

## 牛膝多糖对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢的影响

许燕飞<sup>1</sup> 王琪<sup>1</sup> 李皎<sup>1</sup> 郭英<sup>1</sup> 郭磊<sup>1△</sup>

**[摘要]** **目的:**探究牛膝多糖对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢的影响,分析其机制是否与骨形态发生蛋白 2(BMP-2)/Smad5/Runx2 相关转录因子 2(Runx2)信号通路有关。**方法:**将构建成功的激素性股骨头坏死大鼠随机分为模型组、低剂量牛膝多糖组(2.0 g/kg)、中剂量牛膝多糖组(4.0 g/kg)、高剂量牛膝多糖组(8.0 g/kg)、高剂量牛膝多糖+BMP-2 抑制剂 Noggin(高剂量牛膝多糖+Noggin)组(8.0 g/kg 牛膝多糖+100 ng/kg Noggin),每组 12 只,另取 12 只大鼠作为对照组。用 ELISA 试剂盒检测大鼠骨代谢指标;用双能 X 线吸收测量法测定大鼠骨密度(BMD)水平;HE 染色检测大鼠股骨头组织病理形态;Western Blot 法检测大鼠股骨头组织中 BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路相关蛋白表达。**结果:**对照组大鼠股骨头形态结构正常;模型组大鼠骨小梁空间结构紊乱,骨小梁纤细稀疏且空隙增大。模型组碱性磷酸酶(ALP)、I 型前胶原氨基端前肽(PINP)、骨钙素(BGP)、骨密度水平及 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达低于对照组,抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、I 型胶原交联 N-端肽(NTx)水平、空骨陷窝率高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );低/中/高剂量牛膝多糖组 ALP、PINP、BGP、骨密度水平及 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达水平高于模型组,TRAP、NTx 水平、空骨陷窝率低于模型组,且骨小梁形态有不同程度的改善,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );高剂量牛膝多糖+Noggin 组 ALP、PINP、BGP、骨密度水平、BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达低于高剂量牛膝多糖组,TRAP、NTx 水平、空骨陷窝率高于高剂量牛膝多糖组,且骨小梁形态损伤程度加重,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:**牛膝多糖可改善激素性股骨头坏死大鼠骨代谢,其机制可能与 BMP-2/Smad5/Runx2 通路激活有关。

**[关键词]** 牛膝多糖;BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路;激素性股骨头坏死;骨代谢

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2026)03-0030-06

**DOI:** 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.260305

## Effect of Achyranthes Bidentata Polysaccharide on Bone Metabolism in Rats with Steroid-Induced Femoral Head Osteonecrosis

XU Yanfei<sup>1</sup> WANG Qi<sup>1</sup> LI Jiao<sup>1</sup> GUO Ying<sup>1</sup> GUO Lei<sup>1△</sup>

<sup>1</sup> Kunming Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China.

**Abstract Objective:** To investigate the effects of Achyranthes bidentata polysaccharide on bone metabolism in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH) rats and to explore whether its mechanism is associated with the bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)/Smad5/Runx2-related transcription factor 2 (Runx2) signaling pathway. **Methods:** The successfully constructed SONFH rats were randomly divided into the following groups: model group, low-dose Achyranthes bidentata polysaccharide group (2.0 g/kg), medium-dose Achyranthes bidentata polysaccharide group (4.0 g/kg), high-dose Achyranthes bidentata polysaccharide group (8.0 g/kg), and high-dose Achyranthes bidentata polysaccharide+BMP-2 inhibitor Noggin group (8.0 g/kg Achyranthes bidentata polysaccharide+100 ng/kg Noggin), with 12 rats in each group. Another 12 rats were considered as the control group. An ELISA kit was used to detect bone metabolism indicators in rats. Dual-energy X-ray absorptiometry was performed to measure bone mineral density (BMD) in rats. HE staining

was performed to examine the pathological morphology of rat femoral head tissue. Western Blot was performed to detect proteins related to the BMP-2/Smad5/Runx2 signaling pathway in rat femoral head tissue. **Results:** In the con-

