

## 淫羊藿苷促骨髓间充质干细胞骨向分化的实验研究

韦志坤<sup>1</sup> 杨芳<sup>2</sup> 邵菲<sup>1</sup> 杨金杰<sup>1</sup> 王旭东<sup>1</sup> 李树彬<sup>1</sup> 刘志翔<sup>1</sup> 刘杰<sup>1</sup> 任少海<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨淫羊藿苷在促骨髓间充质干细胞骨向分化过程中对单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息调节因子2同系物1(SIRT1)/氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 共激活剂-1 $\alpha$ (PGC1 $\alpha$ )通路的影响。方法:以第3代骨髓间充质干细胞细胞为研究对象,将其分为对照组(正常培养)、骨向诱导组(在2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 nmol/L 地塞米松、10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸酯、50  $\mu$ mol/L L-抗坏血酸-2-磷酸酯中进行骨向诱导)、淫羊藿苷低、中、高剂量组(在骨向诱导的基础上添加0.01, 0.10, 1.00  $\mu$ mol/L的淫羊藿苷)、抑制剂组(在淫羊藿苷高剂量组的基础上添加10  $\mu$ mol/L AMPK抑制剂Compound C)。CCK-8法检测细胞增殖;茜素红染色检测细胞矿化能力;ELISA试剂盒检测细胞中碱性磷酸酶(ALP)的表达;Western Blot法检测细胞中骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、骨保护素(OPN)和AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$ 通路蛋白表达。结果:对照组无矿化结节形成;骨向诱导组有明显的矿化结节;淫羊藿苷低、中、高剂量组矿化结节直径变大,染色变深,数量增多;抑制剂组矿化结节颜色变浅,结节变少。骨向诱导组OD<sub>450</sub>值、ALP、BMP-2、OPG、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$ 表达高于对照组( $P < 0.05$ );淫羊藿苷低、中、高剂量组OD<sub>450</sub>值、ALP、BMP-2、OPG、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$ 表达高于骨向诱导组( $P < 0.05$ );抑制剂组OD<sub>450</sub>值、ALP、BMP-2、OPG、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$ 表达低于淫羊藿苷高剂量组( $P < 0.05$ )。结论:淫羊藿苷可以促进骨髓间充质干细胞的骨向分化,其机制可能是通过激活AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$ 通路实现的。

**[关键词]** 淫羊藿苷;骨髓间充质干细胞;骨向分化;单磷酸腺苷活化蛋白激酶;沉默信息调节因子2同系物1;氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 共激活剂-1 $\alpha$

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)07-0024-06

**DOI:** 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 250705

## The Effect of Icariin in Promoting Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

WEI Zhikun<sup>1</sup> YANG Fang<sup>2</sup> SHAO Fei<sup>1</sup> YANG Jinjie<sup>1</sup> WANG Xudong<sup>1</sup>LI Shubin<sup>1</sup> LIU Zhixiang<sup>1</sup> LIU Jie<sup>1</sup> REN Shaohai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Handan First Hospital, Handan 056000, Hebei China;

<sup>2</sup>Handan Central Hospital, Handan 056000, Hebei China.

**Abstract Objective:** To investigate the effect of icariin on the adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK)/silent information regulatory factor 2 homolog 1 (SIRT1)/peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  co-activator-1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) pathway in promoting osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. **Methods:** The third generation bone marrow mesenchymal stem cells were assigned into control group (normal culture), osteogenic induction group (osteogenic induction in 2 mmol/L L-glutamine, 100 nmol/L dexamethasone, 10 mmol/L  $\beta$ -glycerophosphate, 50  $\mu$ mol/L L-ascorbate-2-phosphate), icariin low, medium and high doses groups (adding 0.01, 0.10, 1.00  $\mu$ mol/L

icariin on the basis of osteogenic induction), and inhibitor group (adding 10  $\mu$ mol/L AMPK inhibitor compound C on the basis of icariin high dose group). CCK-8 method was applied to detect the proliferation of cell. Alizarin red staining was applied to detect the mineralization ability of cell. ELISA kit was applied to detect the expression of alkaline phosphatase.

