

黄芪甲苷通过调控 FoxO3a/Wnt2/ β -catenin 通路抑制去卵巢大鼠骨质疏松的作用

成鹏*, 白银亮, 胡彩莉, 连佛彦, 周海宇
(兰州大学第二医院, 兰州 730030)

[摘要] 目的:通过调控转录因子叉头框蛋白 O3a(FoxO3a)/分泌型糖蛋白 2(Wnt2)/ β -连环蛋白(β -catenin)通路评价黄芪甲苷对去卵巢大鼠骨质疏松的作用,并探讨其作用机制。方法:雌性 SD 大鼠随机均分 6 组,分别为假手术组,模型组,阳性药组(尼尔雌醇,1.5 mg·kg⁻¹),黄芪甲苷低、中、高剂量组(20,40,80 mg·kg⁻¹),每组 8 只。通过摘除大鼠双侧卵巢复制绝经后大鼠骨质疏松模型。术后 6 周,灌胃给药,每日 1 次,连续 8 周。酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测大鼠骨钙素(bone gla protein,BGP),降钙素(calcitonin,CT),骨保护素(osteoprotegerin,OPG),核转录因子- κ B(NF- κ B)受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- κ B ligand,RANKL),丙二醛(malondialdehyde,MDA),过氧化氢酶(catalase,CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)含量,双能 X 射线骨密度检测仪分别测定股骨和腰椎的骨密度值(bone mineral density,BMD),采用三点弯曲法测量胫骨生物力学指标,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠股骨组织中 β -catenin,FoxO3a,Wnt2,p66^{shc},p-p66^{shc} 蛋白的表达。结果:与模型组比较,黄芪甲苷组 CT 和 OPG 水平显著升高,BGP 和 RANKL 水平则显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);黄芪甲苷显著升高腰椎、股骨的 BMD 和胫骨的最大载荷及最大应力($P < 0.05$, $P < 0.01$);同时,黄芪甲苷显著降低 MDA 水平($P < 0.05$),升高 CAT,SOD 和 GSH-Px 水平($P < 0.05$, $P < 0.01$)。Western blot 显示,黄芪甲苷显著降低 p-p66^{shc}/p66^{shc} 水平($P < 0.05$);升高 β -catenin 和 Wnt2 蛋白表达水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),抑制 FoxO3a 蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论:黄芪甲苷能够有效缓解氧化应激介导的去卵巢大鼠的骨质疏松,该作用可能与其调节 FoxO3a/Wnt2/ β -catenin 通路有关。

[关键词] 黄芪甲苷;骨质疏松;去卵巢大鼠;转录因子叉头框蛋白 O3a(FoxO3a)/分泌型糖蛋白 2(Wnt2)/ β -连环蛋白(β -catenin)通路

[中图分类号] R22;R24;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)15-0161-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181534

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180516.0957.025.html>

[网络出版时间] 2018-05-16 11:36

Inhibitory Effect of Astragaloside on Osteoporosis in Ovariectomized Rats by Regulating FoxO3a/Wnt2/ β -catenin Pathway

CHENG Peng*, BAI Yin-liang, HU Cai-li, LIAN Fo-yan, ZHOU Hai-yu
(Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of astragaloside on osteoporosis in ovariectomized rats and its mechanism by forkhead box O3a (FoxO3a) /Wnt2/ β -catenin signal pathway. **Method:** Female SD rats were randomly divided into 6 groups: shamed operation group, positive control group (Nilestriol, 1.5 mg·kg⁻¹), model group, low, middle and high-dose astragaloside groups (20, 40, 80 mg·kg⁻¹) ($n = 8$). The animal model of osteoporosis in postmenopausal rats was replicated through bilateral ovariectomy. After 6 weeks, the drugs were given by gavage once a day for 8 weeks. The serum contents of bone gla protein (BGP), calcitonin (CT), osteoprotegerin (OPG), receptor activator for nuclear factor- κ B ligand (RANKL), malondialdehyde (MDA),

[收稿日期] 20180205(001)

[基金项目] 甘肃省青年科技基金计划项目(17JR5RA235)

