

引用:周丹微,金露,吴彤,谢日禧,顾小琼,张新杰.牛膝丸通过PI3K/AKT通路对老年性骨质疏松症模型小鼠的干预作用[J].中医药导报,2026,32(4):18-22,54.

## 牛膝丸通过PI3K/Akt通路对老年性骨质疏松症模型小鼠的干预作用\*

周丹微<sup>1</sup>,金露<sup>1</sup>,吴彤<sup>1</sup>,谢日禧<sup>1</sup>,顾小琼<sup>1</sup>,张新杰<sup>2</sup>

(1.苏州市中西医结合医院,江苏 苏州 215101;

2.苏州市吴中区临湖镇浦庄卫生院,江苏 苏州 215101)

[摘要] 目的:研究牛膝丸对老年性骨质疏松症(SOP)小鼠的作用和机制。方法:以6只4个月龄的快速衰老对照小鼠(SAMR1)作为对照组,将18只4个月龄的快速衰老小鼠P6(SAMP6)随机分为模型组、阿仑膦酸钠组、中药组,每组6只。适应性喂养2周后,中药组小鼠灌胃牛膝丸[0.23 g/(kg·d)],阿仑膦酸钠组小鼠灌胃阿仑膦酸钠片[1.53 mg/(kg·w)],对照组、模型组小鼠灌胃生理盐水。12周后,酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测小鼠血清I型原胶原N端前肽(PINP)、骨形态发生蛋白2(BMP2)、骨碱性磷酸酶(BALP)含量;小鼠股骨组织HE染色,在显微镜下观察股骨病理学变化;使用微型CT(Micro-CT)扫描小鼠股骨,记录小鼠股骨骨密度(BMD)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁间隙(Tb.Sp)及骨体积分数(BV/TV);检测小鼠股骨生物力学,测定小鼠股骨最大载荷、最大位移及刚度水平;应用蛋白质印迹(Western blotting)法检测小鼠股骨组织Runx2相关转录因子2(RUNX2)、BMP2、磷酸化磷脂酰基醇-3-激酶(p-PI3K)、磷脂酰基醇-3-激酶(PI3K)、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、蛋白激酶B(Akt)蛋白表达水平。结果:模型组小鼠血清PINP、BMP2、BALP含量低于对照组( $P<0.01$ );中药组及阿仑膦酸钠组小鼠血清PINP、BMP2、BALP含量高于模型组( $P<0.01$ )。HE染色显示模型组小鼠骨小梁数量明显减少,间隙增宽,且不连续,断裂部位较多;对照组小鼠骨小梁数量明显多于模型组;中药组及阿仑膦酸钠组小鼠骨小梁质量明显改善,骨小梁变宽,数量增加。模型组小鼠BMD、Tb.N、BV/TV低于对照组( $P<0.01$ ),Tb.Sp高于对照组( $P<0.01$ );中药组及阿仑膦酸钠组小鼠BMD、Tb.N、BV/TV高于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),Tb.Sp低于模型组( $P<0.01$ )。模型组小鼠股骨刚度、最大载荷低于对照组( $P<0.01$ ),最大位移明显长于对照组( $P<0.01$ );中药组及阿仑膦酸钠组小鼠股骨刚度及最大载荷均明显高于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),最大位移短于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。模型组小鼠股骨组织RUNX2、BMP2蛋白相对表达量低于对照组( $P<0.01$ );中药组小鼠股骨组织RUNX2、BMP2蛋白相对表达量及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt高于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论:牛膝丸能改善SOP小鼠的骨微结构,机制可能为调节PI3K/Akt信号通路促进骨形成。

[关键词] 老年性骨质疏松症;牛膝丸;PI3K/Akt信号通路;小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)04-0018-05

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.04.004

### Effect of Niuxi Pills (牛膝丸) on Elderly Osteoporosis Model Mice through PI3K/Akt Pathway

ZHOU Danwei<sup>1</sup>, JIN Lu<sup>1</sup>, WU Tong<sup>1</sup>, XIE Rixi<sup>1</sup>, GU Xiaoqiong<sup>1</sup>, ZHANG Xinjie<sup>2</sup>

(1.Suzhou Integrated TCM & Western Medicine Hospital, Suzhou Jiangsu 215101, China; 2.Puzhuang Health Center, Linhu Town, Wuzhong District, Suzhou City, Suzhou Jiangsu 215101, China)

[Abstract] Objective: To study the effect and mechanism of Niuxi pills on senile osteoporosis (SOP) in mice. Methods: Totally 6 four-month-old senescence-accelerated mouse resistant 1 (SAMR1) were used as control group, and 18 four-month-old senescence accelerated mouse prone 6 (SAMP6) were randomly divided into model group, alendronate group and traditional Chinese medicine (TCM) group, with 6 mice in each group.

