

• 实验研究 •

川陈皮素对骨质疏松大鼠骨密度及骨代谢的影响

徐梅玲¹ 张育珠² 苏成龙²

[摘要] 目的:探讨川陈皮素(NOB)对骨质疏松大鼠骨密度及骨代谢的调节能力及 Hippo/YAP 信号通路的影响。方法:构建骨质疏松大鼠模型并将其随机分为模型组,低、中、高剂量川陈皮素组,高剂量川陈皮素+通路抑制剂(维替泊芬)组,每组 12 只大鼠;另取 12 只健康大鼠作为对照组。对大鼠进行骨密度(BMD)检测,血清骨代谢指标检测,Micro-CT 检测股骨组织微结构变化,TRAP 染色观察破骨细胞数量,HE 染色观察股骨组织病理形态,Western Blot 检测 Hippo/YAP 信号通路有关蛋白表达。结果:与对照组比,模型组大鼠股骨组织病损程度严重,破骨细胞数量增多,骨密度指数、Tb. Th、Tb. N 和 BV/TV 指数以及血清 BALP、PINP 和 CTX-I 水平显著下降,Tb. Sp 指数以及血清中 IL-1 β 水平显著升高,YAP、p-YAP、TAZ 蛋白表达水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比,随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量川陈皮素组大鼠股骨组织病损程度明显减轻,破骨细胞数量减少,骨密度指数、Tb. Th、Tb. N 和 BV/TV 指数以及血清 BALP、PINP 和 CTX-I 水平逐渐升高,Tb. Sp 指数以及血清中 IL-1 β 水平逐渐降低,YAP、p-YAP、TAZ 蛋白表达水平显著上调,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高剂量川陈皮素组相比,高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠股骨组织病损程度严重,破骨细胞数量增多,骨密度指数、Tb. Th、Tb. N 和 BV/TV 指数以及血清 BALP、PINP 和 CTX-I 水平,YAP、p-YAP、TAZ 蛋白表达水平显著降低,Tb. Sp 指数以及血清中 IL-1 β 水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:川陈皮素可减轻大鼠股骨组织病损程度,调节骨代谢,改善骨质疏松症状,其作用可能与激活 Hippo/YAP 信号通路有关。

[关键词] 川陈皮素;骨质疏松;大鼠;骨代谢;骨密度

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)01-0007-06

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 250102

Impacts of Nobiletin on Bone Density and Bone Metabolism in Osteoporotic Rats

XU Meiling¹ ZHANG Yuzhu² SU Chenglong²

¹The Fifth People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810006, China;

²Xining First People's Hospital, Xining 810006, China.

Abstract Objective: To investigate the regulatory ability of nobiletin (NOB) on bone density and bone metabolism in osteoporotic rats, and its effect on Hippo/YAP signaling pathway. **Methods:** A rat model of osteoporosis was constructed and randomly separated into model group, low, medium, and high dose nobiletin groups (NOB-L, NOB-M, NOB-H groups), and high-dose nobiletin + pathway inhibitor group (NOB-H + VTPF group), with 12 rats in each group. Another 12 healthy rats were selected as the control group. Bone density (BMD) testing and serum bone metabolism index testing were performed on rats. Micro-CT was used to detect changes in the microstructure of femoral tissue. TRAP staining was used to observe the number of osteoclasts. HE staining was applied to observe the pathological morphology of femoral tissue. Western Blot was applied to detect protein expression related to the Hippo/YAP signaling pathway. **Results:** Compared with the control group, the model group had severe femoral tissue damage and an increase in the number of osteoclasts, the BMD index, Tb. Th, Tb. N, BV/TV indexes, and serum BALP, PINP, and CTX-I levels unusually decreased,

the Tb. Sp index and serum IL-1 β level obviously increased, and the YAP, p-YAP, and TAZ protein expression levels unusually decreased ($P < 0.05$). Compared with the model

¹ 青海省第五人民医院(西宁, 810006)