基金项目:邯郸市科学技术研究与发展计划项目  
(1723208066-11)

<sup>1</sup>邯郸市第一医院(河北 邯郸, 056000)

<sup>2</sup>邯郸市中心医院

tase (ALP) in cell. Western Blot was applied to detect the expression of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), osteopontin (OPN), and AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  pathway proteins in cell. **Results:** No mineralized nodules were formed in the control group; the osteogenic induction group had obvious mineralized nodules; the diameter, staining depth, and quantity of mineralized nodules increased in the icariin low, medium and high doses group, while the color of mineralized nodules reduced and the number of nodules decreased in the inhibitor group. The OD<sub>450</sub> value, ALP, BMP-2, OPG, p-AMPK/AMPK, SIRT1, and PGC1 $\alpha$  expression in the osteogenic induction group were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The OD<sub>450</sub> value, ALP, BMP-2, OPG, p-AMPK/AMPK, SIRT1, and PGC1 $\alpha$  expression in the icariin low, medium and high doses group were higher than those in the osteogenic induction group ( $P < 0.05$ ). The OD<sub>450</sub> value, ALP, BMP-2, OPG, p-AMPK/AMPK, SIRT1, and PGC1 $\alpha$  expression in the inhibitor group were lower than those in the high doses group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Icariin can promote osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, which may be achieved by activating the AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  pathway.

**Keywords:** icariin; bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation; adenosine monophosphate activated protein kinase; silent information regulatory factor 2 homolog 1; peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  co-activator-1 $\alpha$

骨质疏松症(OP)是一种代谢性疾病,导致骨骼脆弱,骨折风险增加<sup>[1]</sup>;在衰老过程中,骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞的能力降低,从而导致与年龄相关的骨质流失<sup>[2]</sup>,目前尚无治愈骨质疏松症的方法<sup>[3]</sup>。单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)可以通过增强沉默信息调节因子 2 同系物 1(SIRT1)介导的氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活剂-1 $\alpha$ (PGC1 $\alpha$ )去乙酰化来刺激 PGC1 $\alpha$  活性,其信号通路的激活可以抑制骨质疏松症<sup>[4-5]</sup>。淫羊藿苷通过促进成骨细胞生成,抑制破骨细胞生成,具有抗骨质疏松症作用<sup>[6]</sup>。本研究探讨淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞骨向分化过程中的可能作用机制,现报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验细胞

人骨髓间充质干细胞(货号为 YS7886C)购自上海雅吉生物科技有限公司。

### 1.2 主要试剂材料

人骨髓间充质干细胞(P3)完全培养基(货号为 JK\_C1661,上海晶抗生物工程有限公司);淫羊藿苷(货号为 wlb1623,上海瓦兰生物科技有限公司);AMPK 抑制剂 Compound C(货号为 US1171260,上海易汇生物科技有限公司);增强型 ECL 化学发光检测试剂盒(货号为 XY-3502-1,上海信裕生物科技有限公司);CCK-8 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(货号为 GK3607,上海圻明生物科技有限公司);茜素红 S 染色试剂盒(货号为 HZ121105,上海沪震实业有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号为 BN27109,北京拜尔迪生物技术有限公司);人碱性磷酸酶(ALP)ELISA 试剂盒(货号为 EKU10514,艾美捷科技有限公司);GAPDH、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、骨保护素(OPG)、p-AMPK、AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$ 、HRP(货号分别为 ab9485、ab284387、ab183910、ab133448、

ab32047、ab32441、ab191838、ab2057199,英国 Abcam 公司)。

### 1.3 实验仪器

倒置显微镜(型号为 MHIF2000,广州市明慧科技有限公司);酶标仪(型号为 DEL-100,杭州米欧仪器有限公司)。

### 1.4 细胞培养与分组

以第 3 代骨髓间充质干细胞为研究对象,将其分为对照组(正常培养)、骨向诱导组(在 2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 nmol/L 地塞米松、10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸酯、50  $\mu$ mol/L L-抗坏血酸-2-磷酸酯中进行骨向诱导<sup>[7]</sup>)、淫羊藿苷低、中、高剂量组(在骨向诱导的基础上添加 0.01, 0.10, 1.00  $\mu$ mol/L 淫羊藿苷<sup>[8]</sup>)、抑制剂组(在淫羊藿苷高剂量组的基础上添加 10  $\mu$ mol/L AMPK 抑制剂 Compound C<sup>[9]</sup>)。每组实验重复 3 次,每次 2 个平行实验。

