

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.18.013

紫草素促进绝经后骨质疏松症大鼠骨折愈合的机制研究^{*}

李 兵¹, 崔保利², 李德龙³

石家庄市中医医院:1. 检验科;2. 骨伤二科;3. 康复科, 河北石家庄 052360

摘 要:**目的** 研究紫草素通过调节 Hippo/Yes 相关蛋白(YAP)信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠骨折愈合的影响。**方法** 采用随机数字表法将 72 只大鼠随机分为假手术组、模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组、紫草素高剂量组、抑制剂组, 每组 12 只。除假手术组外, 其余各组均采用摘除双侧卵巢并锯断单侧股骨法建立绝经后骨质疏松症大鼠模型, 造模成功后, 按照分组分别注射相应药物, 持续给药 10 周。采用双能 X 射线检测股骨骨密度; 采用 micro-CT 扫描仪检测股骨骨小梁数、骨小梁厚度、骨小梁分离度; 采用生物力学检测仪检测股骨的最大强度、最大负荷和弹性模量; 采用酶联免疫吸附试验检测血清碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(BGP)、I 型前胶原羧基端前肽(P I NP)和骨形态发生蛋白 2(BMP2)水平; 采用抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色试剂盒检测骨组织破骨细胞数量; 采用蛋白质印迹法检测骨组织 BMP2、无翅型 MMTV 整合位点家族成员 1(Wnt1)和 YAP 表达水平。**结果** 与模型组相比, 紫草素低、中、高剂量组的骨密度、骨小梁数、骨小梁厚度、最大负荷、最大强度、弹性模量、血清 ALP、BGP、P I NP、BMP2, 以及骨组织磷酸化(p)-YAP/YAP、BMP2、Wnt1 表达水平依次升高($P < 0.05$), 骨小梁分离度和破骨细胞数量依次下降($P < 0.05$)。与紫草素高剂量组相比, 抑制剂组骨密度、骨小梁数、骨小梁厚度、最大强度、最大负荷、弹性模量、血清 ALP、BGP、P I NP、BMP2, 以及骨组织 p-YAP/YAP、BMP2、Wnt1 表达水平均降低($P < 0.05$), 骨小梁分离度和破骨细胞数量升高($P < 0.05$)。**结论** 紫草素可能通过调节 Hippo/YAP 信号通路促进绝经后骨质疏松症大鼠的骨折愈合。

关键词: 紫草素; Hippo/Yes 相关蛋白; 绝经; 骨质疏松; 骨折愈合

中图法分类号: R446.1; R589.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)18-2521-07

Shikonin promotes fracture healing through regulation of bone metabolism in rats with postmenopausal osteoporosis^{*}

LI Bing¹, CUI Baoli², LI Delong³

1. Department of Laboratory Medicine; 2. Department of Orthopedic Trauma II; 3. Department of Rehabilitation, Shijiazhuang Traditional Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang, Hebei 052360, China

Abstract:**Objective** To investigate the effects of shikonin on fracture healing in postmenopausal osteoporotic rats through regulation of the Hippo/Yes-associated protein (YAP) signaling pathway. **Methods** Seventy-two rats were randomly divided into the sham-operated group, model group, low-dose shikonin group, medium-dose shikonin group, high-dose shikonin group and inhibitor group using a random number table, with twelve rats in each group. Bilateral ovariectomy and unilateral femoral osteotomy were performed to establish postmenopausal osteoporotic fracture models in all groups except the sham group. After successful modeling, drug treatments were administered according to group assignments for 10 consecutive weeks. Femoral bone mineral density (BMD) was measured by dual-energy X-ray absorptiometry. Micro-CT scanning was used to detect trabecular bone parameters including trabecular number (Tb. N), trabecular thickness (Tb. Th) and trabecular separation (Tb. Sp) of femurs. Biomechanical testing determined maximum strength, maximum load and elastic modulus of femurs. Serum levels of alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (BGP), procollagen type I N-terminal propeptide (P I NP) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) were assessed using enzyme-linked immunosorbent assays. Osteoclast counts in femoral tissue were detected via tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining kits. BMP2, Wnt family member 1 (Wnt1) and YAP expression levels in bone tissue were analyzed by Western blotting. **Results** Compared with the model group, BMD, Tb. N, Tb.

^{*} 基金项目: 河北省卫生健康委员会科研项目(20231623)。

作者简介: 李兵, 男, 主管技师, 主要从事医学检验方向的研究。

引用格式: 李兵, 崔保利, 李德龙. 紫草素促进绝经后骨质疏松症大鼠骨折愈合的机制研究[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(18): 2521-2526.

