛋白酶消化后,接种于 96 孔板中,将细胞分为对照组、薯蓣皂苷低($1 \mu\text{mol/mL}$)、中($3 \mu\text{mol/mL}$)、高($9 \mu\text{mol/mL}$)浓度组^[7]、阳性对照组^[8]。每组设置 6 次重复。对照组不做处理;薯蓣皂苷低、中、高组培养基分别加入含 1, 3, 9 $\mu\text{mol/mL}$ 薯蓣皂苷的培养液诱导培养^[7];阳性对照组培养基加不含血清的成骨诱导液(主要成分为 100 mmol/L 地塞米松 + 10 mmol/L β 甘油磷酸钠 + 0.05 mmol/L 维生素 C)诱导培养^[8],7 d 后进行相关检测。

1.2.2 茜素红染色观察矿化结节 按 1.2.1 节干预骨髓间充质干细胞,吸出培养液,加入 95% 乙醇固定 21 min, PBS 洗涤,用茜素红进行染色,蒸馏水洗涤 3 次,显微镜下观察。

1.2.3 CCK-8 法检测骨髓间充质干细胞增殖能力 按 1.2.1 节干预骨髓间充质干细胞,接种于 96 孔板中(2×10^4 个/孔),在实验结束前 4 h 向培养板中加入 10 μL CCK-8 试剂,在 37 ℃、5% CO₂ 条件下继续培养 4 h。用酶标仪测定其在 450 nm 波长处的吸光度(OD₄₅₀),计算细胞增殖率 = (各组 OD₄₅₀/对照组 OD₄₅₀) $\times 100\%$ 。

1.2.4 碱性磷酸酶水平检测 按 1.2.1 节干预骨髓间充质干细胞,用磷酸盐缓冲液冲洗,加入胰蛋白酶进行裂解,4 ℃ 过夜。用超声波破碎细胞,离心取上清,根据碱性磷酸酶试剂盒操作说明书进行碱性磷酸酶水平测定。

1.2.5 骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 信使 RNA(mRNA)测定 按 1.2.1 节干预骨髓间充质

干细胞,根据细胞量加入 Trizol,进行总 RNA 的提取,并进行 RNA 的浓度和纯度的测定,根据 RNA 反转录试剂盒说明书合成 cDNA,以此为模板通过荧光定量 PCR 法检测骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2

mRNA 水平,以 U6 作为内参。引物由石家庄博瑞迪生物技术有限公司设计合成,引物序列见表 1。具体反应环境和条件参照 PCR 试剂盒说明书,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 SHH、IHH、Runx2 mRNA 的表达水平。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
SHH mRNA	CGGCACCATTCTCATCAAC	CAGGGTCTCTGCTGTCCAA
IHH mRNA	TCAGCGATGTGCTCATTTTC	CCTCGTGAGAGGAGCATAGG
Runx2 mRNA	GTGCGGTGCAAACCTTTCTCC	AATGACTCGGTTGGTCTCGG
U6	GCCCCGCCTCCGCCGCCGCC	ATATGGAACGCTTCACGAATT

1.2.6 骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达的测定 按 1.2.1 节干预骨髓间充质干细胞,加入裂解液提取骨髓间充质干细胞中的总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,上样,低温转至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭 1.5 h,加入稀释好的兔源 Smo(1:660)、Gli1(1:1 240)、Ptch1(1:550)、 β -actin(1:1 650)一抗,4℃下孵育过夜。次日,清洗 3 次,加入羊抗兔二抗(1:1 350)室温孵育 1.5 h。以 β -actin 为内参,使用 Image J 软件分析条带灰度,计算各组骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析,计量资料以

$\bar{x}\pm s$ 形式表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞矿化结节的影响
对照组可见点状矿化结节;与对照组相比,薯蓣皂苷浓度组的矿化结节数目增多和体积增大,表明骨髓间充质干细胞成骨分化增强;且随着薯蓣皂苷浓度的增加,矿化越明显,表明骨髓间充质干细胞成骨分化越强;阳性对照组的矿化结节数目最多,连接成片,且体积较大,表明骨髓间充质干细胞成骨分化最强,见图 1(黑色箭头表示矿化结节)。