### 1.5 指标检测

**1.5.1 CCK-8 法检测细胞增殖** 将  $1 \times 10^4$  个骨髓间充质干细胞按分组接种于 96 孔板中进行干预,用含有 10  $\mu$ L CCK-8 试剂的新鲜培养基更新培养基,37  $^{\circ}$ C 下孵育 4 h,用酶标仪检测 450 nm 处的光密度(OD<sub>450</sub>)。

**1.5.2 茜素红染色检测细胞矿化能力** 将骨髓间充质干细胞在 6 孔板中培养 2 周,PBS 洗涤 3 次后,将收获的细胞在 4%多聚甲醛中固定 20 min,用 PBS 洗涤 3 次,用茜素红在室温下染色 10 min,在显微镜下进行观察,检测细胞的矿化能力。

**1.5.3 ELISA 试剂盒检测骨髓间充质干细胞中碱性磷酸酶的表达** 收集骨髓间充质干细胞离心取上清液,用碱性磷酸酶 ELISA 试剂盒,将上清液样本和不同浓度稀释的碱性磷酸酶标准品加入 96 孔板中,按说明书进行操作,于酶标仪 450 nm 处测定吸光度,绘制碱性磷酸酶的标准品曲线,将样本孔吸光度代入,计算

骨髓间充质干细胞中碱性磷酸酶的表达。

**1.5.4 Western Blot 法检测细胞中 BMP-2、OPG 和 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  通路蛋白表达** 总蛋白用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 缓冲液在冰上提取,用 BCA 蛋白分析试剂测定蛋白浓度,总蛋白(30  $\mu$ g)采用 10% SDS-PAGE 分离,然后转移到 PVDF 膜,用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭膜 1 h,与 GAPDH(1:2 500)、BMP-2(1:1 000)、OPG(1:500)、p-AMPK(1:1 000)、AMPK(1:1 000)、SIRT1(1:20 000)、PGC1 $\alpha$ (1:1 000)一抗 4  $^{\circ}$ C 下孵育 12 h 后,用 TBST 洗脱,与二抗(1:2 000)孵育 1 h。用增强型 ECL 试剂盒来可视化蛋白质,并用 Image J 软件进行分析,测定骨髓间充质干细胞中 BMP-2、OPG、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达水平。

### 1.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  形式表示,单因素方差分析用于多组间比较,进一步两两比较行 SNK- $q$  检验, $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞增殖的影响

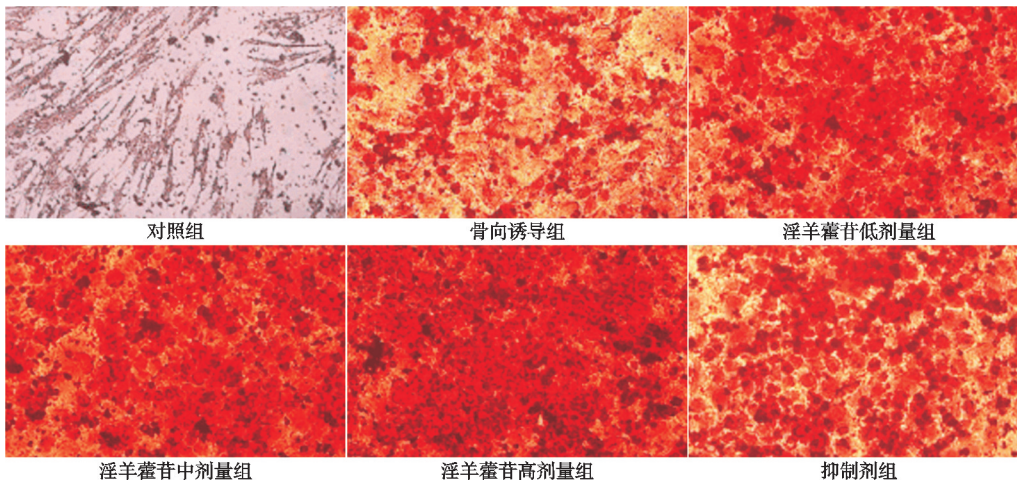


图 1 茜素红染色检测骨髓间充质干细胞矿化能力( $\times 200$ )