\*基金项目:苏州市临床重点病种诊疗技术专项(LCZX202344);苏州市科技发项目(SKYD2023028);苏州市吴中区科技计划项目(WZY2023023);苏州市中西医结合医院院级课题(YJ2023020)

通信作者:顾小琼,女,主任中医师,研究方向为老年骨质疏松症

After 2 weeks of adaptive feeding, the mice in TCM group were intragastrically administered with Niuxi pills at a dose of 0.23 g/(kg·d), and the mice in alendronate group was intragastrically administered with alendronate tablets at a dose of 1.53 mg/(kg·w). The mice in model group and control group were intragastrically administered with normal saline. After 12 weeks of treatment, the contents of procollagen I N-terminal propeptide (PINP), bone morphogenetic protein type 2 (BMP2), and bone alkaline phosphatase (BALP) in the serum of mice were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The femoral tissues of mice were stained using HE to observe the pathological changes of the femur under a microscope. The femurs of mice were scanned and analyzed using micro-CT (micro-CT). The parameters of bone mineral density (BMD), trabecular number (Tb.N), trabecular separation (Tb.Sp) and bone volume fraction (BV/TV) of the femur of mice were recorded. Biomechanical testing was performed on the femur of mice to determine the maximum load, maximum displacement and stiffness levels of the femur of mice. Western blotting technique was used to detect the protein expression levels of runt-related transcription factor 2 (RUNX2), BMP2, phosphorylated phosphatidylinositol-3-kinase (p-PI3K), PI3K, phosphorylated protein kinase B (p-Akt), and Akt in the femoral bone marrow of mice. Results: The serum levels of PINP, BMP2 and BALP in the model group were lower than those in control group ( $P<0.01$ ). The serum levels of PINP, BMP2 and BALP in the alendronate group and TCM group were higher than those in the model group ( $P<0.01$ ). HE staining showed that the model group mice had a significantly reduced number of trabecular bone, with widened and discontinuous intertrabecular spaces and numerous fracture sites. The control group mice had a significantly greater number of trabeculae than the model group. The TCM group and the alendronate group showed markedly improved trabecular bone quality, with widened trabeculae and increased trabecular number. The parameters of BMD, Tb.N, and BV/TV in the model group were significantly lower than those in the control group ( $P<0.01$ ), while Tb.Sp resolution was higher than that in the control group ( $P<0.01$ ). The parameters of BMD, Tb.N, and BV/TV in the TCM group and alendronate group were significantly higher than those in the model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while Tb.Sp resolution was lower than that in the model group ( $P<0.01$ ). The femoral stiffness and maximum load level of mice in the model group were lower than those in the control group ( $P<0.01$ ), while the maximum displacement was longer than that in the control group ( $P<0.01$ ). The femoral stiffness and maximum load level of mice in the TCM group and alendronate group were higher than those in the model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while the maximum displacement was shorter than that in the model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The protein expression levels of RUNX2 and BMP2 in the model group were lower than those in the control group ( $P<0.01$ ). The protein expression levels of RUNX2 and BMP2 and the ratios of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt in the femurs of mice in the TCM group were significantly higher than those in the model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Conclusion: Niuxi pills can improve bone microarchitecture in SOP mice, and the mechanism may involve regulation of the PI3K/Akt signaling pathway to promote bone formation.

