

当归多糖对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢的影响

史铭钰¹ 黄玮^{1△}

[摘要] **目的:**基于腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路探究当归多糖对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢的影响。**方法:**将大鼠分为对照组、模型组、低当归多糖组、中当归多糖组、高当归多糖组、当归多糖+抑制剂组,每组12只,除对照组外的其余5组均通过注射脂多糖与甲泼尼龙诱导激素性股骨头坏死大鼠模型。显微CT扫描分析大鼠骨密度(BMD)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb.Th)和骨小梁数(Tb.N);苏木精-伊红(HE)染色观察股骨病理形态;抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色观察破骨细胞;免疫组织化学染色分析骨代谢相关蛋白表达;二氢乙锭(DHE)染色检测活性氧(ROS)水平;Western Blot法检测大鼠股骨AMPK/mTOR通路蛋白表达。**结果:**与对照组相比,模型组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb.Th和Tb.N均降低,软骨面积和骨小梁面积减少,存在大量空陷窝,骨表面破骨细胞数增加,Osterix、Runx相关转录因子2(RUNX2)和骨钙素(OCN)阳性细胞数减少,活性氧水平和mTOR蛋白表达升高,p-AMPK蛋白表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb.Th和Tb.N均升高,骨小梁面积增加,空陷窝减少,骨表面破骨细胞数减少,Osterix、RUNX2和骨钙素阳性细胞数增加,活性氧水平和mTOR蛋白表达降低,p-AMPK蛋白表达升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高当归多糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb.Th和Tb.N均降低,骨小梁面积减少,空陷窝增加,骨表面破骨细胞数增加,Osterix、RUNX2和骨钙素阳性细胞数减少,活性氧水平和mTOR蛋白表达升高,p-AMPK蛋白表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**当归多糖通过调节AMPK/mTOR信号通路增强激素性股骨头坏死大鼠骨代谢。

[关键词] 当归多糖;激素性股骨头坏死大鼠;骨代谢;股骨头坏死

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2026)05-0018-07

DOI: 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.260503

Effect of Angelica Polysaccharide on Bone Metabolism in Rats with Hormonal Femoral Head Necrosis

SHI Mingyu¹ HUANG Wei^{1△}

¹ Changzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changzhou 213000, Jiangsu China.

Abstract Objective: To explore the effect of angelica polysaccharide on bone metabolism in rats with hormonal femoral head necrosis based on the AMP-activated protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Methods:** In this study, the rats were divided into control group, model group, L-angelica polysaccharide group, M-angelica polysaccharide group, H-angelica polysaccharide group, and angelica polysaccharide + inhibitor group, with 12 per group. Except for the control group, the remaining 5 groups were injected with lipopolysaccharides and methylprednisolone to induce steroid-induced femoral head necrosis in rat models. Micro-CT scans were used to analyze rat bone mineral density (BMD), bone volume/tissue volume (BV/TV), and trabecular thickness (Tb.Th), and the number of trabecules (Tb.N). HE staining was used to observe the pathological morphology of the femur. TRAP staining was performed

to identify osteoclasts. Immunohistochemical staining was implemented to explore the expression of bone metabolism-related proteins. DHE staining was used to measure reactive oxygen species (ROS) level. Moreover, Western Blot was implemented to measure the expression of AMPK/mTOR

基金项目:2024年常州市孟河医派传承创新发展项目
(MH202414)

¹ 常州市中医医院(江苏常州,213000)