### 2.3 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中碱性磷酸酶表达的影响

骨向诱导组碱性磷酸酶表达高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );淫羊藿苷低、中、高剂量组碱性磷酸酶表达高于骨向诱导组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );抑制剂组碱性磷酸酶表达低于淫羊藿苷高剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

### 2.4 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中 BMP-2、OPG 蛋白表达的影响

骨向诱导组 BMP-2、OPG 蛋白表达高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );淫羊藿苷低、中、高剂量组中 BMP-2、OPG 蛋白表达高于骨向诱导组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );抑制剂组 BMP-2、OPG 蛋

白表达低于淫羊藿苷高剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2 及表 3。

表 2 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中碱性磷酸酶表达的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	OD <sub>450</sub> 值
对照组	0.23 $\pm$ 0.07
骨向诱导组	0.47 $\pm$ 0.08 <sup>1)</sup>
淫羊藿苷低剂量组	0.69 $\pm$ 0.09 <sup>2)</sup>
淫羊藿苷中剂量组	0.94 $\pm$ 0.10 <sup>2)3)</sup>
淫羊藿苷高剂量组	1.05 $\pm$ 0.11 <sup>2)3)4)</sup>
抑制剂组	0.42 $\pm$ 0.07 <sup>5)</sup>

注:1)与对照组比较, $P < 0.05$ ;2)与骨向诱导组比较, $P < 0.05$ ;3)与淫羊藿苷低剂量组比较, $P < 0.05$ ;4)与淫羊藿苷中剂量组比较, $P < 0.05$ ;5)与淫羊藿苷高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

### 2.2 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞矿化能力的影响

对照组无矿化结节形成;骨向诱导组有明显的矿化结节;淫羊藿苷低、中、高剂量组矿化结节直径变大,染色变深,数量增多;抑制剂组矿化结节颜色变浅,结节变少,见图 1。

白表达低于淫羊藿苷高剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2 及表 3。

表 2 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中碱性磷酸酶表达的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	碱性磷酸酶/(U $\cdot$ mg <sup>-1</sup> )
对照组	23.15 $\pm$ 4.31
骨向诱导组	36.84 $\pm$ 7.86 <sup>1)</sup>
淫羊藿苷低剂量组	48.29 $\pm$ 5.27 <sup>2)</sup>
淫羊藿苷中剂量组	50.34 $\pm$ 6.03 <sup>2)3)</sup>
淫羊藿苷高剂量组	68.71 $\pm$ 6.95 <sup>2)3)4)</sup>
抑制剂组	43.56 $\pm$ 5.04 <sup>5)</sup>

注:1)与对照组比较, $P < 0.05$ ;2)与骨向诱导组比较, $P < 0.05$ ;3)与淫羊藿苷低剂量组比较, $P < 0.05$ ;4)与淫羊藿苷中剂量组比较, $P < 0.05$ ;5)与淫羊藿苷高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