[Keywords] senile osteoporosis; Niuxi pills; PI3K/Akt signaling pathway; mouse

老年性骨质疏松症(senile osteoporosis, SOP)是一种代谢性疾病,其特征主要是骨量及矿物质密度随着年龄的增长而降低,严重影响老年人群的生活质量<sup>[1]</sup>。这类疾病已成为全球性公共卫生问题,所产生的社会经济负担较重<sup>[2]</sup>。研究表明64%~69%的70岁以上人群均患有某种形式的骨质减少或骨质疏松症<sup>[3]</sup>。随着年龄增长,由骨质疏松症并发骨折的风险、发病率乃至死亡率也会随之增加。前期研究发现,以“温肾益精”为治法的督脉灸能有效缓解老年患者骨密度降低,改善疼痛、腰膝酸软等症状<sup>[4-5]</sup>。这与土材医派李中梓“温补为善”治法治疗骨痿的理论一致。李中梓在此理论基础上构建了牛膝丸。动物实验表明,牛膝丸能显著提高血清I型原胶原N端前肽(procollagen I N-terminal propeptide, PINP)、骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein type 2, BMP2)、骨碱性磷酸酶

(bone alkaline phosphatase, BALP)水平,但其具体机制尚不明确。现代研究表明磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路可以调控成骨细胞分化,在骨稳态中发挥重要作用<sup>[6-7]</sup>。因此,本研究拟探讨牛膝丸对SOP小鼠PI3K/Akt信号的影响及其抗骨质疏松效应。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 4个月龄的快速衰老对照小鼠(senescence-accelerated mouse resistant 1, SAMR1)6只,4个月龄快速衰老小鼠P6(senescence accelerated mouse prone 6, SAMP6)18只,体质量(30±5)g。小鼠均由北京大学医学部实验动物科学部提供,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2022-0012;实验动物使用许可证号:SYXK(京)2020-0035。将小鼠饲养于SPF级

屏障系统内适应性喂养2周,控制室温在(22±2)℃,光/暗周期为12/12h,相对湿度50%~60%。本实验获南京中医药大学实验动物伦理委员会批准(012071001820)。

1.2 药物 牛膝丸组成:牛膝10g,杜仲10g,菟丝子10g,肉苁蓉10g,萆薢10g,白蒺藜10g,防风10g,肉桂5g。牛膝(批号:231118)、杜仲(批号:231116)、菟丝子(批号:231212)、肉苁蓉(批号:231129)、萆薢(批号:231113)、白蒺藜(批号:231114)、防风(批号:231201)、肉桂(批号:230524)均购自苏州市天灵中药饮片有限公司,经苏州市中西医结合医院朱晓静副主任中药师鉴定为正品。苏州市中西医结合医院药剂科制丸后磨粉,用纯水配制为每毫升含4.68g生药的药液。阿仑膦酸钠片(杭州默沙东制药有限公司,批号:120472)。

1.3 试剂 PINP 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒(批号:U96-3039E)、BMP2 ELISA试剂盒(批号:U96-1413E)、BALP ELISA试剂盒(批号:U96-3040E)均购自YOBIBIO公司;Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor2,RUNX2)抗体(批号:Q13950)、BMP2抗体(批号:P12643)、PI3K抗体(批号:P27986)、磷酸化磷脂酰基醇-3-激酶(phosphophosphatidylinyl-3-kinase,p-PI3K)抗体(批号:BD-PP0224)、Akt抗体(批号:P31749)、磷酸化蛋白激酶B(phosphorylated protein kinase B,p-Akt)抗体(批号:P31749)均购自正能生物公司;GAPDH抗体(批号:10494-1-AP)、山羊抗兔IgG(批号:SA00001-2)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;HE染液(上海源叶生物科技有限公司,批号:R20570)。

1.4 主要仪器 Allsheng型全自动多功能酶标仪(杭州奥盛仪器有限公司);CKX31型倒置相差显微镜(日本Olympus光学仪器株式会社);mini Trans-blot cell型电转印槽(美国Bio Rad公司);1176型小动物Micro-CT测试仪(比利时Skyscan公司);YD-6L型生物组织包埋机、YD-1900冷冻切片机、YD-B型生物组织烤片机、YD-700型组织染色机均购自金华市益迪医疗设备有限公司。