△通信作者 E-mail:huangwei312@126.com

pathway proteins in the femoral tissue of rats. **Results:** Compared with the control group, the model group showed a decrease in BMD, BV/TV, Tb. Th, and Tb. N of the femoral head in rats, a reduction in cartilage area and trabecular area, and a large number of empty cavities, the number of osteoclasts on the bone surface increased, the numbers of Osterix, Runx related transcription factor 2 (RUNX2), and osteocalcin (OCN) positive cells decreased, the ROS level and mTOR protein expression increased, while p-AMPK protein expression decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the L-angelica polysaccharide group, M-angelica polysaccharide group, and H-angelica polysaccharide group showed an increase in BMD, BV/TV, Tb. Th, and Tb. N of the femoral head in rats, an increase in trabecular area, a decrease in empty cavities, a decrease in the number of osteoclasts on the bone surface, a raise in Osterix, RUNX2, and OCN positive cells, a decrease in ROS level and mTOR protein expression, and a raise in p-AMPK protein expression ($P < 0.05$). Compared with the H-angelica polysaccharide group, the angelica polysaccharide + inhibitor group showed a decrease in BMD, BV/TV, Tb. Th, and Tb. N in the femoral head in rats, a decrease in trabecular area, a raise in empty cavities, an increase in the number of osteoclasts on the bone surface, a decrease in Osterix, RUNX2, and OCN positive cells, an increase in ROS level and mTOR protein expression, and a decrease in p-AMPK protein expression ($P < 0.05$). **Conclusion:** Angelica polysaccharide enhances bone metabolism in rats with hormonal femoral head necrosis by regulating the AMPK/mTOR signaling pathway.

Keywords: angelica polysaccharide; hormonal femoral head necrosis rats; bone metabolism; femoral head necrosis

股骨头骨坏死是一种难治性骨科疾病,致残率很高^[1]。激素性股骨头坏死的发病机制涉及遗传、血管损伤、脂肪细胞肥大和骨内压升高,最终导致骨髓和骨骼缺血和坏死,并且不可逆转。骨坏死表现为疼痛和运动受损,早期股骨头坏死可采用药物治疗联合保髋手术,但其治疗效果有限^[2-3]。当归多糖是从当归中提取的多糖,具有多种药理作用^[4],已有研究表明,当归多糖通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)/超氧化物歧化酶 2(SOD2)/活性氧(ROS)途径改善骨关节炎软骨细胞线粒体代谢^[5]。腺苷酸(AMP)活化蛋白激酶(AMPK)是一种重要的调节激酶,可在低营养、低能量状态下监测能量水平,保存三磷酸腺苷(ATP)并促进合成,AMPK 通过三磷酸腺苷、炎症、活性氧、钙和葡萄糖在骨微环境调节中具有关键作用^[6],桃叶珊瑚苷通过激活 AMPK 增强自噬,防止类固醇诱导的成骨细胞死亡^[7]。类固醇增加股骨头血管内皮细胞中磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路相关因子的表达,抑制自噬对激素性股骨头坏死的生理保护作用^[8]。本研究探究当归多糖调节 AMPK/mTOR 通路对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢的影响,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

76 只 10 周龄雄性 SD 大鼠,体重为(350±20)g,购自湖北贝恩特生物科技有限公司,许可证号为 SCXK(鄂)2021-0027。大鼠饲养环境温度为 22℃,相对湿度为 55%,光照/黑暗循环各 12 h,可随意进食和饮水,适应性喂养 1 周。本实验经常州市中医医院动物伦理委员会批准(批号为 CZZYY18-1-2410-1)。

1.2 主要试剂

当归多糖(S27815)购自上海源叶生物科技有限公司;Dorsomorphin(AMPK 抑制剂,目录号为 HY-13418A,纯度为 99.10%)、甲泼尼龙(目录号为 HY-B0260,纯度为 99.64%)购自 MedChemExpress 公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(G1120)、抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)染色试剂盒(G1492-4)购自北京索莱宝科技有限公司;二氢乙锭(DHE,15200)购自西安百萤生物科技有限公司;ECL 增强型化学发光检测试剂盒(SQ101L)购自上海雅酶生物医药科技有限公司;Osterix 抗体(ab209484)、Runx 相关转录因子 2(RUNX2)抗体(ab236639)、骨钙素(OCN)抗体(ab93876)、AMPK 抗体(ab207442)、mTOR 抗体(ab134903)、p-AMPK 抗体(ab133448)、GAPDH 兔单克隆抗体(ab8227)和羊抗兔 IgG 二抗(货号为 ab97051)均购自 Abcam。

1.3 实验仪器

多功能小动物手术台购自上海科心医学生物技术有限公司;台式高分辨显微 CT(NEOSCAN)购自复纳科学仪器(上海)有限公司;共聚焦激光扫描显微镜(FV4000)购自仪景通光学科技(上海)有限公司;全自动轮转式切片仪(HistoCore)购自徕卡显微系统(上海)贸易有限公司。

