

高良姜素对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响

刘衡¹ 苏红青¹ 杨艳兵¹ 张玉宝¹ 季向南¹

[摘要] **目的:**探究高良姜素对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)成骨分化的影响及其作用机制。**方法:**构建骨质疏松症(OP)大鼠模型并将其分为对照组、模型组、高良姜素低剂量组、高良姜素高剂量组。Micro-CT检测大鼠股骨微结构、qRT-PCR检测股骨组织成骨相关基因(ALP、RUNX2、OPN、BMP2)的相对表达水平。从骨质疏松症大鼠股骨中提取骨髓间充质干细胞并将其分为对照组、高良姜素低剂量组、高良姜素高剂量组、Noggin组、高良姜素高剂量+Noggin组。用CCK-8试剂盒检测细胞活力,用碱性磷酸酶试剂盒检测细胞上清碱性磷酸酶水平,用茜素红染色法检测骨髓间充质干细胞的成骨分化能力;用Western Blot法检测各组骨髓间充质干细胞中BMP2/RUNX2通路有关蛋白表达量。**结果:**随着高良姜素剂量的提高,骨质疏松症大鼠骨密度(BMD)、BV/TV、Tb. N、Tb. Th指标水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。从骨质疏松症大鼠股骨组织提取的第3代骨髓间充质干细胞生长良好,成骨诱导显示有矿化结节,说明骨髓间充质干细胞提取成功。与对照组相比,随着高良姜素剂量的提高,骨髓间充质干细胞活性增强,细胞上清碱性磷酸酶含量增加,钙化结节增多,BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I蛋白表达水平明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);抑制BMP2/RUNX2通路可明显降低骨髓间充质干细胞活性和细胞上清碱性磷酸酶水平,同时矿化结节数量减少,BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I蛋白表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高良姜素高剂量组相比,高良姜素高剂量+Noggin组骨髓间充质干细胞活性和细胞上清碱性磷酸酶水平降低,矿化结节数量减少,BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I蛋白表达水平明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**高良姜素可提高骨质疏松症大鼠骨强度,增强骨髓间充质干细胞活性并促进其成骨分化,其潜在机制可能与BMP2/RUNX2通路的激活有关。

[关键词] 高良姜素;大鼠;骨髓间充质干细胞;成骨分化;BMP2/RUNX2通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2026)02-0022-06

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 260203

The Effect of Galangin on the Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

LIU Heng¹ SU Hongqing¹ YANG Yanbing¹ ZHANG Yubao¹ JI Xiangnan¹

¹ The Second People's Hospital of Hengshui, Hengshui 053000, Hebei China.

Abstract Objective: To explore the effect of galangin on osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and its mechanism of action. **Methods:** Osteoporosis (OP) model rats were constructed and assigned to control group, model group, low-dose galangin group, and high-dose galangin group. Micro-CT was used to detect the microstructure of the rat femur, and qRT-PCR was used to detect the relative expression levels of osteogenic-related genes (ALP, RUNX2, OPN, BMP2) in femoral tissue. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) were extracted from the femurs of OP rats and divided into the control group, the low-dose galangin group, the high-dose galangin group, the Noggin group, and the high-dose galangin + Noggin group. CCK-8 assay kit was used to detect cell viability. The ALP assay kit was used to detect ALP in the cell supernatant. The Alizarin Red staining method was performed to detect the osteogenic differentiation ability of BMSCs. Western Blot was performed to detect the BMP2/RUNX2 pathway-related proteins

in BMSCs. **Results:** With the increase of galangin dose, the bone mineral density (BMD), BV/TV, Tb. N, and Tb. Th in OP rats significantly increased ($P < 0.05$). The third-gener-

基金项目:衡水市科技计划项目(2022014079Z)