² 西宁市第一人民医院

group, with the increase of NOB dose, the degree of femoral tissue damage and the number of osteoclasts in the NOB-L, NOB-M, and NOB-H groups were unusually reduced, the BMD index, Tb. Th, Tb. N, BV/TV indexes, and serum BALP, PINP, and CTX- I levels obviously increased, the Tb. Sp index and serum IL-1 β level obviously reduced, and the YAP, p-YAP, and TAZ protein expression levels were unusually upregulated ($P < 0.05$). Compared with the NOB-H group, the NOB-H+VTPF group had severe damage to the femoral tissue and an increase in the number of osteoclasts, the BMD index, Tb. Th, Tb. N, BV/TV indexes, serum BALP, PINP, and CTX- I levels, and YAP, p-YAP, and TAZ protein expression levels obviously decreased, the Tb. Sp index and serum IL-1 β level unusually increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Nobiletin can alleviate the degree of femoral tissue damage, regulate bone metabolism, and improve osteoporosis symptoms in rats. Its effect may be related to the activation of the Hippo/YAP signaling pathway.

Keywords: nobiletin; osteoporosis; rats; bone metabolism; bone density

骨质疏松症 (Osteoporosis, OP)^[1-2] 以骨量减少、骨组织微环境退化和骨脆弱性增加为显著特征。目前针对该病的治疗方式主要是服用雌激素、降钙素等药物,但机体易产生不良反应^[3]。研究表明^[4-5] 川陈皮素 (Nobiletin, NOB) 可以通过调控相关信号通路刺激成骨细胞的发育、分化,增加骨量。相关文献显示 Hippo/YAP 信号通路^[6-9] 密切调节软骨的形成、发育过程,与骨质疏松症的发病机制有很大关联。因此,本研究主要探索川陈皮素对骨质疏松症及 Hippo/YAP 信号通路的影响,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择 10 周龄、体重为 240~280 g 的成年 SPF 级雌性大鼠 (河南斯克贝斯生物科技股份有限公司, 许可证号为 SCXK(豫)2020-0005), (25 \pm 2) $^{\circ}$ C 恒温下自由采食和饮水, 每天光照、黑暗各 12 h, 给予 12 d 的适应期。

1.2 药品与试剂

川陈皮素 (CAS 编号为 112448-39-2; 纯度 \geq 98.00%) 购自四川省维克奇生物科技有限公司; 信号通路抑制剂维替泊芬 (货号为 HY-B0146, 纯度 \geq 97.00%) 购自杭州昊鑫生物科技股份有限公司; ELISA 试剂盒、HE 染色试剂盒、TRAP 试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; YAP、p-YAP、TAZ 抗体均购自 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 建模 参照相关文献建立骨质疏松大鼠模型^[10], 具体操作如下: 大鼠禁食不禁水 12 h 后, 戊巴比妥钠 (35 mg/kg) 麻醉, 固定于手术台上, 背侧剃毛并用 75% 乙醇消毒。在无菌条件下开一个 1 cm 长的切口, 结扎并切除两个卵巢。然后分层闭合切口, 局部涂抹利多卡因、青霉素粉。另取 12 只大鼠作为对照组, 只切除卵巢附近等体积的脂肪组织。12 周后测定大鼠左、右股骨骨密度 (Bone Mineral Density, BMD), 以造模大鼠左、右股骨骨密度明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 视为造模成功。

1.3.2 分组 模型构建成功后, 将大鼠随机分为 5 组, 即模型组、低剂量川陈皮素组、中剂量川陈皮素组、高剂量川陈皮素组、高剂量川陈皮素+通路抑制剂 (维替泊芬) 组, 每组 12 只大鼠。参考相关文献^[11], 其中低、中、高剂量川陈皮素组分别给予 10, 20, 30 mg/kg 川陈皮素灌胃, 1 次/d, 连续 7 周。高剂量川陈皮素+维替泊芬组在每次 30 mg/kg 川陈皮素灌胃后, 腹腔注射 10 mg/kg 维替泊芬^[12]。另取 12 只大鼠作为对照组, 除给予等量的生理盐水替代川陈皮素外, 其他处理方式同各剂量组。

