

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003425

人参皂苷 Rg₃对骨质疏松大鼠骨代谢及肠钙吸收功能的影响

周 红¹,张亚维¹,张 堏¹,白登彦²

(1.甘肃省中医院创伤骨一科,兰州 730050;2.甘肃省第二人民医院骨科,兰州 730000)

【摘要】目的:探究人参皂苷 Rg₃对骨质疏松(osteoporosis, OP)大鼠骨代谢及肠钙吸收功能的影响。**方法:**60只 SPF 级雌性 Wistar 大鼠,按照随机数字法分为空白组、模型组、阳性组、实验组,每组大鼠各 15 只。除空白组外,其他大鼠均采用去势(OVX 法)法制备 OP 大鼠模型。造模成功后,空白组及模型组生理盐水灌胃[10 mL/(kg·d)],阳性组给予阿仑膦酸钠维 D3 灌服(每周 6.25 mg/kg),实验组给予人参皂苷 Rg₃[80 mg/(kg·d)]灌胃治疗,连续干预治疗 12 周。检测各组股骨、胫骨骨密度变化,酶联免疫法检测大鼠血清中骨保护素(osteoclastogenesis inhibitory factor, OPG)、I型前胶原氨基末端肽(procollagen type I N-terminal propeptide, PINP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)、I型胶原交联 C-末端肽(Type I collagen carboxy-terminal peptide, CTX-I)含量变化;原位末端标记法(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)法分析各组肠黏膜组织细胞凋亡情况;Masson 法分析各组肠黏膜组织纤维病理改变;免疫组化法检测各组肠黏膜组织中维生素 D 膜相关快速反应结合蛋白(membrane-associated rapid response steroid-binding, 1,25-D3-MARRS)蛋白表达;蛋白免疫印迹法及 RT-PCR 法检测各组 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白及 mRNA 表达水平。**结果:**大鼠造模后股骨、胫骨骨密度明显下降,血清中 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 含量明显变化($P<0.05$);肠黏膜组织病理发生明显改变,组织纤维化增强,细胞凋亡程度增加;肠黏膜组织 1,25-D3-MARRS 蛋白表达降低($P<0.05$)。治疗后与模型组对比,阳性组及实验组大鼠股骨、胫骨骨密度明显升高,血清中 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 含量明显改善($P<0.05$);肠黏膜组织病理发生明显改善,纤维化降低,细胞凋亡程度降低;肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白及 mRNA 表达明显改善($P<0.05$)。**结论:**人参皂苷 Rg₃能够提高 OP 大鼠骨密度,减轻肠黏膜组织细胞凋亡及组织纤维化,增加肠黏膜 1,25D3-MARRS 蛋白表达,改善肠道钙吸收。

【关键词】骨质疏松;人参皂苷 Rg₃;肠钙吸收;骨密度;维生素 D 膜相关快速反应结合蛋白

【中图分类号】R285

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-06-22

Effects of Ginsenoside Rg3 on bone metabolism and intestinal calcium absorption in osteoporosis rats

Zhou Hong¹, Zhang Yawei¹, Zhang Kun¹, Bai Dengyan²

(1. Department of Trauma and Orthopedics, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine; 2. Department of Orthopedics, Gansu Second People's Hospital)

【Abstract】Objective: To explore the effect of Ginsenoside Rg3 on bone metabolism and intestinal calcium absorption in osteoporosis (OP) rats. **Methods:** 60 SPF grade female Wistar rats were randomly divided into blank group, model group, positive group, and experimental group, with 15 rats in each group. Except for the blank group, all other rats were used to prepare OP rat models using the OVX method. After successful modeling, the blank group and the model group were given normal saline by gavage[10 mL/(kg·d)], the positive group was given alendronic acid sodium and vitamin D3 by gavage[6.25 mg/(kg·w)], and the experimental group was given ginsenoside Rg3[80 mg/(kg·d)] by gavage for 12 consecutive weeks. Bone mineral density changes of femur and tibia in each group were detected. Serum osteoprotegerin (OPG), procollagen type I N-terminal peptide (PINP), tartrate resistant acid phosphatase (TRACP) Changes in the content of Type I collagen cross-linked C-terminal peptide (CTX-I); TUNEL method was used to analyze the apoptosis of intestinal mucosal tissue cells in each group; Masson's method was used to analyze the pathological changes of intestinal mucosal tissue fibers in each group; Immunohistochemical method was used to detect the protein expression of vitamin D membrane associated rapid response steroid binding (1, 25-D3-MARRS) in intestinal mucosa tissues of each group; Protein immunoblotting and RT-PCR