Th, maximum strength, maximum load, elastic modulus, serum ALP, BGP, P I NP, BMP2 levels and p-YAP/YAP, Wnt1, BMP2 expression levels in bone tissue were significantly increased in low-dose shikonin group, medium-dose shikonin group and high-dose shikonin group ($P < 0.05$), with progressive enhancement observed across ascending doses. Conversely, Tb. Sp and osteoclast counts were progressively reduced ($P < 0.05$). Relative to the high-dose shikonin group, all measured parameters-including BMD, Tb. N, Tb. Th, maximum strength, maximum load, elastic modulus, serum ALP, BGP, P I NP, BMP2 levels and p-YAP/YAP, BMP2, Wnt1 expression levels in bone tissue were significantly decreased in the inhibitor group ($P < 0.05$). Simultaneously, Tb. Sp and osteoclast counts were elevated ($P < 0.05$). **Conclusion** Shikonin may promote fracture healing in postmenopausal osteoporotic rats by regulating the Hippo/YAP signaling pathway.

Key words: shikonin; Hippo/Yes-associated protein signaling; menopause; osteoporosis; fracture healing

骨质疏松症是一种常见的骨骼疾病,其特征是骨密度降低、微结构破坏、骨强度减弱^[1],这些都增加了骨折的风险。绝经后女性体内雌激素水平下降导致雌激素匮乏^[2],进而引起骨重塑失衡,表现为破骨细胞活性增强和骨吸收加速。这一时期是骨质疏松症发生的关键阶段。因此,绝经后女性患骨质疏松症的风险更高^[3]。有效治疗绝经后女性骨质疏松症仍然是医学领域的一个挑战。研究治疗绝经后骨质疏松症的新药物及其作用机制,能够为临床预防和治疗该病提供理论支持,具有重要意义。紫草是一种传统的中药,几千年来一直被用于清热凉血、活血化瘀和解毒,常用于治疗斑疹、麻疹、创伤和烧伤等病症^[4]。紫草根茎的主要活性物质是紫草素,其具有广泛的药理作用,如抗炎症、抗肿瘤、抗氧化应激、抗病毒及调节细胞和体液免疫^[5]。在中医学医疗实践中,紫草素因其显著的抗炎症、抗菌、解毒作用及促进伤口愈合的功效而被广泛使用^[6]。研究表明,紫草素在各种急性炎症和损伤模型中均表现出抗炎活性^[7]。Hippo 信号通路通过一系列激酶的磷酸化级联反应发挥作用,调节下游因子的表达和活性^[8]。Yes 相关蛋白(YAP)是 Hippo 信号通路下游最重要的效应物,在人类正常组织中也有表达,其活性主要受 Hippo 信号通路调控。YAP 可促进细胞增殖,抑制细胞凋亡,并破坏接触抑制,从而参与诱导恶性细胞转化过程^[9]。研究发现,YAP 既参与成骨细胞的信号转导,还可以通过调节下游基因产物的表达影响破骨细胞分化^[10]。本研究旨在探讨紫草素是否能通过调节 Hippo/YAP 信号通路以促进绝经后骨质疏松症模型大鼠的骨折愈合,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 72 只 SD 大鼠,雌性,12 周龄,体重为(330±30)g,购于广东凯世生物科技有限公司,许可证号:SYXK(粤)2024-0353。将大鼠饲养于温度、湿度适宜,12 h 光照循环的 SPF 级动物房,自由获取食物和水。本实验方案经本院动物实验伦理委员会批准(审批号:2023036)。

1.2 仪器与试剂 DEXA Pro-II 双能 X 射线骨密度仪购于上海博联科技有限公司;DELab μ CT-100 micro-CT 扫描仪购于广州莱尚生物科技有限公司;QX-W600 生物力学检测仪购于上海企想检测仪器有限公司;Thermo Multiskan Go 酶标仪、徕卡正置荧光显微镜和 Aure 400 多功能成像仪均购于南宁蓝天实验设备有限公司。紫草素(纯度 $\geq 99\%$)购于上海源叶生物科技有限公司;维替泊芬(YAP 抑制剂)购于美国 Selleck 公司;酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒均购于武汉三鹰生物技术有限公司;4%多聚甲醛购于兰杰柯科技有限公司;抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色试剂盒购于北京博奥森生物技术有限公司;放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解液、二喹啉甲酸(BCA)蛋白测定试剂盒购于上海碧云天生物技术股份有限公司;骨形态发生蛋白 2(BMP2)、无翅型 MMTV 整合位点家族成员 1(Wnt1)、YAP、磷酸化 YAP(p-YAP)抗体和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)购于武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与建模 采用随机数字表法将 72 只大鼠随机分为 6 组,每组 12 只:假手术组、模型组、紫草素低剂量(5 mg/kg)组、紫草素中剂量(10 mg/kg)组、紫草素高剂量(20 mg/kg)组、抑制剂组(20 mg/kg 紫草素+10 mg/kg 维替泊芬)。维替泊芬剂量依据文献^[10]确定,紫草素各剂量依据文献^[11]和前期预实验结果确定。除假手术组,其余组均采用摘除双侧卵巢并锯断单侧股骨法构建绝经后骨质疏松症骨折大鼠模型,具体操作如下:大鼠腹腔注射 2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)使其麻醉,切除双侧卵巢后缝合切口,假手术组的大鼠只暴露卵巢不切除。术后 90 d,通过双能 X 射线骨密度仪检测所有大鼠骨密度,与假手术组比较,模型组股骨骨密度显著下降(下降 $\geq 20\%$)说明绝经后骨质疏松症造模成功。随后,麻醉大鼠,使用钢丝锯在大鼠(除假手术组)右腿上进行单侧股骨截骨术,并用固定器固定骨折端,构建绝经后骨质疏松症骨折大鼠模型。术后皮下注射 5 mg/kg