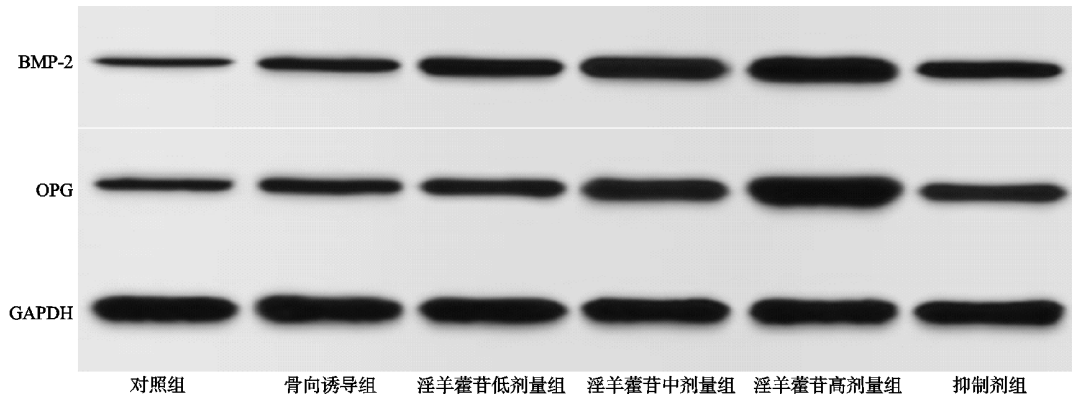


图 2 Western Blot 法检测骨髓间充质干细胞中 BMP-2、OPG 蛋白表达

表 3 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中 BMP-2、OPG 蛋白表达的影响 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	BMP-2	OPG
对照组	0.19 ± 0.06	0.31 ± 0.10
骨向诱导组	0.42 ± 0.07 <sup>1)</sup>	0.52 ± 0.11 <sup>1)</sup>
淫羊藿苷低剂量组	0.75 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.79 ± 0.13 <sup>2)</sup>
淫羊藿苷中剂量组	0.98 ± 0.10 <sup>2)3)</sup>	1.03 ± 0.14 <sup>2)3)</sup>
淫羊藿苷高剂量组	1.27 ± 0.13 <sup>2)3)4)</sup>	1.38 ± 0.15 <sup>2)3)4)</sup>
抑制剂组	0.64 ± 0.08 <sup>3)</sup>	0.70 ± 0.12 <sup>3)</sup>

注: 1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与骨向诱导组比较,  $P < 0.05$ ; 3)与淫羊藿苷低剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 4)与淫羊藿苷中剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 5)与淫羊藿苷高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.5 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中 p-AMPK、AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$ 蛋白表达的影响

骨向诱导组 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 淫羊藿苷低、中、高剂量组中 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达高于骨向诱导组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 抑制剂组 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达低于淫羊藿苷高剂量组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 3 及表 4。