1.4 方法

1.4.1 动物分组及造模 从 76 只大鼠中随机选择 12 只为对照组,其余大鼠均进行激素性股骨头坏死模型构建,方法为腹腔内两侧交替注射脂多糖(LPS, 20 μ g/kg),每 24 h 注射 2 次;第 3 天双侧臀肌交替注射 40 mg/kg 甲泼尼龙,共 3 次,每次间隔 24 h^[9-10]。磁共振成像显示大鼠股骨头中不同高度的混合信号,

显微 CT 检查显示大鼠股骨头负重区软骨下小梁骨的吸收增加,小梁骨区域变薄,即为造模成功。大鼠造模成功 60 只,随机分为 5 组(每组 12 只),分别是模型组、低当归多糖组、中当归多糖组、高当归多糖组、当归多糖+抑制剂组;低/中/高当归多糖组分别灌胃给药 80,160,320 mg/(kg·d)当归多糖^[5];当归多糖+抑制剂组灌胃给药 320 mg/(kg·d)当归多糖同时腹腔注射 0.2 mg/(kg·d) Dorsomorphin^[11];其余组灌胃和腹腔注射等量生理盐水。给药 6 周后,采用异氟醚麻醉大鼠,腹腔注射 6%戊巴比妥钠(3 mL/kg)对所有大鼠实施安乐死,然后收集其双侧股骨头进行进一步研究。

1.4.2 显微 CT 扫描 高分辨率显微 CT 评估大鼠股骨头的骨形态,扫描参数如下:扫描层厚为 18 μm ,管电压为 70 kV,管电流为 141 μA 。用 CT Analyzer 软件分析骨小梁骨参数,包括骨密度(BMD)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb. Th)和骨小梁数(Tb. N)。

1.4.3 HE 染色观察股骨病理形态 将股骨头在 4%多聚甲醛中固定 48 h,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下在 EDTA(14%, pH=7.4)中脱钙 14 d 后,将股骨头样品包埋在石蜡中并切片(切片机切割 5 μm 厚),脱蜡后的切片放置于载玻片上,采用 HE 染色,观察股骨病理形态。

1.4.4 TRAP 染色观察破骨细胞 将石蜡切片脱蜡水化,用 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 TRAP 固定液固定 2 min,蒸馏水洗,滴加 TRAP 孵育液覆盖切片,置于湿盒内 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 60 min,蒸馏水洗,苏木精复染液染色 2 min,返蓝 5 min,滴加水性封片剂封片后观察破骨细胞。

1.4.5 免疫组织化学染色分析骨代谢相关蛋白表达 将股骨头切片进行脱蜡,抗原修复,在马血清中封闭 30 min,与 Osterix(1:100)、RUNX2(1:100)和骨钙素

(1:100)抗体稀释液共孵育 12 h,然后加入二抗(1:2 000)孵育 2 h。最后,用二氨基联苯胺染色切片,并用苏木精复染。用光学显微镜获取切片图像,并以阳性细胞数量作为定量指标。

1.4.6 DHE 染色检测活性氧水平 将股骨石蜡切片脱蜡和再水化,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下用浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 DHE 染色 30 min,将切片脱水密封,通过共聚焦显微镜拍摄荧光图像。

1.4.7 Western Blot 法检测股骨 AMPK 和 mTOR 蛋白表达 用 RIPA 裂解液提取股骨蛋白质,测定蛋白质总浓度后,用 10%SDS-PAGE 分离样品,并转移到硝酸纤维素膜上。用封闭缓冲液封闭非特异性结合位点 1 h 后,将膜与 AMPK、p-AMPK、mTOR 一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,与 HRP 标记的二抗孵育 1 h。最后,使用 ECL 增强型化学发光检测试剂盒对蛋白质条带进行可视化,并用 Image Lab 3.0 软件测量相对灰度值。

1.5 统计学方法

所有数据均采用 SPSS 25.0 进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,采用单因素方差分析进行多组间比较,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 各组大鼠股骨头骨小梁骨参数比较

与对照组相比,模型组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb. Th 和 Tb. N 均降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb. Th 和 Tb. N 均升高($P<0.05$),且不同组间差异显著,差异有统计学意义($P<0.05$);与高当归多糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨头骨密度、BV/TV、Tb. Th 和 Tb. N 均降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠股骨头骨小梁骨参数比较($n=12, \bar{x}\pm s$)