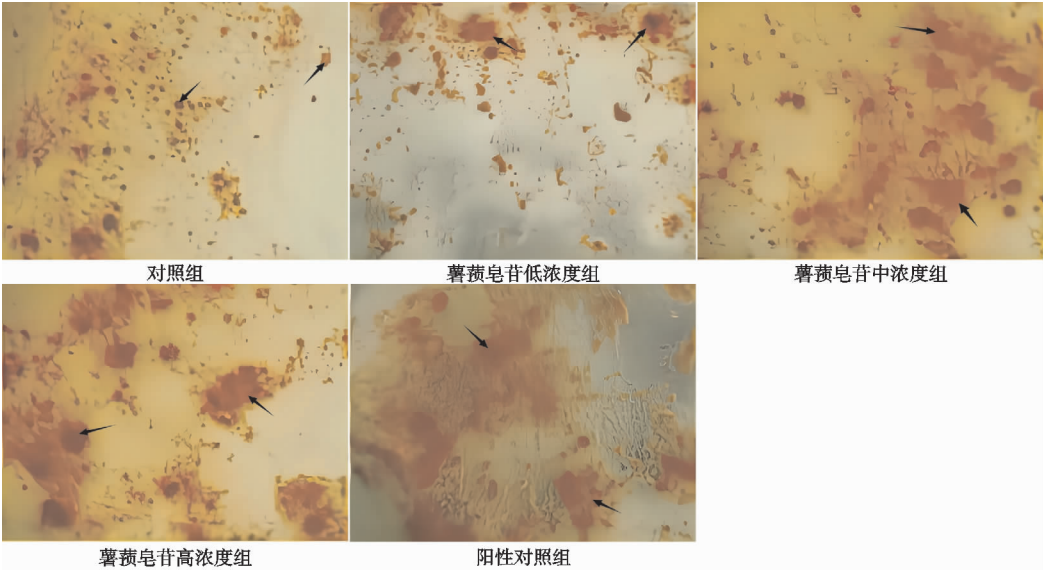


图 1 骨髓间充质干细胞矿化结节图(茜素红染色,×40)

2.2 薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞增殖和碱性磷酸酶水平的影响

与对照组相比,其余各组骨髓间充质干细胞增殖率和碱性磷酸酶水平均显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);随着薯蓣皂苷浓度的增加,骨髓间充质干细胞增殖率和碱性磷酸酶水平依次升高,差异有统计学意义($P<0.05$);薯蓣皂苷高浓度组骨髓间充质干细胞增殖率和碱性磷酸酶水平低于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 各组骨髓间充质干细胞增殖和碱性磷酸酶水平的比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	细胞增殖率/%	ALP/(U·L ⁻¹)
对照组	100.00±0.00	33.18±3.37
薯蓣皂苷低浓度组	121.57±14.70 ¹⁾	54.42±6.26 ¹⁾
薯蓣皂苷中浓度组	176.19±16.93 ¹⁾²⁾	76.31±9.29 ¹⁾²⁾
薯蓣皂苷高浓度组	235.66±19.73 ¹⁾²⁾³⁾	104.52±13.00 ¹⁾²⁾³⁾
阳性对照组	284.34±25.29 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	137.29±22.46 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与薯蓣皂苷低浓度组相比, $P<0.05$;3)与薯蓣皂苷中浓度组相比, $P<0.05$;4)与薯蓣皂苷高浓度组相比, $P<0.05$ 。