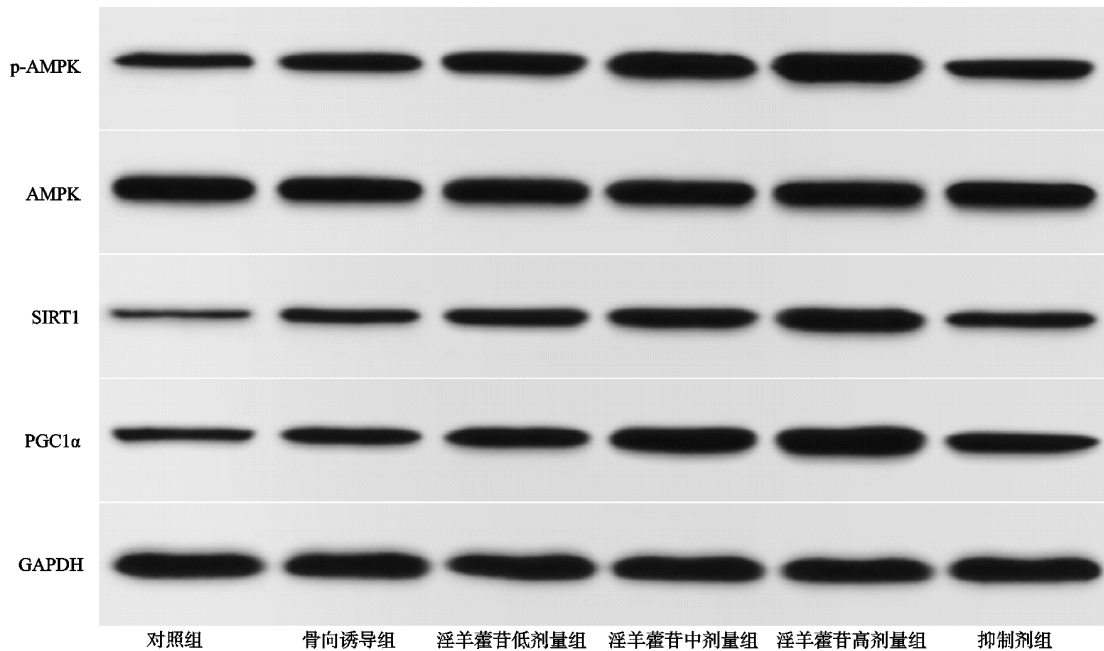


图 3 Western Blot 法检测骨髓间充质干细胞中 p-AMPK、AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达

表 4 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞中 p-AMPK、AMPK、SIRT1、PGC1 $\alpha$  蛋白表达的影响 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	p-AMPK/AMPK	SIRT1	PGC1 $\alpha$
对照组	0.52 ± 0.13	0.20 ± 0.06	0.43 ± 0.09
骨向诱导组	0.73 ± 0.14 <sup>1)</sup>	0.41 ± 0.07 <sup>1)</sup>	0.67 ± 0.10 <sup>1)</sup>
淫羊藿苷低剂量组	0.94 ± 0.16 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.90 ± 0.12 <sup>2)</sup>
淫羊藿苷中剂量组	1.18 ± 0.17 <sup>2)3)</sup>	0.85 ± 0.10 <sup>2)3)</sup>	1.15 ± 0.13 <sup>2)3)</sup>
淫羊藿苷高剂量组	1.41 ± 0.18 <sup>2)3)4)</sup>	1.09 ± 0.11 <sup>2)3)4)</sup>	1.33 ± 0.14 <sup>2)3)4)</sup>
抑制剂组	0.87 ± 0.15 <sup>5)</sup>	0.53 ± 0.08 <sup>5)</sup>	0.88 ± 0.11 <sup>5)</sup>

注: 1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与骨向诱导组比较,  $P < 0.05$ ; 3)与淫羊藿苷低剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 4)与淫羊藿苷中剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 5)与淫羊藿苷高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

骨稳态是通过破骨细胞的骨吸收和成骨细胞的骨形成之间的平衡来维持的,以维持正常的结构和功能,当这种平衡被破坏时,就会发生骨质疏松症<sup>[10-11]</sup>。成骨细胞主要来源于骨髓间充质干细胞,其成骨分化对改善骨质疏松症至关重要,分化后的细胞是调节细胞成骨过程的重要效应因子,也是调节细胞外基质和导致矿化的关键原因<sup>[12]</sup>。因此,促进骨髓间充质干细胞的成骨分化对骨质疏松症治疗具有重要的临床意义,探讨相关的作用靶点和新药物,对提高骨质疏松症的临床治疗效能至关重要。本研究通过骨向诱导骨髓间充质干细胞,发现细胞增殖能力增强,成骨指标表达升高,矿化结节直径变大,数量增多,提示成骨诱导骨髓间充质干细胞可以增强细胞的活性,促进成骨分化。

AMPK 可以通过增加细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)水平来增强 SIRT1 活性,从而调控 SIRT1 下游靶点 PGC1 $\alpha$  的去乙酰化和活性,参与细胞内能量代谢和骨代谢<sup>[13]</sup>。Liu 等<sup>[14]</sup>发现丹酚酸 C 通过激活 AMPK/SIRT1 通路促进骨质疏松症大鼠骨髓间充质干细胞的成骨分化,改善大鼠的血清和尿液生化代谢以及骨组织病理改变,治疗骨质疏松症有效。Huang 等<sup>[15]</sup>发现,烟酰胺单核苷酸通过激活 SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路减弱糖皮质激素诱导的成骨抑制。安方玉等<sup>[16]</sup>发现藤黄健骨胶囊可以抑制绝经后骨质疏松症大鼠的成骨细胞凋亡,其机制可能是调控 SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路实现的。Gu 等<sup>[17]</sup>发现敲除肌生长抑制素通过抑制骨骼肌中 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  通路影响线粒体功能,进而影响骨骼肌质量。Xiao 等<sup>[5]</sup>发现过表达 STK11 通过激活 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路抑制糖皮质激素诱导的骨质疏松症。本研究发现在骨向诱导骨髓间充质干细胞中,AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路被激活,提示 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路可以促进骨髓间充质干细胞的活性和成骨分化,可以作为骨质疏松症的潜在治疗靶点。