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2024Y417)

<sup>1</sup> 昆明市中医医院(昆明,650500)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:guolei73@hotmail.com

control group, the morphology and structure of the rat femoral head were normal. The spatial structure of the bone trabeculae in the model group was disrupted, with thin and sparse bone trabeculae and increased gaps. The model group had lower levels of ALP, PINP, BGP, BMD, BMP-2, p-Smad5/Smad5, and Runx2 than control group, and higher TRAP, NTx, and empty bone resorption rate than the control group ( $P < 0.05$ ). The low-dose, medium-dose, and high-dose *Achyranthes bidentata* polysaccharide groups exhibited higher levels of ALP, PINP, BGP, BMD, BMP-2, p-Smad5/Smad5, and Runx2, and lower levels of TRAP, NTx, and bone resorption pit rate than the model group, with the morphology of bone trabeculae showing varying degrees of improvement ( $P < 0.05$ ). The high-dose *Achyranthes bidentata* polysaccharide + Noggin group had lower ALP, PINP, BGP, BMD, BMP-2, p-Smad5/Smad5, and Runx2, and higher TRAP, NTx, and empty bone resorption rate than the high-dose *Achyranthes bidentata* polysaccharide group, and the degree of morphological damage to the bone trabeculae was more severe ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** *Achyranthes bidentata* polysaccharide can improve bone metabolism in SONFH rats, and the mechanism may be related to the activation of BMP-2/Smad5/Runx2 pathway.

**Keywords:** *Achyranthes bidentata* polysaccharide; BMP-2/Smad5/Runx2 signaling pathway; steroid-induced osteonecrosis of the femoral head; bone metabolism

激素性股骨头坏死 (Steroid-induced Osteonecrosis of the Femoral Head, SONFH) 是一种严重的骨关节疾病, 主要由长期大量使用糖皮质激素所致。随着激素药物愈发广泛地应用, 激素性股骨头坏死的发病率呈现不断攀升的趋势<sup>[1]</sup>。激素性股骨头坏死的典型表现为骨微结构破坏, 骨小梁变得稀疏, 骨总体积缩减等特征<sup>[2]</sup>。激素性股骨头坏死的早期症状比较隐匿, 一旦出现临床症状, 通常需要采取手术置换关节进行治疗<sup>[3]</sup>, 但其假体寿命有限, 需多次进行翻修, 使患者及其家庭背负沉重的经济压力<sup>[4]</sup>。因此, 深入剖析激素性股骨头坏死发病机制, 寻找有效干预手段意义重大。中医认为激素性股骨头坏死属于“骨痿”“骨痹”等范畴, 核心病因是肾虚血瘀、筋骨失养, 治则当以“强骨通络、补肾活血”为主<sup>[5]</sup>。牛膝为“补肝肾, 强筋骨”的中医经典药物, 其主要活性成分牛膝多糖具有多种药理活性, 包括抗衰老、抗肿瘤以及免疫调节等<sup>[6]</sup>。研究证实牛膝多糖能够助力关节软骨不断生长, 在骨关节炎治疗中具有应用价值<sup>[7]</sup>。牛膝多糖可通过促进成骨细胞分化、增强骨基质合成与矿化能力, 从而发挥促进骨形成的作用<sup>[8]</sup>。以上均为牛膝多糖干预骨代谢紊乱提供了理论依据。既往研究表明, 骨形态发生蛋白 2 (BMP-2)/Smad5/Runx2 相关转录因子 2 (Runx2) 通路是调控成骨细胞分化、骨基质矿化及骨重建过程的核心分子网络<sup>[9]</sup>。相关研究称 BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路在股骨头骨坏死中发挥重要作用<sup>[10]</sup>, 然而牛膝多糖是否通过调节 BMP-2/Smad5/Runx2 通路改善激素性股骨头坏死骨代谢紊乱未见报道。基于此, 本研究通过构建激素性股骨头坏死大鼠模型, 初步观察牛膝多糖对骨代谢的影响, 并探讨与 BMP-2/Smad5/Runx2 通路的关联, 现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