2.3 薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平的影响

与对照组相比,其余各组骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);随着薯蓣皂苷浓度的增加,骨

髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平依次升高,差异有统计学意义($P<0.05$);薯蓣皂苷高浓度组骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平低于阳性对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 各组骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平的比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	SHH	IHH	Runx2
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
薯蓣皂苷低浓度组	1.28±0.12 ¹⁾	1.39±0.16 ¹⁾	1.28±0.09 ¹⁾
薯蓣皂苷中浓度组	1.61±0.13 ¹⁾²⁾	1.83±0.17 ¹⁾²⁾	1.55±0.12 ¹⁾²⁾
薯蓣皂苷高浓度组	2.09±0.14 ¹⁾²⁾³⁾	2.40±0.22 ¹⁾²⁾³⁾	1.79±0.14 ¹⁾²⁾³⁾
阳性对照组	2.57±0.17 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	3.24±0.27 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	2.13±0.19 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与薯蓣皂苷低浓度组相比, $P<0.05$;3)与薯蓣皂苷中浓度组相比, $P<0.05$;4)与薯蓣皂苷高浓度组相比, $P<0.05$ 。

2.4 薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平的影响

与对照组相比,其余各组骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$);随着薯蓣皂苷浓度的增加,骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平依次升高($P<0.05$);薯蓣皂苷各浓度组骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平低于阳性对照组($P<0.05$),见图 2 及表 4。

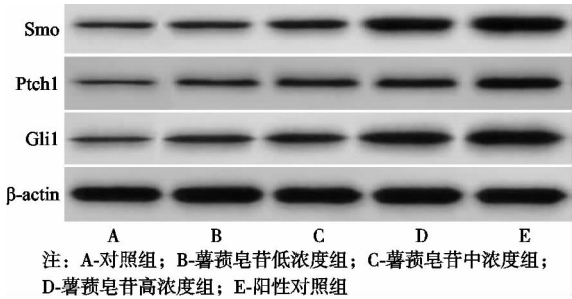


图 2 各组骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白印迹图

表 4 各组骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平的比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	Smo/ β -actin	Ptch1/ β -actin	Gli1/ β -actin
对照组	0.12±0.01	0.10±0.01	0.15±0.01
薯蓣皂苷低浓度组	0.26±0.03 ¹⁾	0.28±0.02 ¹⁾	0.35±0.02 ¹⁾
薯蓣皂苷中浓度组	0.45±0.05 ¹⁾²⁾	0.46±0.04 ¹⁾²⁾	0.56±0.05 ¹⁾²⁾
薯蓣皂苷高浓度组	0.86±0.07 ¹⁾²⁾³⁾	0.64±0.06 ¹⁾²⁾³⁾	0.92±0.08 ¹⁾²⁾³⁾
阳性对照组	1.14±0.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.85±0.07 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	1.25±0.14 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与薯蓣皂苷低浓度组相比, $P<0.05$;3)与薯蓣皂苷中浓度组相比, $P<0.05$;4)与薯蓣皂苷高浓度组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

鉴于人口的迅速老龄化以及治疗方法的副作用多,骨质疏松症对公共健康构成了越来越大的挑战^[9]。当骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化能力下降时,造成骨形成降低,发生骨质疏松症^[10]。因此,改善骨髓间充质干细胞向成骨分化的水平,可防止骨质疏松症的发生。一项早期研究表明,穿山龙提取物可以改善关节炎大鼠模型的病理进展^[11]。随着研究的深入,发现作为穿山龙的主要活性成分,薯蓣皂苷可刺激骨髓间充质干细胞的成骨分化^[12]。骨髓间充质干细胞外基质矿化是成骨细胞成熟的标志,在骨形成和矿化早期,碱性磷酸酶活性增高,提示骨髓间充质干细胞向成骨分化开始^[13]。本研究结果显示,经过薯蓣皂苷处理后的骨髓间充质干细胞矿化结节数目增多、体积增大且碱性磷酸酶活性显著升高,表明薯蓣皂苷可增强骨髓间充质干细胞的成骨分化。同时,薯蓣皂苷干预后的骨髓间充质干细胞细胞增殖率显著升高,这也可能