组别	骨密度/(mg·cm ⁻²)	(BV/TV)/%	Tb. Th/mm	Tb. N/mm ⁻¹
对照组	0.72±0.09	71.37±7.68	0.19±0.02	6.83±0.72
模型组	0.11±0.02 ¹⁾	24.26±2.58 ¹⁾	0.09±0.01 ¹⁾	2.44±0.26 ¹⁾
低当归多糖组	0.29±0.04 ²⁾	38.79±4.05 ²⁾	0.12±0.02 ²⁾	3.86±0.42 ²⁾
中当归多糖组	0.47±0.06 ³⁾	53.67±4.62 ³⁾	0.15±0.02 ³⁾	5.24±0.58 ³⁾
高当归多糖组	0.68±0.08 ⁴⁾	68.83±7.36 ⁴⁾	0.18±0.02 ⁴⁾	6.65±0.71 ⁴⁾
当归多糖+抑制剂组	0.14±0.02 ⁵⁾	28.47±3.04 ⁵⁾	0.10±0.01 ⁵⁾	2.82±0.33 ⁵⁾
<i>F</i>	245.491	176.195	69.467	151.058
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与模型组相比, $P<0.05$;3)与低当归多糖组相比, $P<0.05$;4)与中当归多糖组相比, $P<0.05$;5)与高当归多糖组相比, $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠股骨病理形态变化

对照组大鼠股骨头结构正常,模型组大鼠股骨头软骨面积和骨小梁面积减少,存在大量空陷窝;与模型

组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头骨小梁面积增加,空陷窝减少,且中剂量组优于低剂量组,高剂量组优于中剂量组;与高当归多糖组相比,当归多糖+抑

制剂组大鼠股骨头骨小梁面积减少,空陷窝增加,见图 1。

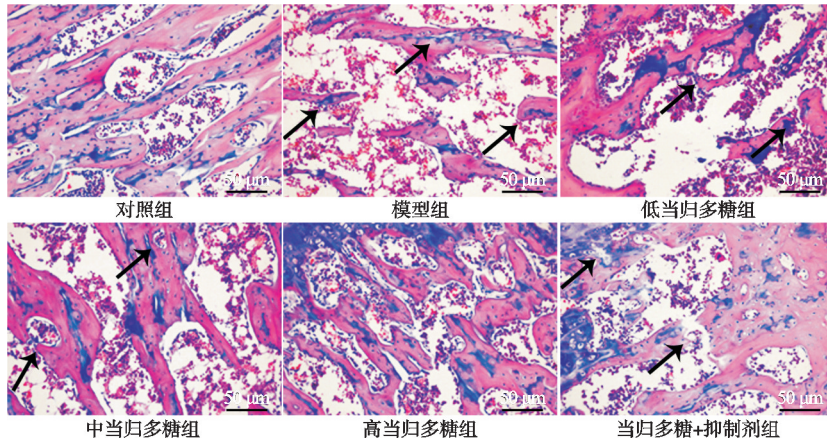


图 1 各组大鼠股骨头组织 HE 染色(箭头指向空陷窝,200×)

2.3 各组大鼠股骨头组织破骨细胞观察

与对照组相比,模型组大鼠股骨头骨表面破骨细胞数增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头骨表面破骨细胞数均减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),且不同组间差异显著,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高当归多

糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨头骨表面破骨细胞数增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2 及表 2。