卡洛芬镇痛,并在术前 30 min 及术后 24 h 皮下注射青链霉素混合液预防感染,每日检查切口,用聚维酮碘消毒,出现红肿/渗出则延长抗生素治疗疗程。手术当天所有大鼠开始以腹腔注射的方式给予相应药物,假手术组和模型组腹腔注射与紫草素高剂量组等量生理盐水,1 次/d,持续给药 10 周。药物治疗结束后,使用异氟烷安乐死所有大鼠,取各组大鼠完整的股骨(含骨折区域)。

1.3.2 大鼠骨组织骨密度及骨微结构检测 治疗结束后,用双能 X 射线骨密度仪测定每组大鼠股骨骨密度。并用 micro-CT 扫描仪测定各组大鼠股骨骨小梁数量、厚度和分离度。骨小梁分离度 = 1/骨小梁数量 - 骨小梁厚度。

1.3.3 大鼠股骨生物力学测试 将分离出来的大鼠右股骨固定在生物力学检测仪上,运行程序,计算机记录并处理数据,得出大鼠股骨的最大强度、最大负荷和弹性模量。

1.3.4 ELISA 检测大鼠血清指标 在处死大鼠之前,各组大鼠取 4 mL 血液至肝素钠抗凝管中。离心后将血清和红细胞小心、迅速分离,取血清进行检测。根据碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(BGP)、I 型前胶原羧基端前肽(P I NP)和骨形态发生蛋白 2(BMP2)ELISA 试剂盒说明书的步骤操作,最后用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度。

1.3.5 TRAP 染色观察大鼠骨组织破骨细胞 将骨折的股骨进行脱钙处理后用 4% 多聚甲醛固定,乙醇梯度脱水,石蜡包埋。用组织切片机切成 4 μ m 的骨组织切片,脱蜡后进行 TRAP 染色。将切片预热至 37 $^{\circ}$ C,用组化笔在切片组织上画圈,用纯水 37 $^{\circ}$ C 温育 2 h;倒去纯水,滴加 TRAP 工作液覆盖切片组织,

37 $^{\circ}$ C 避光染色 20~30 min;水洗,稍晾干,然后用苏木精染色液复染 5~8 min,中性树胶封固,显微镜下观察。

1.3.6 蛋白质印迹(Western blot)法检测大鼠骨组织蛋白表达水平 使用 RIPA 裂解液提取均质化骨组织中的总蛋白,使用 BCA 蛋白测定试剂盒检测蛋白浓度。将蛋白在 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10~15 min 后,每个样品使用 25 μ g 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,使用一抗抗体 BMP2、Wnt1、YAP、p-YAP 和 GAPDH 在 4 $^{\circ}$ C 下温育过夜,然后与免疫球蛋白(Ig)G 二抗在室温下温育 1 h,增强化学发光剂覆盖条带 2 min 后显影,使用 Image J 软件进行 Western blot 分析,以 GAPDH 为内参。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理和分析。呈正态分布且方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,事后两两比较采用 Bonferroni 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠股骨骨密度和骨微结构比较 与假手术组比较,模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组大鼠股骨骨密度、骨小梁数和骨小梁厚度显著降低($P < 0.05$),骨小梁分离度升高($P < 0.05$),紫草素高剂量组骨小梁数显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组大鼠股骨骨密度、骨小梁数和骨小梁厚度升高($P < 0.05$),骨小梁分离度降低($P < 0.05$),且各剂量组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与紫草素高剂量组比较,抑制剂组大鼠股骨骨密度、骨小梁数和骨小梁厚度降低($P < 0.05$),骨小梁分离度升高($P < 0.05$)。见图 1、表 1。