1.3.3 血清骨代谢指标检测 各组随机选取 6 只大鼠腹主动脉取血后离心取上清。ELISA 试剂盒检测血清骨碱性磷酸酶 (Bone Alkaline Phosphatase, BALP)、促炎细胞因子 (Interleukin-1 β , IL-1 β)、I 型前胶原氨基末端肽 (Type I Procollagen Amino-Terminal Peptide, PINP) 和 I 型胶原交联羧基端肽 (Type I Collagen Carboxy-Terminal Peptide, CTX- I) 的水平。

1.3.4 骨密度测定 采完血后, 剥离右侧股骨, 使用骨密度仪进行扫描, 记录各组大鼠的骨密度值。

1.3.5 Micro-CT 检测股骨组织微结构变化 剔除股骨周围的软组织, 用 4% 多聚甲醛固定 48 h 后, 保存在 70% 乙醇溶液中, 使用 Micro CT 影像系统对股骨远端进行扫描。观察大鼠股骨远端骨微结构变化, 分析骨体积分数 (Bone volume Fraction, BV/TV, 感兴趣区内骨组织体积除以总体积)、骨小梁数量 (Trabecular Number, Tb. N)、骨小梁厚度 (Trabecular Thickness, Tb. Th) 和骨小梁分离度 (Trabecular Separation, Tb. Sp)。

1.3.6 股骨组织 HE 染色 另取剩余 6 只大鼠, 安乐死后剥离大鼠右侧股骨, 取一部分股骨组织在 10% 福尔马林溶液中固定 24 h 以上, 用从低到高浓度的乙醇脱水。然后将样品包埋在石蜡中, 切成 5 μ m 的切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 室温下封片, 在光学显微镜下观察大鼠股骨组织形态。另一部分股骨组织于 -80 $^{\circ}$ C 下冷冻保存, 用于 Western Blot 检测。

1.3.7 TRAP 染色 对切片进行 TRAP 染色后观察破骨细胞数量。根据 TRAP 染色试剂盒说明书步骤染色切片,置于显微镜下观察。黄褐色细胞为阳性破骨细胞,随机选取 3 个不相邻的视野,记录每个视野中破骨细胞数量,求其均值。

1.3.8 股骨组织 Hippo/YAP 信号通路蛋白表达检测 取冻存的股骨组织加入蛋白裂解液在冰上充分反应,离心取上清,提取并定量总蛋白。SDS-PAGE 法分离总蛋白,然后将其转移到 PVDF 膜上。5%脱脂奶粉封闭 2 h 后依次与 YAP、p-YAP、TAZ 一抗在 4 ℃下孵育过夜,之后 TBST 洗膜 3 次后加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗 IgG,室温孵育 1 h,再次洗膜。可视化处理后,用凝胶成像仪采集图像并进行灰度分析,以 β -actin 为内参。

1.4 统计学方法

所有分析采用 SPSS 24.0 统计学软件进行。各指标获得的数据采用单因素方差分析(ANOVA)和 Dunnett-*t* 检验进行统计评价,并以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠骨密度比较

各组大鼠骨密度比较见表 1,模型组相较于对照组大鼠骨密度指数明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量川陈

皮素组大鼠骨密度指数逐渐升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠骨密度指数远低于高剂量川陈皮素组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠骨密度对比($n=6, \bar{x} \pm s, g/cm^2$)

组别	骨密度
对照组	0.37±0.06
模型组	0.12±0.03 ¹⁾
低剂量川陈皮素组	0.18±0.05 ²⁾
中剂量川陈皮素组	0.25±0.04 ²⁾³⁾
高剂量川陈皮素组	0.30±0.03 ²⁾³⁾⁴⁾
高剂量川陈皮素+维替泊芬组	0.14±0.02 ⁵⁾

注:1)与对照组比, $P < 0.05$;2)与模型组比, $P < 0.05$;3)与低剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;4)与中剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;5)与高剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠股骨组织微结构比较