武汉云克隆公司提供 72 只雄性无特定病原体

(SPF) 级 SD 大鼠 (180 ~ 200 g, 许可证号为 SCXK (鄂) 2023-0021)。实验动物饲养于温度 (22 ± 2) °C、相对湿度 60% ~ 65% 的环境中, 大鼠可自由进食、饮水, 自然昼夜采光。本研究已获本院动物伦理委员会批准。

### 1.2 主要试剂

牛膝多糖 (威佳科技, 货号为 B25872-20mg), BMP-2 抑制剂 Noggin (MedChemExpress LLC, 货号为 HY-P70785), 碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, ALP)、I 型前胶原氨基端前肽 (Type I Procollagen Propeptide, PINP)、骨钙素 (Bone Gla Protein, BGP) ELISA 试剂盒 (佰瑞得, 货号分别为 A-QEK11675-96wells, BGT-KET-13688, BGT-KET-13390), I 型胶原蛋白交联 N 端端肽 (N-terminal Type I Collagen Telopeptide, NTx) ELISA 试剂盒 (益普, 货号为 CSB-E09242m), 抗酒石酸酸性磷酸酶 (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase, TRAP) ELISA 试剂盒 (科森, 货号为 KME Ra010723), BMP-2、p-Smad5、Smad5、Runx2、GAPDH、IgG 二抗 (Abcam, 货号分别为 ab14933、ab51158、ab63741、ab23981、ab214521、ab6721), 双能 X 线小动物骨密度仪 (美国 Faxitron, 型号为 UltraFocus), 显微镜 (高思维医疗科技, 型号为 CX41), 蛋白凝胶成像仪 (羿圣, 型号为 Mini Pro™ EpPlus), 等。

### 1.3 方法

**1.3.1 模型构建与分组** 将所有大鼠随机分为对照组、模型组、低/中/高剂量牛膝多糖组、高剂量牛膝多糖 + Noggin 组, 每组各 12 只。根据文献<sup>[11]</sup>构建激素性股骨头坏死大鼠模型: 在大鼠右臀肌肉注射 30 mg/kg 醋酸泼尼松龙注射液, 每周连续注射 3 d, 1 次/d, 持续 4 周, 并在整个过程中注射青霉素进行感染预防。对照组进行同样的操作, 注射生理盐水。造模结束后, 低/中/高剂量牛膝多糖组参照文献<sup>[12]</sup>对大

鼠分别灌胃 2.0, 4.0, 8.0 g/kg 牛膝多糖, 1 次/d, 连续 4 周。高剂量牛膝多糖 + Noggin 组在灌胃 8.0 g/kg 牛膝多糖的同时, 经皮注射 100 ng/kg BMP-2 抑制剂 Noggin<sup>[13]</sup>, 1 次/d, 连续 4 周。对照组和模型组灌胃及经皮注射等量的生理盐水, 低/中/高剂量牛膝多糖组经皮注射等量的生理盐水。

**1.3.2 检测大鼠骨代谢指标** 给药结束后, 对大鼠实施尾静脉取血操作, 收集所得血清样本, 根据 ELISA 试剂盒说明书对血清 ALP、PINP、BGP、TRAP、NTx 水平进行检测。

**1.3.3 检测大鼠骨密度(BMD)水平** 给药结束后, 运用双能 X 线吸收测量法测定大鼠骨密度水平, 检测时将双能 X 线骨密度仪调整至 Hi-red Small Animal 模式, 然后对股骨头部位骨密度进行精准检测。

**1.3.4 检测大鼠股骨头组织病理形态** 每组随机选取 6 只大鼠, 脱颈椎法处死后取右侧股骨, 在 EDTA 作用下行脱钙处理, 待脱钙后行脱水、包埋、切片操作, 之后脱蜡、HE 染色, 并进行透明化处理、封片, 对骨小梁的形态进行观察, 并计算空骨陷窝率。