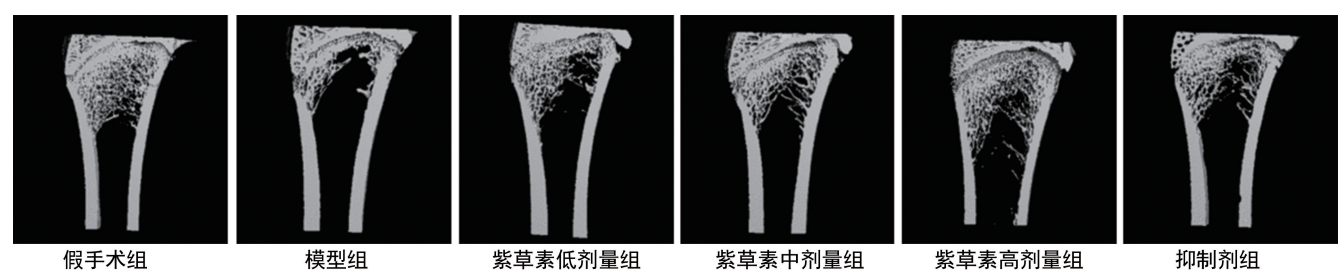


图 1 各组大鼠 micro-CT 扫描结果

2.2 各组大鼠股骨生物力学指标比较 与假手术组比较,模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组大鼠股骨的最大负荷、最大强度和弹性模量显著下降($P < 0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组大鼠股骨的最大负荷、最大强度和弹性模量升高($P < 0.05$),且各剂量组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与紫草素高剂量组比较,抑制剂组大鼠股骨的最大负荷、最大强度和弹性模量降低($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠血清 ALP、BGP、P I NP 和 BMP2 水

平比较 与假手术组比较,模型组和紫草素各剂量组大鼠血清 ALP 水平均降低($P < 0.05$),模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组 BGP、P I NP、BMP2 水平均降低($P < 0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组大鼠血清中 ALP、BGP、P I NP 和 BMP2 水平均升高($P < 0.05$),且各剂量组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与紫草素高剂量组比较,抑制剂组大鼠血清 ALP、BGP、P I NP 和 BMP2 水平均降低($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 TRAP 染色观察大鼠骨组织破骨细胞结果 假手术组、模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组、紫草素高剂量组和抑制剂组大鼠骨组织切片破骨细胞(红色染色)数量分别为(9.67 ± 1.41)、(42.89 ± 5.12)、(33.76 ± 3.22)、(24.61 ± 2.91)、(13.45 ± 2.10)、(27.58 ± 3.57)个,各组破骨细胞数量比较,差异均有统计学意义($F=173.034,P<0.001$)。与假

手术组比较,模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组破骨细胞数量显著增多($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组破骨细胞数量显著减少($P<0.05$),且各剂量组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与紫草素高剂量组相比,抑制剂组破骨细胞数量显著增多($P<0.05$)。见图 2。

表 1 各组大鼠股骨骨密度和骨微结构比较($\bar{x}\pm s,n=12$)

组别	骨密度(g/cm ²)	骨小梁数(/mm)	骨小梁厚度(μm)	骨小梁分离度(mm)
假手术组	0.36±0.04	4.28±0.53	68.33±8.25	0.17±0.04
模型组	0.19±0.02 [*]	1.56±0.19 [*]	27.86±3.09 [*]	0.61±0.05 [*]
紫草素低剂量组	0.24±0.03 ^{*#}	2.37±0.41 ^{*#}	38.40±4.18 ^{*#}	0.38±0.04 ^{*#}
紫草素中剂量组	0.29±0.03 ^{*#△}	3.04±0.44 ^{*#△}	50.71±5.27 ^{*#△}	0.28±0.03 ^{*#△}
紫草素高剂量组	0.34±0.04 ^{#△▲}	3.75±0.52 ^{*#△▲}	62.98±7.36 ^{#△▲}	0.20±0.03 ^{#△▲}
抑制剂组	0.24±0.04 ^{&}	2.96±0.40 ^{&}	40.21±5.04 ^{&}	0.30±0.04 ^{&}
F	43.886	60.689	85.611	200.229
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$;与紫草素高剂量组比较,[&] $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠股骨生物力学指标比较($\bar{x}\pm s,n=12$)

组别	最大负荷(N)	最大强度(MPa)	弹性模量(GPa)
假手术组	142.36±14.55	178.73±19.24	5.82±0.79
模型组	78.45±8.81 [*]	100.56±11.30 [*]	2.85±0.37 [*]
紫草素低剂量组	94.67±8.97 ^{*#}	122.67±14.47 ^{*#}	3.76±0.42 ^{*#}
紫草素中剂量组	112.41±12.35 ^{*#△}	143.05±16.18 ^{*#△}	4.51±0.63 ^{*#△}
紫草素高剂量组	133.29±15.81 ^{#△▲}	169.43±17.17 ^{#△▲}	5.69±0.77 ^{#△▲}
抑制剂组	109.55±11.11 ^{&}	122.96±13.09 ^{&}	4.05±0.59 ^{&}
F	45.125	45.356	41.860
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$;与紫草素高剂量组比较,[&] $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清 ALP、BGP、P I NP 和 BMP2 水平比较($\bar{x}\pm s,n=12$)