¹ 衡水市第二人民医院(河北 衡水, 053000)

atio generation BMSCs isolated from femoral tissue of OP rats exhibited good growth, and osteogenic induction resulted in the formation of mineralized nodules, indicating successful extraction of BMSCs. For the control group, as the galangin concentration increased, the activity of BMSCs increased, the ALP level in the cell supernatant increased, the calcified nodules increased, the BMP2, RUNX2, ALP, OPN, and Collagen I proteins significantly increased ($P < 0.05$). Inhibition of the BMP2/RUNX2 pathway clearly reduced the activity of BMSCs and ALP in cell supernatant, reduced mineralized nodules, and decreased BMP2, RUNX2, ALP, OPN, and Collagen I proteins ($P < 0.05$). For the high-dose galangin group, the high-dose galangin + Noggin group showed decreased BMSCs activity and ALP in the cell supernatant, reduced mineralized nodules, and clearly reduced BMP2, RUNX2, ALP, OPN, and Collagen I proteins ($P < 0.05$). **Conclusion:** Galangin can improve bone strength, enhance BMSCs activity, and promote osteogenic differentiation in OP rats, and its potential mechanism may be related to the activation of the BMP2/RUNX2 pathway.

Keywords: galangin; rat; bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation; BMP2/RUNX2 pathway

骨质疏松症(OP)是一种全身性骨代谢疾病^[1],目前临床用药治疗效果不佳^[2]。骨髓间充质干细胞(BMSCs)是骨稳态和再生的关键,其异常分化会导致骨质疏松症的发生^[3];促进骨髓间充质干细胞的成骨分化能够恢复骨稳态,改善骨质疏松症进展^[4]。高良姜素具有抗炎、抗肿瘤等广泛药理作用^[5],研究显示高良姜素对脂多糖刺激的骨髓间充质干细胞发挥抗炎作用,并通过激活 AKT/mTOR 信号传导促进成骨分化^[6]。BMP2/Runx2 信号通路的激活对于成骨分化和骨缺损修复至关重要^[7],研究显示激活 BMP2/Runx2 信号通路可诱导小鼠骨髓间充质干细胞成骨细胞分化,促进骨生成^[8]。本研究基于 BMP2/Runx2 信号通路探究高良姜素对骨质疏松症大鼠骨强度及骨髓间充质干细胞成骨分化的影响,为临床骨质疏松症的治疗提供理论基础,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究选用 7 周龄(200 ± 10)g、无特定病原体(SPF)级雌性 SD 大鼠,购自上海市公共卫生临床中心(生产许可证号为 SCXK(沪)2020-0002)。所有大鼠饲养在环境温度为 24 °C、湿度为 60%的环境中,每天光照、黑暗时间各 12 h,适应性喂养 7 d。本研究经衡水市第二人民医院动物伦理委员会批准(批准号为伦审(研)第 2024-03-025 号)。

1.2 实验试剂与主要仪器

高良姜素(货号为 00562, HPLC ≥ 98%, Aladdin 公司), CCK-8 试剂盒(货号为 0500, Bioswamp 公司), 成骨诱导试剂盒(货号为 8371, Sigma 公司), 茜素红 S 染色试剂盒(货号为 0223, Sciencell 公司), 碱性磷酸酶检测试剂盒(货号为 P0321S, Beyotime 公司), BMP2, RUNX2, ALP, OPN, Collagen I, GAPDH(货号分别为 214821、236639、224335、307994、316222、181603, Abcam 公司)。小动物 Micro-CT 成像系统(合肥锐视医疗科技有限公司), 全自动凝胶成像分析

系统(上海金鹏分析仪器有限公司), 多功能酶标仪(成都市科迈普生物科技有限公司), CO₂ 培养箱(Memmert 公司)。

1.3 方法

1.3.1 骨质疏松症大鼠模型构建 适应性喂养后, 分别对 36 只大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)进行麻醉, 剃毛消毒后, 在脊柱附近 1.5 cm 处切开一个纵向切口, 暴露腹腔。切除双侧卵巢, 结扎输卵管, 缝合切口并消毒。假手术组大鼠暴露腹腔, 仅切除部分脂肪组织。术后肌肉注射 4×10^4 U/(kg · d)青霉素以防感染^[9]。10 周后检测大鼠腰椎骨密度(BMD), 若骨密度值显著低于假手术组, 则表明模型构建成功。