[通信作者] *成鹏,硕士,主治医师,从事骨科方面工作,Tel:0931-8943701,Email:ldeycp@163.com

catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits; bone mineral density (BMD) in lumbar spine and lumbar vertebra was tested by double energy X rays (DEXA), and bone biomechanical properties were analyzed by three point bending test. The expressions of β -catenin, FoxO3a, Wnt2, p66^{shc}, p-p66^{shc} were measured by Western blot. **Result:** Compared with the model group, the levels of CT and OPG were significantly decreased, while BGP and RANKL were significantly increased ($P < 0.05$) in the astragaloside groups. astragaloside significantly elevated BMD in lumbar spine and lumbar vertebra ($P < 0.05$), and the maximum load and maximum stress of tibia ($P < 0.01$). Meanwhile, the content of MDA was significantly decreased ($P < 0.05$), whereas the levels of CAT, SOD and GSH-PX were increased. Western blot showed that astragaloside significantly reduced p-p66^{shc}/p66^{shc} ($P < 0.05$), inhibited the expression of FoxO3a ($P < 0.01$) and increased β -catenin and Wnt2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Astragaloside can effectively relieve osteoporosis induced by oxidative stress in ovariectomized rats, which may be related to the regulation of FoxO3a/Wnt2/ β -catenin pathway.

[**Key words**] astragaloside; osteoporosis; ovariectomized rats; forked boxO3a (FoxO3a) /Wnt2/ β -catenin pathway

随着人口老龄化的迅速到来,骨质疏松症已成为全世界关注的健康问题,我国已将其列为重点攻关的三大老年病之一^[1]。骨质疏松发病机制较多,其中氧化应激被认为是绝经后骨质疏松最重要的发病机制。研究表明,活性氧自由基通过蓄积诱发机体氧化应激,通过激活叉头框蛋白 O (FoxO) 通路和抑制分泌型糖蛋白 (Wnt) 通路,最终导致骨质疏松症状的出现^[2-4]。因此,基于调控 FoxO/Wnt 通路的抗氧化活性物质已成为目前抗骨质疏松药物研发的新热点。黄芪甲苷作为中药黄芪最主要活性成分之一,是天然抗氧化物质,具有抗炎,抗衰老,免疫调节等多种药理学活性,对心血管系统和神经系统均具有显著的保护作用^[5-8]。黄海涛等^[9]研究发现,黄芪甲苷能够拮抗过氧化氢诱导的成骨细胞凋亡,然而其对在体动物模型的作用以及对 FoxO/Wnt 通路的作用尚未见报道。因此,本研究拟评价黄芪甲苷大鼠去卵巢骨质疏松模型的作用,并探讨其是否通过调控 FoxO/Wnt 通路进而抑制氧化应激发挥作用,这将为黄芪甲苷药理作用的深入研究及在骨质疏松症中的应用提供新思路 and 实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,雌性,体质量(250 ± 10.2) g,购自兰州大学医学实验动物中心,合格证号甘肃省实验动物管委会 GSAL 普-003-01,经兰州大学实验动物伦理委员会批准(伦理审批号 D2018-032)。

1.2 药物及试剂 黄芪甲苷(上海源叶生物科技有限公司,纯度 ≥ 98%,批号 B20564)。大鼠骨钙素(BGP),降钙素(CT),丙二醛(MDA),过氧化氢酶(CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物

歧化酶(SOD)试剂盒(上海研谨生物科技有限公司,批号分别为 170406,170126,161211,170303,170415,170411);骨保护素(OPG)及核转录因子- κ B 受体活化因子配体(RANKL)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,批号分别为 161226,170104);兔抗鼠 β -连环蛋白(β -catenin), FoxO3a, Wnt2, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH),p66^{shc},p-p66^{shc}一抗及辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗(美国 Cell Signaling Technology 公司,货号分别为 9562L,9467S,2391P,D16H11,2431,2434,3999S)。

1.3 仪器 伯乐 IMARK 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司),Lunar iDXA 型双能 X 射线骨密度检测仪(美国 GE 公司),858Mini Bionix 型材料测试系统(美国 MTS 公司),Z-323 型高速冷冻离心机(德国 Hermle 公司),DYY-III 型稳压稳流电泳仪,转膜仪(北京六一实验仪器厂)。

