

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.01.005

人参皂苷 Rg3 调控 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠骨代谢、成骨细胞的影响*

费 熙¹,殷 静^{2△},张 磊¹,范 伟¹,李小平¹,唐光平¹

1. 湖北省武汉市中医医院骨伤科,湖北武汉 430000;2. 湖北省武汉市武昌区妇幼保健院院感科,湖北武汉 430000

摘 要:目的 分析人参皂苷 Rg3 调控核因子-κB 受体活化体配体(RANKL)/核因子-κB 受体活化体(RANK)/肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠骨代谢、成骨细胞的影响。**方法** 选取 50 只健康雌性 SPF 级 SD 大鼠作为实验对象,随机取 10 只大鼠作为对照组,其余 40 只大鼠建立绝经后骨质疏松症模型,其中 30 只大鼠建模成功,将 30 只大鼠随机分为模型组、人参皂苷 Rg3 低剂量组、人参皂苷 Rg3 高剂量组,各 10 只。观察各组大鼠股骨病理组织,比较各组大鼠骨代谢指标、骨形态学指标、碱性磷酸酶(ALP)、甲状旁腺激素(PTH)、骨钙素、硬骨素水平,以及 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关信使 RNA(mRNA)及蛋白表达水平。**结果** 对照组大鼠骨小梁排列正常,成骨细胞、类骨质面积未发生变化,模型组大鼠成骨细胞数量减少。与模型组比较,人参皂苷 Rg3 低剂量组、人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量增多,且人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量比人参皂苷 Rg3 低剂量组多。各组大鼠骨小梁数量(TB. N)、骨小梁厚度(TB. Th)、总 I 型胶原羧基端前肽(P I NP)、N-端骨钙素(N-MID)、PTH、骨钙素、硬骨素、RANKL mRNA、RANK mRNA、TRAF6 mRNA、RANKL 蛋白、RANK 蛋白、TRAF6 蛋白水平比较,对照组>人参皂苷 Rg3 高剂量组>人参皂苷 Rg3 低剂量组>模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组大鼠骨小梁分离度(TB. Sp)、ALP 水平比较,对照组<人参皂苷 Rg3 高剂量组<人参皂苷 Rg3 低剂量组<模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rg3 可改善骨代谢,提高骨钙素、硬骨素水平,使大鼠骨质疏松症得到改善,其作用机制可能与调控 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路有关。

关键词:骨质疏松症; 人参皂苷 Rg3; 核因子-κB 受体活化体配体; 核因子-κB 受体活化体; 肿瘤坏死因子受体相关因子 6; 信号通路; 骨代谢; 成骨细胞

中图法分类号:R284.1;R681.8 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2025)01-0024-06

Effect of ginsenoside Rg3 regulating RANKL/RANK/TRAF6 signaling pathway on bone metabolism and osteoblast in postmenopausal osteoporosis rats*

FEI Xi¹,YIN Jing^{2△},ZHANG Lei¹,FAN Wei¹,LI Xiaoping¹,TANG Guangping¹

1. Department of Orthopedics and Traumatology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430000, China; 2. Department of Sensationalism, Wuchang District Maternal and Child Health Hospital, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Objective To analyze the effect of ginsenoside Rg3 on regulating and nuclear factor-κB receptor activator ligand (RANKL)/nuclear factor-κB receptor activator (RANK)/tumor necrosis factor receptor-related factor 6 (TRAF6) signaling pathway on bone metabolism and osteoblast in postmenopausal osteoporosis rats. **Methods** Fifty healthy female SPF SD rats were selected as experimental objects, and 10 rats were randomly selected as control group, and the remaining 40 rats were established for postmenopausal osteoporosis model, of which 30 rats were successfully modelled, and 30 rats were randomly divided into model group, ginsenoside Rg3 low dose group and ginsenoside Rg3 high dose group, with 10 rats each. The pathological tissue of rats in each group was observed, and the levels of bone metabolism, bone morphology, alkaline phosphatase (ALP), parathyroid hormone (PTH), osteocalcin and osteosin, as well as messenger RNA (mRNA) and protein levels related to RANKL/RANK/TRAF6 signaling pathway were compared among all groups. **Results** In the control group, the bone trabecular arrangement was normal, and the area of osteoblasts and osteoid did not change, and the number of osteoblasts decreased in the model group. Compared with the model group, the number of osteoblasts in ginsenoside Rg3 low dose group and ginsenoside Rg3 high dose group increased, and the number