组别	ALP(U/L)	BGP(μg/L)	P I NP(μg/L)	BMP2(μg/L)
假手术组	239.70±24.87	24.03±2.61	98.63±10.51	18.58±2.99
模型组	122.45±13.61 [*]	7.56±0.94 [*]	30.01±4.07 [*]	4.56±0.57 [*]
紫草素低剂量组	151.72±16.22 ^{*#}	11.87±2.31 ^{*#}	57.88±6.15 ^{*#}	9.03±0.95 ^{*#}
紫草素中剂量组	187.69±19.55 ^{*#△}	16.42±1.94 ^{*#△}	71.57±8.46 ^{*#△}	12.65±1.38 ^{*#△}
紫草素高剂量组	212.33±22.23 ^{*#△▲}	21.99±2.75 ^{#△▲}	93.26±10.49 ^{#△▲}	16.94±1.72 ^{#△▲}
抑制剂组	164.58±18.45 ^{&}	14.59±1.82 ^{&}	66.21±7.19 ^{&}	11.33±1.57 ^{&}
F	56.863	86.065	112.936	109.098
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$;与紫草素高剂量组比较,[&] $P<0.05$ 。

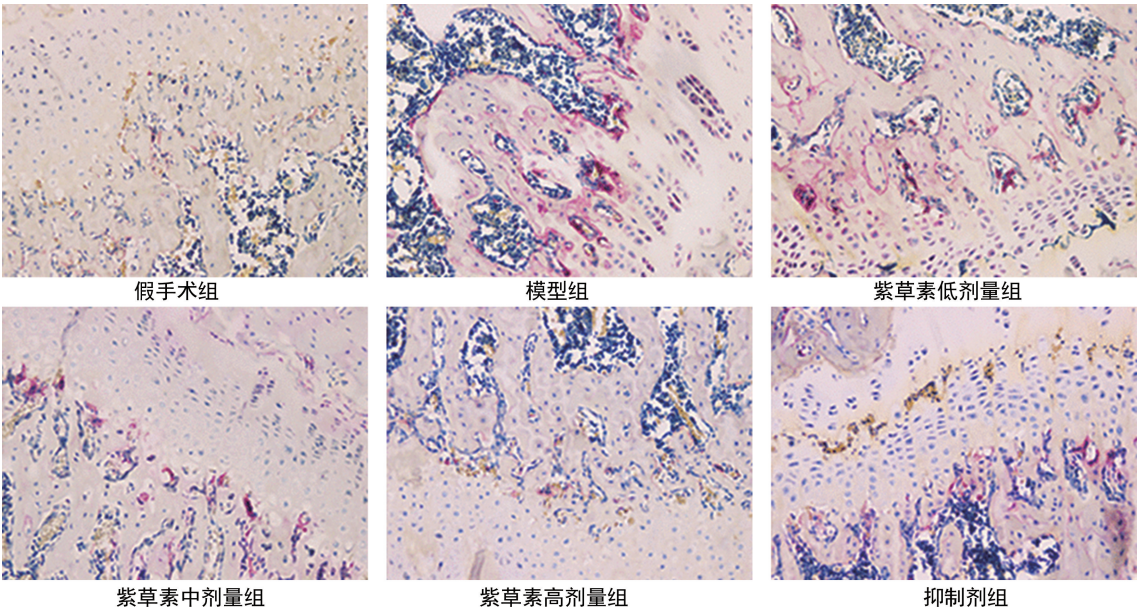
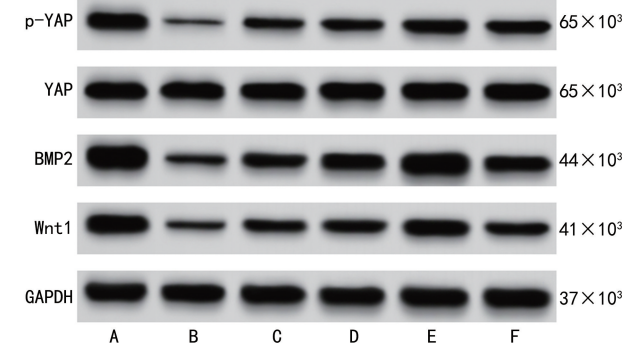


图 2 大鼠股骨骨组织破骨细胞 TRAP 染色结果(200×)

2.5 各组大鼠骨组织 Hippo/YAP 信号通路相关蛋白表达水平比较 与假手术组比较,模型组和紫草素各剂量组大鼠骨组织 BMP2、Wnt1 表达水平均降低($P<0.05$),模型组、紫草素低剂量组、紫草素中剂量组 p-YAP/YAP 均降低($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组大鼠骨组织 BMP2、Wnt1 表达水平和 p-YAP/YAP 均升高($P<0.05$),且各剂量组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与紫草素高剂量组比较,抑制剂组大鼠骨组织 BMP2、Wnt1 表达水平和 p-YAP/YAP 均降低($P<0.05$)。见图 3、表 4。



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为紫草素低剂量组;D 为紫草素中剂量组;E 为紫草素高剂量组;F 为抑制剂组。