2.4 各组大鼠股骨头 Osterix、RUNX2 和骨钙素免疫组织化学染色

与对照组相比,模型组大鼠股骨头 Osterix、RUNX2

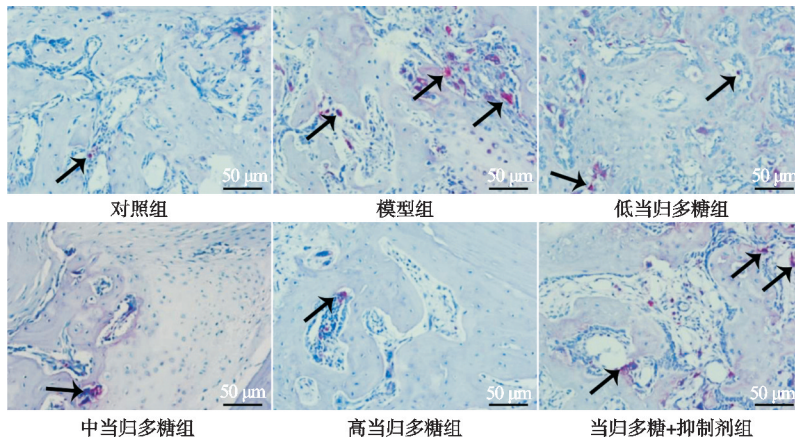


图 2 各组大鼠股骨头组织 TRAP 染色(箭头指向破骨细胞,200×)

表 2 各组大鼠股骨头组织破骨细胞数比较($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	破骨细胞数/(个·mm ⁻¹)
对照组	0.86 ± 0.15
模型组	3.24 ± 0.35 ¹⁾
低当归多糖组	2.61 ± 0.29 ²⁾
中当归多糖组	1.98 ± 0.22 ³⁾
高当归多糖组	1.24 ± 0.15 ⁴⁾
当归多糖+抑制剂组	3.02 ± 0.33 ⁵⁾
F	82.359
P	< 0.001

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$;2)与模型组相比, $P < 0.05$;3)与低当归多糖组相比, $P < 0.05$;4)与中当归多糖组相比, $P < 0.05$;5)与高当归多糖组相比, $P < 0.05$ 。

和骨钙素阳性细胞数减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头 Osterix、RUNX2 和骨钙素阳性细胞数均增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),且不同组间差异显著,差异有

统计学意义($P < 0.05$);与高当归多糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨头 Osterix、RUNX2 和骨钙素阳性细胞数减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3 及表 3。

2.5 各组大鼠股骨头二氢乙锭染色平均荧光强度

与对照组相比,模型组大鼠股骨头活性氧平均荧光强度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨头活性氧平均荧光强度均减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$),且不同组间差异显著,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高当归多糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨头活性氧平均荧光强度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4 及表 4。

2.6 各组大鼠股骨头 AMPK/mTOR 通路蛋白表达

与对照组相比,模型组大鼠股骨头 p-AMPK 蛋白表达降低,mTOR 蛋白表达升高,差异有统计学意义

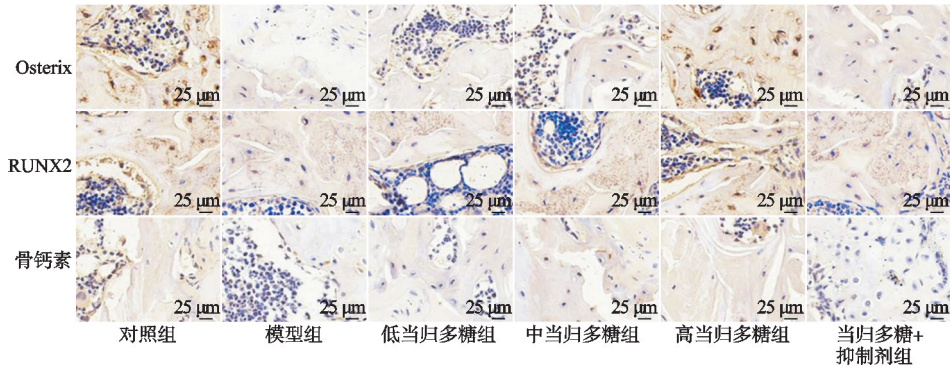


图 3 各组大鼠股骨 Osterix、RUNX2 和骨钙素免疫组织化学染色(400×)

表 3 各组大鼠股骨 Osterix、RUNX2 和骨钙素阳性细胞数比较(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	Osterix	RUNX2	骨钙素
对照组	71.36 ± 7.48	39.54 ± 4.25	9.57 ± 1.03
模型组	9.83 ± 1.27 ¹⁾	15.26 ± 1.79 ¹⁾	1.05 ± 0.29 ¹⁾
低当归多糖组	28.48 ± 3.25 ²⁾	22.47 ± 2.64 ²⁾	3.54 ± 0.73 ²⁾
中当归多糖组	47.26 ± 5.13 ³⁾	29.65 ± 3.41 ³⁾	6.02 ± 0.97 ³⁾
高当归多糖组	68.92 ± 7.34 ⁴⁾	37.78 ± 3.93 ⁴⁾	8.69 ± 1.01 ⁴⁾
当归多糖+抑制剂组	10.27 ± 1.35 ⁵⁾	17.35 ± 1.97 ⁵⁾	1.46 ± 0.32 ⁵⁾
F	182.077	64.708	126.609
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$; 2)与模型组相比, $P < 0.05$; 3)与低当归多糖组相比, $P < 0.05$; 4)与中当归多糖组相比, $P < 0.05$; 5)与高当归多糖组相比, $P < 0.05$ 。