* 基金项目:湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2021M022);湖北省武汉市医学科研项目(WZ20Z01)。

作者简介:费熙,男,主治医师,主要从事骨科基础及临床方向的研究。△ 通信作者,E-mail:314162296@qq.com。

of osteoblasts in ginsenoside Rg3 high dose group was more than that in ginsenoside Rg3 low dose group. Trabecular quantity (TB. N), trabecular thickness (TB. Th), total type I collagen carboxyl terminal propeptide (P I NP), N-terminal osteocalcin (N-MID), PTH, osteocalcin, osteosin, RANKL mRNA, RANK mRNA, TRAF6 mRNA, RANKL protein, RANK protein and TRAF6 protein of rats in all groups were compared, the control group > ginsenoside Rg3 high dose group > ginsenoside Rg3 low dose group > model group, with statistical significance between any two groups ($P < 0.05$). The trabecular separation (TB. Sp) and ALP level of rats in all groups were compared, the control group < ginsenoside Rg3 high dose group < ginsenoside Rg3 low dose group < model group, and the difference between any two groups was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rg3 can improve bone metabolism, increase the levels of osteocalcin and osteosin and improve osteoporosis in rats. The mechanism may be related to the regulation of RANKL/RANK/TRAF6 signaling pathway.

Key words: osteoporosis; ginsenoside Rg3; nuclear factor- κ B receptor activator ligand; nuclear factor- κ B receptor activator; tumor necrosis factor receptor-related factor 6; signaling pathway; bone metabolism; osteoblast

骨质疏松症是一种全身性骨病,是由于骨微结构破坏,导致骨质量、骨密度下降,造成骨骼无力、脆性增强,从而容易发生骨骼变形、骨折,对患者生活质量造成较大影响^[1]。临床主要采用钙剂、磷酸盐等药物进行治疗,但该治疗方式效果较差^[2]。人参可有效防治骨质疏松症。人参皂苷 Rg3 具有人参的主要生理活性,通过诱导细胞凋亡,抑制癌细胞增殖、转移和血管生成,发挥增强免疫力等多种药理作用^[3]。人参皂苷 Rg3 对骨质疏松症具有较好的治疗效果,可以促进机体内骨重塑,对骨代谢具有调控作用。核因子- κ B 受体活化体配体(RANKL)由基质细胞分化产生,能够与破骨细胞前体细胞表面核因子- κ B 受体活化体(RANK)结合,促进成骨细胞分化^[4]。肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)是一个泛素连接酶,具有广泛的生物学功能^[5]。临床研究中,分析人参皂苷 Rg3 调控 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路对绝经后骨质疏松症的影响的研究较少。基于此,本研究分析了人参皂苷 Rg3 调控 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠骨代谢、成骨细胞的影响,以明确人参皂苷 Rg3 与绝经后骨质疏松症的关系。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 选取汕头大学医学院培育的 50 只健康雌性 SPF 级 SD 大鼠[动物许可证号: SCXK(粤)2017-0017]为研究对象,均为 21 月龄,平均体质量为(336.35 ± 13.46)g。所有大鼠在平均室温为(22.43 ± 1.46)℃,相对湿度为 60%的环境下饲养,每日光照 12 h,饲养期间自由饮水。本研究经湖北省武汉市中医医院动物伦理委员会审核批准(HLK-20201205-03)。