与其能促进骨髓间充质干细胞的成骨分化有关。虽然薯蓣皂苷对骨髓间充质干细胞的成骨分化作用不如成骨诱导液,但成骨诱导液中的地塞米松是激素药物,具有严重的副作用,因此薯蓣皂苷具有较大的应用前景。

Hedgehog 信号转导通路是骨髓间充质干细胞向成骨分化的一条关键信号通路,包括 SHH、IHH 和 DHH 三个成员^[14]。其中,SHH 和 IHH 是骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞同时抑制其向脂肪细胞分化的重要信号分子,可调节骨骼的发育进程^[15]。SHH 是 Hedgehog 家族中表达最广泛的成员,是 Hedgehog 信号通路中上游的启动信号分子,IHH 可促进软骨细胞分化^[16]。研究表明骨髓间充质干细胞成骨分化过程中,SHH 和 IHH 水平显著增高,表明 Hedgehog 信号通路可调控骨髓间充质干细胞成骨分化^[17]。Runx2 作为转录因子可参与成骨细胞分化和软骨细胞成熟过程,是成骨分化的早期标记^[18]。有研究表明,Hedgehog 信号通路通过 Runx2 促进软骨细胞的

增殖和分化^[19]。同时,IHH 可上调 Runx2 来调节骨髓间充质干细胞的成骨细胞分化^[20]。本研究结果显示,经薯蓣皂苷处理后的骨髓间充质干细胞中 SHH、IHH、Runx2 mRNA 表达水平显著升高,提示薯蓣皂苷可能通过调控 SHH、IHH、Runx2 信号通路诱导骨髓间充质干细胞成骨分化。

Hedgehog 信号通路包含 Ptch1、Smo 及通路下游 Gli1 等多种蛋白,作为 Hedgehog 通路的受体,Smo 和 Ptch1 是将 Hedgehog 信号通路转导至细胞核的重要因素^[21]。Hedgehog 配体分泌释放后,直接与 Ptch1 结合,解除了 Ptch1 对 Smo 的抑制作用,Smo 将 Hedgehog 信号向细胞质内传递,激活下游的 Gli1 转录因子,激活 Smo 即可导致 Hedgehog 靶基因的活化,继而控制细胞基本活动进程和方向^[22]。此外,Hedgehog 信号通路上游的信号分子 G 蛋白 α 亚基的丧失能够激活 Hedgehog 信号通路,从而导致异位骨化^[23]。本研究结果显示,经薯蓣皂苷处理后骨髓间充质干细胞中 Smo、Gli1、Ptch1 蛋白表达水平显著升高,提示薯蓣皂苷可能通过调控 Smo、Gli1、Ptch1 表达诱导骨髓间充质干细胞成骨分化。

综上所述,薯蓣皂苷可能通过激活 Hedgehog 信号通路,促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化。本研究为骨质疏松等成骨性疾病的治疗提供了新的参考,但本研究仅分析了薯蓣皂苷调控 Hedgehog 信号通路对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响,薯蓣皂苷是否可通过其他信号通路调控骨髓间充质干细胞成骨分化还有待深入研究。

参考文献

- [1] PALACIOS S. Medical treatment of osteoporosis [J]. Climacteric,2022,25(1):43-49.
- [2] ZHANG Y,JIANG Y,LUO Y,et al. Interference of miR-212 and miR-384 promotes osteogenic differentiation via targeting RUNX2 in osteoporosis[J]. Exp Mol Pathol, 2020,113(1):104366-104367.
- [3] AL-AZAB M,WALANA W,WEI J,et al. TL1A/TNFR2 axis enhances immunoregulatory effects of bone marrow derived mesenchymal stem cell by indian hedgehog signaling pathway[J]. Int J Stem Cells,2021,14(1):58-73.
- [4] AL-AZAB M,WANGB,ELKHIDER A, et al. Indian Hedgehog regulates senescence in bone marrow-derived mesenchymal stem cell through modulation of ROS/mTOR/4EBP1,p70S6K1/2 pathway[J]. Aging (Albany NY),2020,12(7):5693-5715.
- [5] BANDOPADHYAY S,ANAND U,GADEKAR V S,et al. Dioscin: a review on pharmacological properties and therapeutic values[J]. Biofactors,2022,48(1):22-55.
- [6] YIN W,LIU S,DONG M,et al. A new NLRP3 inflammasome inhibitor,dioscin,promotes osteogenesis[J]. Small, 2020,16(1):1905977-1905978.
- [7] 陈学武,王弘. 薯蓣皂苷对破骨细胞分化及骨吸收功能的调控作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38

