

· 基础研究 ·

# 金丝桃苷对地塞米松诱导骨髓间充质干细胞骨分化的影响

史炎鑫<sup>1</sup>, 李兴华<sup>1</sup>, 张 濛<sup>2</sup>, 白 玉<sup>1\*</sup>

(1. 郑州市骨科医院, 河南郑州 450052; 2. 河南省人民医院, 河南郑州 450003)

**摘要:** [目的] 观察金丝桃苷 (hyperoside) 对地塞米松 (dexamethasone, Dex) 诱导的小鼠骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 增殖和成骨分化抑制的影响及分子机制。[方法] 小鼠 BMSCs, 分为空白对照组 (blank control, BC)、地塞米松组 (Dex 组)、Dex+ Hyperoside 1  $\mu\text{mol/L}$  组 (DH-1)、Dex+ Hyperoside 2  $\mu\text{mol/L}$  组 (DH-2)、Dex+ Hyperoside 5  $\mu\text{mol/L}$  组 (DH-5)。采用 CCK8 法检测细胞活力, 诱导 BMSCs 成骨分化后, 检测碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, ALP) 和茜素红染色细胞矿化; qRT-PCR 法检测 ALP、Runx2 和 Osterix mRNA 相对表达量; Western blot 法检测 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 蛋白表达量。[结果] BMSCs 细胞活性由高至低依次为: BC 组>金丝桃苷各浓度组 (DH-1 组、DH-2 组、DH-5 组) > Dex 组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组细胞活性两两比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。ALP 活性由高至低依次为: BC 组>DH-5>DH-2>DH-1>Dex 组, 整体差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。成骨诱导 14 d 后, Dex 组矿化结节形成最少, 随着 Hyperoside 浓度的增加, 矿化结节数量逐渐增多, 呈现一定的剂量依赖性。ALP、Runx2 和 Osterix mRNA 表达水平由高至低均依次为 BC 组>Hyperoside 各浓度组 (DH-5 组、DH-2 组、DH-1 组) > Dex 组, 整体差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。与 BC 组相比, Dex 组 p-PI3K/PI3K [(1.0 $\pm$ 0.2) vs (0.4 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] 和 p-AKT/AKT [(1.0 $\pm$ 0.1) vs (0.6 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] 比值均显著降低。与 Dex 组相比, Hyperoside 组 p-PI3K/PI3K [(0.4 $\pm$ 0.1) vs (0.8 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] 和 p-AKT/AKT [(0.6 $\pm$ 0.1) vs (0.9 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] 比值显著升高 ( $P<0.05$ )。[结论] Hyperoside 通过 PI3K/AKT 信号通路减轻了 Dex 诱导的 BMSCs 增殖和成骨分化抑制。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞, 金丝桃苷, 成骨分化, 地塞米松, PI3K/AKT 信号通路

中图分类号: R318 文献标志码: A 文章编号: 1005-8478 (2023) 15-1415-05

**Effect of hyperoside on dexamethasone-induced osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells // SHI Yan-xin<sup>1</sup>, LI Xing-hua<sup>1</sup>, ZHANG Meng<sup>2</sup>, BAI Yu<sup>1</sup>. 1. Zhengzhou Orthopedics Hospital, Zhengzhou 450052, China; 2. People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou 450003, China**