1.2 方法

1.2.1 建模与分组 随机选取 10 只大鼠作为对照组,另外 40 只参考文献[6]中的方法构建模型,给予大鼠适量麻醉剂,切除双侧卵巢,术后腹腔注射青霉

素进行抗炎治疗,持续 3 d,建立骨质疏松症大鼠模型,共有 30 只大鼠建模成功,将 30 只大鼠随机分为模型组、人参皂苷 Rg3 低剂量组、人参皂苷 Rg3 高剂量组,各 10 只。

1.2.2 药物干预 对各组大鼠进行给药处理,对照组、模型组大鼠采用生理盐水灌胃,人参皂苷 Rg3 低剂量组给予 10 mL/(kg·d)人参皂苷 Rg3(吉林亚泰制药股份有限公司,国药准字: Z20030043,规格: 10 mg×10 粒)灌服,人参皂苷 Rg3 高剂量组给予 20 mL/(kg·d)人参皂苷 Rg3 灌服,均干预 3 周。

1.2.3 标本采集 采集大鼠颈主动脉血 3 mL,以 4 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 3 cm,取上层血清保存于-80℃环境中。

1.2.4 病理组织学检查 将大鼠断颈处死,取大鼠股骨组织,采用磷酸盐缓冲液反复冲洗,取 0.5 g 组织储存于-80℃环境中,在多聚甲醛中固定 4 h 后进行脱水,制作 5 μm 切片,再次脱蜡、脱水,采用苏木精-伊红(HE)染色试剂盒染色,使用光学显微镜观察组织病理变化。

1.2.5 骨代谢指标、碱性磷酸酶(ALP)、甲状旁腺激素(PTH)、骨钙素、硬骨素水平检测 取各组大鼠血清,采用酶联免疫吸附试验检测大鼠骨代谢指标[血清总 I 型胶原羧基端前肽(P I NP)、N-端骨钙素(N-MID)]、骨钙素、硬骨素水平,试剂盒均购自上海科培瑞生物科技有限公司。采用全自动生化分析仪(生产厂家:深圳市盛信康科技有限公司,型号:SK6000)检测大鼠 ALP 水平,采用化学发光法检测大鼠 PTH 水平。

1.2.6 骨形态学指标检测 取大鼠股骨远端干骺区域标本,使用 Micro-CT 仪检测各组大鼠骨小梁数量(TB. N)、骨小梁厚度(TB. Th)、骨小梁分离度(TB. Sp)。

1.2.7 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关信使 RNA(mRNA)水平检测 取各组大鼠股骨组织,使用 Takara 试剂盒(购自北京宝日生物技术有限公司)

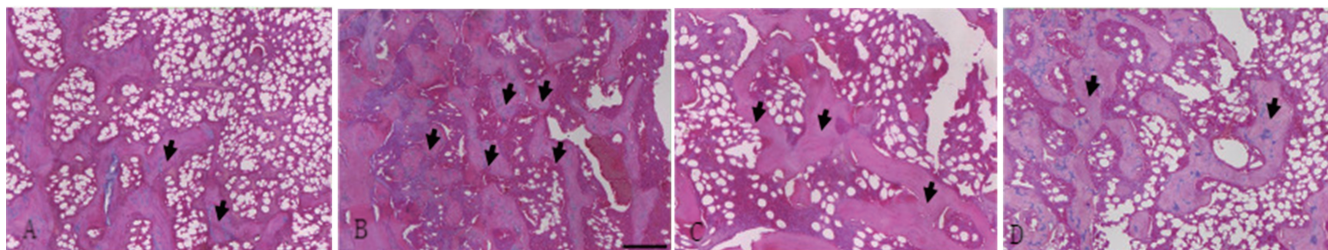
提取股骨组织 RNA,采用微小 RNA(miRNA)试剂盒进行反转录,获取互补 DNA(cDNA)。反应体系:聚合酶链反应(PCR)扩增。反应条件:95 °C 5 min, 60 °C 20 s,50 °C 2 min,60 °C 30 s,共进行 40 个循环,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算出 RANKL、RANK、TRAF6 水平。