- (6):523-527.
- [8] 赖满香,廖利平,林基伟,等. 梓醇调控 Hedgehog 信号通路促进 BMSCs 向成骨分化的实验研究[J]. 免疫学杂志, 2019,35(11):921-926.
- [9] REID I R. A broader strategy for osteoporosis interventions[J]. Nat Rev Endocrinol,2020,16(6):333-339.
- [10] QIU M,ZHAI S,FU Q,et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomal microrna-150-3p promotes osteoblast proliferation and differentiation in osteoporosis[J]. Hum Gene Ther,2021,32(13):717-729.
- [11] 周琦,孙慧娟,刘树民. 穿山龙总皂苷调控巨噬细胞 M1/M2 极化治疗痛风性关节炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(24):92-99.
- [12] ZHANG L,NI R,LI J,et al. Dioscin regulating bone marrow apoptosis in aplastic anemia [J]. Drug Des Devel Ther,2022,16(1):3041-3053.
- [13] 李菁,陈盈,滕伟,等. 载基因脂多糖胺纳米囊泡诱导 BMSCs定向成骨分化[J]. 中国修复重建外科杂志,2018, 32(11):1469-1476.
- [14] QI X,LI X. Mechanistic insights into the generation and transduction of hedgehog signaling[J]. Trends Biochem Sci,2020,45(5):397-410.
- [15] TAKEBE H,SHALEHIN N,HOSOYA A,et al. Sonic Hedgehog regulates bone fracture healing[J]. Int J Mol Sci,2020,21(2):677-678.
- [16] CHEN L,LIU G,LI W,et al. Synergistic effects of Indian Hedgehog and sonic Hedgehog on chondrogenesis during cartilage repair[J]. J Mol Histol,2021,52(2):407-418.
- [17] JIA Y,LU T,CHEN Q,et al. Exosomes secreted from sonic Hedgehog-modified bone mesenchymal stem cells facilitate the repair of rat spinal cord injuries [J]. Acta Neurochir (Wien),2021,163(8):2297-2306.
- [18] LIU D D,ZHANG C Y,LIU Y,et al. RUNX2 regulates osteoblast differentiation via the BMP4 signaling pathway[J]. J Dent Res,2022,101(10):1227-1237.
- [19] KOMORI T. Molecular mechanism of Runx2-dependent bone development[J]. Mol Cells,2020,43(2):168-175.
- [20] 程英雄,罗毅文,王斌,等. 补肾活血汤调控 Runx2 及 Osterix促进 BMSCs 成骨分化的作用研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2018,24(8):1085-1088.
- [21] RADHAKRISHNAN A,ROHATGI R,SIEBOLD C. Cholesterol access in cellular membranes controls Hedgehog signaling[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16 (12): 1303-1313.
- [22] SHENG M,LIN Y,XU D,et al. CD47-mediated Hedgehog/SMO/GLI1 signaling promotes mesenchymal stem cell immunomodulation in mouse liver inflammation[J]. Hepatology,2021,74(3):1560-1577.
- [23] ZHONG L N,ZHANG Y Z,LI H, et al. Overexpressed miR-196a accelerates osteogenic differentiation in osteoporotic mice via GNAS-dependent Hedgehog signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2019, 120 (12): 19422-19431.

(收稿日期:2022-12-06)