各组大鼠股骨组织微结构比较见表 2,与对照组比,模型组大鼠 Tb、Th、Tb.N 和 BV/TV 显著下降,Tb.Sp 显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量川陈皮素组大鼠 Tb、Th、Tb.N 和 BV/TV 逐渐升高,Tb.Sp 逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠 Tb、Th、Tb.N、BV/TV 和 Tb.Sp 分别低于或高于高剂量川陈皮素组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠股骨组织微结构对比($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	Tb.Th/ μm	Tb.N/mm	Tb.Sp/mm	(BV/TV)/%
对照组	80.26±8.06	8.68±0.49	0.22±0.01	59.40±4.76
模型组	27.71±2.33 ¹⁾	2.55±0.14 ¹⁾	0.86±0.04 ¹⁾	36.23±2.43 ¹⁾
低剂量川陈皮素组	42.82±4.45 ²⁾	4.54±0.21 ²⁾	0.63±0.03 ²⁾	42.56±3.63 ²⁾
中剂量川陈皮素组	56.69±5.44 ²⁾³⁾	6.71±0.24 ²⁾³⁾	0.47±0.06 ²⁾³⁾	49.47±2.17 ²⁾³⁾
高剂量川陈皮素组	75.24±7.50 ²⁾³⁾⁴⁾	8.04±0.77 ²⁾³⁾⁴⁾	0.31±0.07 ²⁾³⁾⁴⁾	55.45±3.21 ²⁾³⁾⁴⁾
高剂量川陈皮素+维替泊芬组	30.65±3.88 ⁵⁾	3.53±0.10 ⁵⁾	0.72±0.06 ⁵⁾	40.15±3.20 ⁵⁾

注:1)与对照组比, $P < 0.05$;2)与模型组比, $P < 0.05$;3)与低剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;4)与中剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;5)与高剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠血清骨代谢指标比较

各组大鼠血清骨代谢指标比较见表 3,与对照组比,模型组大鼠血清中 BALP、PINP 和 CTX-I 水平显著下降,IL-1 β 水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量

川陈皮素组大鼠 BALP、PINP 和 CTX-I 水平逐渐升高,IL-1 β 水平逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠 BALP、PINP、CTX-I 水平以及 IL-1 β 水平分别低于或高于高剂量川陈皮素组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠血清骨代谢指标对比($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	BALP/($\mu g \cdot L^{-1}$)	PINP/($\mu g \cdot L^{-1}$)	IL-1 β /(ng·L ⁻¹)	CTX-I/(ng·mL ⁻¹)
对照组	35.51±3.43	45.24±2.43	58.71±5.12	19.64±1.25
模型组	12.42±1.07 ¹⁾	18.44±1.80 ¹⁾	231.55±20.14 ¹⁾	6.16±0.27 ¹⁾
低剂量川陈皮素组	18.01±1.01 ²⁾	26.63±2.07 ²⁾	154.26±20.74 ²⁾	9.71±0.42 ²⁾
中剂量川陈皮素组	24.75±2.21 ²⁾³⁾	35.47±2.21 ²⁾³⁾	96.50±10.83 ²⁾³⁾	12.53±1.09 ²⁾³⁾
高剂量川陈皮素组	31.45±3.54 ²⁾³⁾⁴⁾	40.28±3.49 ²⁾³⁾⁴⁾	66.47±6.13 ²⁾³⁾⁴⁾	15.60±1.20 ²⁾³⁾⁴⁾
高剂量川陈皮素+维替泊芬组	14.75±1.31 ⁵⁾	22.61±2.40 ⁵⁾	213.08±20.64 ⁵⁾	8.07±0.15 ⁵⁾

注:1)与对照组比, $P < 0.05$;2)与模型组比, $P < 0.05$;3)与低剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;4)与中剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;5)与高剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠股骨组织病理学变化