**1.3.5 检测大鼠股骨头组织中 BMP-2/Smad5/**

表 1 各组大鼠成骨细胞活性与骨形成相关指标比较 ( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

组别	ALP/(IU · L <sup>-1</sup> )	PINP/(μg · L <sup>-1</sup> )	BGP/(μg · L <sup>-1</sup> )
对照组	195.26 ± 21.03	87.62 ± 9.25	2.16 ± 0.25
模型组	103.72 ± 12.35 <sup>1)</sup>	21.35 ± 2.32 <sup>1)</sup>	0.83 ± 0.10 <sup>1)</sup>
低剂量牛膝多糖组	118.53 ± 13.16 <sup>2)</sup>	33.67 ± 3.51 <sup>2)</sup>	1.14 ± 0.14 <sup>2)</sup>
中剂量牛膝多糖组	149.76 ± 15.27 <sup>2)3)</sup>	51.26 ± 5.36 <sup>2)3)</sup>	1.76 ± 0.19 <sup>2)3)</sup>
高剂量牛膝多糖组	185.43 ± 19.69 <sup>2)3)4)</sup>	79.58 ± 8.17 <sup>2)3)4)</sup>	2.08 ± 0.22 <sup>2)3)4)</sup>
高剂量牛膝多糖 + Noggin 组	109.67 ± 12.78 <sup>5)</sup>	27.61 ± 2.98 <sup>5)</sup>	1.03 ± 0.12 <sup>5)</sup>

注: 1) 与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 2) 与模型组相比,  $P < 0.05$ ; 3) 与低剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ ; 4) 与中剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ ; 5) 与高剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ 。

**2.2 牛膝多糖对各组大鼠破骨细胞活性与骨吸收相关指标的影响**

模型组大鼠 TRAP、NTx 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 低/中/高剂量牛膝多糖组 TRAP、NTx 水平低于模型组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 高剂量牛膝多糖 + Noggin 组 TRAP、NTx 水平高于高剂量牛膝多糖组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

**2.3 牛膝多糖对各组大鼠骨密度水平的影响**

模型组大鼠骨密度水平低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 低/中/高剂量牛膝多糖组骨密度水平高于模型组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 高剂量牛膝多糖 + Noggin 组骨密度水平低于高剂量牛膝多糖组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

**2.4 牛膝多糖对各组大鼠骨组织形态的影响**

对照组大鼠股骨头形态结构正常; 模型组大鼠骨

Runx2 信号通路相关蛋白表达 每组选取剩余的 6 只大鼠, 脱颈椎法处死后, 取大鼠股骨头组织, 从中提取组织蛋白, 对蛋白浓度定量测定后, 将蛋白变性, 进行电泳操作、转膜。封闭 2 h, 加一抗 (BMP-2、p-Smad5、Smad5、Runx2、GAPDH), 4 °C 下过夜孵育, 洗涤后加入二抗继续孵育, ECL 试剂显色, 用 Image Lab<sup>TM</sup> 软件对蛋白条带定量。

**1.4 统计学方法**

用 SPSS 25.0 分析数据。数据以  $\bar{x} \pm s$  形式表示, 多组比较采用单因素方差分析, 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 牛膝多糖对各组大鼠成骨细胞活性与骨形成相关指标的影响**

模型组大鼠 ALP、PINP、BGP 水平低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 低/中/高剂量牛膝多糖组 ALP、PINP、BGP 水平高于模型组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 高剂量牛膝多糖 + Noggin 组 ALP、PINP、BGP 水平低于高剂量牛膝多糖组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 2 各组大鼠破骨细胞活性与骨吸收相关指标比较 ( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

组别	TRAP/(μg · L <sup>-1</sup> )	NTx/(μmol · L <sup>-1</sup> )
对照组	1.15 ± 0.13	9.12 ± 1.03
模型组	2.98 ± 0.32 <sup>1)</sup>	19.85 ± 2.17 <sup>1)</sup>
低剂量牛膝多糖组	2.37 ± 0.26 <sup>2)</sup>	16.52 ± 1.78 <sup>2)</sup>
中剂量牛膝多糖组	1.85 ± 0.21 <sup>2)3)</sup>	13.27 ± 1.42 <sup>2)3)</sup>
高剂量牛膝多糖组	1.32 ± 0.15 <sup>2)3)4)</sup>	10.36 ± 1.16 <sup>2)3)4)</sup>
高剂量牛膝多糖 + Noggin 组	2.51 ± 0.28 <sup>5)</sup>	17.34 ± 1.92 <sup>5)</sup>