图 3 大鼠股骨骨组织 Hippo/YAP 信号通路相关蛋白条带

表 4 大鼠股骨骨组织 Hippo/YAP 信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=12$)			
组别	p-YAP/YAP	BMP2	Wnt1
假手术组	0.96±0.13	1.57±0.18	1.12±0.15
模型组	0.08±0.02 [*]	0.25±0.06 [*]	0.27±0.05 [*]
紫草素低剂量组	0.31±0.04 ^{*#}	0.62±0.07 ^{*#}	0.59±0.07 ^{*#}
紫草素中剂量组	0.65±0.07 ^{*#△}	0.93±0.12 ^{*#△}	0.76±0.08 ^{*#△}

续表 4 大鼠股骨骨组织 Hippo/YAP 信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=12$)			
组别	p-YAP/YAP	BMP2	Wnt1
紫草素高剂量组	0.91±0.10 ^{#△▲}	1.34±0.16 ^{*#△▲}	0.91±0.12 ^{*#△▲}
抑制剂组	0.67±0.08 ^{&}	0.75±0.09 ^{&}	0.65±0.08 ^{&}
F	210.460	188.689	106.407
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$;与紫草素高剂量组比较,[&] $P<0.05$ 。

3 讨 论

全球约有 2 亿人患有骨质疏松性骨折^[12],该病的发病率随年龄增长而增加,相关的继发性健康问题给个人和社会造成重大负担。绝经后骨质疏松症是老年女性骨折的主要原因,导致骨折发病率和病死率上升^[13]。骨骼是一种活组织,随着旧骨分解和新骨重塑,骨骼不断更新以维持整个生物结构的完整性。破骨细胞溶解或吸收骨骼,而成骨细胞负责骨形成并抑制破骨细胞活性^[14]。骨量和矿物质密度从出生到成年都在积累,但会随着年龄增长而下降,这在绝经后女性中更为明显。骨密度下降会增加骨质疏松症和骨折的风险^[15]。其中,绝经后骨质疏松症是老年女性的主要骨骼疾病。本研究利用双侧卵巢摘除并锯断单侧股骨法构建绝经后骨质疏松症骨折大鼠模型,发现模型组大鼠股骨骨密度、骨小梁数、骨小梁厚度、最大负荷、最大强度、弹性模量较假手术组显著下降,破骨细胞数量则显著增多,与既往研究^[16]结果一致,提示模型成功建立。绝经后骨质疏松症的出现是由于雌激素缺乏、自噬失调等因素促进细胞凋亡和活性氧(ROS)增多。研究表明,紫草素可以通过调节 ROS 水平影响细胞凋亡和自噬^[17],进而调控骨重塑过程。

紫草素可以通过抑制 Toll 样受体 4(TLR4) 表达和核因子- κ B(NF- κ B) 活化来改善组织学异常,并减少肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白细胞介素(IL)-1 β 的分泌^[18],也可以增强 BMP2 信号的基因表达和蛋白质丰度^[19],并磷酸化下游因子 Smad5 以激活 Runx2,进一步促进成骨细胞分化。本研究通过不同剂量紫草素治疗绝经后骨质疏松症的骨折大鼠发现,与模型组相比,紫草素各剂量组大鼠股骨骨密度、骨小梁数、骨小梁厚度、股骨的最大负荷、最大强度、弹性模量及 ALP、BGP、P I NP 和 BMP2 水平升高,破骨细胞数量减少,提示紫草素能够促进绝经后骨质疏松症大鼠的骨折愈合。

Hippo 信号通路代表了一种进化中高度保守的生长控制通路,在细胞生长、维持组织动态平衡和肿瘤发生、发展中发挥重要作用^[20]。Hippo/YAP 通路调控转录辅因子 YAP 及其同源物 TAZ, Hippo 通路接收到上游激活信号后, Mst1/2 激酶被磷酸化,然后在 Sav1 的辅助下激活 Lats1/2 激酶。随后 Lats1/2 激酶通过促进 YAP 与细胞质中 14-3-3 蛋白结合,进而磷酸化 YAP^[21-23]。BMP 已被鉴定为 YAP/TAZ 信号级联的直接靶基因, YAP 介导的 BMP2 表达对心房的生长起着重要作用。YAP 通过与 Wnt 中的另一种转录辅激活因子 β -catenin 结合^[24],成为 Wnt 信号通路中的调节剂。Wnt 信号级联的一个激活剂 Wnt1 因其对完整骨骼的骨合成作用而受到关注。人类 Wnt1 基因的功能丧失、突变会导致成骨不全症或早发性骨质疏松症^[25]。最新研究显示, Wnt1 通过 YAP/BMP 信号通路在骨折愈合过程中促进骨骼形成^[26]。因此本研究检测了大鼠骨组织中 BMP2、Wnt1 和 YAP 表达水平,结果显示,模型组大鼠骨组织中蛋白表达水平较假手术组均降低,紫草素各剂量组大鼠骨组织中蛋白水平较模型组均升高,提示紫草素能够调节 Hippo/YAP 信号通路。此外,抑制剂组的大鼠骨组织中蛋白表达水平均低于紫草素高剂量组。由此可知,紫草素可能通过调节 Hippo/YAP 信号通路促进骨质疏松症大鼠的骨折愈合。