各组大鼠股骨组织病理学变化见图1,对照组大鼠股骨组织骨小梁更连续,排列整齐,形态完整,无明显病理改变;模型组大鼠骨小梁变细变窄,不连续,游离端增多,骨髓腔变宽,出现大量破骨细胞和

空泡化脂肪细胞,骨细胞和骨体积减少;低、中、高剂量川陈皮素组大鼠骨结构相对完整,骨小梁略多,骨板层较致密,骨髓腔减少,脂肪空泡明显减少,骨细胞较多;高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠组织病理损伤程度相较于高剂量川陈皮素组加重。

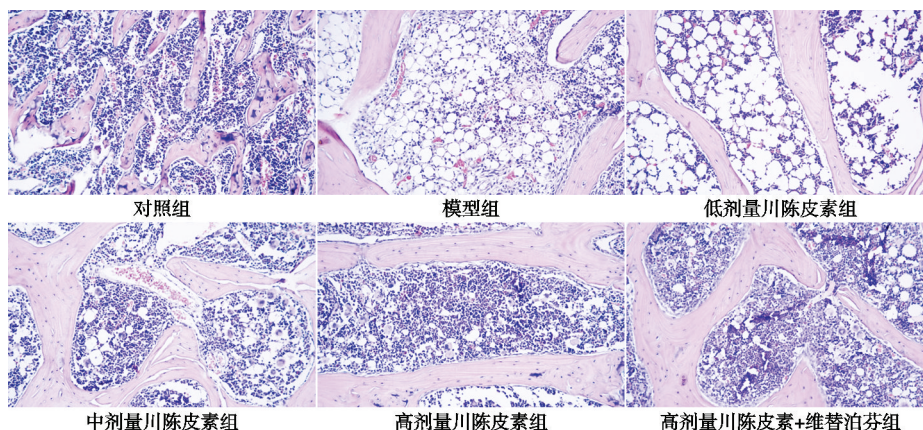


图1 各组大鼠股骨组织 HE 染色(×200)

2.5 各组大鼠破骨细胞数量比较

各组大鼠破骨细胞数量比较见图2及表4,模型组大鼠相较于对照组破骨细胞数量显著增多,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量川陈皮素组大鼠破骨细胞数量逐渐减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠破骨细胞数量远多于高剂量川陈皮素组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠信号通路蛋白表达比较

各组大鼠信号通路蛋白表达比较见图3及表5,模型组大鼠相较于对照组 YAP、p-YAP、TAZ 蛋白表达水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着川陈皮素剂量的增加,低、中、高剂量川陈皮素组大鼠信号通路蛋

白表达水平逐渐升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量川陈皮素+维替泊芬组大鼠蛋白表达水平远低于高剂量川陈皮素组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表4 各组大鼠破骨细胞数量对比($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	破骨细胞数量/个
对照组	0.17 ± 0.06
模型组	$6.25 \pm 0.23^{1)}$
低剂量川陈皮素组	$4.68 \pm 0.22^{2)}$
中剂量川陈皮素组	$2.75 \pm 0.41^{2)3)}$
高剂量川陈皮素组	$0.66 \pm 0.30^{2)3)4)}$
高剂量川陈皮素+维替泊芬组	$5.21 \pm 0.17^{5)}$

注:1)与对照组比, $P < 0.05$;2)与模型组比, $P < 0.05$;3)与低剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;4)与中剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$;5)与高剂量川陈皮素组比, $P < 0.05$ 。