1.3.2 分组与处理 将造模成功的大鼠随机分为模型组、高良姜素低剂量组、高良姜素高剂量组, 各组均为 12 只。另取 12 只假手术组大鼠作为对照组。其中高良姜素低、高剂量组大鼠分别腹腔注射 5, 10 mg/kg 的高良姜素^[10], 1 次/d, 连续 12 周。对照组和模型组大鼠以等量生理盐水代替药物。

1.3.3 股骨微结构分析 各组取 6 只大鼠麻醉处死, 取右侧股骨并剔除周围的软组织, 经固定液固定处理后采用 Micro-CT 影像系统进行扫描, 并定量分析骨密度(BMD)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数(Tb. N)和骨小梁厚度(Tb. Th)。

1.3.4 qRT-PCR 检测成骨相关 mRNA 的表达 各组取 6 只大鼠股骨组织用 Trizol 试剂提取总 RNA, 检测浓度并定量为同一浓度, 然后反转录成 cDNA, 随后进行聚合酶链式反应扩增。变性、退火和延伸按试剂盒说明书进行设定。通过熔融曲线图确认引物是否有效, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达水平。

1.3.5 细胞提取、培养与鉴定 将大鼠股骨与周围软组织分离并取出, 用改良的 DMEM 培养基反复洗涤骨髓腔, 将液体离心弃上清后重悬, 然后进行常规培养; 及时更换培养液并去除未贴壁的细胞, 贴壁的骨髓间充质干细胞用于培养, 当细胞融合至 90% 左右时进

表 1 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
ALP	F:AGAATCTGGTGCAGGAATGG R:AGGCTCAAAGAGACCCATGA
RUNX2	F:GGACCGACACAGCCATATAAA R:GCCTCATTCCCTAACCTGAAA
OPN	F:ATCGTAGCTAGCTAGTCGAGCA R:CCCCCTGTGCTAGCTAGCTAGC
BMP2	F:TTCCTGGTAACCGAATGCT R:GGGGCTTCATAACCTCATAA
β -Actin	F:GAAACTACCTTCAACTCCATC R:CTAGAAGCATTTGCGGTGGAC

行传代。对培养至第 3 代的骨髓间充质干细胞进行形态学鉴定以及成骨分化能力检测, 鉴定成功后用于实验。

1.3.6 细胞分组处理 收集对数生长期的骨髓间充质干细胞并将其分为对照组(常规培养基+成骨诱导液)、高良姜素低剂量组(10 $\mu\text{mol/L}$ 高良姜素+常规培养基+成骨诱导液)、高良姜素高剂量组(20 $\mu\text{mol/L}$ 高良姜素+常规培养基+成骨诱导液)^[11]、BMP2/RUNX2 通路抑制剂组(Noggin 组, 1 $\mu\text{g/mL}$ Noggin+常规培养基+成骨诱导液)、高剂量高良姜素+Noggin 组(20 $\mu\text{mol/L}$ 高良姜素+1 $\mu\text{g/mL}$ Noggin+常规培养基+成骨诱导液)^[12], 成骨诱导液由 10 mmol/L β -甘油磷酸钠+0.05 mmol/L L-抗坏血酸-2-磷酸酯+100 nmol/L 地塞米松组成。

1.3.7 CCK-8 检测细胞活力 各处理组细胞培养至第 7 天时, 收集各组细胞以 3×10^4 /孔接种至 96 孔板。在 CO_2 培养箱中培养 24 h 后, 分别向每个孔中加入

10 μL CCK-8 试剂。孵育后在酶标仪中于 450 nm 波长下测量吸光度并计算细胞活力。

1.3.8 各组细胞 ALP 活性检测 各处理组细胞培养至第 7 天时, 收集细胞上清液, 按照试剂盒说明书检测 ALP 水平。

1.3.9 各组细胞成骨分化检测 各处理组细胞培养至第 21 天时, 收集各组骨髓间充质干细胞, 经 PBS 洗涤、多聚甲醛固定后, 加入茜素红染色液染色后进行观察。