作者介绍:周 红,Email:1450952953@qq.com,

研究方向:创伤骨科。

通信作者:张亚维,2114822237@qq.com。

基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(编号:21CX1RA176)。

优先出版:<https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240206.1103.014>
(2024-02-09)

were used to detect the expression levels of Jagged1, Notch1, Hes1 protein and mRNA in each group. **Results:** After modeling, the bone density of the femur and tibia in rats decreased significantly, and the levels of OPG, PINP, TRACP, and CTX-I in serum showed significant changes ($P<0.05$) ; Significant pathological changes occur in the intestinal mucosa tissue, with increased fibrosis and increased degree of cell apoptosis ; The expression of 1, 25-D3-MARRS protein in intestinal mucosal tissue decreased ($P<0.05$) . After treatment, compared with the model group, the bone density of the femur and tibia of the positive and experimental groups were significantly increased, and the serum levels of OPG, PINP, TRACP, and CTX-I were significantly improved ($P<0.05$) ; The pathological changes of intestinal mucosa tissue have significantly improved, with reduced fibrosis and reduced degree of cell apoptosis ; The expression of Jagged1, Notch1, Hes1 proteins and mRNA in intestinal mucosal tissue was significantly improved ($P<0.05$) . **Conclusion:** Ginsenoside Rg3 can increase bone density of OP rats, reduce apoptosis and fibrosis of intestinal mucosa, increase the expression of 1, 25D3-MARRS protein in intestinal mucosa, and improve intestinal calcium absorption.

[Key words] osteoporosis; ginsenoside Rg3; intestinal calcium absorption; bone density; vitamin D membrane associated rapid response steroid binding

骨质疏松症(radiation proctitis, OP)属于临床常见的慢性进展性疾病之一,OP患者后期发生骨折风险居高且难以自愈。近年OP发病率呈现上升趋势,对患者的生存质量造成威胁。在中医学中将OP归属于“骨痿”“骨痹”等,病机属肝肾亏虚,髓失所养导致骨痿^[1]。钙是人体重要的骨矿物质元素,其减少和丢失能够引起骨密度下降并最终导致OP的发生^[2]。人参皂苷Rg₃提取自五加科植物人参,既往研究显示,人参皂苷Rg₃能够有效抑制炎症介质释放,保护肠道黏膜,调控骨重塑及骨代谢^[3-4],但其是否通过干预Notch信号通路来影响OP发病机制尚不清楚。本研究建立OP大鼠模型并通过人参皂苷Rg₃进行干预治疗,探究人参皂苷Rg₃调控Notch信号通路对OP大鼠骨代谢及肠钙吸收的影响机制。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂

人参皂苷Rg₃(英文名:20(R)Ginsenoside Rg₃,分子式:C₄₂H₇₂O₁₃,分子量:785.013,规格:50 mg,纯度:98%,批号:20200210,维克奇生物),分子结构图见图1。阿仑膦酸钠维D3片(固邦佳,70 mg:2800IU*1片,国药准字H20110079,石药集团欧意药业有限公司),双能X线骨密度仪(DXA-800E,徐州品源),荧光显微镜(DM1000,日本OLYMPAS),超净工作台(苏州净化),荧光定量PCR仪(ABI公司,型号:STEPONE PLUS);酶联免疫检测仪(美国BIO-RAD);TUNEL(KGA7071,江苏凯基);Masson三色染试剂盒(GP1038,武汉谷歌生物);OPG、PINP、TRACP及CTX-I ELISA试剂盒均购自上海联硕;1,25-D3-MARRS及Jagged1、Notch1、Hes1相关抗体均购自北京百奥莱博。