**Abstract: [Objective]** To explore the effect of hyperoside on dexamethasone (Dex)-induced inhibition of proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and the potential molecular mechanism. **[Methods]** The BMSCs were isolated from mice and cultured in vitro, and were divided into blank control group (BC), Dex group, Dex + hyperoside 1  $\mu\text{M}$  group (DH-1), Dex + hyperoside 2  $\mu\text{M}$  group (DH-2) and Dex + hyperoside 5  $\mu\text{M}$  group (DH-5). After the osteogenic differentiation of BMSCs was induced, the cell viability was measured by CCK8 assay, the activity of alkaline phosphatase (ALP) was detected using ALP activity kit, and the mineralization level was observed by Alizarin Red S staining. In addition, the mRNA expressions of ALP, Runx2, and Osterix were measured by qRT-PCR, while protein expressions of PI3K, p-PI3K, AKT, and p-AKT in BMSCs were determined by western blot assay. **[Results]** The cell vitality of BMSCs was ranked from high to low as follows: BC group > every hyperoside groups (DH-1 group, DH-2 group, DH-5 group) > Dex group, which was statistically significant ( $P<0.05$ ), despite that there was no significant difference in cell vitality among DH-1 group, DH-2 group and DH-5 group ( $P>0.05$ ). The ALP activity was up-down as BC group > DH-5 > DH-2 > DH-1 > Dex, with a statistically significant overall difference ( $P<0.05$ ). After 14 days of osteogenic induction, the formation of mineralized nodules in Dex group was the least, while which gradually increased with the increase of Hyperoside concentration in a certain dose dependence manner. The mRNA expressions of ALP, Runx2 and Osterix were ranked up-down as the BC > DH-5 > DH-2 > DH-1 > Dex, with a statistically significant overall difference among groups ( $P<0.05$ ). Compared with those in the BC group, the p-PI3K/PI3K ratio [(1.0 $\pm$ 0.2) vs (0.4 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] and p-AKT/AKT ratio [(1.0 $\pm$ 0.1) vs (0.6 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] in the Dex group significantly reduced. However, compared with those in Dex group, the p-PI3K/PI3K ratio [(0.4 $\pm$ 0.1) vs (0.8 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] and p-AKT/AKT [(0.6 $\pm$ 0.1) vs (0.9 $\pm$ 0.1),  $P<0.05$ ] in the hyperoside group significantly in-

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.15.14

作者简介: 史炎鑫, 主治医师, 研究方向: 中医药防治骨关节炎, (电话)18638187912, (电子信箱)18638187912@163.com

\* 通信作者: 白玉, (电话)13592561822, (电子信箱)a151371@126.com

creased. [Conclusion] The hyperoside might alleviate Dex-induced inhibition of proliferation and osteogenic differentiation of BMSCs through PI3K/AKT signaling pathway.

**Key words:** bone marrow mesenchymal stem cells, hyperoside, osteogenic differentiation, dexamethasone, PI3K/AKT signaling pathway

骨质疏松症是一种以骨密度降低和骨组织微结构退化为特征的全身性骨骼疾病<sup>[1]</sup>。成骨细胞是参与骨形成的主要细胞，越来越多的证据表明成骨细胞功能障碍会导致骨质流失，是骨质疏松发生的主要原因。糖皮质激素（glucocorticoid, GC）具有良好的抗炎和免疫抑制作用，在临床上被广泛用于自身免疫性疾病和炎症性疾病的治疗<sup>[2]</sup>。然而，过量或长期服用GC会导致部分患者出现骨质流失和骨质疏松，增加骨骼脆性和骨折风险<sup>[3]</sup>，这些风险也极大地限制了GC的临床应用价值。骨形成和骨吸收之间平衡遭到破坏在GC诱导的骨质疏松症（glucocorticoid-induced osteoporosis, GIOP）中起着至关重要的作用。GC抑制成骨细胞的增殖、分化与成熟，骨形成减少也被认为是GIOP发生的重要机制<sup>[4]</sup>。因此，迫切需要找到在长期使用GC治疗期间预防骨质疏松症的方法。

金丝桃苷（hyperoside）是一种黄酮类化合物，已被证明具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性<sup>[5-7]</sup>。金丝桃苷可以促进成骨分化及骨形成，在体内外发挥重要的抗骨质疏松作用。然而，金丝桃苷是否可以改善GC诱导的成骨分化抑制仍不清楚。本研究旨在探讨金丝桃苷对地塞米松（dexamethasone, Dex）诱导的小鼠骨髓间充质干细胞（bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs）成骨分化的影响及其可能的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与主要试剂