1.3.10 Western Blot 检测 BMP2/RUNX2 通路相关蛋白表达 收集各组骨髓间充质干细胞, 加入预冷的细胞裂解液裂解细胞, 提取并定量总蛋白。蛋白变性后通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并将其转移到 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶封闭后分别加入 BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I、GAPDH 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜, 次日室温下加入二抗孵育, 可视化处理后, 用 ImageJ 软件进行条带灰度分析。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件对数据进行处理分析, 计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 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 高良姜素对大鼠股骨显微结构的影响

如表 2 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠股骨微结构指标显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 随着高良姜素剂量的提高, 低、高剂量高良姜素组大鼠股骨微结构指标显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠股骨显微结构指标比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	BMD/($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$)	(BV/TV)/%	Tb. N/ mm^{-1}	Tb. Th/ μm
对照组	251.95 \pm 32.61	48.89 \pm 5.10	3.91 \pm 0.60	59.62 \pm 4.23
模型组	153.54 \pm 18.62 ¹⁾	32.26 \pm 4.51 ¹⁾	2.37 \pm 0.38 ¹⁾	41.17 \pm 3.81 ¹⁾
高良姜素低剂量组	187.06 \pm 21.07 ²⁾	37.54 \pm 3.30 ²⁾	2.94 \pm 0.40 ²⁾	48.43 \pm 5.62 ²⁾
高良姜素高剂量组	230.17 \pm 14.19 ²⁾³⁾	44.09 \pm 3.27 ²⁾³⁾	3.70 \pm 0.45 ²⁾³⁾	55.20 \pm 3.97 ²⁾³⁾

注: 1) 与对照组相比, $P < 0.05$; 2) 与模型组相比, $P < 0.05$; 3) 与高良姜素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.2 高良姜素对大鼠股骨组织成骨相关基因表达的影响

如表 3 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠各成骨基因表达水平显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$);

与模型组相比, 随着高良姜素浓度的提高, 低、高剂量高良姜素组大鼠各成骨基因表达水平显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 骨髓间充质干细胞的生长形态及分化能力鉴定

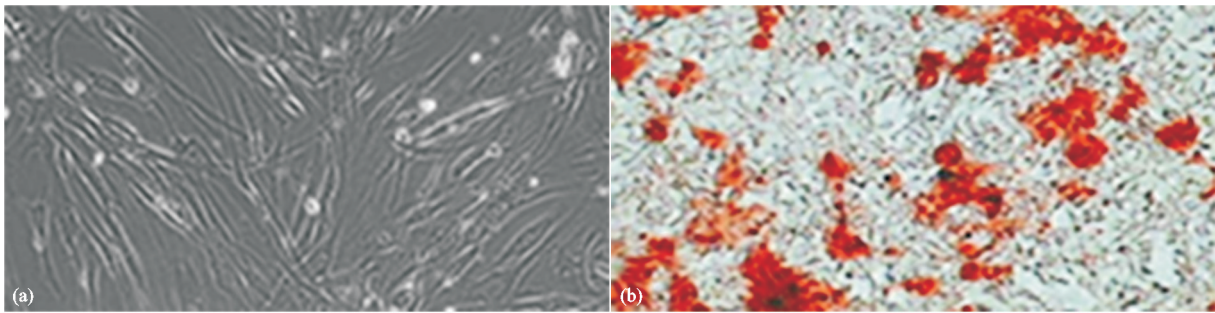
表 3 各组大鼠成骨相关基因相对表达水平比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	ALP	RUNX2	OPN	BMP2
对照组	1.00 \pm 0.02	0.99 \pm 0.03	1.01 \pm 0.02	0.98 \pm 0.04
模型组	0.61 \pm 0.08 ¹⁾	0.57 \pm 0.08 ¹⁾	0.63 \pm 0.07 ¹⁾	0.49 \pm 0.08 ¹⁾
高良姜素低剂量组	0.79 \pm 0.10 ²⁾	0.70 \pm 0.09 ²⁾	0.77 \pm 0.08 ²⁾	0.68 \pm 0.10 ²⁾
高良姜素高剂量组	0.93 \pm 0.06 ²⁾³⁾	0.91 \pm 0.07 ²⁾³⁾	0.94 \pm 0.05 ²⁾³⁾	0.89 \pm 0.07 ²⁾³⁾