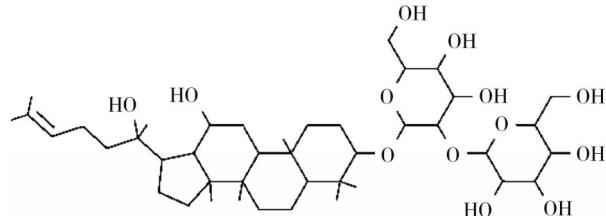


图1 人参皂苷Rg₃分子结构式

1.2 实验动物

3个月龄SPF级雌性Wistar大鼠60只,体质量(250±20)g,购自甘肃中医药大学实验动物中心,动物质量合格证号:SCXK(甘)2020-0001。所有动物适应性喂养1周后开始实验造模。本实验经甘肃中医药大学动物伦理委员会审核批准。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与造模 按照随机数字法将大鼠分为4组,分别为空白组、模型组、阳性组及实验组,每组大鼠各15只。除空白组外,其他3组大鼠均采用去势(OVX法)法制备OP大鼠模型。本次实验大鼠均OP造模成功。

1.3.2 干预 按照实验动物与人用药量的新换算方法^[5]计算大鼠给药量,空白组及模型组生理盐水灌胃[10 mL/(kg·d)],阳性组给予阿仑膦酸钠维D3灌服(每周6.25 mg/kg),实验组给予人参皂苷Rg₃[80 mg/(kg·d)]灌胃治疗,连续干预治疗12周。

1.4 指标检测

1.4.1 骨密度检测 大鼠处死后,取各组大鼠部分股骨、胫骨组织,使用双能X线骨密度仪进行骨密度检测并对数据进行分析,计算骨密度值。

1.4.2 ELISA法检测 大鼠麻醉后,腹主动脉取血2 mL,置于离心机中,转速2 500 r/min,离心半径10 cm,离心20 min,取上清液,ELISA法检测OP大鼠血清中OPG、PINP、TRACP

及 CTX-I 含量水平变化。

1.4.3 Masson 染色 大鼠处死后,取部分小肠黏膜组织切片常规脱蜡,苏木素染色 10 min,酸性乙醇分化后水洗,Masson 蓝化液返蓝,蒸馏水洗后弱酸工作液洗涤,脱水,二甲苯透明后树胶封固。

1.4.4 TUNEL 法检测细胞凋亡变化 取各组大鼠小肠黏膜部分组织,置于 4% 多聚甲醛溶液内浸泡 24 h,不同浓度乙醇按顺序脱水后,切片,脱蜡后将标本置于苏木精中进行染色 15 min,最后脱水透明 10 min,TUNEL 试剂盒检测各组肠黏膜组织切片标本中细胞凋亡情况,激光共聚焦显微镜观察。

1.4.5 免疫组化检测 1,25-D3-MARRS 蛋白表达 取各组部分肠黏膜组织切片,脱蜡水化后,3% 过氧化氢溶液浸泡 10 min 阻断内源性过氧化物酶处理,然后将切片煮沸以进行抗原修复,5% 山羊血清孵育分别加入一抗、二抗处理,用 PBS 洗 5 次后加入 DAB 显色,苏木精复染蓝化后,显微镜下观察捕获图像。

1.4.6 Western blot 法检测 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白量表达变化 RIPA 裂解缓冲液加入黏膜组织中,冰上固定 30 min,提取组织中的总蛋白,BCA 蛋白测定试剂盒测定各组黏膜组织中蛋白质的浓度。SDS-PAGE 对蛋白进行等量分离后移至 PVDF 膜上,4 °C 下添加一抗与 β-actin(1:500)孵育过夜。洗涤后添加二抗(1:500)放置在常温下孵育 2 h。ECL 试剂进行显影并对蛋白相对表达水平进行分析。