1.2.8 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关蛋白水平检测 取各组大鼠股骨组织,使用蛋白浓度测定试剂盒(购自广州吉塞生物科技有限公司)检测待测标本蛋白含量。将股骨组织标本煮沸变性,加入一抗稀释液,在 4 °C 环境中孵育过夜,加二抗,以 GAPDH 为内参,采用蛋白质免疫印迹法检测 RANKL、RANK、TRAF6 蛋白水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组内两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 组织学观察 对照组大鼠骨小梁排列正常,成骨细胞、类骨质面积未发生变化,模型组大鼠成骨细胞数量减少。与模型组比较,人参皂苷 Rg3 低剂量组、人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量增多,且人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量比人参皂苷 Rg3 低剂量组多。见图 1。



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为人参皂苷 Rg3 低剂量组;D 为人参皂苷 Rg3 高剂量组。

图 1 各组大鼠股骨组织染色结果(HE 染色,200×)

2.2 各组大鼠骨代谢指标比较 各组大鼠 P I NP、N-MID 水平比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高剂量组 > 人参皂苷 Rg3 低剂量组 > 模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠骨代谢指标比较($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	n	P I NP	N-MID
对照组	10	36.12 ± 4.87	24.18 ± 2.65
模型组	10	21.52 ± 1.35 ^a	15.32 ± 0.58 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	26.44 ± 2.46 ^{ab}	17.77 ± 0.95 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	30.85 ± 3.59 ^{abc}	20.20 ± 1.57 ^{abc}
F		11.539	13.830
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠骨形态学指标比较 各组大鼠 TB. N、TB. Th 比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高剂量组 > 人参皂苷 Rg3 低剂量组 > 模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠 TB. Sp 比较,对照组 < 人参皂苷 Rg3 高剂量组 < 人参皂苷 Rg3 低剂量组 < 模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 各组大鼠 ALP、PTH 水平比较 各组大鼠 PTH 水平比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高剂量组 > 人参皂苷 Rg3 低剂量组 > 模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠 ALP 水平比较,对照组 < 人参皂苷 Rg3 高剂量组 < 人参皂苷

Rg3 低剂量组 < 模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 各组大鼠骨形态学指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TB. N (个/mm ²)	TB. Th (μm)	TB. Sp (mm)
对照组	10	5.21 ± 0.39	78.96 ± 4.62	0.26 ± 0.04
模型组	10	3.09 ± 0.25 ^a	46.12 ± 2.68 ^a	0.37 ± 0.05 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	3.84 ± 0.22 ^{ab}	59.63 ± 2.97 ^{ab}	0.33 ± 0.03 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	4.96 ± 0.31 ^{abc}	72.15 ± 3.55 ^{abc}	0.27 ± 0.02 ^{abc}
F		11.048	167.570	20.825
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠 ALP、PTH 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALP(U/L)	PTH(pg/mL)
对照组	10	36.52 ± 4.33	3.52 ± 0.45
模型组	10	79.55 ± 8.74 ^a	1.42 ± 0.23 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	61.02 ± 7.18 ^{ab}	1.85 ± 0.32 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	48.39 ± 5.47 ^{abc}	2.44 ± 0.34 ^{abc}
F		14.335	11.787
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.5 各组大鼠骨钙素、硬骨素水平比较 各组大鼠骨钙素、硬骨素水平比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高

剂量组>人参皂苷 Rg3 低剂量组>模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.6 各组大鼠 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关 mRNA 水平比较 各组大鼠 RANKL mRNA、RANK mRNA、TRAF6 mRNA 水平比较,对照组>人参皂苷 Rg3 高剂量组>人参皂苷 Rg3 低剂量组>模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

表 4 各组大鼠骨钙素、硬骨素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	骨钙素(ng/mL)	硬骨素(pg/mL)
对照组	10	17.36±2.74	92.95±4.09
模型组	10	9.42±0.51 ^a	63.06±1.92 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	11.94±0.98 ^{ab}	68.59±2.55 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	13.37±1.65 ^{abc}	72.71±3.04 ^{abc}
F		10.849	12.731
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P<0.05$ 。