注: 1) 与对照组相比, $P < 0.05$; 2) 与模型组相比, $P < 0.05$; 3) 与高良姜素低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

如图 1(a) 所示,第 3 代细胞可见明显的细胞集群,细胞呈长梭形;图 1(b) 为成骨诱导后茜素红染色

显示为橘红色的钙化沉着物,说明骨髓间充质干细胞提取成功。



(a) 第3代骨髓间充质干细胞生长形态

(b) 茜素红染色显示骨髓间充质干细胞中的钙化沉着物

图 1 骨髓间充质干细胞的生长形态及分化能力鉴定

2.4 各组大鼠骨髓间充质干细胞活力比较

如表 4 所示,与对照组相比,随着高良姜素剂量的提高,低、高剂量高良姜素组细胞活力显著升高(呈剂量依赖效应),差异有统计学意义($P < 0.05$),Noggin 组细胞活力明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高良姜素高剂量组相比,高良姜素高剂量+Noggin 组细胞活力明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 4 各组大鼠骨髓间充质干细胞活力对比($n=6, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	细胞活力
对照组	100.00 ± 0.00
高良姜素低剂量组	115.63 ± 8.70 ¹⁾
高良姜素高剂量组	128.12 ± 10.03 ¹⁾²⁾
Noggin 组	96.75 ± 6.58 ¹⁾
高良姜素高剂量+Noggin 组	108.87 ± 7.46 ³⁾

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$;2)与高良姜素低剂量组相比, $P < 0.05$;3)与高良姜素高剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.5 各组大鼠骨髓间充质干细胞碱性磷酸酶水平比较

如表 5 所示,与对照组相比,随着高良姜素浓度的提高,低、高剂量高良姜素组碱性磷酸酶水平显著

升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);Noggin 组碱性磷酸酶水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高良姜素高剂量组相比,高良姜素高剂量+Noggin 组碱性磷酸酶水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

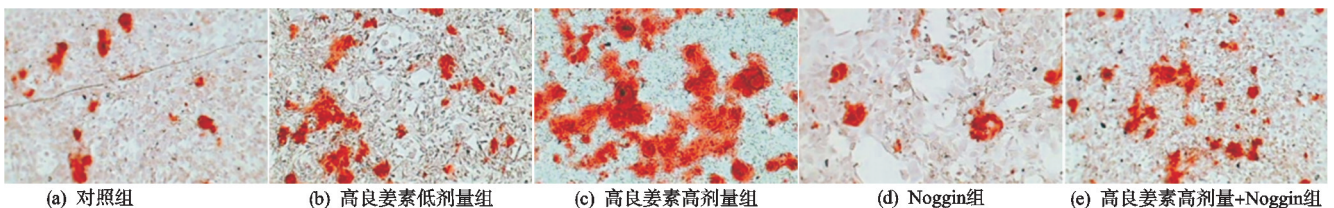
表 5 各组大鼠骨髓间充质干细胞上清碱性磷酸酶水平比较($n=6, \bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	ALP
对照组	11.01 ± 3.63
高良姜素低剂量组	15.28 ± 2.41 ¹⁾
高良姜素高剂量组	19.87 ± 3.27 ¹⁾²⁾
Noggin 组	9.04 ± 0.82 ¹⁾
高良姜素高剂量+Noggin 组	13.75 ± 2.10 ³⁾

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$;2)与高良姜素低剂量组相比, $P < 0.05$;3)与高良姜素高剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.6 各组大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化比较

如图 2 所示,对照组染色均匀,可见红褐色矿化结节;与对照组比较,低、高剂量高良姜素组矿化结节增多,Noggin 组矿化结节数量减少;与高良姜素高剂量组比较,高良姜素高剂量+Noggin 组染色较浅,矿化结节减少。



(a) 对照组

(b) 高良姜素低剂量组

(c) 高良姜素高剂量组

(d) Noggin组

(e) 高良姜素高剂量+Noggin组

图 2 细胞钙盐沉积检测(茜素红染色,×100)