1.4.7 RT-PCR 法检测 Jagged1、Notch1、Hes1 mRNA 表达变化 液氮研磨冻存的大鼠肠黏膜组织,按照试剂盒说明提取总 RNA,进行反转录及扩增目的基因,实时荧光定量 PCR 法检测肠黏膜组织 Jagged1、Notch1、Hes1 mRNA 的表达情况。DNA 扩增条件:95 °C 预变性 10 min,PCR 循环后再变性 15 s,60 °C 退火 1 min,共 40 个循环。引物:Jagged1 上游:GGACTTTCTGAGGGAGGT,下游:CAAGTCAGGGCGTTAGATCT;Notch1 上游:CAGGGCCTAGAACGCAGGCT,下游:CCGTAACGATCCGATGT;Hes1 上游:CGAGAAAGTTCAAGGCTAG,下游:TCAGCATCTAAAGAACGGT;β-actin 上游:TGGTGGATATGCATCCCG,下游:GTTAGTCGCCGTAT。结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,2 组间比较分别实施 LSD-t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 股骨、胫骨骨密度比较

与空白组比较,造模后各组大鼠股骨、胫骨骨密度明显降低($P<0.05$);与模型组比较,阳性组及实验组大鼠股骨、胫骨骨密度明显升高($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠骨密度比较 ($\bar{x} \pm s$, g/cm³, n=15)

组别	股骨	胫骨
空白组	0.197 ± 0.012	0.183 ± 0.012
模型组	0.141 ± 0.019 ^a	0.137 ± 0.009 ^a
阳性组	0.185 ± 0.011 ^b	0.172 ± 0.012 ^b
实验组	0.181 ± 0.014 ^b	0.171 ± 0.011 ^b
F 值	110.203	85.194
P 值	0.000	0.000

注:a,与空白组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

2.2 血清 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 含量比较

与空白组比较,模型组大鼠血清中 OPG、PINP 明显降低,TRACP、CTX-I 含量明显升高($P<0.05$);干预治疗 6 周后,与模型组比较,阳性组及实验组大鼠 OPG、PINP 明显升高,TRACP、CTX-I 含量明显降低($P<0.05$);其中实验组与阳性组对比,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 大鼠血清 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 含量比较

($\bar{x} \pm s$, ng/L, n=15)

组别	OPG	PINP	TRACP	CTX-I
空白组	4.52 ± 0.14	35.73 ± 0.29	7.21 ± 0.12	6.18 ± 0.13
模型组	3.11 ± 0.13 ^a	12.75 ± 0.27 ^a	15.53 ± 0.32 ^a	10.48 ± 0.31 ^a
阳性组	4.41 ± 0.17 ^b	32.26 ± 0.61 ^b	9.12 ± 0.16 ^b	7.15 ± 0.25 ^b
实验组	4.19 ± 0.12 ^b	31.14 ± 0.25 ^b	10.07 ± 0.37 ^b	7.38 ± 0.29 ^b
F 值	38.064	179.287	150.301	112.276
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a,与空白组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

2.3 肠黏膜组织胶原纤维变化比较

Masson 染结果显示,正常组大鼠肠黏膜组织正常,无明显胶原增生;造模后,模型组大鼠黏膜下层出现明显胶原纤维增生;与模型组比较,干预治疗后,大鼠肠黏膜组织胶原纤维增生程度明显降低(图 2)。

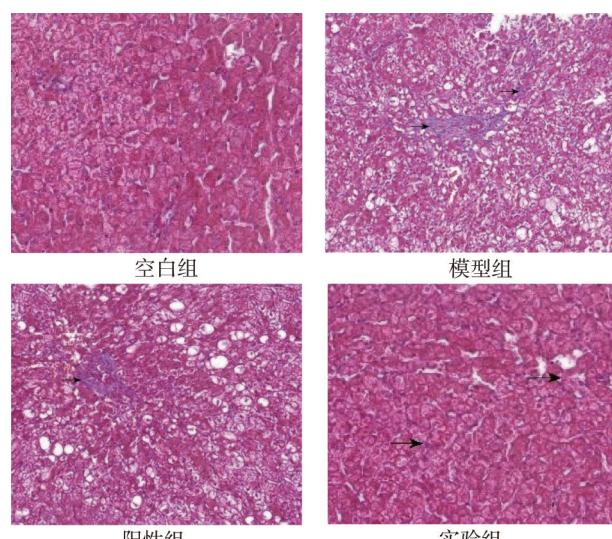


图 2 大鼠肠黏膜组织胶原纤维变化(400×)