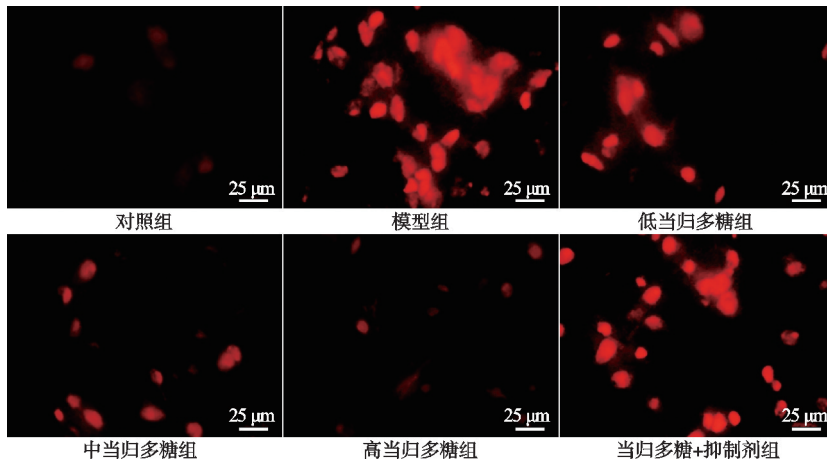


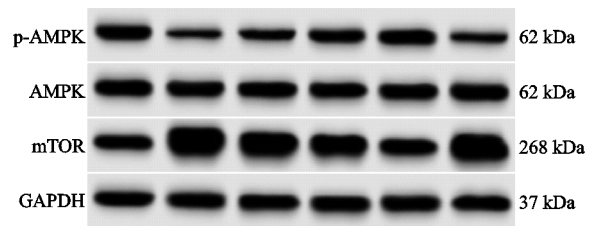
图 4 各组大鼠股骨二氢乙锭染色(400×)

表 4 各组大鼠股骨活性氧平均荧光强度比较(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	活性氧平均荧光强度
对照组	1.00 ± 0.12
模型组	2.64 ± 0.29 ¹⁾
低当归多糖组	2.15 ± 0.26 ²⁾
中当归多糖组	1.67 ± 0.19 ³⁾
高当归多糖组	1.09 ± 0.13 ⁴⁾
当归多糖+抑制剂组	2.47 ± 0.28 ⁵⁾
F	58.808
P	<0.001

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$; 2)与模型组相比, $P < 0.05$; 3)与低当归多糖组相比, $P < 0.05$; 4)与中当归多糖组相比, $P < 0.05$; 5)与高当归多糖组相比, $P < 0.05$ 。
($P < 0.05$);与模型组相比,低/中/高当归多糖组大鼠股骨 p-AMPK 蛋白表达升高, mTOR 蛋白表达降低,

差异有统计学意义($P < 0.05$),且不同组间差异显著,差异有统计学意义($P < 0.05$);与高当归多糖组相比,当归多糖+抑制剂组大鼠股骨 p-AMPK 蛋白表达降低, mTOR 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 5 及表 5。



注: A-对照组; B-模型组; C-低当归多糖组; D-中当归多糖组; E-高当归多糖组; F-当归多糖+抑制剂组

图 5 Western Blot 法检测 AMPK/mTOR 通路蛋白表达

表 5 各组大鼠股骨 p-AMPK、mTOR 蛋白表达比较 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	p-AMPK/AMPK	mTOR
对照组	1.04±0.11	1.03±0.11
模型组	0.25±0.04 ¹⁾	2.95±0.32 ¹⁾
低当归多糖组	0.49±0.06 ²⁾	2.36±0.25 ²⁾
中当归多糖组	0.73±0.09 ³⁾	1.88±0.21 ³⁾
高当归多糖组	0.99±0.12 ⁴⁾	1.16±0.13 ⁴⁾
当归多糖+抑制剂组	0.28±0.05 ⁵⁾	2.69±0.29 ⁵⁾
F	101.140	70.822
P	<0.001	<0.001