综上所述,紫草素可能通过调节 Hippo/YAP 信号通路,活化 BMP2、Wnt1 因子,促进骨骼形成,加速绝经后骨质疏松症大鼠骨折愈合,为临床中雌激素匮乏导致的绝经后骨质疏松症治疗提供新的药物支持。本研究仍存在不足, YAP 抑制剂对紫草素促进绝经后骨质疏松症大鼠的骨折愈合的逆转不完全,可能紫草素还通过其他通路发挥作用,有待深入研究。本研究虽然证实了紫草素在绝经后骨质疏松症动物模型中独特的作用机制,但未探讨紫草素的最佳剂量、是否存在不良反应,而且灌胃给药的生物利用度较低,其临床转化仍面临挑战,如递送效率、长期毒性。未来通过结合精准医学策略、纳米技术及跨学科合作,

紫草素可在动物模型中展现出治疗潜力,有望成为候选药物,为患者提供低成本、多靶点的治疗选择。

参考文献

- [1] LEOFF M S, GREENSPAN S L, INSOGNA K L, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis[J]. *Osteoporos Int*, 2022, 33(10): 2049-2102.
- [2] ZHANG Z P, ZHAO Q P, LIU T A, et al. Effect of vitamin-2 on ovariectomy-induced osteoporosis in rats[J]. *Biomed Pharmac*, 2020, 129: 110474.
- [3] GÓMEZ-DE-TEJADA-ROMERO M J, MURIASHENRÍQUEZ C, SAAVEDRA-SANTANA P, et al. Influence of serum uric acid on bone and fracture risk in postmenopausal women[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2024, 36(1): 156-163.
- [4] BARKIZATOVA G, TURGUMBAYEVA A, ZHAKIPBEKOV K, et al. Exploring the pharmacological potential of lithospermum officinale L: a review of phytochemicals and ethnomedicinal uses [J]. *Molecules*, 2024, 29 (8): 1856.
- [5] QI K, LI J Y, HU Y, et al. Research progress in mechanism of anticancer action of shikonin targeting reactive oxygen species[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1416781.
- [6] ZOU Y C, SUN Y F, SHI W J, et al. Dual-functional shikonin-loaded quaternized chitosan/polycaprolactone nanofibrous film with pH-sensing for active and intelligent food packaging[J]. *Food Chem*, 2023, 399: 133962.
- [7] ABD H M, AZADBAKHT M, HABIBI E, et al. Phytochemical profile, antioxidant, and wound healing activities of *Echium amoenum* (Boraginaceae) [J]. *Nat Prod Res*, 2024, 13(1): 1-7.
- [8] SARMASTI E S, ZHANG D, YANG X. Interaction of the hippo pathway and phosphatases in tumorigenesis [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 2438.
- [9] BENTON D, YEE C H, KARCHUGINA S, et al. Synergistic effect of PAK and Hippo pathway inhibitor combination in NF2-deficient schwannoma [J]. *PLoS One*, 2024, 19(7): e0305121.
- [10] 侯秀秀, 刘博, 邢宝瑞, 等. 鸢尾素调节 Hippo/YAP 信号通路对绝经后骨质疏松大鼠骨代谢的调节作用[J]. *河北医学*, 2024, 30(2): 264-269.
- [11] 田道良, 孙高洁, 管文娟. 紫草素调节 IRS1-PI3K-AKT 信号通路对高脂饮食诱导的肥胖大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(3): 694-698.
- [12] GAO Y, CHEN N, FU Z, et al. Progress of Wnt signaling pathway in osteoporosis[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(3): 483.
- [13] TARIQ S, JABBAR S, AHMAD A, et al. Bridging the gap: a narrative review of osteoporosis disability, adipokines, and the role of AI in postmenopausal women[J]. *Pak J Med Sci*, 2024, 40(7): 1572-1577.
- [14] BANDEIRA L, LEWIECKI E M. Anabolic therapy for osteoporosis: update on efficacy and safety[J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2022, 66(5): 707-716. (下转第 2534 页)