淫羊藿广泛应用于增强性功能、提高免疫力、抗癌、抗衰老等方面,淫羊藿苷是从淫羊藿中分离出来的主要活性成分,淫羊藿经消化后主要代谢为淫羊藿苷。来自体外和体内研究的数据表明,淫羊藿苷具有多种生物活性,如抗肿瘤、神经保护、抗氧化、激素调节、免疫功能调节、抗炎等特性,此外,淫羊藿苷在多种年龄依赖性疾病中发挥有益作用<sup>[18]</sup>。Si 等<sup>[19]</sup>发现淫羊藿苷通过 Cullin3/Nrf2/OH 通路抑制破骨细胞活性和氧化应激反应,改善去卵巢大鼠的骨质疏松症。Liu 等<sup>[20]</sup>发现淫羊藿苷通过下调 mTOR/自噬途径,促进骨髓间充质干细胞成骨分化,抑制骨吸收,改善生酮饮食相关骨质疏松症,可以作为生酮饮食诱导的骨质流

失的替代疗法。Huang 等<sup>[21]</sup>发现淫羊藿苷可通过调节 EphB4/Ephrin-B2 通路的平衡,增加糖皮质激素诱导的骨小梁的密度来改善骨质疏松症。Jin 等<sup>[22]</sup>发现,淫羊藿苷上调甲基转移酶样 14 介导的脯氨酰 4-羟化酶  $\beta$  亚基 m6A 修饰,促进骨髓间充质干细胞的成骨分化,减缓骨质疏松症大鼠的疾病进展。本研究发现采用淫羊藿苷处理骨向诱导骨髓间充质干细胞时,细胞增殖能力增强,矿化结节增多,成骨指标表达升高,提示淫羊藿苷可以促进骨髓间充质干细胞的成骨分化,可能是骨质疏松症的潜在治疗靶点。进一步研究表明,AMPK 抑制剂可以逆转淫羊藿苷的作用效能,提示淫羊藿苷通过激活 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路,促进骨髓间充质干细胞的骨向分化,从而抑制骨质疏松症的进展。

综上所述,淫羊藿苷可以促进骨髓间充质干细胞的骨向分化,其机制可能是通过激活 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  通路实现的。然而,本研究局限于细胞实验和 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路,后续研究将完善实验方案,深入研究其发生的可能机制。

### 参考文献

- [1] CHEN L, YU C, XU W, et al. Dual-targeted nanodiscs revealing the cross-talk between osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and macrophages [J]. ACS Nano, 2023, 17(3): 3153-3167.
- [2] LIN Z, HE H, WANG M, et al. MicroRNA-130a controls bone marrow mesenchymal stem cell differentiation towards the osteoblastic and adipogenic fate [J]. Cell Prolif, 2019, 52(6): 12688-12697.
- [3] LIU J, YOU Y, SUN Z, et al. WTAP-mediated m6A RNA methylation regulates the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via the miR-29b-3p/HDAC4 axis [J]. Stem Cells Transl Med, 2023, 12(5): 307-321.
- [4] WEN J J, CUMMINS C B, SZCZESNY B, et al. Cardiac dysfunction after burn injury: role of the AMPK-SIRT1-PGC1 $\alpha$ -NFE2L2-ARE pathway [J]. J Am Coll Surg, 2020, 230(4): 562-571.
- [5] XIAO J, LI W, LI G, et al. STK11 overexpression prevents glucocorticoid-induced osteoporosis via activating the AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  axis [J]. Hum Cell, 2022, 35(4): 1045-1059.
- [6] YU T, XIONG Y, LUU S, et al. The shared KEGG pathways between icariin-targeted genes and osteoporosis [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(9): 8191-8201.
- [7] 韩晓峰, 朱乃锋, 高英健, 等. Wnt 通路中蓬松蛋白 DNA 甲基化对骨质疏松患者骨髓间充质干细胞成骨分化影响 [J]. 现代生物医学进展, 2024, 24(6): 1050-1057.
- [8] 韩一旦, 张海凤, 许云腾, 等. 淫羊藿苷通过 Caveolin-1/Hippo 信号通路促进 BMSCs 成骨分化改善骨代谢紊乱