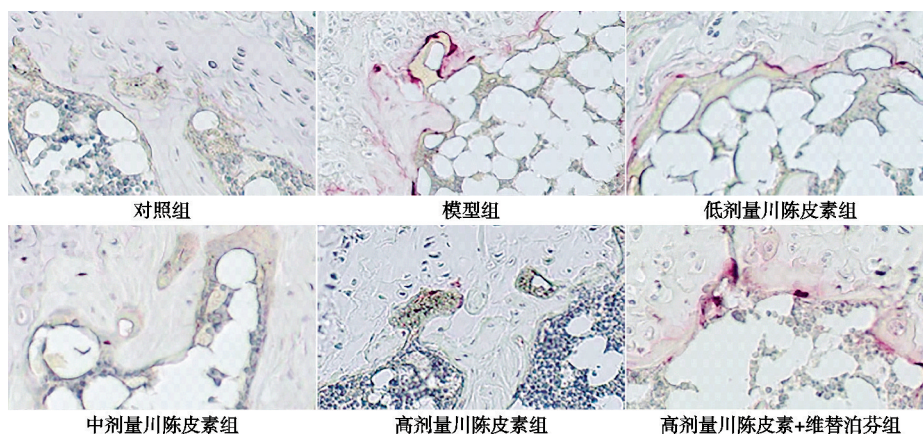


图2 各组大鼠股骨组织 TRAP 染色(×400)

3 讨论

骨质疏松症^[13]是一种广泛的、全身性的代谢性骨骼疾病,以骨密度下降和骨结构破坏为主要特征,此外还伴有明显的骨脆性和骨折易感性。该病主要是由于卵巢雌激素减少,破骨细胞的骨吸收和成骨细胞的骨

沉积之间的不平衡所致,因此多发于绝经后的妇女群体^[14]。相关调查报告指出,60岁以上人群中患骨质疏松症的比例达到60%~80%。随着人类预期寿命延长和人口老龄化加剧,骨质疏松症已成为全球范围内严重危害人们健康的常见慢性疾病^[15]。川陈皮素^[11]

是一类从柑橘果皮中分离出的多甲氧基黄酮,由于其结构简单和亲脂性,很容易被细胞质膜吸收,逐渐被作为活性药物关注。已有研究表明^[16]川陈皮素不仅能明显抑制骨吸收,修复去卵巢小鼠的低骨密度症状,还通过参与调控多种信号通路(NF-κB、CREB),促进细胞系的发育、增殖。川陈皮素广泛的生物学作用(调节细胞周期、减少细胞凋亡和抗氧化)已显示出潜在的药用价值。本研究基于介导维持组织动态平衡的 Hippo/YAP 信号通路,来探究川陈皮素是否能够调

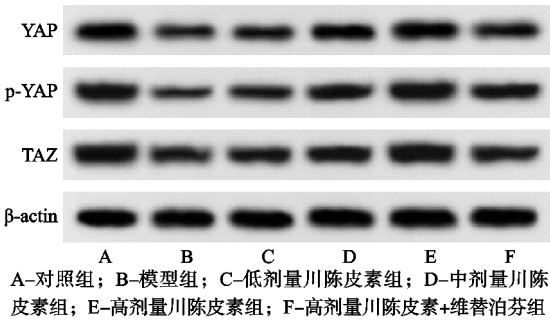


图 3 各组 Hippo/YAP 信号通路蛋白表达

表 5 各组大鼠信号通路蛋白表达水平对比 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	YAP/β-actin	p-YAP/β-actin	TAZ//β-actin
对照组	0.87±0.05	0.77±0.04	0.90±0.03
模型组	0.35±0.04 ¹⁾	0.26±0.02 ¹⁾	0.37±0.03 ¹⁾
低剂量川陈皮素组	0.46±0.05 ²⁾	0.35±0.03 ²⁾	0.49±0.05 ²⁾
中剂量川陈皮素组	0.63±0.06 ²⁾³⁾	0.51±0.04 ²⁾³⁾	0.62±0.03 ²⁾³⁾
高剂量川陈皮素组	0.84±0.05 ²⁾³⁾⁴⁾	0.72±0.02 ²⁾³⁾⁴⁾	0.85±0.06 ²⁾³⁾⁴⁾
高剂量川陈皮素+维替泊芬组	0.49±0.07 ⁵⁾	0.47±0.05 ⁵⁾	0.42±0.04 ⁵⁾

注:1)与对照组比, $P<0.05$;2)与模型组比, $P<0.05$;3)与低剂量川陈皮素组比, $P<0.05$;4)与中剂量川陈皮素组比, $P<0.05$;5)与高剂量川陈皮素组比, $P<0.05$ 。