2 方法

2.1 模型建立与分组给药 选取 48 只雌性 SD 大鼠,分为假手术组($n = 8$),造模组($n = 40$)。根据文献[10]方法,造模组摘除大鼠双侧卵巢复制绝经后大鼠骨质疏松动物模型,假手术组不摘除卵巢。术后 6 周,造模组动物随机按数字表法均分 5 组,分别为模型组、阳性药组(尼尔雌醇)、黄芪甲苷低、中、高剂量组(20,40,80 mg·kg⁻¹),每组 8 只。黄芪甲苷灌胃浓度设定参考文献[11],灌胃容量为 5 mL·kg⁻¹,治疗组分别灌胃给予相应剂量黄芪甲苷,阳性药组灌胃给予尼尔雌醇 1.5 mg·kg⁻¹,假手术组及模型组给予同体积的蒸馏水,每日 1 次,连续

给药 8 周。

2.2 血清骨代谢指标检测 末次给药后,10%水合氯醛腹腔注射麻醉,股动脉取血,4℃,离心(2 000 r·min⁻¹) 15 min,分离取上清液,分装,-20℃保存备用。血清 OPG,RANKL,BGP 及 CT 含量采用 ELISA 法进行测定,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

2.3 骨密度和骨生物力学的测定 动物处死后分离右股骨、胫骨和第 4 腰椎骨,采用骨密度仪测定骨密度(BMD);采用三点弯曲法进行胫骨生物力学测定,设跨度 20 mm,以 10 mm·min⁻¹加载速率下压胫骨中段,直至断裂,记录胫骨的最大载荷和最大应力。

2.4 血清氧化应激指标检测 同 2.2 项方法分离血清。严格按照试剂盒说明书操作检测血清中 MDA,CAT,SOD 和 GSH 水平。

2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达 动物处死后分离左股骨,液氮冷冻后粉碎并充分研磨,按 5 L·g⁻¹组织加入 RIPA 强效裂解液(含蛋白酶抑制剂和磷酸化酶抑制剂),冰上匀浆 30 min,4℃ 15 000 r·min⁻¹离心 15 min,吸取上清,BCA 法

测定蛋白质的含量。规定上样蛋白量为 40 μg,采用 10% SDS-PAGE 电泳分离后转至 PVDF 膜,于含 5%脱脂奶粉的 TBST 缓冲液中封闭 2 h,一抗(兔抗鼠β-catenin,FoxO3a,Wnt2,GAPDH,p66^{shc},p-p66^{shc},1:2 000)的 TBST 缓冲液中 4℃孵育过夜,加入二抗(1:6 000),室温孵育 2 h,ECL 法显色,IPP6.0 软件分析蛋白条带的灰度值。

2.6 统计学分析 用 SPSS 17.0 对各组进行单因素方差分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采组间两两比较采用 LSD-t Test,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对骨质疏松大鼠血清骨代谢指标的影响 与假手术组比较,模型组大鼠 CT 和 OPG 水平明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),BGP 和 RANKL 水平明显升高($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,中、高剂量黄芪甲苷组及尼尔雌醇组 CT 和 OPG 水平显著升高,BGP 水平则显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。只有高剂量黄芪甲苷和尼尔雌醇显著降低 RANKL 水平($P < 0.05$)。低、中剂量黄芪甲苷组 RANKL 水平有一定降低,但差异无统计学意义。见表 1。

表 1 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠血清 CT,BGP,OPG 及 RANKL 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of astragaloside on serum contents of CT,BGP,OPG and RANKL in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$) μg·L⁻¹