2.4 肠黏膜组织细胞凋亡情况比较

TUNEL 染色提示蓝色荧光为正常细胞核, 绿色荧光为凋亡细胞的分布。结果显示, 空白组大鼠肠黏膜组织中细胞正常表达, 绿色荧光极少; 模型组大鼠造模后绿色荧光增多, 提示免疫应答发生, 细胞凋亡增加; 干预治疗后, 大鼠肠黏膜组织中细胞凋亡情况明显减少(图3)。

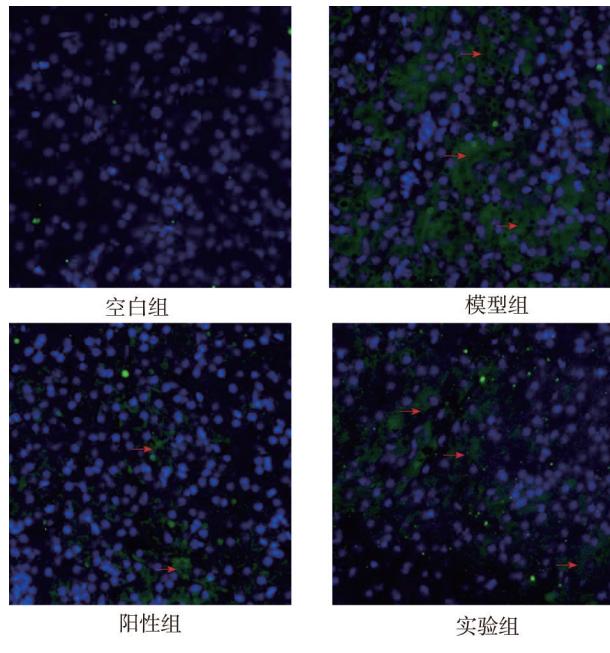


图3 鼠肠黏膜组织细胞凋亡情况比较(400 \times)

2.5 肠黏膜组织中 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达比较

与空白组比较, 大鼠造模后肠黏膜组织中 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达量明显下降($P<0.05$); 与模型组比较, 干预治疗后, 大鼠肠黏膜组织中 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达量明显升高($P<0.05$)(表3、图4)。

表3 大鼠肠黏膜组织中 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达比较
($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	1,25-D ₃ -MARRS
空白组	0.77 ± 0.02
模型组	0.14 ± 0.01^a
阳性组	0.71 ± 0.07^b
实验组	0.69 ± 0.02^b
F值	53.175
P值	0.000

注:a,与空白组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

2.6 肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白表达

与空白组比较, 造模后模型组大鼠肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1 蛋白表达量明显下降, Hes1 蛋白表达量明显上升($P<0.05$); 与模型组比较, 干预治疗后, 阳性组及实验组 Jagged1、Notch1 蛋白表达量明显上升, Hes1 蛋白表达量明显下降($P<0.05$)(表4、图5)。

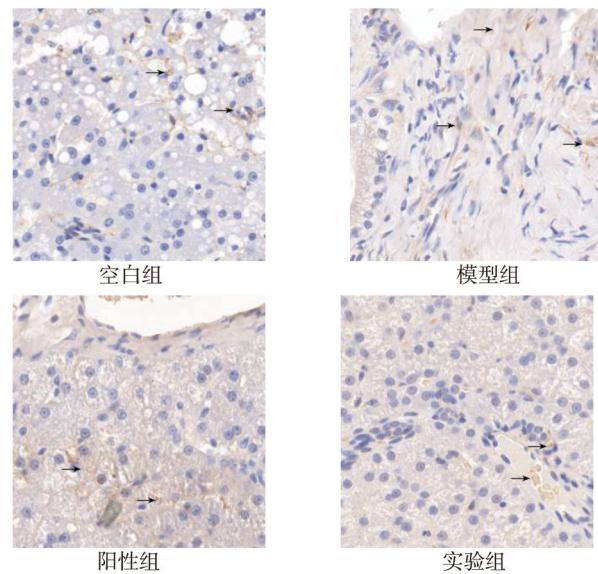


图4 大鼠肠黏膜组织中 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达(200 \times)