表 5 各组大鼠 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关 mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	RANKL mRNA	RANK mRNA	TRAF6 mRNA
对照组	10	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01
模型组	10	0.36±0.02 ^a	0.42±0.05 ^a	0.59±0.03 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	0.47±0.03 ^{ab}	0.57±0.06 ^{ab}	0.61±0.04 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	0.59±0.04 ^{abc}	0.63±0.07 ^{abc}	0.74±0.05 ^{abc}
F		16.263	11.580	12.202
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P<0.05$ 。

2.7 各组大鼠 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关蛋白水平比较 各组大鼠 RANKL 蛋白、RANK 蛋白、TRAF6 蛋白水平比较,对照组>人参皂苷 Rg3 高剂量组>人参皂苷 Rg3 低剂量组>模型组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 6、图 2。

表 6 各组大鼠 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	RANKL 蛋白	RANK 蛋白	TRAF6 蛋白
对照组	10	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01
模型组	10	0.13±0.02 ^a	0.22±0.03 ^a	0.36±0.03 ^a
人参皂苷 Rg3 低剂量组	10	0.23±0.03 ^{ab}	0.32±0.04 ^{ab}	0.41±0.04 ^{ab}
人参皂苷 Rg3 高剂量组	10	0.44±0.05 ^{abc}	0.53±0.05 ^{abc}	0.66±0.06 ^{abc}
F		18.204	16.812	14.142
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与人参皂苷 Rg3 低剂量组比较,^c $P<0.05$ 。

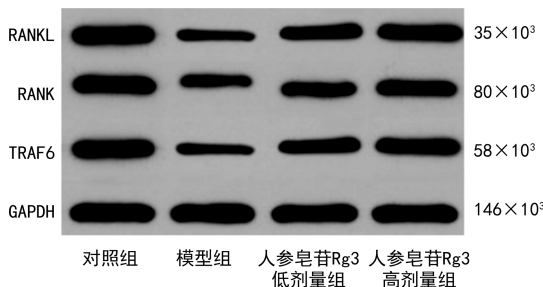


图 2 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路相关蛋白表达

3 讨论

骨质疏松症是一种慢性骨代谢疾病,由于骨吸收与骨形成发生障碍,使骨质流失,导致骨代谢紊乱^[7]。骨质疏松症主要临床表现为全身酸痛、活动受限、脊柱变形,椎体压缩性骨折导致腹部受压、胸廓畸形,从而影响心、肺功能等^[8]。脊柱变形、骨折增加了致残率,使大鼠活动受限,极大地增加了大鼠肺部感染的发生率^[9]。

骨质疏松症是由于蛋白质缺乏骨有机基质,并使胶原组织的成熟发生障碍,致使骨代谢动态发生改变^[10]。中医研究显示,人参具有复脉固脱、安神益智、补脾益肺、生津止渴、大补元气等功效,被称为“百补之王”^[11]。人参具有降低血液黏稠度、降低红细胞沉降率、抗血小板聚集、抗凝血、抗血栓形成的作用^[12]。人参皂苷 Rg3 是人参的有效成分,具有人参的生理活性,同时具有较强的生物活性,能够增强免疫器官功能,促进淋巴细胞分化,通过基质蛋白酶调节细胞因子,减少系膜细胞增殖等^[13]。人参皂苷 Rg3 通过上调间充质干细胞向成骨方向分化的特异性转录因子,参与骨形成,促进骨分化,调控骨代谢,抑制骨吸收,减轻骨质关节炎症,从而达到防治骨质疏松证的疗效^[14]。本研究 HE 染色结果显示,对照组大鼠骨小梁排列正常,成骨细胞、类骨质面积未发生变化,模型组大鼠成骨细胞数量减少,人参皂苷 Rg3 低剂量组、人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量增多,且人参皂苷 Rg3 高剂量组成骨细胞数量比人参皂苷 Rg3 低剂量组多,提示人参皂苷 Rg3 对绝经后骨质疏松症大鼠进行干预,可调控骨代谢,促进骨重建,改善大鼠骨微结构,抑制骨质疏松症的发生。分析原因可能为人参皂苷 Rg3 可诱导骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞,促进骨髓基质细胞的增殖,使骨形成速度加快,减少骨组织中骨质吸收,从而维持骨微结构。