注: 1) 与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 2) 与模型组相比,  $P < 0.05$ ; 3) 与低剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ ; 4) 与中剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ ; 5) 与高剂量牛膝多糖组相比,  $P < 0.05$ 。

小梁空间结构紊乱, 骨小梁纤细稀疏且空隙增大; 模型组空骨陷窝率高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 低/中/高剂量牛膝多糖组空骨陷窝率低于模型组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且骨小梁形态有不同程度的改善; 高剂量牛膝多糖 + Noggin 组空骨陷窝

表 3 各组大鼠骨密度水平比较( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

组别	骨密度/( $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )
对照组	272.56 ± 28.53
模型组	185.36 ± 19.02 <sup>1)</sup>
低剂量牛膝多糖组	201.27 ± 21.56 <sup>2)</sup>
中剂量牛膝多糖组	231.52 ± 24.27 <sup>2)3)</sup>
高剂量牛膝多糖组	269.18 ± 27.16 <sup>2)3)4)</sup>
高剂量牛膝多糖+Noggin 组	192.53 ± 20.13 <sup>5)</sup>

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$ ;2)与模型组相比, $P < 0.05$ ;3)与低剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ ;4)与中剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ ;5)与高剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ 。  
率高于高剂量牛膝多糖组,差异有统计学意义( $P <$

0.05),且骨小梁形态损伤程度加重,见表 4 及图 1。

表 4 各组大鼠空骨陷窝率比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	空骨陷窝率/%
对照组	2.57 ± 0.31
模型组	39.56 ± 4.15 <sup>1)</sup>
低剂量牛膝多糖组	28.72 ± 3.02 <sup>2)</sup>
中剂量牛膝多糖组	19.63 ± 2.14 <sup>2)3)</sup>
高剂量牛膝多糖组	10.53 ± 1.13 <sup>2)3)4)</sup>
高剂量牛膝多糖+Noggin 组	33.74 ± 3.51 <sup>5)</sup>

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$ ;2)与模型组相比, $P < 0.05$ ;3)与低剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ ;4)与中剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ ;5)与高剂量牛膝多糖组相比, $P < 0.05$ 。

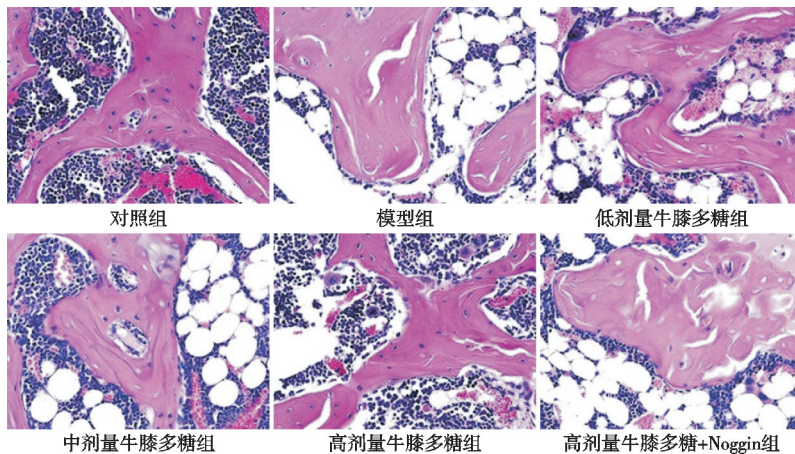


图 1 HE 染色检测骨组织病理变化(200×)