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.18.014

雅安地区幽门螺杆菌感染率与耐药性分析的多中心研究^{*}

王 柳¹,高 伟²,张 凌³,穆炳霞⁴,张明英⁵,杨 林⁶,牟汝伟⁷,冯 毅⁸,

朱毓江⁹,万 灵¹⁰,吴焕文¹¹,黄 镇¹²,杨旭文¹³,缪 强¹⁴,陈 欧^{15△}

1. 川北医学院临床医学院,四川南充 637000;2. 雅安市人民医院检验科,四川雅安 625000;3. 雅安市人民医院体检中心,四川雅安 625000;4. 雅安职业技术学院附属医院消化内科,四川雅安 625000;
5. 雅安职业技术学院附属医院体检中心,四川雅安 625000;6. 雅安市名山区人民医院消化内科,四川雅安 625000;7. 雅安市汉源县中医医院消化内科,四川雅安 625000;8. 雅安市汉源县人民医院消化内科,四川雅安 625000;9. 雅安市雨城区人民医院消化内科,四川雅安 625000;
10. 雅安市石棉县人民医院消化内科,四川雅安 625000;11. 雅安市蒙经县人民医院消化内科,四川雅安 625000;12. 雅安市中医医院消化内科,四川雅安 625000;13. 雅安市芦山县人民医院消化内科,四川雅安 625000;14. 雅安市天全县人民医院消化内科,四川雅安 625000;15. 雅安市人民医院消化内科,四川雅安 625000

摘 要:目的 分析四川雅安地区幽门螺杆菌(Hp)感染现状及对抗菌药物的耐药情况,并探讨药敏试验与荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测抗菌药物耐药性的一致性。方法 分析 2021 年 1 月至 2023 年 12 月雅安地区 11 家医院 59 791 例患者的临床资料,比较不同性别、年龄、地区患者 Hp 感染情况,分析近 3 年雅安地区 Hp 感染率变化趋势。同时,选取 2023 年 11 月至 2024 年 4 月雅安地区 7 家医院¹³C/¹⁴C 尿素呼气试验阳性的 214 例患者为研究对象,进行胃镜检查时接受胃黏膜组织 Hp 培养、药敏试验,分析 Hp 感染患者对常用抗菌药物的耐药性;选取 19 例患者胃黏膜组织标本,进行 Hp 培养、药敏试验、荧光定量 PCR 基因检测、耐药性检测,比较 2 种检测方法 Hp 阳性率及检测耐药性的一致性。结果 59 791 例受检者中, Hp 阳性 19 058 例,阳性率为 31.87%。2021、2022、2023 年雅安地区 Hp 感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=58.255, P<0.001$)。男性感染率(33.52%)高于女性感染率(30.31%),差异有统计学意义($\chi^2=70.709, P<0.001$)。60~<70 岁感染率为 36.05%,高于其他年龄段。雅安地区中,名山区感染率最高,为 57.06%。159 例 Hp 菌株药敏试验显示,对甲硝唑耐药率最高,耐药率为 96.86%(154/159)、其次为左氧氟沙星和克拉霉素,分别为 45.91%(73/159)、30.19%(48/159)。荧光定量 PCR、分离培养的 Hp 阳性率相同,2 种方法 Kappa 值为 1.000,一致性强。荧光定量 PCR、药敏试验检测 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、呋喃唑酮耐药结果一致;对克拉霉素的耐药性诊断,2 种方法的 Kappa 值为 0.732,一致性中等;对左氧氟沙星的耐药性诊断,2 种方法的 Kappa 值为 0.842,一致性较好。结论 雅安地区受检人群 Hp 感染率处于相对较低水平并呈下降趋势,存在性别、年龄、地区差异。应针对不同人群采取不同的健康教育方式和预防措施。该地区 Hp 对甲硝唑、克拉霉素、左氧氟沙星耐药率较高,建议避免使用耐药率高的抗菌药物作为经验性治疗首选,以提高 Hp 根除率。

关键词:幽门螺杆菌; 流行病学; 耐药性; 荧光定量聚合酶链反应; 药敏试验

中图法分类号:R743.3;R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)18-2527-08

Multicenter study on Helicobacter pylori infection rate and antibiotic resistance in Ya'an^{*}

WANG Liu¹,GAO Wei²,ZHANG Ling³,MU Bingxia⁴,ZHANG Mingying⁵,YANG Lin⁶,

MOU Ruwei⁷,FENG Yi⁸,ZHU Yujiang⁹,WAN Ling¹⁰,WU Huanwen¹¹,

HUANG Zhen¹²,YANG Xuwen¹³,MIAO Qiang¹⁴,CHEN Ou^{15△}

1. School of Clinical Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China;
2. Department of Laboratory Medicine, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan 625000, China;
3. Physical Examination Center, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan 625000, China;
4. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Ya'an Polytechnic College, Ya'an,

^{*} 基金项目:四川省科技厅基金项目(25NSFSC1203);四川省雅安市科技局基金项目(22KJJH0019);成都医学院临床科研基金(24LHXHZW1-01)。

作者简介:王柳,女,在读硕士研究生,主要从事消化内科-幽门螺杆菌感染方向的研究。△ 通信作者,E-mail:ouou8301@163.com。

引用格式:王柳,高伟,张凌,等.雅安地区幽门螺杆菌感染率与耐药性分析的多中心研究[J].检验医学与临床,2025,22(18):2527-2534.