注:1)与对照组相比, P<0.05;2)与模型组相比, P<0.05;3)与低当归多糖组相比, P<0.05;4)与中当归多糖组相比, P<0.05;5)与高当归多糖组相比, P<0.05。

3 讨论

当归多糖是中药当归的主要活性成分之一,是水溶性多糖,主要由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、岩藻糖、木糖和半乳糖醛酸组成^[12]。研究显示当归多糖通过中期因子(MDK)-PI3K/Akt 信号级联促进脂肪干细胞的软骨分化^[13]。另外,当归多糖可通过调节细胞外信号调节激酶 1 和 2(ERK1/2)途径诱导自噬,减弱骨关节炎软骨细胞中硝普钠诱导的细胞凋亡^[14];通过抑制核因子-κB(NF-κB)信号通路的表达,对脂多糖诱导的骨关节炎具有治疗作用^[15]。本研究构建激素性股骨头坏死大鼠模型,发现模型大鼠股骨软骨面积和骨小梁减少,存在大量空陷窝,骨表面破骨细胞数增加,骨代谢降低,活性氧水平升高;不同浓度当归多糖给药后,大鼠股骨骨小梁增加,空陷窝减少,骨表面破骨细胞数减少,骨代谢升高,活性氧水平降低,且给药效果呈剂量依赖性效应,提示当归多糖对激素性股骨头坏死大鼠骨代谢有促进作用,其可能作为激素性股骨头坏死的治疗药物。

AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,作为一种异源三聚体复合物出现,由一个催化 α 亚基和两个由不同基因编码的调节 β 和 γ 亚基组成,其活性降低会损害细胞稳态的能量灵活性,引发线粒体功能障碍、氧化应激、自噬受损和内质网应激延长等不良事件,最终导致关节软骨变性、滑膜炎症和软骨下骨重塑异常。AMPK 激活可以协调软骨细胞存活机制并提高关节组织对骨关节炎的抵抗^[16]。研究表明地塞米松诱导的线粒体及活性氧介导的 AMPK 活性抑制促进成骨细胞坏死^[17]。此外,自噬对糖皮质激素诱导的细胞凋亡和骨质流失起缓解作用,mTOR 是细胞生长和代谢的中枢调节因子,通过充当关键检查点与自噬相交,从而影响骨密度和质量^[18]。mTOR 激酶是自噬中的关键抑制分子,其失活途径(例如 AMPK)可促进自噬,

进而促进骨髓间充质干细胞的成骨分化^[19]。氯化异黄酮可减轻地塞米松诱导的成骨细胞凋亡,并通过 AMPK/mTOR 信号传导诱导自噬,促进骨形成^[20]。因此,本研究对 AMPK/mTOR 通路进行检测,结果发现模型组大鼠股骨 p-AMPK 表达降低,mTOR 表达升高,提示 AMPK 活性降低引发骨代谢异常,符合前人研究结果^[16]。当归多糖给药升高了 p-AMPK 表达,降低了 mTOR 表达,促进了骨代谢,体现了 AMPK/mTOR 通路参与影响骨代谢,与前人研究结果一致^[20]。本研究采用 AMPK 抑制剂 Dorsomorphin 进行反向验证,发现 p-AMPK 表达降低,mTOR 表达升高,且大鼠股骨的骨代谢被抑制,股骨结构破坏严重。由此表明当归多糖通过激活 p-AMPK 表达,抑制 mTOR 蛋白表达,促进激素性股骨头坏死大鼠骨代谢。

综上所述,当归多糖通过调节 AMPK/mTOR 信号通路促进激素性股骨头坏死大鼠骨代谢。本研究结果可为激素性股骨头坏死的治疗提供依据,但自噬与激素性股骨头坏死的相关性仍需进一步探究。