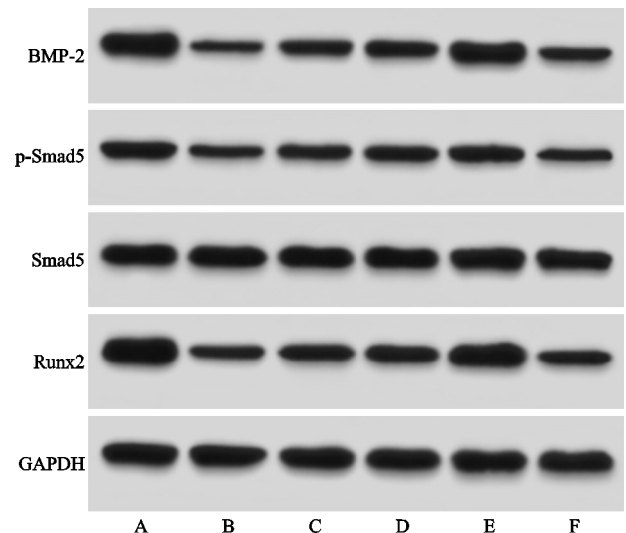
2.5 牛膝多糖对各组大鼠 BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路相关蛋白表达的影响

模型组 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );低/中/高剂量牛膝多糖组 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );高剂量牛膝多糖+Noggin 组 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 表达低于高剂量牛膝多糖组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2 及表 5。

3 讨论

激素性股骨头坏死可在任何年龄段出现,多见于男性群体,且其发病率不断上升<sup>[14]</sup>。在激素性股骨头坏死发展进程中,大量骨细胞死亡,致使股骨头塌陷,进而破坏髋关节,导致患者残疾<sup>[15]</sup>。全髋关节置换术是治疗激素性股骨头坏死的主要手段,不过其成本高昂,术后可能出现脱位、感染等并发症<sup>[16]</sup>。因此,深入探究其发病机制并探寻行之有效的治疗药物意义重大。

已有报道显示,把牛膝多糖含药血清施加于受损软骨细胞,能够显著增强细胞的增殖能力,对于调节骨代谢有重要意义<sup>[17]</sup>。杨豪等<sup>[12]</sup>研究发现,牛膝多糖能够有效调节骨质疏松性骨折大鼠的骨代谢,其潜在



A-对照组; B-模型组; C-低剂量牛膝多糖组; D-中剂量牛膝多糖组; E-高剂量牛膝多糖组; F-高剂量牛膝多糖+Noggin组

图 2 Western Blot 法检测大鼠 BMP-2、p-Smad5、Smad5、Runx2 蛋白表达

作用机制可能与 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的激活密切相关。郎小琴等<sup>[6]</sup>研究发现,在老年骨质疏松大鼠中,牛膝多糖可有效调节骨代谢,增加骨密度,提升骨抗压能力,初步推测牛膝多糖对激素性股骨头坏死大鼠的骨代谢可能具有调节作用。在成骨过程中,碱性磷酸酶能水解磷酸酯与焦磷酸盐,促进骨矿化及骨形成,对骨

表 5 各组大鼠 BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路相关蛋白比较 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	BMP-2/GAPDH	p-Smad5/Smad5	Runx2/GAPDH
对照组	1.17±0.14	0.86±0.10	1.35±0.16
模型组	0.35±0.05 <sup>1)</sup>	0.42±0.05 <sup>1)</sup>	0.51±0.07 <sup>1)</sup>
低剂量牛膝多糖组	0.62±0.07 <sup>2)</sup>	0.57±0.07 <sup>2)</sup>	0.67±0.09 <sup>2)</sup>
中剂量牛膝多糖组	0.87±0.10 <sup>2)3)</sup>	0.69±0.08 <sup>2)3)</sup>	0.92±0.10 <sup>2)3)</sup>
高剂量牛膝多糖组	1.03±0.12 <sup>2)3)4)</sup>	0.81±0.09 <sup>2)3)4)</sup>	1.24±0.14 <sup>2)3)4)</sup>
高剂量牛膝多糖+Noggin 组	0.50±0.06 <sup>5)</sup>	0.51±0.06 <sup>5)</sup>	0.62±0.08 <sup>5)</sup>