1.5 分组与给药 6只SAMR1小鼠作为对照组。18只SAMP6小鼠随机分为模型组、阿仑膦酸钠组及中药组,每组6只。按照人与小鼠体表面积换算法及前期预实验结果<sup>[8]</sup>,中药组小鼠予牛膝丸灌胃,0.23 g/(kg·d);阿仑膦酸钠组小鼠予阿仑膦酸钠片灌胃,1.53 mg/(kg·w);其余两组小鼠予以等体积生理盐水灌胃。4组小鼠均连续干预12周,末次给药后将小鼠禁食12h,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,在手术操作台上将其平卧位固定,应用心尖采血的方式收集血液,分离并收集其股骨、胫骨组织,放置于-80℃的冰箱中保存。

1.6 观察指标

1.6.1 血清PINP、BMP2、BALP含量 给药结束后,小鼠心尖采血约0.2 mL,3 500 r/min(离心半径为8.6 cm)离心5 min,获取血清样本,按照ELISA试剂盒说明书分别检测血清PINP、BMP2、BALP含量。

1.6.2 小鼠股骨组织病理变化 将小鼠股骨标本浸泡于4%多聚甲醛中,然后用10% EDTA溶液进行去钙处理4周。标本经乙醇固定和二甲苯透明化处理后,用石蜡包埋并切为厚度

为5 μm的切片,将其置于载玻片上,切片HE染色后通过显微镜观察小鼠股骨组织病理变化。

1.6.3 骨松质形态计量学参数 使用微型CT(micro computed tomography, Micro-CT)扫描小鼠股骨,应用MicroView软件导入扫描图像序列,选取统一感兴趣区域,并对各标本选定的区域进行三维重构,提取小鼠股骨的骨密度(bone mineral density,BMD)、骨小梁数量(trabecular number,Tb.N)、骨小梁间隙(trabecular separation,Tb.Sp)及骨体积分数(bone volume fraction,BV/TV)等骨松质形态计量学参数。

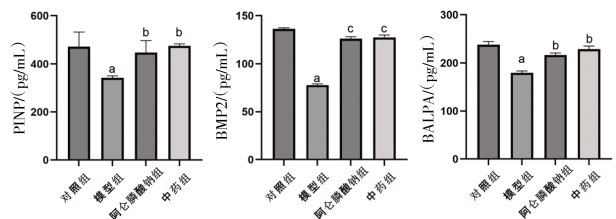
1.6.4 生物力学 利用小动物骨骼强度测定仪对小鼠股骨样本进行三点测试,两侧支架的间距为2.5 cm,固定股骨两端,进行扭转刚度实验。用载荷机头在固定股骨后对骨干中间进行三点弯曲试验,记录刚度、最大位移(mm)、最大载荷(N)。

1.6.5 股骨组织BMP2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt蛋白表达 采用Western blotting法检测股骨组织BMP2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt蛋白表达水平。使用研磨机研磨小鼠股骨标本后,用RIPA裂解液提取骨组织中的总蛋白,使用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白样品通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离后,用PVDF膜进行转膜,将其放于含5%脱脂奶粉的TBST中封闭2 h。4℃的条件下,在配制好的一抗[RUNX2(1:1 000)、BMP2(1:1 000)、PI3K(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、Akt(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)、GAPDH(1:10 000)]中孵育一夜,接着在山羊抗兔IgG二抗(1:5 000)中,室温下孵育3 h。最后通过增强型化学发光检测,利用凝胶成像系统检测目标蛋白的信号强度,采用Image J软件进行数据分析。

1.7 统计学方法 采用SPSS 27.0及Graphpad Prism 10.0软件分析实验数据,并制作图像,计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示。计量资料符合正态分布且方差齐时,多组计量资料比较采用单因素方差分析,组间比较采用LSD法;方差不齐时,组间比较采用Dunnett's T3法;不符合正态分布时,采用非参数检验,组间比较采用Kruskal Wallis H检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清小鼠PINP、BMP2、BALP含量比较 模型组小鼠血清PINP、BMP2、BALP含量低于对照组(P<0.01);中药组及阿仑膦酸钠组小鼠血清PINP、BMP2、BALP含量高于模型组(P<0.01)。(见图1)



注:与对照组比较,\*P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

图1 各组小鼠血清 PINP、BMP2、BALP 含量比较 (x̄±s,n=6)