表4 大鼠肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白相对含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	Jagged1	Notch1	Hes1
空白组	0.351 ± 0.012	0.675 ± 0.024	0.198 ± 0.007
模型组	0.207 ± 0.009^a	0.363 ± 0.019^a	0.476 ± 0.012^a
阳性组	0.322 ± 0.017^b	0.619 ± 0.011^b	0.232 ± 0.018^b
实验组	0.314 ± 0.015^b	0.594 ± 0.023^b	0.217 ± 0.011^b
F值	44.615	90.753	110.218
P值	0.000	0.000	0.000

注:a,与空白组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

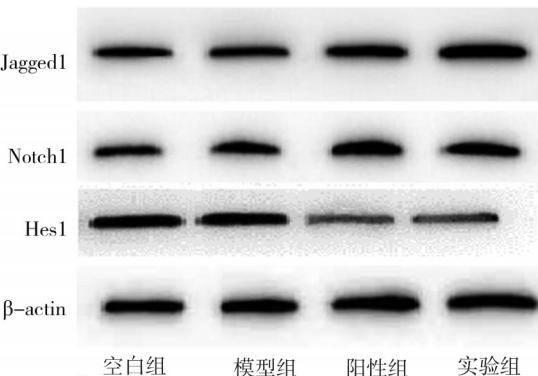


图5 大鼠肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 蛋白比较

2.7 肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 mRNA 表达水平比较

与空白组比较, 造模后模型组大鼠肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1 mRNA 表达量明显下降, Hes1 mRNA 表达量明显上升($P<0.05$); 与模型组比较, 干预治疗后, 阳性组及实验组 Jagged1、Notch1 mRNA 表达量明显上升, Hes1 mRNA 表达量明显下降($P<0.05$)(表5)。

表 5 大鼠肠黏膜组织中 Jagged1、Notch1、Hes1 mRNA 相对水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	Jagged1	Notch1	Hes1
空白组	0.223 ± 0.009	0.331 ± 0.004	0.239 ± 0.002
模型组	0.132 ± 0.004 ^a	0.112 ± 0.001 ^a	0.504 ± 0.005 ^a
阳性组	0.205 ± 0.008 ^b	0.291 ± 0.007 ^b	0.272 ± 0.006 ^b
实验组	0.196 ± 0.002 ^b	0.277 ± 0.005 ^b	0.295 ± 0.004 ^b
F 值	72.951	105.232	155.117
P 值	0.000	0.000	0.000

注:a,与空白组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

3 讨 论

骨代谢及肠钙吸收异常是 OP 的重要特征,OP 肠钙吸收异常早期会出现组织间氧自由基损伤,生物膜脂质逐步发生过氧化导致细胞损伤加剧,多种炎性信号通路被激活,产生大量炎症细胞因子并引发细胞凋亡进程^[5-6]。目前西医学治疗 OP 导致的骨代谢及肠钙吸收异常主要以营养支持辅助肠黏膜保护措施为主,患者常出现不良反应,且易复发。

人参皂苷 Rg₃ 提取自五加科植物人参,是人参的主要药效成分之一。研究发现^[7-8],人参皂苷可以明显增加骨代谢,参与多种骨细胞的凋亡与自噬过程。人参皂苷 Rg₃ 能够有效调节免疫系统,控制炎症介质,调控骨重塑及骨代谢,有效保护肠道黏膜,促进肠钙吸收^[9-10]。

钙作为细胞代谢中重要的骨矿物质元素,其减少及丢失是引起骨密度下降及 OP 发生的主要原因之一,而机体内钙的吸收与 1,25-D₃-MARRS 蛋白存在密切关系。1,25-D₃-MARRS 是体内维生素 D 的活性形式,可在小肠、骨等多种器官组织中表达,对人体钙磷代谢及骨细胞分化及骨的吸收有重要作用^[11-12]。研究发现,1,25-D₃-MARRS 在小肠内与受体蛋白结合后,激活磷脂酶 A2 及磷脂酶 C,从而促进钙磷在小肠内迅速吸收^[13]。本研究还发现,OP 大鼠造模后,1,25-D₃-MARRS 含量下降,骨密度明显降低,这说明大鼠肠道钙的吸收下降,促进骨质疏松的发生,而经过治疗后,1,25-D₃-MARRS 含量及骨密度均发生改善,说明人参皂苷 Rg₃ 促进了大鼠肠道内 1,25-D₃-MARRS 的增加,改善了 OP 大鼠