2.7 各组大鼠骨髓间充质干细胞中与 BMP2/RUNX2 通路有关蛋白表达比较

如表 6 及图 3 所示,与对照组相比,随着高良姜素剂量的增加,BMP2/RUNX2 通路相关蛋白表达量显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),Noggin 组蛋白表达量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高良姜素高剂量组相比,高良姜素高剂量+Noggin 组 BMP2/RUNX2 通路有关蛋白表达量降低,差异有统

计学意义($P < 0.05$)。

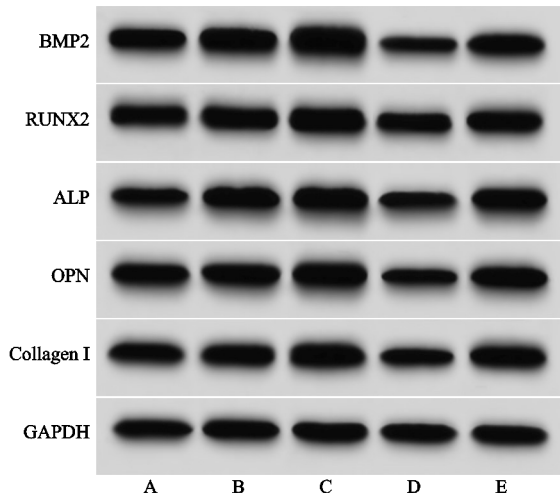
3 讨论

骨质疏松症是一种慢性肌肉骨骼疾病,其特征是骨量减少和骨微结构破坏,严重时会导致后遗症、残疾甚至死亡^[13]。目前用于骨质疏松症的治疗方法包括激素替代疗法和使用选择性雌激素受体调节剂等,但会导致副作用,因此仍需寻求新的治疗策略来治疗骨质疏松症。骨髓间充质干细胞是间充质衍生的多能干

表 6 各组大鼠骨髓间充质干细胞中 BMP2/RUNX2 通路相关蛋白表达量比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	BMP2	RUNX2	ALP	OPN	Collagen I
对照组	0.99±0.02	1.00±0.01	0.97±0.05	1.02±0.02	1.00±0.01
高良姜素低剂量组	1.18±0.07 ¹⁾	1.14±0.06 ¹⁾	1.09±0.06 ¹⁾	1.15±0.05 ¹⁾	1.11±0.07 ¹⁾
高良姜素高剂量组	1.36±0.09 ¹⁾²⁾	1.29±0.07 ¹⁾²⁾	1.17±0.08 ¹⁾²⁾	1.24±0.06 ¹⁾²⁾	1.27±0.09 ¹⁾²⁾
Noggin 组	0.78±0.04 ¹⁾	0.89±0.08 ¹⁾	0.91±0.05 ¹⁾	0.87±0.09 ¹⁾	0.93±0.04 ¹⁾
高良姜素高剂量+Noggin 组	1.07±0.06 ³⁾	1.05±0.03 ³⁾	1.08±0.06 ³⁾	1.10±0.07 ³⁾	1.06±0.08 ³⁾

注: 1)与对照组相比, $P < 0.05$; 2)与高良姜素低剂量组相比, $P < 0.05$; 3)与高良姜素高剂量组相比, $P < 0.05$ 。



注: A-对照组; B-高良姜素低剂量组; C-高良姜素高剂量组; D-Noggin组; E-高良姜素高剂量+Noggin组

图 3 各组大鼠骨髓间充质干细胞中 BMP2/RUNX2 通路蛋白条带

细胞,可促进受损和衰老器官结构和功能修复,并在一定条件下分化为软骨、骨和脂肪组织,其中骨髓间充质干细胞的成骨分化因其在骨形成中的关键作用而受到特别关注^[14]。研究显示在骨质疏松症进展过程中,骨髓间充质干细胞的成骨分化受到抑制,这一过程的恢复减少了骨质疏松症中的骨丢失^[15]。因此,寻找能够调节骨髓间充质干细胞成骨分化的新药物具有重要意义,这可能为预防和治疗骨质疏松症提供新的途径。