PI NP 是骨骼 I 型胶原沉积的特异性标志物,是骨形成标志物,具有较高的特异度和灵敏度^[15]。其中少量 PI NP 沉积在骨基质中,大部分 PI NP 通过血液循环系统,经过肝脏被其代谢清除,检测 PI NP 合成与分解的代谢产物可间接反映骨转换和骨形成速率^[16]。N-MID 由成骨细胞产生而促进钙盐沉积,具有较高的灵敏度及稳定度,是能够反映骨形成的骨代

谢生化指标^[17]。骨钙素是由 49 个氨基酸组成的蛋白质,属于非胶原酸性糖蛋白,主要是由成骨细胞和成牙质细胞合成^[18]。同时,骨钙素也是一种能量代谢调节激素,能够促进破骨细胞的增殖,具有控制骨基质矿化的作用,在调节骨钙代谢更新过程起着重要作用,是研究骨代谢新的生化标志物^[19]。硬骨素主要是由骨细胞分泌,可反映骨细胞的数量和功能。骨质疏松症使骨细胞减少,导致硬骨素水平降低,对骨形成具有负性调控作用^[20]。本研究结果显示,各组大鼠 P I NP、N-MID、骨钙素、硬骨素水平及 TB. N、TB. Th 比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高剂量组 > 人参皂苷 Rg3 低剂量组 > 模型组,各组大鼠 TB. Sp 比较,对照组 < 人参皂苷 Rg3 高剂量组 < 人参皂苷 Rg3 低剂量组 < 模型组,表明骨质疏松症可使大鼠骨髓及成骨物质经肾脏流失,引发钙磷代谢紊乱,采用人参皂苷 Rg3 对绝经后骨质疏松症大鼠干预,可使 P I NP、N-MID、骨钙素、硬骨素水平升高,表明人参皂苷 Rg3 可改善骨质疏松症大鼠的骨代谢指标、骨钙素、硬骨素水平。

ALP 为骨代谢指标,主要来自骨骼,由成骨细胞产生,经血液到肝脏,从胆道系统排泄。成骨细胞的活性及成骨作用的变化与 ALP 密切相关,在骨质疏松症大鼠体内中,ALP 水平升高,可对骨质疏松症进行诊断^[21]。PTH 能够刺激骨形成,提高骨密度,改善骨质疏松中的微结构,可促使骨骼的代谢高转换,升高血清 ALP 水平,使骨吸收的速度加快,延缓机体内骨质的丢失。成骨细胞功能下降,使成骨因子、骨转录因子表达下调,导致大鼠骨质疏松^[22]。RANKL、RANK 为破骨细胞分化因子,其表达上调,可提高骨矿含量,达到骨代谢平衡。本研究结果显示,各组大鼠 PTH 以及 RANKL、RANK、TRAF6 mRNA 和蛋白水平比较,对照组 > 人参皂苷 Rg3 高剂量组 > 人参皂苷 Rg3 低剂量组 > 模型组,各组大鼠血清 ALP 水平比较,对照组 < 人参皂苷 Rg3 高剂量组 < 人参皂苷 Rg3 低剂量组 < 模型组,提示采用人参皂苷 Rg3 对绝经后骨质疏松症大鼠干预,使大鼠血清 ALP 水平降低,PTH 水平升高,激活 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路,使 RANKL、RANK、TRAF6 蛋白及 mRNA 水平升高。