注:1)与对照组相比, $P<0.05$ ;2)与模型组相比, $P<0.05$ ;3)与低剂量牛膝多糖组相比, $P<0.05$ ;4)与中剂量牛膝多糖组相比, $P<0.05$ ;5)与高剂量牛膝多糖组相比, $P<0.05$ 。

发育意义重大<sup>[18]</sup>。人体骨骼中 I 型胶原约占 90%，I 型前胶原氨基端前肽是 I 型胶原前体向胶原纤维质转化时裂解产生的物质之一，能直观体现 I 型胶原的合成速率<sup>[19]</sup>。骨钙素主要由成骨细胞特异性合成并分泌，能够与骨基质紧密结合，可维持骨正常矿化速率，其水平高低可反映成骨细胞活性状态<sup>[20]</sup>。破骨细胞释放抗酒石酸酸性磷酸酶，降解骨基质矿化底物，反映破骨细胞活性<sup>[21]</sup>。血清中的 I 型胶原交联 N-端肽作为骨吸收的特异性标志物，能够有效反映骨吸收水平<sup>[18]</sup>。本研究结果表明，激素性股骨头坏死模型大鼠骨小梁空间结构紊乱，且纤细稀疏、空隙增大。同时，碱性磷酸酶、PINP、骨钙素、骨密度水平降低，而抗酒石酸酸性磷酸酶、I 型胶原交联 N-端肽水平、空骨陷窝率增加，在施加不同剂量牛膝多糖处理后，各项检测指标与模型组表现出相反的变化趋势，表明牛膝多糖能够有效改善骨代谢异常，抑制骨破坏。

研究发现健骨颗粒氯仿萃取部位可对 BMP-2/Smad1/Runx2/Osterix 通路进行调控，推动绝经后骨质疏松症患者成骨细胞分化<sup>[22]</sup>。张麟等<sup>[23]</sup>研究发现，补肾化痰方可通过调控 BMP-2/Smad/RUNX2 通路，影响骨质疏松大鼠骨密度。本研究以激素性股骨头坏死模型大鼠为对象，发现模型大鼠 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 蛋白表达呈下降趋势，说明 BMP-2/Smad5/Runx2 通路被抑制。经牛膝多糖干预后，以上蛋白表达升高，BMP-2/Smad5/Runx2 通路被激活。同时，给予牛膝多糖和 BMP-2 抑制剂 Noggin 干预显示，大鼠碱性磷酸酶、I 型前胶原氨基端前肽、骨钙素、骨密度水平及 BMP-2、p-Smad5/Smad5、Runx2 蛋白表达降低，抗酒石酸酸性磷酸酶、I 型胶原交联 N-端肽水平与空骨陷窝率上升，骨小梁损伤加剧，提示牛膝多糖很可能通过激活 BMP-2/Smad5/Runx2 信号通路，改善激素性股骨头坏死大鼠骨代谢。