- 的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(3): 1-13.
- [9] 朱鹏飞, 赖晓蓉, 熊沿, 等. 蟛蜞菊内酯通过抑制 AMPK/NLRP3/Caspase-1 信号通路减轻脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2024, 23(7): 488-494.
- [10] ZHIVODERNIKOV I V, KIRICHENKO T V. Molecular and cellular mechanisms of osteoporosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15772-15793.
- [11] WANG B, LI Z, MAI C, et al. miR-26b-5p promotes osteogenesis of bone mesenchymal stem cells via suppressing FGF21[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(38): 35333-35339.
- [12] REN L, ZHU X, TAN J, et al. MiR-210 promotes bone formation in ovariectomized rats by regulating osteogenic/adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through downregulation of EPHA2[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 811-821.
- [13] ZHOU X, XU S, ZHANG Z, et al. Gouqi-derived nanovesicles (GqDNVs) inhibited dexamethasone-induced muscle atrophy associating with AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  signaling pathway[J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22(1): 276.
- [14] LIU X, ZHOU K, DENG X, et al. Salvianolic acid C promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in osteoporotic rats through activation of AMPK/SIRT1 pathway[J]. *Int J Rheum Dis*, 2023, 26(8): 1571-1578.
- [15] HUANG R X, TAO J. Nicotinamide mononucleotide attenuates glucocorticoid induced osteogenic inhibition by regulating the SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(1): 145-154.
- [16] 安方玉, 王霞霞, 颜春鲁, 等. 藤黄健骨胶囊通过 SIRT1/PGC-1 $\alpha$ /Nrf2 信号通路抑制绝经后骨质疏松大鼠成骨细胞凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2024, 40(3): 383-392.
- [17] GU M, WEI Z, WANG X, et al. Myostatin knockout affects mitochondrial function by inhibiting the AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  pathway in skeletal muscle[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13703-13716.
- [18] LI Y, WEI Z F, SU L. Anti-aging effects of icariin and the underlying mechanisms: a mini-review [J]. *Aging Med (Milton)*, 2024, 7(1): 90-95.
- [19] SI Y, LI Y, GU K, et al. Icariin ameliorates osteoporosis in ovariectomized rats by targeting Cullin3/Nrf2/OH pathway for osteoclast inhibition[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173(1): 1164220-1164229.
- [20] LIU W, XIANG S, WU Y, et al. Icariin promotes bone marrow mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via the mTOR/autophagy pathway to improve ketogenic diet-associated osteoporosis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2024, 19(1): 127-136.
- [21] HUANG M, WANG Y, PENG R. Icariin alleviates glucocorticoid-induced osteoporosis through EphB4/Ephrin-B2 axis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 1(1): 2982480-2982487.
- [22] JIN Y, WU A, BIAN S, et al. Icariin upregulates methyltransferase-like 14-mediated prolyl 4-hydroxylase  $\beta$  subunit m6A modification to promote osteogenic differentiation of bone marrow stem cells[J]. *Exp Cell Res*, 2024, 440(2): 114138.

(收稿日期: 2024-12-16)

(上接第 23 页)

- [19] SETHI P, MEHAN S, KHAN Z, et al. Acetyl-11-keto-beta boswellic acid(AKBA) modulates CSTC-pathway by activating SIRT-1/Nrf2-HO-1 signalling in experimental rat model of obsessive-compulsive disorder; evidenced by CSF, blood plasma and histopathological alterations[J]. *Neurotoxicology*, 2023, 98: 61-85.
- [20] MOHAN S, GUPTA D. Crosstalk of toll-like receptors signaling and Nrf2 pathway for regulation of inflammation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1866-1878.

(收稿日期: 2024-12-14)