高良姜素是一种天然活性化合物,在治疗老年人常见的神经退行性疾病和心脑血管疾病方面具有潜在优势,此外在治疗肿瘤、糖尿病、肝损伤、骨修复和关节炎方面也具有明显活性^[16]。既往研究表明高良姜素作为小分子骨诱导剂,可通过调节 JAK2/STAT3 信号通路诱导人羊膜间充质干细胞成骨分化^[17]。高良姜素可减轻地塞米松诱导的小鼠骨质疏松症严重程度,并增强小鼠骨髓来源的骨髓间充质干细胞的成骨分化^[3]。本研究通过构建骨质疏松症大鼠,经高良姜素治疗后发现大鼠 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 指标显著增强,股骨组织中成骨相关因子表达水平显著上调,研究结果与吴永铁等^[10]报告相一致,说明高良姜素可增强骨质疏松症大鼠骨密度、促进骨生成。此外,本研究通过提取骨质疏松症大鼠股骨来源的间充质干细胞并予以高良姜素干预,结果显示随着剂量的提高,高良姜素可显著提

高骨髓间充质干细胞活性及细胞上清碱性磷酸酶含量,促进矿化结节的产生,表明在本研究的剂量范围内,高良姜素对骨髓间充质干细胞无毒性且可能促进其成骨分化。

相关文献显示 BMP2/RUNX2 在改善骨质疏松症进展中发挥重要作用^[18]。骨形态发生蛋白(BMPs)是调节骨形成的转化生长因子 β (TGF- β) 家族的成员,BMP2 可促进成骨细胞分化,在骨修复重建中发挥重要调节作用。Chen 等^[19]报告激活 BMP2 可促进骨髓间充质干细胞成骨分化,改善骨质疏松症大鼠的骨丢失。BMP2 激活 I 型和 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体,随后调节细胞内 Smad 转录因子。Smad 信号传导的激活通过增加转录因子(如 RUNX2)来促进成骨细胞的转变^[20]。Li 等^[21]报告稳定表达 RUNX2 可改善骨质疏松性损伤,促进骨髓间充质干细胞成骨分化。本研究结果显示,随着低、高剂量高良姜素干预骨髓间充质干细胞,细胞中 BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I 蛋白表达水平显著升高,表明高良姜素可增强 BMP2/RUNX2 通路活性。为证明 BMP2/RUNX2 通路在高良姜素促进骨髓间充质干细胞成骨分化中的调控作用,本研究单独设置 Noggin 组(BMP2/RUNX2 通路抑制剂),结果显示抑制 BMP2/RUNX2 通路活性后,BMP2、RUNX2、ALP、OPN、Collagen I 蛋白表达水平降低,骨髓间充质干细胞矿化结节减少,表明 BMP2/RUNX2 通路与成骨分化有关。进一步在高浓度高良姜素干预骨髓间充质干细胞的同时加入 Noggin 干预细胞,结果显示高良姜素对骨髓间充质干细胞成骨分化的促进作用减弱,导致这一现象的原因可能是由于 Noggin 的存在使高良姜素对 BMP2/RUNX2 通路的激活作用减弱。以上不同处理组的结果说明高良姜素可能通过激活 BMP2/RUNX2 通路促进骨髓间充质干细胞成骨分化。

综上所述,高良姜素可提高骨髓间充质干细胞活性,促进其成骨分化,改善骨质疏松症大鼠骨强度,其作用机制可能与 BMP2/RUNX2 通路活性增强有关。本研究虽明确了高良姜素可促进骨髓间充质干细胞的成骨分化,但对于其促进成骨生成作用的最佳干预剂量并不确定,后续有待通过进一步研究明确高良姜素干预骨髓间充质干细胞的更多作用机制。