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	CT	OPG	BGP	RANKL
假手术	-	2.51 ± 0.12	7.09 ± 0.66	0.83 ± 0.14	0.36 ± 0.07
模型	-	1.31 ± 0.11 ²⁾	5.28 ± 0.54 ¹⁾	1.21 ± 0.15 ²⁾	0.64 ± 0.09 ¹⁾
尼尔雌醇	1.5	2.22 ± 0.38 ⁴⁾	6.85 ± 0.49 ³⁾	0.91 ± 0.23 ³⁾	0.46 ± 0.04 ³⁾
黄芪甲苷	20	1.35 ± 0.09	5.55 ± 0.38	1.08 ± 0.57 ³⁾	0.62 ± 0.05
	40	1.95 ± 0.26 ³⁾	5.81 ± 0.24 ³⁾	0.98 ± 0.15 ³⁾	0.55 ± 0.07
	80	2.14 ± 0.14 ³⁾	6.18 ± 0.82 ³⁾	0.86 ± 0.09 ⁴⁾	0.47 ± 0.06 ³⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。

3.2 对骨质疏松大鼠 BMD 和骨生物力学的影响

与假手术组比较,模型组大鼠腰椎、股骨的 BMD 值和胫骨的最大载荷及最大应力均有显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪甲苷明显升高腰椎、股骨的 BMD 和胫骨的最大载荷及最大应力($P < 0.05, P < 0.01$),作用与尼尔雌醇相当。见表 2,3。

3.3 对骨质疏松大鼠氧化应激指标的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清 MDA 水平明显升高,CAT,SOD 和 GSH-Px 水平均明显降低($P < 0.05$,

表 2 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠 BMD 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of astragaloside on BMD in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$) mg·cm⁻²

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	腰椎	股骨
假手术	-	198.4 ± 19.56	174.21 ± 22.03
模型	-	101.68 ± 13.52 ²⁾	84.36 ± 10.12 ²⁾
尼尔雌醇	1.5	167.56 ± 16.36 ⁴⁾	151.62 ± 9.68 ⁴⁾
黄芪甲苷	20	105.41 ± 20.06	99.89 ± 11.45 ³⁾
	40	124.22 ± 17.09 ³⁾	109.78 ± 16.13 ³⁾
	80	157.02 ± 11.19 ⁴⁾	127.99 ± 9.26 ⁴⁾

表 3 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠胫骨生物力学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

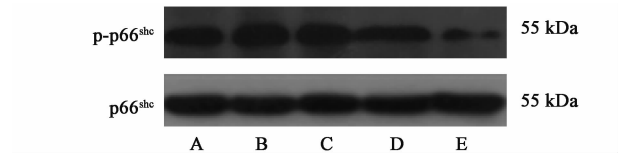
Table 3 Effect of astragaloside on bone biomechanical properties in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	最大载荷/N	最大应力/MPa
假手术	-	161.32 ± 9.15	201.11 ± 16.93
模型	-	98.65 ± 14.63 ²⁾	112.33 ± 10.27 ²⁾
尼尔雌醇	1.5	142.20 ± 19.49 ⁴⁾	169.69 ± 14.45 ³⁾
黄芪甲苷	20	112.21 ± 18.32 ³⁾	131.70 ± 11.14 ³⁾
	40	130.09 ± 8.61 ³⁾	144.12 ± 16.63 ³⁾
	80	139.42 ± 20.03 ⁴⁾	175.21 ± 21.35 ⁴⁾

表 4 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of astragaloside on oxidative stress in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	MDA/μmol·L ⁻¹	CAT/U·L ⁻¹	SOD/U·L ⁻¹	GSH-Px/U·L ⁻¹
假手术	-	4.49 ± 0.61	37.09 ± 2.74	158.03 ± 22.67	101.56 ± 9.45
模型	-	9.14 ± 0.09 ²⁾	20.98 ± 3.86 ¹⁾	56.61 ± 8.39 ²⁾	53.64 ± 6.29 ²⁾
黄芪甲苷	20	8.06 ± 0.58 ³⁾	21.21 ± 4.53	78.11 ± 12.23 ³⁾	66.16 ± 6.15 ³⁾
	40	7.65 ± 1.24 ³⁾	26.41 ± 3.79 ³⁾	99.52 ± 7.57 ³⁾	78.80 ± 12.92 ³⁾
	80	5.56 ± 1.01 ³⁾	38.02 ± 5.59 ³⁾	123.51 ± 19.33 ⁴⁾	92.67 ± 14.03 ⁴⁾