控这一通路对骨质疏松症起到调节改善作用。

Tb. N、Tb. Th 和 Tb. Sp 是反映骨微结构变化的常用指标;BV/TV 是评价皮质骨和松质骨骨量的常用指标,比值升高说明骨合成代谢大于分解代谢,骨量增加;而骨密度是评价骨质量的重要标志,反映骨质疏松程度,是预测骨折危险性的重要依据。本研究结果表明川陈皮素可改善骨质疏松症大鼠股骨组织病损、增强骨密度,同时改善效果呈剂量依赖性,这提示川陈皮素可增强骨强度和骨重建能力。PINP 是由 I 型骨胶原的翻译后修饰形成,主要在成骨细胞增殖期高表达;而 CTX-I 是 I 型胶原蛋白的降解产物,其水平能够反映骨吸收过程,同时也能反映破骨细胞的活性状态。BALP 是骨形成标志物,其增殖、分化和成熟与骨骼的正常生长发育密切相关。IL-1β 在雌激素缺乏后的骨质流失中起重要作用,不仅是骨吸收的有效刺激物和骨生成的有效抑制剂,还可以抑制软骨细胞增殖,诱导细胞凋亡,导致软骨细胞外基质降解,在软骨破坏中起主要作用^[17]。破骨细胞是骨吸收的主要功能细胞,在骨发育、生长、修复、重建中具有重要的作用,破骨细胞过度活化是骨损伤及骨代谢紊乱的关键因素。本研究结果显示骨质疏松症大鼠股骨组织破骨细胞数量明显增多,而川陈皮素可减少破骨细胞的数量,并通过调控骨代谢促进骨形成和骨吸收,提示川陈皮素具有维持骨稳态的作用。

Hippo 通路最初被认为是一种进化保守的信号机制,主要参与维持组织动态平衡和调控器官大小的过程。随着研究的深入,发现这一通路为组织发育、再生

和癌症发病机制调节的关键途径。TAZ 和 YAP 是 Hippo 信号通路的关键下游信号分子,当 Hippo 信号通路被激活时,TAZ 和 YAP 先被磷酸化,而后转运到细胞核与其他转录因子发生相互作用,从而诱导促进细胞增殖并抑制凋亡的基因表达^[18]。Hippo 通路通过调控软骨细胞分化和软骨内成骨维持软骨止血,在新生幼儿的软骨代谢中发挥重要作用^[19]。同时,Hippo/YAP 信号通路的激活可以促进成骨细胞的增殖和分化,有助于防治骨质疏松^[20]。本研究结果表明川陈皮素可以上调 Hippo 信号通路蛋白表达,推测川陈皮素可以激活该信号通路,促进骨代谢,改善骨质疏松症症状。进一步通过通路抑制剂证明 YAP 抑制剂维替泊芬(VTPF)可以部分逆转川陈皮素对股骨组织的改善和对骨代谢的促进作用,验证了川陈皮素可以通过激活 Hippo/YAP 信号通路,改善骨质疏松症状这一推测。

综上所述,川陈皮素可能通过激活 Hippo/YAP 信号通路,促进骨代谢,增强骨密度,改善骨质疏松症状,提示川陈皮素具有治疗骨质疏松症的潜在价值。但本研究也存在一定的局限性,仅从 Hippo/YAP 单一信号通路进行研究,该信号通路是否与其他通路产生拮抗反应及能否通过其他通路对骨质疏松症大鼠起到更好治疗作用还有待深入研究;此外,目前尚不清楚川陈皮素的剂量和给药途径是否发挥了最大的骨保护效益,但就本研究对模型大鼠的表现及相关检测指标来看,并无不良效应。后续需要通过进一步的研究来加深川陈皮素对骨质疏松症骨