综上所述,骨质疏松症的发生可降低大鼠骨代谢,并引发 ALP、PTH 水平异常,导致大鼠骨钙素、硬骨素水平下降,经人参皂苷 Rg3 干预后,绝经后骨质疏松症大鼠骨质量增加,骨代谢指标水平升高,ALP、PTH 水平得到改善,骨钙素、硬骨素水平升高,成骨细胞分化正常,其机制通常与人参皂苷 Rg3 调控 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路有关。

参考文献

[1] SINGH S,DUTTA S,KHASBAGE S,et al. A systematic

review and Meta-analysis of efficacy and safety of romosozumab in postmenopausal osteoporosis[J]. *Osteoporos Int*,2022,33(1):1-12.

[2] XU Q,LI D,CHEN J,et al. Crosstalk between the gut microbiota and postmenopausal osteoporosis: mechanisms and applications[J]. *Int Immunopharmacol*,2022,110(3):108-298.

[3] TAO H Q,LI W M,ZHANG W,et al. Urolithin a suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and postmenopausal osteoporosis by, suppresses inflammation and downstream NF- κ B activated pyroptosis pathways[J]. *Pharmacol Res*,2021,174:105967.

[4] DEARDORFF W J,CENZER I,NGUYEN B,et al. Time to benefit of bisphosphonate therapy for the prevention of fractures among postmenopausal women with osteoporosis:a Meta-analysis of randomized clinical trials[J]. *JAMA Intern Med*,2022,182(1):33-41.

[5] BROWN J P,ENGELKE K,KEAVENY T M,et al. Romosozumab improves lumbar spine bone mass and bone strength parameters relative to alendronate in postmenopausal women: results from the active-controlled fracture study in postmenopausal women with osteoporosis at high risk (ARCH) trial[J]. *J Bone Miner Res*,2021,36(11):2139-2152.

[6] 马伟凤,王亮,马彦巧,等. 人参皂苷 Rg3 通过调节 AMPK/mTOR 信号通路提高骨质疏松老年大鼠骨密度及骨代谢[J]. *广州中医药大学学报*,2023,40(1):163-169.

[7] HU Y X,HAN J,DING S Q,et al. Identification of ferroptosis-associated biomarkers for the potential diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2022,13:986384.

[8] EBINA K,ETANI Y,TSUBOI H,et al. Effects of prior osteoporosis treatment on the treatment response of romosozumab followed by denosumab in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. *Osteoporos Int*,2022,33(8):1807-1813.

[9] MIGLIORINI F,MAFFULLI N,COLAROSSO G,et al. Effect of drugs on bone mineral density in postmenopausal osteoporosis: a bayesian network Meta-analysis[J]. *J Orthop Surg Res*,2021,16(1):533.

[10] EBINA K,TSUBOI H,NAGAYAMA Y S,et al. Effects of prior osteoporosis treatment on 12-month treatment response of romosozumab in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. *Joint Bone Spine*,2021,88(5):105219.

[11] TIAN A X,JIA H B,ZHU S,et al. Romosozumab versus teriparatide for the treatment of postmenopausal osteoporosis:a systematic review and Meta-analysis through a grade analysis of evidence[J]. *Orthop Surg*,2021,13(7):1941-1950.

[12] 孙文星,黄万新,刘传慧,等. 黄芪多糖通过 PI3K/AKT/mTOR 促进激素性骨质疏松症大鼠成骨细胞增殖[J]. *中国骨质疏松杂志*,2023,29(1):35-40.