参考文献

- [1] LI H X, XIAO Z S, QUARLES L D, et al. Osteoporosis: mechanism, molecular target and current status on drug development[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2021, 28(8):1489-1507.
- [2] GEHRKE B, ALVES COELHO M C, BRASIL D'ALVA C, et al. Long-term consequences of osteoporosis therapy with bisphosphonates[J]. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 2023, 68:e220334.
- [3] ZENG C Y, WANG S, CHEN F L, et al. Alpinetin alleviates osteoporosis by promoting osteogenic differentiation in BMSCs by triggering autophagy via PKA/mTOR/ULK1 signaling[J]. *Phytotherapy Research*, 2023, 37(1):252-270.
- [4] WANG X D, CHEN T Q, DENG Z H, et al. Melatonin promotes bone marrow mesenchymal stem cell osteogenic differentiation and prevents osteoporosis development through modulating circ_0003865 that sponges miR-3653-3p[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1):150.
- [5] WANG D B, CHEN J R, PU L, et al. Galangin: a food-derived flavonoid with therapeutic potential against a wide spectrum of diseases[J]. *Phytotherapy Research*, 2023, 37(12):5700-5723.
- [6] WANG X T, XIAO X L. Galangin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation and stimulates osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via regulation of AKT/mTOR signaling[J]. *Allergologia et Immunopathologia*, 2023, 51(1):133-139.
- [7] 郭晓彤, 宋俊丽, 韦秋, 等. 菟丝子丸调控 BMP2/RUNX2 信号通路抗绝经后骨质疏松研究[J]. *天津中医药*, 2024, 41(12):1599-1604.
- [8] LI X, ZHOU X J, HUANG Z Y, et al. Study on the mechanism of naringin in promoting bone differentiation: in vitro and in vivo study[J]. *Heliyon*, 2024, 10(2):e24906.
- [9] 康庐琛, 魏秋实, 李文斌, 等. 槲皮素调控 MAPK 通路对绝经后骨质疏松大鼠骨形成的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2024, 30(5):625-630.
- [10] 吴永铁, 申雄成. 高良姜素促进骨质疏松模型大鼠骨折愈合的机制研究[J]. *中国药房*, 2023, 34(19):2365-2370.
- [11] 杨瑜, 吴洁, 高晓. 高良姜素调节 SIRT1/AMPK/mTOR 信号通路对脂多糖诱导的大鼠关节软骨细胞自噬和凋亡的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(9):1299-1305.
- [12] 瞿慧, 范颖, 蒋宁, 等. 淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 通过 BMP/Runx2/Osx 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的实验研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(5):690-695.
- [13] ZHOU G H, YAN X M, CHEN Z F, et al. ASPN synergizes with HAPLN1 to inhibit the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stromal cells and extracellular matrix mineralization of osteoblasts[J]. *Orthopaedic Surgery*, 2023, 15(9):2423-2434.
- [14] CHEN M, HAN H, ZHOU S Q, et al. Morusin induces osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by canonical Wnt/ β -catenin pathway and prevents bone loss in an ovariectomized rat model[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1):173.
- [15] ZHANG L, ZHENG Y L, WANG R, et al. Exercise for osteoporosis: a literature review of pathology and mechanism[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13:1005665.
- [16] ZHANG F, YAN Y, ZHANG L M, et al. Pharmacological activities and therapeutic potential of galangin, a promising natural flavone, in age-related diseases[J]. *Phytomedicine*, 2023, 120:155061.
- [17] XING Y, ZHANG M S, XIAO J H, et al. Galangin induces the osteogenic differentiation of human amniotic mesenchymal stem cells via the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2022, 935:175326.
- [18] LEE S H, KIM M, PARK M H. Diplolethohydroxycamallol isolated from *Ishige okamurae* prevents H₂O₂-induced oxidative damage via BMP2/Runx2 signaling in osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Fitoterapia*, 2021, 152:104921.
- [19] CHEN Q, YANG Z H, SUN X Y, et al. Inokosterone activates the BMP2 to promote the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and improve bone loss in ovariectomized rats[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2023, 682:349-358.
- [20] FENG C, XIAO L, YU J C, et al. Simvastatin promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in rat model of osteoporosis through BMP-2/Smads signaling pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2020, 24(1):434-443.
- [21] LI C, LIU X F, CHEN X, et al. Bu-Sui-Dan enhances osteoblast differentiation by upregulating VGLL4 to counteract TEAD4-mediated RUNX2 transcription suppression in ovariectomized rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, 335:118690.

(收稿日期:2025-07-11)