参考文献

- [1] 阎晓霞,任之强,赵志强,等. 富血小板血浆联合补肾活血方促进股骨头坏死骨囊性变修复的短期疗效研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2025,33(7):54-62.
- [2] 杨光亚,白玉,邓磊,等. 活络骨康丸防治兔激素性股骨头坏死的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2025,33(10):1-7.
- [3] 张天晨,夏天卫,郑善斌,等. 系统生物学技术在非创伤性股骨头坏死研究中的应用进展[J]. 中国中医骨伤科杂志,2025,33(7):90-96.
- [4] SHEN J, QIN H, LI K K, et al. The angelica polysaccharide: a review of phytochemistry, pharmacology and beneficial effects on systemic diseases[J]. International Immunopharmacology, 2024, 133: 112025.
- [5] NI S, YI N, YUAN H, et al. Angelica sinensis polysaccharide improves mitochondrial metabolism of osteoarthritis chondrocytes through PPARγ/SOD2/ROS pathways[J]. Phytotherapy Research, 2023, 37(11): 5394-5406.
- [6] LIU J Y, LIU J X, LI R, et al. AMPK, a hub for the microenvironmental regulation of bone homeostasis and diseases[J]. Journal of Cellular Physiology, 2024, 239(11): e31393.
- [7] YUE C, JIN H T, ZHANG X, et al. Aucubin prevents steroid-induced osteoblast apoptosis by enhancing autophagy via AMPK activation[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2021, 25(21): 10175-10184.
- [8] JANG B Y, GUO S B, BAI R, et al. Methylprednisolone inhibits autophagy of vascular endothelial cells in rat femoral head via PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Orthopaedic

- Surgery, 2022, 14(10): 2669-2681.
- [9] SUN Y Q, LIANG M M, XING Y M, et al. Cyasterone has a protective effect on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. PLoS One, 2023, 18(10): e0293530.
- [10] SONG X L, KONG J H, SONG J, et al. Angelica sinensis polysaccharide alleviates myocardial fibrosis and oxidative stress in the heart of hypertensive rats[J]. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 2021(1): 6710006.
- [11] FELEMBAN A H, ALSHAMMARI G M, YAGOUB A E A, et al. Royal jelly exerts a potent anti-obesity effect in rats by activating lipolysis and suppressing adipogenesis[J]. Nutrients, 2024, 16(18): 3174.
- [12] NAI J J, ZHANG C, SHAO H L, et al. Extraction, structure, pharmacological activities and drug carrier applications of angelica sinensis polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 2337-2353.
- [13] LI Y J, YANG Y Q, ZHU L N, et al. Angelica sinensis polysaccharide facilitates chondrogenic differentiation of adipose-derived stem cells via MDK-PI3K/AKT signaling cascade[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2024, 179: 117349.
- [14] XU C, NI S, ZHUANG C, et al. Polysaccharide from angelica sinensis attenuates SNP-induced apoptosis in osteoarthritis chondrocytes by inducing autophagy via the ERK1/2 pathway[J]. Arthritis Research & Therapy, 2021, 23(1): 47.
- [15] 武艳芝, 姚远, 杨五小, 等. 基于 NF- κ B 信号通路探讨当归多糖对 LPS 介导的 SD 大鼠骨性关节炎作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 136-140.
- [16] WANG J J, LI J L, SONG D Y, et al. AMPK: implications in osteoarthritis and therapeutic targets[J]. American Journal of Translational Research, 2020, 12(12): 7670-7681.
- [17] SHEN Y C, JIANG B, LU W, et al. Dexamethasone-induced mitochondrial ROS-mediated inhibition of AMPK activity facilitates osteoblast necroptosis[J]. Toxicology Research, 2023, 12(5): 922-929.
- [18] CHEN R J, YANG C H, YANG F, et al. Targeting the mTOR-autophagy axis: unveiling therapeutic potentials in osteoporosis[J]. Biomolecules, 2024, 14(11): 1452.
- [19] WANG J, ZHANG Y, CAO J, et al. The role of autophagy in bone metabolism and clinical significance[J]. Autophagy, 2023, 19(9): 2409-2427.
- [20] RAI R, SINGH K B, KHANKA S, et al. Cladrin alleviates dexamethasone-induced apoptosis of osteoblasts and promotes bone formation through autophagy induction via AMPK/mTOR signaling[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2022, 190: 339-350.

(收稿日期: 2025-09-19)