的骨密度。

Notch 通路是一类高保守的细胞表面受体通路,影响多种细胞正常形态的发生,包括多能祖细胞的分化、凋亡、增殖及细胞边界的形成等过程,研究指出^[14],Notch 通路能够调节组织中骨代谢及骨重建,调控骨吸收及骨形成过程。而 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 等是破骨细胞形成、分化和调节的关键因子^[15-16]。Canalis E 等^[17]研究表明,骨细胞中 Notch 通路表达能促进小鼠血清 OPG 含量增加,从而抑制骨吸收过程。Jagged1 是 Notch 的主要配体之一,Notch1 是 Notch 信号分子的主要受体之一,Hes1 是主要的靶分子;相邻细胞之间 Jagged1 及 Jagged1 分子在靶分子 Hes1 作用下通过受体与配体的结合传递 Notch 信号,从而扩大并固化细胞间的分子差异,影响细胞形态发生。本研究发现,OP 大鼠造模后血清中 OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 含量发生明显变化,细胞凋亡程度增加,肠纤维化及炎症水平均发生变化,这表明 OP 大鼠造模后体内细胞凋亡程度增加,骨的形成和吸收发生改变,这与 OP 的病理表现一致。大鼠在人参皂苷 Rg₃ 干预治疗后,OPG、PINP、TRACP 及 CTX-I 等标志物水平均明显改善,细胞凋亡减轻,肠纤维化改善,这与以往学者^[18]研究结果一致。本研究结果还显示,大鼠造模后 Notch 通路相关蛋白 Jagged1、Notch1、Hes1 表达明显变化,但经人参皂苷 Rg₃ 干预治疗后,相关蛋白表达趋向好转,这说明人参皂苷 Rg₃ 干预了 OP 大鼠 Notch 通路的表达,影响 OP 大鼠肠黏膜组织细胞凋亡,改善组织纤维化,促进钙吸收,改善肠黏膜功能。

综上所述,人参皂苷 Rg₃ 能够有效改善 OP 大鼠骨代谢水平及肠吸收功能,改善肠黏膜组织纤维化及细胞凋亡过程,促进肠道钙吸收。

参 考 文 献

- [1] 林贤灿,陈桐莹,林燕平,等.原发性骨质疏松症的中医认识与探索[J].中国骨质疏松杂志,2023,29(6):870-874,885.
Lin XC, Chen TY, Lin YP, et al. TCM cognition and exploration of primary osteoporosis[J]. Chin J Osteoporos, 2023, 29(6): 870-874, 885.
- [2] 王林,李春霖.钙剂和维生素 D 在老年骨质疏松症中的应用[J].中国临床保健杂志,2022,25(1):30-33.