小鼠BMSCs购自武汉普诺赛生命科技有限公司； $\alpha$ -MEM培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶购自美国Gibco公司；碱性磷酸酶（alkaline phosphatase, ALP）活性检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；茜素红染液购自广州赛业生物科技有限公司；抗坏血酸、地塞米松、 $\beta$ -甘油磷酸钠购自美国Sigma公司；细胞计数试剂盒-8（CCK-8）购自美国Bimake公司；RNA反转录试剂盒和荧光定量试剂盒购自上海翊圣公司；Western blot一抗PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT购自武汉Proteintech公司。

### 1.2 细胞分组及体外处理

取传代后生长良好的第3代细胞，接种到细胞培养板中，细胞密度达到70%~80%时更换成骨诱导培养基（ $\alpha$ -MEM完全培养基+100 nmol/L Dex+50  $\mu$ mol/L抗坏血酸+10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸钠）。实验分为：（1）空白对照组（blank control, BC）；（2）Dex组；（3）Dex + Hyperoside 1  $\mu$ mol/L组（DH-1）；（4）Dex + Hyperoside 2  $\mu$ mol/L组（DH-2）；（5）Dex + Hyperoside 5  $\mu$ mol/L组（DH-5）组。Dex组和Hyperoside干预组均含有1  $\mu$ mol/L的Dex。

### 1.3 检测方法

#### 1.3.1 细胞增殖CCK-8检测

将BMSCs以 $3 \times 10^3$ /孔的密度接种于96孔板，第2 d更换为新鲜培养基，按上述分组分别加入Dex和不同浓度金丝桃苷（1、2、5  $\mu$ mol/L）进行干预。培养72 h后，避光条件下每孔加入10  $\mu$ l CCK-8溶液，置于细胞培养箱中继续培养1 h。使用酶标仪检测450 nm波长下的吸光值。每组3个复孔，实验总体重复3次，分析细胞活力变化，细胞活性=（OD实验组-OD空白组）/（OD对照组-OD空白组） $\times 100\%$ 。

#### 1.3.2 ALP活性测定

将BMSCs以 $3 \times 10^4$ /孔的密度接种于24孔板，当细胞达到70%~80%融合时，更换为成骨诱导培养基，按实验分组加入相应浓度的Dex和Hyperoside，每3 d换液1次，干预第7 d收集各组细胞，于冰上加入RIPA裂解液，离心收集上清，BCA法测定各组细胞蛋白浓度，参照ALP检测试剂盒说明，使用酶标仪检测520 nm波长下各孔的吸光值，每组3个复孔，实验总体重复3次，以BC组为参照，分析各组ALP活性。

#### 1.3.3 茜素红成骨矿化检测

将BMSCs以 $3 \times 10^4$ /孔的密度接种于24孔板，当细胞达到70%~80%融合时，更换为成骨诱导培养基，按实验分组加入相应浓度的Dex和Hyperoside，每3 d换液1次，干预14 d后，用dd H<sub>2</sub>O洗涤细胞3次，室温下用4%多聚甲醛固定细胞15 min，去除固定液，再次用dd H<sub>2</sub>O洗涤细胞3次，加入茜素红染液染色10 min，去除染色液，dd H<sub>2</sub>O清洗后显微镜下拍照，观察各组矿化结节的形成情况，评估成骨

矿化水平。

### 1.3.4 qRT-PCR 检测

将 BMSCs 以  $1 \times 10^5$ /孔的密度接种于 6 孔板, 当细胞达到 70%~80% 融合时, 更换为成骨诱导培养基, 按实验分组加入相应浓度的 Dex 和 Hyperoside, 每 3 d 换液 1 次, 按上述分组干预 7 d 后, 提取细胞总 RNA 并测定浓度。以 RNA 为模板, 反转录合成 cDNA, 配制成 20  $\mu$ l 反应体系进行扩增。以 GAPDH 为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 ALP、Runx2、Osterix mRNA 相对表达量, 实验总体重复 3 次。

### 1.3.5 Western blot 检测

干预 7 d 后, 收集细胞, 冰上加入 RIPA 裂解液, 离心后收集上清液, 测定各组样品中的蛋白浓度并在金属水浴锅中煮沸 10 min 变性。取 30  $\mu$ g 蛋白样品上样于 7.5% SDS-PAGE 凝胶, 经电泳、转膜后, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入相应种属二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次后 ECL 超敏试剂盒显色, 使用 Biorad 凝胶成像系统曝光拍照, Image J 软件对各蛋白条带进行定量分析。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 8 软件对数据进行处理分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 资料呈正态分布时, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 资料呈非正态分布时, 采用

秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细胞增殖

CCK-8 法检测 BMSCs 的增殖结果见表 1。BMSCs 细胞增殖由高至低依次为: BC 组 > 金丝桃苷各浓度组 (DH-1 组、DH-2 组、DH-5 组) > Dex 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组细胞活力两两比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 ALP 活性检测

ALP 活性检测结果见表 1。与 BC 组相比, Dex 组、DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组细胞的 ALP 活性显著降低 ( $P < 0.05$ )。随着金丝桃苷浓度的升高, DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组的 ALP 活性逐渐增加, 且均显著高于 Dex 组 ( $P < 0.05$ )。ALP 活性由高至低依次为: BC 组 > DH-5 > DH-2 > DH-1 > Dex 组, 整体差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 茜素红成骨矿化

茜素红染色观察见图 1。成骨诱导 14 d 后, 各组均有矿化结节形成; BC 组中矿化结节形成最多, Dex 组矿化结节形成最少, DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组矿化结节数量介于 BC 组和 Dex 组之间; 随着金丝桃苷浓度的增加, DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组矿化结节数量逐渐增多, 呈现一定的剂量依赖性。

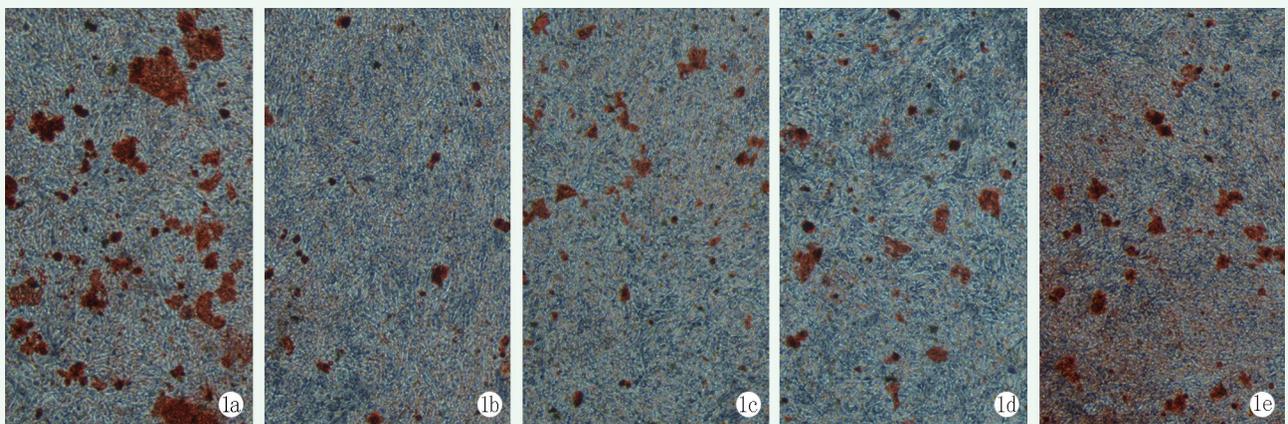


图 1 5 组 BMSCs 茜素红染色所见。1a: BC 组形成大量红色矿化结节; 1b: Dex 组形成的红色矿化结节最少; 1c: DH-1 组红色矿化结节数量多于 Dex 组, 明显少于 BC 组; 1d: DH-2 组红色矿化结节数量多于 DH-1 组, 少于 BC 组; 1e: DH-5 组红色矿化结节数量多于 DH-2 组, 稍少于 BC 组。

### 2.4 qRT-PCR 检测

qRT-PCR 检测成骨标志物表达水平见表 1。ALP、Runx2 和 Osterix mRNA 表达水平由高至低均依次为 BC 组 > Hyperoside 各浓度组 (DH-5 组、DH-2 组、DH-1 组) > Dex, 整体差异有统计学意义 ( $P <$