A. 假手术组; B. 模型组; C. 黄芪甲苷低剂量组; D. 黄芪甲苷低剂量组; E. 黄芪甲苷低剂量组 (图 2 同)

图 1 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠 p66^{shc} 蛋白表达及其磷酸化水平的影响

Fig. 1 Effect of astragaloside on expression of p66^{shc} and phospho-p66^{shc} in osteoporotic ovariectomized rats

表 5 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠磷酸化 p-p66^{shc} p66^{shc} 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of astragaloside on relative expression of p-p66^{shc}/p66^{shc} in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	p-p66 ^{shc} /p66 ^{shc}
假手术	-	0.89 ± 0.11
模型	-	1.23 ± 0.18 ²⁾
黄芪甲苷	20	1.01 ± 0.16
	40	0.71 ± 0.19 ³⁾
	80	0.41 ± 0.09 ³⁾

($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪甲苷显著升高 β -catenin 和 Wnt2 蛋白表达水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 抑制 FoxO3a 蛋白表达水平 ($P < 0.01$)。见图 2, 表 6。

$P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪甲苷明显降低 MDA 水平 ($P < 0.05$), 升高 CAT, SOD 和 GSH-Px 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 4。与假手术组比较,模型组大鼠骨组织中 p-p66^{shc}/p66^{shc} 显著升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较,黄芪甲苷中、高剂量显著降低 p-p66^{shc}/p66^{shc} ($P < 0.05$)。见图 1, 表 5。

3.4 对骨质疏松大鼠 FoxO3a, Wnt2, β -catenin 通路的影响 与假手术组比较,模型组大鼠骨组织中 β -catenin 和 Wnt2 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), FoxO3a 蛋白表达水平显著升高

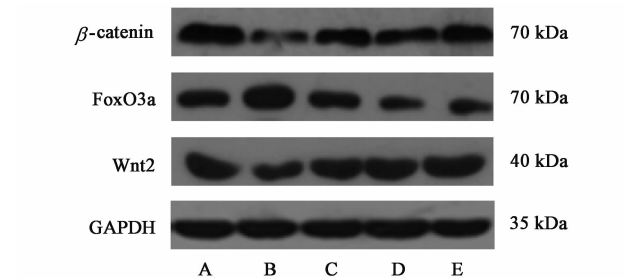


图 2 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠 FoxO3a, Wnt2, β -catenin 蛋白表达水平的影响

Fig. 2 Effect of astragaloside on expression of FoxO3a, Wnt2, β -catenin protein in osteoporotic ovariectomized rats

表 6 黄芪甲苷对骨质疏松大鼠 FoxO3a, Wnt2, β -catenin 蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)。

Table 6 Effect of astragaloside on relative expression of FoxO3a, Wnt2, β -catenin protein in osteoporotic ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	β -catenin /GAPDH	FoxO3a /GAPDH	Wnt2 /GAPDH
假手术	-	1.26 ± 0.13	0.68 ± 0.14	1.08 ± 0.19
模型	-	0.43 ± 0.10 ²⁾	1.41 ± 0.23 ²⁾	0.52 ± 0.13 ¹⁾
黄芪甲苷	20	0.73 ± 0.21	0.74 ± 0.16 ³⁾	0.94 ± 0.20 ³⁾
	40	0.71 ± 0.24	0.34 ± 0.09 ⁴⁾	1.04 ± 0.15 ³⁾
	80	0.91 ± 0.11 ³⁾	0.39 ± 0.06 ⁴⁾	1.29 ± 0.16 ⁴⁾