- Wang L, Li CL. Application of calcium and vitamin D in elderly patients with osteoporosis[J]. Chin J Clin Healthc, 2022, 25(1):30–33.
- [3] Kang S, Park SJ, Lee AY, et al. Ginsenoside Rg₃ promotes inflammation resolution through M2 macrophage polarization[J]. J Ginseng Res, 2018, 42(1):68–74.
- [4] 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.
- Ma WF, Wang L, Ma YQ, et al. Ginsenoside Rg3 enhances bone mineral density and bone metabolism in osteoporotic aged rats through regulation of AMPK/mTOR signaling pathway[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2023, 40(1):163–169.
- [5] Al-Dhubiab BE, Patel SS, Morsy MA, et al. The beneficial effect of boswellic acid on bone metabolism and possible mechanisms of action in experimental osteoporosis[J]. Nutrients, 2020, 12(10):3186.
- [6] McClung MR, Clark AL. Osteoanabolic therapy for osteoporosis in women[J]. Climacteric, 2022, 25(1):60–66.
- [7] 毛筱涵, 靳雅倩, 丰天宇, 等. 人参皂苷 Rg3 抑制人骨肉瘤 143B 细胞的增殖、迁移和侵袭并促进其凋亡[J]. 肿瘤, 2020, 40(4):233–244.
- Mao XH, Jin YQ, Feng TY, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits the proliferation, migration, invasion of human osteosarcoma 143B cells and promotes apoptosis[J]. Tumor, 2020, 40(4):233–244.
- [8] 岳宗进, 刘汝银, 于露, 等. 人参皂苷 Rg1 通过 miR-138-5p/SIRT1 轴诱导骨髓间充质干细胞向髓核样细胞增殖分化[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(1):27–35.
- Yue ZJ, Liu RY, Yu L, et al. Ginsenoside Rg1 induces the proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into nucleus pulposus-like cells through the miR-138-5p/SIRT1 axis[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(1):27–35.
- [9] Sun DD, Zou YF, Song L, et al. A cyclodextrin-based nanoformulation achieves co-delivery of ginsenoside Rg3 and quercetin for chemoimmunotherapy in colorectal cancer[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1):378–393.
- [10] 陈德云, 沈志强, 何波. 人参皂苷活性单体-20(R)-人参皂苷 Rg3 药理作用及其机制的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(7):1285–1290.
- Chen DY, Shen ZQ, He B. Advances in the research of pharmacological effects and its mechanisms of 20(R)-ginsenoside Rg₃[J]. Nat Prod Res Dev, 2019, 31(7):1285–1290.
- [11] 任国臣, 刘刚, 赵丹, 等. 钙对人系膜细胞增殖及 1,25-D₃-MARRS 蛋白表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(9):1396–1399.
- Ren GC, Liu G, Zhao D, et al. Effects of calcium on proliferation of human mesangial cells and the expression of 1,25-D₃-MARRS[J]. Acta Univ Med Anhui, 2019, 54(9):1396–1399.
- [12] 李希宁, 翁伟, 沈哲源, 等. 雌二醇联合 1,25-二羟维生素 D3 对绝经后骨质疏松症大鼠的治疗作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(4):857–864.
- Li XN, Weng W, Shen ZY, et al. Therapeutic effect of estradiol combined with 1,25-dihydroxyvitamin D3 on postmenopausal osteoporosis in rats[J]. Jilin Univ Med Ed, 2021, 47(4):857–864.
- [13] 石娜, 朱崇田, 欧阳钢. 电针对绝经后骨质疏松症模型大鼠肠黏膜维生素 D 膜相关性快速反应类固醇结合蛋白表达的影响[J]. 上海针灸杂志, 2022, 41(6):610–616.
- Shi N, Zhu CT, Ouyang G. Effect of electroacupuncture on the expression of vitamin D membrane-associated rapid response steroid-binding protein in intestinal mucosa of postmenopausal osteoporosis rats[J]. Shanghai J Acupunct Moxibustion, 2022, 41(6):610–616.
- [14] Xing Wanrong, Ye Yujiao, Tang Jie, et al. Down-Regulation of Notch Effects on Vascular Endothelial Growth Factor Pathway and Cell Proliferation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Co-Cultured with Endothelial Progenitor Cells[J]. JOURNAL OF BIOMATERIALS AND TISSUE ENGINEERING, 2020, 10(9):PP1306–1311.
- [15] 卫莹, 刘伟, 段瑞雪, 等. 人脐带间充质干细胞通过调控 OPG/RANKL 比值对骨质疏松大鼠的影响及机制研究[J]. 重庆医科大学学报, 2022, 47(5):503–510.
- Wei Y, Liu SW, Duan RX, et al. Effects and mechanism of human umbilical cord mesenchymal stem cells on osteoporosis rats by regulating the ratio of osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-κB ligand [J]. J Chongqing Med Univ, 2022, 47(5):503–510.
- [16] Hansen D, Bressendorff I, Nordholm A, et al. Circadian rhythm of markers of bone turnover in patients with chronic kidney disease[J]. Bone Rep, 2022, 16:101593.
- [17] Canalis E, Schilling L, Yee SP, et al. Hajdu Cheney mouse mutants exhibit osteopenia, increased osteoclastogenesis, and bone resorption[J]. J Biol Chem, 2016, 291(4):1538–1551.
- [18] Guo L, Zhen QL, Zhen XY, et al. A network pharmacology approach to explore and validate the potential targets of ginsenoside on osteoporosis[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2022, 36:3946320221107239.

(责任编辑:周一青)