$0.05$ )。随着金丝桃苷浓度的升高, DH-1 组、DH-2 组和 DH-5 组细胞中 ALP、Runx2、Osterix 的表达量呈剂量依赖性增加 ( $P < 0.05$ )。因此, 作者选择 5  $\mu$ mol/L 浓度的金丝桃苷用于后续研究。

表 1 五组细胞检测结果 (n=3,  $\bar{x} \pm s$ ) 与比较

指标	BC 组	Dex 组	DH-1 组	DH-2 组	DH-5 组	P 值
细胞增殖 (%)	100.0±4.7	70.0±3.0	86.1±1.8	86.4±3.2	84.8±2.0	<0.001
ALP 活性检测	1.0±0.1	0.5±0.0	0.7±0.0	0.7±0.0	0.8±0.0	<0.001
qRT-PCR 检测						
ALP	1.0±0.0	0.6±0.0	0.7±0.1	0.7±0.0	0.8±0.0	<0.001
Runx2	1.0±0.1	0.7±0.0	0.8±0.1	0.8±0.0	0.9±0.0	<0.001
Osterix	1.0±0.0	0.6±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0	<0.001

### 2.5 Western blot 检测

Western blot 检测 PI3K/AKT 信号通路中 PI3K 和 AKT 及其磷酸化蛋白表达量, 结果见图 2 和表 2。与 BC 组相比, Dex 组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值均降低 ( $P<0.05$ )。与 Dex 组相比, Hyperoside 组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值显著升高 ( $P<0.05$ )。

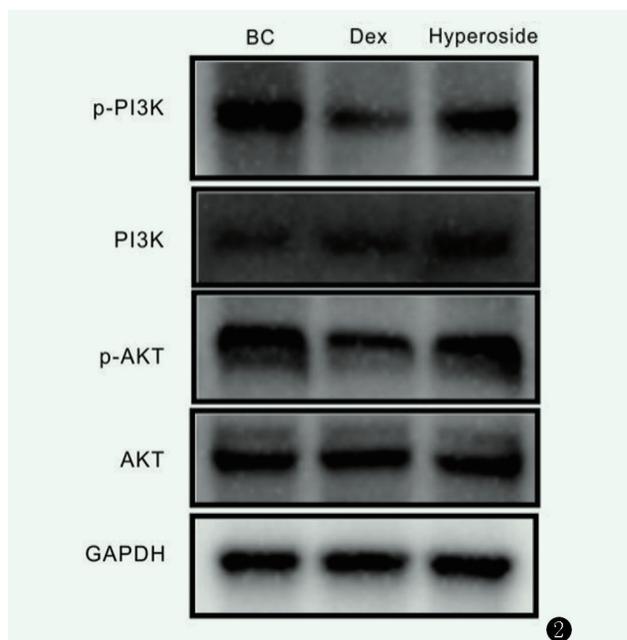


图 2 Western blot 检测金丝桃苷对 PI3K/AKT 信号通路中 PI3K 和 AKT 及其磷酸化蛋白表达的影响与 BC 组相比, Dex 组 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 比值降低。Hyperoside 组 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 比值低于 BC 组, 高于 Dex 组。

表 2 三组细胞中 Western blot 检测结果 (n=3,  $\bar{x} \pm s$ ) 与比较

检验指标	BC 组	Dex 组	Hyperoside 组	P 值
p-PI3K/PI3K	1.0±0.2	0.4±0.1	0.8±0.1	0.004
p-AKT/AKT	1.0±0.1	0.6±0.1	0.9±0.1	0.003

## 3 讨论

成骨细胞的增殖和分化活性是骨形成的关键, 对维持骨密度和骨骼健康起着至关重要的作用<sup>[8]</sup>。GC 已被证实能够显著降低成骨细胞的活力, 促进成骨细

胞凋亡并损害其功能, 从而导致骨质疏松症的发生和进展<sup>[9]</sup>。GIOP 是最常见的继发性骨质疏松症<sup>[10]</sup>, 维持成骨细胞的活性及促进成骨分化可能是治疗 GIOP 的有效手段。