保护作用的认识。

参考文献

- [1] REID I R, BILLINGTON E O. Drug therapy for osteoporosis in older adults[J]. *Lancet*, 2022, 399(1): 1080-1092.
- [2] LI J, CHEN X, LU L, et al. The relationship between bone marrow adipose tissue and bone metabolism in postmenopausal osteoporosis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2020, 52(1): 88-98.
- [3] CHEN L R, KO N Y, CHEN K H. Medical treatment for osteoporosis: from molecular to clinical opinions[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2213.
- [4] FENG S L, ZHOU Y H, HUANG H L, et al. Nobiletin induces ferroptosis in human skin melanoma cells through the GSK3 β -mediated Keap1/Nrf2/HO-1 signalling pathway[J]. *Front Genet*, 2022, 13(1): 865073.
- [5] PANG Y, LIU L, MU H, et al. Nobiletin promotes osteogenic differentiation of human osteoblastic cell line (MG-63) through activating the BMP-2/RUNX-2 signaling pathway[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(9): 4916-4920.
- [6] FEARING B V, JING L, BARCELLONA M N, et al. Mechanosensitive transcriptional coactivators MRTF-A and YAP/TAZ regulate nucleus pulposus cell phenotype through cell shape[J]. *FASEB J*, 2019, 33(12): 14022-14035.
- [7] FU L, HU Y, SONG M, et al. Up-regulation of FOXD1 by YAP alleviates senescence and osteoarthritis[J]. *PLoS Biol*, 2019, 17(4): e3000201.
- [8] WANG K C, YEH Y T, NGUYEN P, et al. Flow-dependent YAP/TAZ activities regulate endothelial phenotypes and atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(41): 11525-11530.
- [9] VIRDI J K, PETHE P. Biomaterials regulate mechanosensors YAP/TAZ in stem cell growth and differentiation[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2021, 18(2): 199-215.
- [10] XIONG Y, HUANG C W, SHI C, et al. Quercetin suppresses ovariectomy-induced osteoporosis in rat mandibles by regulating autophagy and the NLRP3 pathway[J]. *Exp Biol Med*, 2024, 249(1): 10149.
- [11] 方红育, 黄涛, 周少怀, 等. 川陈皮素通过抑制 STING/NF- κ B 信号通路促进骨质疏松大鼠的骨折愈合[J]. *免疫学杂志*, 2023, 39(10): 857-864.
- [12] 邓新超, 钱亮, 邹曼. 藏红花素调节 Hippo-YAP 信号通路抑制膝关节炎大鼠软骨细胞凋亡[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(4): 538-543.
- [13] ASPRAY T J, HILL T R. Osteoporosis and the ageing skeleton[J]. *Subcell Biochem*, 2019, 91(1): 453-476.
- [14] ARCEO-MENDOZA R M, CAMACHO P M. Postmenopausal osteoporosis: latest guidelines[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2021, 50(2): 167-178.
- [15] JOHNSTON C B, DAGAR M. Osteoporosis in older adults[J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(5): 873-884.
- [16] HARADA S, TOMINARI T, MATSUMOTO C, et al. Nobiletin, a polymethoxy flavonoid, suppresses bone resorption by inhibiting NF κ B-dependent prostaglandin E synthesis in osteoblasts and prevents bone loss due to estrogen deficiency[J]. *J Pharmacol Sci*, 2011, 115(1): 89-93.
- [17] CONAGHAN P G, COOK A D, HAMILTON J A, et al. Therapeutic options for targeting inflammatory osteoarthritis pain[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(6): 355-363.
- [18] SUN K, GUO J, GUO Z, et al. The roles of the Hippo-YAP signalling pathway in cartilage and osteoarthritis[J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 90(1): 102015.
- [19] DENG Y, WU A, LI P, et al. Yap1 regulates multiple steps of chondrocyte differentiation during skeletal development and bone repair[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(9): 2224-2237.
- [20] HAN Y, PEI D, LI W, et al. Epigallocatechin gallate attenuates tumor necrosis factor (TNF)- α -induced inhibition of osteoblastic differentiation by up-regulating lncRNA TUG1 in osteoporosis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 8950-8961.

(收稿日期: 2024-07-10)