综上所述，牛膝多糖可改善激素性股骨头坏死大鼠骨代谢，其作用机制可能与 BMP-2/Smad5/Runx2 通路激活有关。目前对牛膝多糖的认知十分有限，有

必要开展更为深入、全面的研究，进而评估其疗效及安全性。

### 参考文献

- [1] KONARSKI W, POBOŻY T, ŚLIWCZYŃSKI A, et al. Avascular necrosis of femoral head-overview and current state of the art[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(12):7348.
- [2] HUANG C X, QING L M, XIAO Y, et al. Insight into steroid-induced ONFH: the molecular mechanism and function of epigenetic modification in mesenchymal stem cells[J]. Biomolecules, 2024, 14(1):4.
- [3] LI H, ZHANG Y F, HAO Y Q, et al. Proanthocyanidins inhibit osteoblast apoptosis via the PI3K/AKT/bcl-xL pathway in the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats[J]. Nutrients, 2023, 15(8):1936.
- [4] NUGENT M, YOUNG S W, FRAMPTON C M, et al. The lifetime risk of revision following total hip arthroplasty[J]. The Bone & Joint Journal, 2021, 103-B(3):479-485.
- [5] 林焯焯, 杜斌, 刘铤, 等. 中医药治疗股骨头坏死的研究进展[J]. 西部中医药, 2024, 37(2):122-125.
- [6] 郎小琴, 高越, 周叶, 等. 牛膝多糖对老年骨质疏松大鼠模型骨代谢及生物力学特征的影响[J]. 中华全科医学, 2019, 17(4):547-550.
- [7] XU X X, ZHANG X H, DIAO Y, et al. Achyranthes bidentate saponins protect rat articular chondrocytes against interleukin-1 $\beta$ -induced inflammation and apoptosis in vitro[J]. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2017, 33(2):62-68.
- [8] ZHANG D W, WANG C S, HOU X, et al. Structural characterization and osteoprotective effects of a polysaccharide purified from Achyranthes bidentata[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139:1063-1073.
- [9] GU H N, BOONANANTANASARN K, KANG M, et al. Morinda citrifolia leaf extract enhances osteogenic differentiation through activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. Journal of Medicinal Food, 2018, 21(1):57-69.
- [10] ZHANG X Y, LI H N, CHEN F, et al. Icariin regulates

- miR-23a-3p-mediated osteogenic differentiation of BMSCs via BMP-2/Smad5/Runx2 and WNT/ $\beta$ -catenin pathways in osteonecrosis of the femoral head[J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2021, 29(12):1405-1415.
- [11] LI J C, LIANG X Z, LUO D, et al. Study on the molecular mechanism of BuShenHuoXue capsule in treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2020, 8(24):1680.
- [12] 杨豪, 曾范慧. 牛膝多糖调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路改善骨质疏松性骨折大鼠骨代谢的研究[J]. *中医学报*, 2021, 36(10):2188-2194.
- [13] 王皓, 涂峰, 赵文斌, 等. 基于 BMP-2/SMAD/Runx2 通路探究骨化三醇胶囊对大鼠胫骨骨折愈合的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(1):47-51.
- [14] HAN L Z, GONG S, WANG R Y, et al. Knockdown of POSTN inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from patients with steroid-induced osteonecrosis[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, 8:606289.
- [15] LIU J, HAN X L, QU L J, et al. Identification of key ferroptosis-related biomarkers in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head based on machine learning[J]. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 2023, 18(1):327.
- [16] AHMED S S, BEGUM F, KAYANI B, et al. Risk factors, diagnosis and management of prosthetic joint infection after total hip arthroplasty[J]. *Expert Review of Medical Devices*, 2019, 16(12):1063-1070.
- [17] 李开言, 张留记, 屠万倩, 等. 牛膝有效部位含药血清联用对损伤软骨细胞的增效作用[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(9):2203-2207.
- [18] YANG L, YANG J, PAN T, et al. Liraglutide increases bone formation and inhibits bone resorption in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2019, 42(9):1125-1131.
- [19] GOSSIEL F, SCOTT J R, PAGGIOSI M A, et al. Effect of teriparatide treatment on circulating periostin and its relationship to regulators of bone formation and BMD in postmenopausal women with osteoporosis[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2018, 103(4):1302-1309.
- [20] ZHOU Y R, YANG Y, LIU Y, et al. Irp2 knockout causes osteoporosis by inhibition of bone remodeling[J]. *Calcified Tissue International*, 2019, 104(1):70-78.
- [21] HUANG J, YIN H, RAO S S, et al. Harmine enhances type H vessel formation and prevents bone loss in ovariectomized mice[J]. *Theranostics*, 2018, 8(9):2435-2446.
- [22] 周芬, 孙雨晴, 孙攀, 等. 基于 BMP2/Smad1/Runx2/Osterix 信号通路探讨健骨颗粒氯仿萃取部位对体外成骨细胞分化的影响[J]. *康复学报*, 2022, 32(3):224-231.
- [23] 张麟, 向楠, 周广文, 等. 补肾化痰方对去势骨质疏松大鼠 BMP2/Smad/RUNX2 信号通路及钙沉积的影响[J]. *中医药导报*, 2018, 24(18):20-24.

(收稿日期:2025-04-14)