最近的研究表明, 黄酮类化合物广泛参与成骨分化和破骨分化的调节, 在骨发育和骨代谢中发挥重要的调控作用<sup>[11, 12]</sup>。据报道, 黄酮类化合物可通过 Wnt/ $\beta$ -catenin、ERK、PI3K/AKT 等多种信号通路调控成骨特异性标志物 ALP、Runx2、Osterix 的表达, 从而调节成骨分化的过程。研究表明, 漆黄素能够阻断 GSK-3 $\beta$  介导的  $\beta$ -catenin 蛋白降解, 增强  $\beta$ -catenin 的核转位来促进成骨特异性标志物 Runx2 等基因的转录, 激活 Wnt 信号通路, 从而促进成骨分化, 在体内外展现出良好的成骨活性<sup>[13]</sup>。橙皮素通过激活 ERK 信号通路增加了 ALP 活性及基质矿化, 改善了 Dex 对成骨分化的抑制作用<sup>[14]</sup>。在骨质疏松动物模型中, 槲皮素提高了骨密度, 增加骨量和骨骼的负荷及弹性, 有效阻止了卵巢切除引起的骨丢失<sup>[15]</sup>。以上研究结果表明, 黄酮类化合物有望成为治疗骨质疏松症的生物活性剂。

BMSCs 是一种多能干细胞, 可向成骨细胞分化, 在骨骼发育、组织修复和再生中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。因此, BMSCs 增殖能力和活性受到抑制是骨质疏松症发生的重要原因<sup>[17]</sup>。在本研究中, Dex 干预显著抑制了 BMSCs 的活力, 金丝桃苷的干预则有效的减轻了 Dex 诱导的 BMSCs 增殖抑制, 恢复了细胞活力, 促进了 BMSCs 的存活。ALP 是早期成骨分化的重要标志物, 基质矿化则发生在成骨分化的最后阶段, 是晚期成骨分化的重要指标<sup>[18]</sup>。本研究表明, Dex 降低了 BMSCs 中 ALP 的活性和矿化结节的形成。金丝桃苷能够提高 ALP 的活性, 上调成骨分化标志基因 ALP、Runx2 和 Osterix 的表达, 促进细胞外基质的矿化。以上结果表明, Dex 减弱了 BMSCs 的成骨矿化能力, 金丝桃苷改善了 BMSCs 的增殖活力, 并且以剂量依赖性的方式减轻 Dex 环境下的成

骨分化抑制。

为了探索金丝桃苷在 GC 环境下保护 BMSCs 的分子机制, 作者观察了金丝桃苷干预后 PI3K/AKT 信号通路的变化。PI3K/AKT 信号通路参与介导多种细胞活动, 例如免疫调节、炎症反应、肿瘤发生、细胞增殖和分化等过程<sup>[19, 20]</sup>。PI3K/AKT 信号通路是调节成骨细胞增殖和存活的重要信号通路<sup>[21, 22]</sup>。本研究发现, Dex 干预下, BMSCs 成骨分化过程中 AKT 和 PI3K 的磷酸化表达水平明显降低, 金丝桃苷的干预有效逆转了这一过程, 表明 Dex 可通过阻断 PI3K/AKT 信号通路的活化抑制 BMSCs 增殖和成骨分化。因此, 作者认为金丝桃苷通过调节 PI3K/AKT 信号通路改善 Dex 诱导的 BMSCs 增殖能力下降和成骨分化抑制。