4 讨论

众所周知,骨组织常处于骨形成与骨吸收之间的动态平衡状态。绝经或卵巢切除后,会打破骨代谢平衡,导致骨吸收大于骨形成造成骨量丢失,从而形成骨质疏松。BGP 被认为是反映成骨细胞活性、骨转换和骨形成的特异指标,临床证实,绝经后骨质疏松妇女 BGP 骨密度呈负相关。CT 具有抑制骨吸收,降低血钙、减少骨钙丢失的生理作用,也是常用的评价骨代谢的指标之一^[12]。RANKL 和 OPG 在骨重建过程中是连接骨形成与骨吸收的关键分子。OPG 与绝经后妇女的骨密度水平呈正相关,OPG 水平的升高,则提示骨吸收的减少和骨形成增加。同时,OPG 作为 RANKL 的诱饵受体,与其结合可抑制 RANK/RANKL 反应,从而抑制破骨细胞形成^[13-15]。此外,骨密度(BMD)和骨生物力学指标常被用于评定骨脆性和对骨折危险性进行预测,BMD 的降低和骨生物力学的改变最能客观反映骨质疏松发生和药物对骨质疏松症治疗效果。本文结果显示模型组大鼠血清 CT 和 OPG 水平明显降低,BGP 和 RANKL 水平明显升高,同时伴有 BMD,最大载荷及最大应力的降低,表明去卵巢后大鼠骨形成、骨吸收都异常增强,并形成骨质疏松。而黄芪甲苷能够有效抑制去卵巢诱导的大鼠骨代谢指标,BMD 骨生物力学指标的改变,即有效抑制了骨质疏松的发生。

近年来,氧化应激作为绝经后骨质疏松的一个重要危险因子已备受关注,因其直接或间接地影响骨吸收与骨形成的过程。一般认为,随着 ROS 和氧化损伤增加,骨组织成骨细胞和骨细胞的形成与存活减少,而破骨细胞分化与活动增强^[16]。大鼠双侧卵巢摘除建立骨质疏松模型是被认为是最佳绝经后骨质疏松症模型。

研究显示,该模型与绝经后妇女体内氧化应激状态改变相似,不仅出现脂质过氧化反应,还会造成活性氧的蓄积,氧化应激损伤的发生^[17]。MDA 是脂质过氧化作用的重要标志,而 CAT, SOD 和 GSH-Px 则是体内抗氧化体系的主要分子。同时,最新研究发现,骨组织中 p66^{shc} 蛋白磷酸化位点 p-p66^{shc} 的表达与骨组织的氧化应激水平呈正相关^[13,18],因此,p-p66^{shc} 的表达水平常被用于衡量骨组织的氧化应激水平。本文结果显示黄芪甲苷能够显著降低 MDA 水平和升高 CAT, SOD 和 GSH-Px 水平,同时,显著降低了大鼠骨组织中 p-p66^{shc} 磷酸化水平,提示黄芪甲苷有效抑制了骨质疏松症模型中的氧化损伤。

Wnt/ β -catenin 信号通路与绝经后骨质疏松发病密切相关,是一个关键的骨内稳态通路,其通过关键信号分子 β -catenin 调控骨形成的过程,具有促成骨抑制着破骨细胞的骨吸收作用。研究显示,激活 Wnt/ β -catenin 通路能够抑制氧化应激诱导的骨质疏松^[19-20]。最新研究显示 FoxO 家族成员在氧化应激导致的骨质疏松机制中扮演着极其重要的角色。氧化应激可通过激活 FoxO,活化的 FoxO 竞争性与 β -catenin 结合,并转位入核,导致 Wnt/ β -catenin 通路中有限的 β -catenin 从 β -catenin/TCF 介导的转录转向 FoxO 介导的转录,从而降低成骨细胞形成增殖与分化并最终形成氧化应激诱导的骨质疏松^[21-22]。可见,抑制 FoxO 家族成员的活化和激活 Wnt/ β -catenin 通路对预防氧化应激诱导的骨质疏松至关重要。本文结果显示,黄芪甲苷显著升高 β -catenin 和 Wnt2 蛋白表达水平,抑制 FoxO3a 蛋白表达水平,可见黄芪甲苷能够有效调节 FoxO3a/Wnt2/ β -catenin 通路,降低氧化应激诱导的去卵巢大鼠骨质疏松。

综上所述,黄芪甲苷能够有效缓解氧化应激介导的去卵巢大鼠的骨质疏松,该作用可能与其调节 FoxO3a/Wnt2/ β -catenin 通路有关。

[参考文献]