2.2 各组小鼠股骨病理变化 模型组小鼠骨小梁数量明显减少,间隙增宽,且不连续,断裂部位较多;对照组小鼠骨小梁数量明显多于模型组,且骨小梁之间较为连续;中药组及

阿仑膦酸钠组小鼠骨小梁质量明显改善,表现为骨小梁变宽,且数量增多,骨小梁的连续性增加。(见图2)

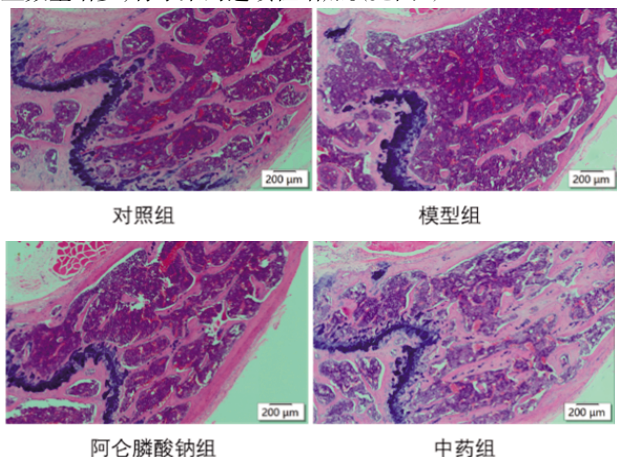
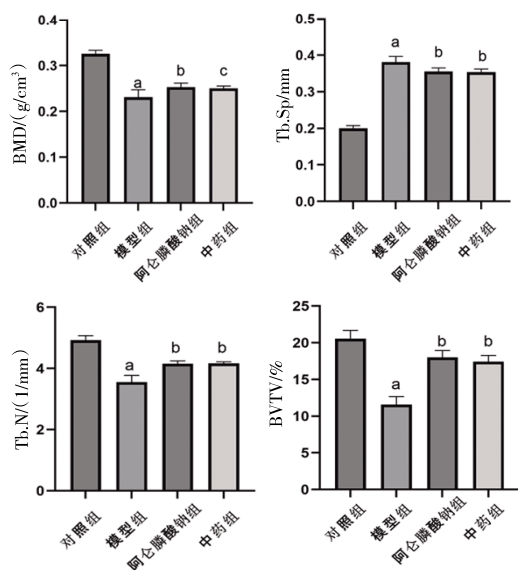


图2 各组小鼠股骨的组织病理变化 (HE染色, ×20)

2.3 各组小鼠股骨骨微结构指标比较 模型组小鼠BMD、Tb.N、BV/TV低于对照组 ( $P<0.01$ ), Tb.Sp高于对照组 ( $P<0.01$ ); 中药组及阿仑膦酸钠组小鼠BMD、Tb.N、BV/TV高于模型组 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), Tb.Sp低于模型组 ( $P<0.01$ )。(见图3)

小鼠股骨Micro-CT的二维图、三维图显示,模型组小鼠骨小梁数量少,稀疏,不连续;中药组小鼠骨小梁数量明显增加,较为连续。(见图4)



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

图3 各组小鼠股骨骨微结构指标比较 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

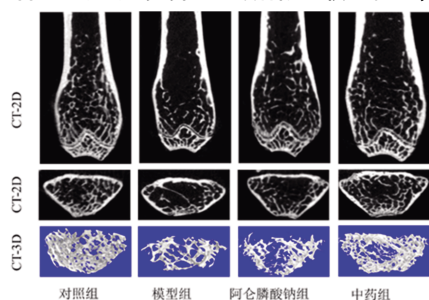
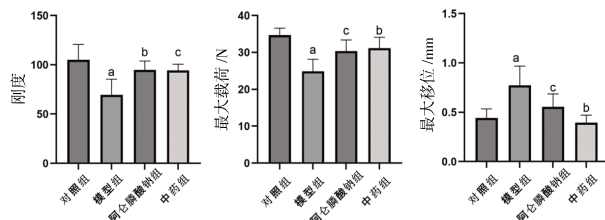