综上所述, 本研究进一步证实了 Dex 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路的活化抑制成骨分化。金丝桃苷减轻了 Dex 对 BMSCs 成骨分化的抑制, 其机制可能与激活 PI3K/AKT 信号通路有关, 为激素引起骨质疏松的治疗提供研究方向和理论参考, 也为后期体内激素性骨质疏松动物模型的研究奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Wright NC, Looker AC, Saag KG, et al. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine [J]. *J Bone Mine Res*, 2014, 29 (11): 2520-2526.
- [2] 胡元一, 张启栋. 糖皮质激素在骨关节炎中的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2020, 28 (19): 1779-1782.
- [3] Xiao L, Zhong M, Huang Y, et al. Puerarin alleviates osteoporosis in the ovariectomy-induced mice by suppressing osteoclastogenesis via inhibition of TRAF6/ROS-dependent MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12 (21): 21706-21729.
- [4] Adhikary S, Choudhary D, Ahmad N, et al. Dietary flavonoid kaempferol inhibits glucocorticoid-induced bone loss by promoting osteoblast survival [J]. *Nutrition*, 2018, 53: 64-76.
- [5] Wei A, Song Y, Ni T, et al. Hyperoside attenuates pregnancy loss through activating autophagy and suppressing inflammation in a rat model [J]. *Life Sci*, 2020, 254: 117735.
- [6] Qiu J, Zhang T, Zhu X, et al. Hyperoside induces breast cancer cells apoptosis via ROS-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21 (1): 131.
- [7] Huang J, Tong X, Zhang L, et al. Hyperoside attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis development in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 550955.
- [8] 李晔, 孙仁义, 吕明, 等. Hdac2 转染对骨髓干细胞成骨细胞分化的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (12): 1119-1123.
- [9] 李锐湘, 李文锐. 骨质疏松性椎体骨折 PVP/PKP 术后新发骨折的相关因素 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25 (10): 907-911.
- [10] Adami G, Saag KG. Glucocorticoid-induced osteoporosis update [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2019, 31 (4): 388-393.
- [11] Ramesh P, Jagadeesan R, Sekaran S, et al. Flavonoids: classification, function, and molecular mechanisms involved in bone remodeling [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 779638.
- [12] Sekaran S, Roy A, Thangavelu L. Re-appraising the role of flavonols, flavones and flavonones on osteoblasts and osteoclasts- A review on its molecular mode of action [J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 355: 109831.
- [13] Molagoda I, Kang CH, Lee MH, et al. Fisetin promotes osteoblast differentiation and osteogenesis through GSK-3 $\beta$  phosphorylation at Ser9 and consequent beta-catenin activation, inhibiting osteoporosis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 192: 114676.
- [14] Liu L, Zheng J, Yang Y, et al. Hesperetin alleviated glucocorticoid-induced inhibition of osteogenic differentiation of BMSCs through regulating the ERK signaling pathway [J]. *Med Mol Morphol*, 2021, 54 (1): 1-7.
- [15] Yuan Z, Min J, Zhao Y, et al. Quercetin rescued TNF- $\alpha$ -induced impairments in bone marrow-derived mesenchymal stem cell osteogenesis and improved osteoporosis in rats [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10 (12): 4313-4321.
- [16] 徐翔, 吴一民, 李树文, 等. Utx 转染对骨髓间充质干细胞影响的体外研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (3): 254-259.
- [17] Rauch A, Seitz S, Baschant U, et al. Glucocorticoids suppress bone formation by attenuating osteoblast differentiation via the monomeric glucocorticoid receptor [J]. *Cell Metab*, 2010, 11 (6): 517-531.
- [18] Zhang X, Zhou C, Zha X, et al. Apigenin promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through JNK and P38 MAPK pathways [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 407 (1-2): 41-50.
- [19] Braglia L, Zavatti M, Vinceti M, et al. Deregulated PTEN/PI3K/AKT/mTOR signaling in prostate cancer: still a potential druggable target [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867 (9): 118731.
- [20] 范文斌, 包倪荣, 赵建宁. PI3K/Akt 信号通路在骨代谢中的作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2013, 21 (19): 1958-1962.
- [21] Zhao B, Peng Q, Poon E, et al. Leonurine promotes the osteoblast differentiation of rat BMSCs by activation of autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 615191.
- [22] Zhao R, Tao L, Qiu S, et al. Melatonin rescues glucocorticoid-induced inhibition of osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells via the PI3K/AKT and BMP/Smad signalling pathways [J]. *Life Sci*, 2020, 257: 118044.

(收稿:2022-10-16 修回:2023-03-23)

(同行评议专家: 陈鹏 李俊清 李兴)

(本文编辑: 宁桦)