[13] 潘亚磊,张玉苗,杨易宁,等. 基于 Wnt/ β -(下转第 36 页)

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.01.006

人参皂苷 Rb1 调节 SIRT1/Nrf2 信号通路对妊娠期糖尿病大鼠氧化应激损伤的影响*

贺毅林¹, 伍梅芳¹, 谢杜红¹, 邓娅莉^{2△}

1. 长沙卫生职业学院临床学院, 湖南长沙 410605; 2. 中南大学湘雅二医院妇产科, 湖南长沙 410000

摘要:目的 分析人参皂苷 Rb1 调节沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)/核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)信号通路对妊娠期糖尿病(GDM)大鼠氧化应激损伤的影响。方法 选取 39 只妊娠 SD 大鼠通过腹腔注射链脲佐菌素诱导制备 GDM 模型,将造模成功的 36 只大鼠随机分为模型组(腹腔注射 10 mL/kg 生理盐水)、人参皂苷 Rb1 低剂量组(腹腔注射 1.4 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液)、人参皂苷 Rb1 高剂量组(腹腔注射 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液)、人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组(腹腔注射 2.8 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 及 5.0 mg/mL 的 EX-527 混合溶液),每组 9 只。另取 9 只妊娠 SD 大鼠腹腔注射等剂量柠檬酸盐缓冲液设为对照组。检测各组大鼠血清空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)水平及母体体质量、胎鼠存活率;采用原位末端凋亡法染色检测各组大鼠胎盘细胞凋亡率;检测各组大鼠血清与胎盘组织丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)水平;采用免疫印迹法检测各组大鼠胎盘组织 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平。结果 与对照组比较,模型组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平,母体体质量,胎盘细胞凋亡率,血清与胎盘组织 MDA 水平明显升高($P<0.05$),血清 HDL-C 水平,胎鼠存活率,血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平,胎盘组织 SIRT、Nrf2 及血红素加氧酶-1(HO-1)蛋白表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组比较,人参皂苷 Rb1 低剂量组、人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平,母体体质量,胎盘细胞凋亡率,血清与胎盘组织 MDA 水平均降低($P<0.05$),血清 HDL-C 水平,胎鼠存活率,血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平,胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。与人参皂苷 Rb1 低剂量组比较,人参皂苷 Rb1 高剂量组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平,母体体质量,胎盘细胞凋亡率,血清与胎盘组织 MDA 水平均降低($P<0.05$),血清 HDL-C 水平,胎鼠存活率,血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平,胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。与人参皂苷 Rb1 高剂量组比较,人参皂苷 Rb1 高剂量+EX-527 组大鼠血清 FBG、TC、LDL-C 及 TG 水平,母体体质量,胎盘细胞凋亡率,血清与胎盘组织 MDA 水平明显升高($P<0.05$),血清 HDL-C 水平,胎鼠存活率,血清与胎盘组织 GSH、SOD 及 CAT 水平,胎盘组织 SIRT、Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平明显降低($P<0.05$)。结论 高剂量人参皂苷 Rb1 的干预效果优于低剂量人参皂苷 Rb1,且 EX-527 可减弱高剂量人参皂苷 Rb1 对 GDM 大鼠的干预效果。人参皂苷 Rb1 可能通过激活 SIRT1/Nrf2 信号通路而增强 GDM 大鼠抗氧化功能,改善其糖脂代谢,进而抑制胎盘细胞凋亡并改善母体肥胖及不良妊娠结局,最终减轻其氧化应激损伤。

关键词:人参皂苷 Rb1; 沉默信息调节因子 2 相关酶 1/核因子 E2 相关因子 2 信号通路; 妊娠期糖尿病; 大鼠; 糖脂代谢; 凋亡; 氧化应激

中图法分类号:R587.1;R285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)01-0029-08

Effect of ginsenoside Rb1 regulating SIRT1/Nrf2 signaling pathway on oxidative stress injury in gestational diabetes mellitus rats*

HE Yilin¹, WU Meifang¹, XIE Duhong¹, DENG Yali^{2△}

1. Clinical School, Changsha Health Vocational College, Changsha, Hunan 410605, China;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of ginsenoside Rb1 regulating silencing information regulator 2 related enzyme 1 (SIRT1)/nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) signaling pathway on oxidative

* 基金项目:2022 年度湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30802)。

作者简介:贺毅林,女,副主任医师,主要从事中西医结合临床及教学方向的研究。△ 通信作者,E-mail:dengyali7767@163.com。