- [1] 游利. 骨质疏松症的现状、筛查和预防[J]. 中国全科医学, 2016, 19(14): 1616-1619.
- [2] YANG Y J, LIAO C. Regulation mechanism of FoxO/Wnt pathway in osteoporosis mediated by oxidative stress [J]. CPB, 2013, 29(1): 27-30.
- [3] 孙振双. 温肾固疏方调控 FoxO/Wnt 信号通路抗氧化应激防治绝经后骨质疏松的机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [4] Canalis E. Wnt signalling in osteoporosis: mechanisms and novel therapeutic approaches [J]. Nat Rev Endocrinol, 2013, 9(10): 575-583.
- [5] 曹玉冰. 黄芪甲苷的药理作用及其机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(5): 954-960.
- [6] 梅周芳, 施天韵, 都勇, 等. 黄芪甲苷研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(3): 586-587.
- [7] 陈倩, 季旭明, 阚东方, 等. 黄芪甲苷对复合水饮内停大鼠心脏功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 100-105.
- [8] 靳晓飞, 高维娟. 黄芪甲苷生物活性及神经保护作用研究进展[J]. 河北中医药学报, 2017, 32(3): 54-57.
- [9] 黄海涛, 梁单, 金昱. 黄芪甲苷拮抗过氧化氢引起的小鼠成骨细胞凋亡作用[J]. 延边大学医学学报, 2017, 40(4): 305-309.

- 2012,35(2):86-91.
- [10] 祁珊珊,王永吉,辛薇. SD 大鼠绝经后骨质疏松疾病动物模型的构建[J]. 临床与实验病理学杂志,2016,32(1):49-52.
- [11] 徐昌君,王鹏飞,刘杨,等. 黄芪甲苷对特发性肺纤维化自噬活性作用 PI3K/Akt/mTOR 信号调控的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(18):75-82.
- [12] Golob A L, Laya M B. Osteoporosis: screening, prevention, and management[J]. Med Clin Nam, 2015, 99(3):587-606.
- [13] Drake M T, Clarke B L, Lewiecki E M. The pathophysiology and treatment of osteoporosis[J]. Clin Ther, 2015, 37(8):1837-1850.
- [14] LI C W, LIANG B, SHI X L, et al. Opg/Rankl mRNA dynamic expression in the bone tissue of ovariectomized rats with osteoporosis [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3):9215.
- [15] GONG S, HAN X, LI X, et al. Development of a high-throughput screening strategy for upregulators of the OPG/RANKL ratio with the potential for antiosteoporosis effects[J]. J Biomol Screen, 2016, 21(7):738-742.
- [16] ZHOU Q, LI Z, ZHANG D, et al. Oxidative stress-related biomarkers in postmenopausal osteoporosis: a systematic review and Meta-analyses [J]. Dis Markers, 2016(3):1-12.
- [17] Mai F T, El-Serafi A T, Omar H A. Caffeic acid phenethyl ester protects against glucocorticoid-induced osteoporosis *in vivo*: impact on oxidative stress and RANKL/OPG signals [J]. Toxicol Appl Pharm, 2017, 324(4):26-35.
- [18] DI L F, Giorgio M, Ferdinandy P, et al. New aspects of p66Shc in ischemia reperfusion injury and cardiovascular diseases [J]. Brit J Pharmacol, 2016, 174(12):1690-1703.
- [19] Wolski H, Drwska-Matelska N, Seremak-Mrozikiewicz A, et al. The role of Wnt/ β -catenin pathway and LRP5 protein in metabolism of bone tissue and osteoporosis etiology[J]. Ginekol Pol, 2015, 86(4):311-314.
- [20] CHEN X, LI L, GUO J, et al. Treadmill running exercise prevents senile osteoporosis and upregulates the Wnt signaling pathway in SAMP6 mice [J]. Oncotarget, 2016, 44(7):71072-71086.
- [21] ZHAO X L, CHEN J J, ZHANG G N, et al. Small molecule T63 suppresses osteoporosis by modulating osteoblast differentiation *via* BMP and WNT signaling pathways[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):10397.
- [22] LIU X Y, WANG Q X, LU J, et al. Protective effect of LiCl-activated Wnt/ β -catenin signaling pathway on glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. AJSMMU, 2017, 38(2):201-205.

[责任编辑 周冰冰]