图4 各组小鼠股骨 Micro-CT 二维、三维重建图

2.4 各组小鼠股骨生物力学相关指标比较 模型组小鼠股骨刚度、最大载荷低于对照组 ( $P<0.01$ ),最大位移长于对照组 ( $P<0.01$ );中药组及阿仑膦酸钠组小鼠股骨刚度、最大载荷均明显高于模型组 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),最大位移短于模型组 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。(见图5)



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

图5 各组小鼠股骨刚度、最大载力、最大位移比较 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

2.5 各组小鼠股骨组织RUNX2、BMP2蛋白相对表达量及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比较 模型组小鼠股骨组织RUNX2、BMP2蛋白相对表达量及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt低于对照组 ( $P<0.01$ );中药组及阿仑膦酸钠组小鼠股骨组织RUNX2、BMP2蛋白相对表达量及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt高于模型组 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。(见图6~7)

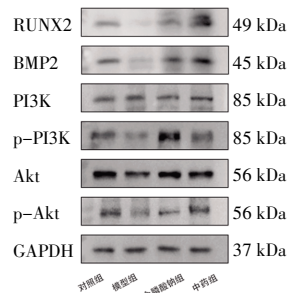
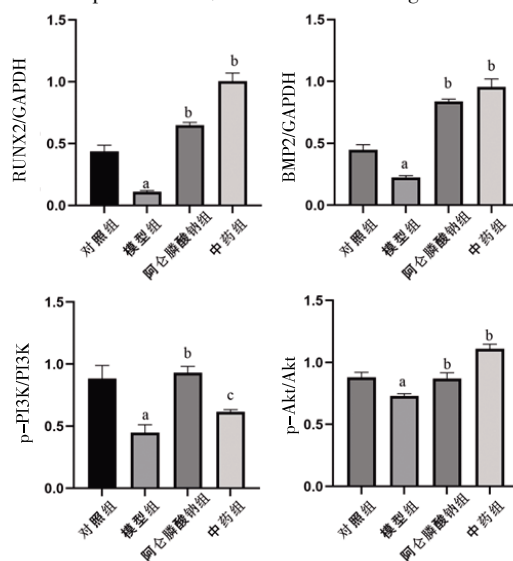


图6 各组小鼠股骨组织 RUNX2、BMP2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达 Western blotting 图



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

图7 各组小鼠股骨组织 RUNX2、BMP2 蛋白相对表达量及 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比较 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

### 3 讨论

SOP在中医学中属“骨痿”范畴。《医宗必读》言：“肾痿者，骨痿也。”人至老年，肾精虚少，骨髓生化不足，骨失濡养，则发骨痿。SOP的病位在肾，“肾虚髓减”是SOP的主要病机。后世医家多以补肾作为治疗SOP的基本大法<sup>[9]</sup>。明代著名温补学派代表李中梓提出“治肾不泥于滋腻呆滞”<sup>[10]</sup>，其在遵从阴阳平衡关系的基础上，更强调阳气的重要性<sup>[11]</sup>，故“温肾益精”为SOP的治疗大法。这与李中梓运用牛膝丸治疗骨痿的治法相切合。牛膝丸中牛膝酸、平，具有壮筋骨、强腰膝、益精强阴之功效，为君药。杜仲、菟丝子、肉苁蓉共为臣药。其中杜仲辛、甘、温，强筋壮骨，益肾填精；菟丝子甘、平，助阳坚骨；肉苁蓉甘、咸、温，李中梓称其为滋肾补精之首药。萆薢、防风、白蒺藜共为佐药。其中萆薢渗湿，以安水脏；防风为风药之润剂，助萆薢胜湿而不燥；白蒺藜助防风祛风。肉桂辛甘大热，具有补下焦肾阳、坚筋骨、强阳道之功效，为使药。李中梓称其为助火之助。此方功效虽是补阳，但不是一味峻补，而是温补。整方温肾益精，补髓壮骨。

前期研究表明，骨量减少患者血清中PINP、BALP偏低，以“温肾益精”为治法的督脉灸可以提高其血清中PINP、BALP的水平，并明显缓解老年骨质疏松症患者的临床症状<sup>[4-5]</sup>。这提示遵循“温肾益精”的治法可以显著改善骨代谢，促进骨形成。此外，牛膝丸联合西药可升高骨质疏松症患者血清中的PINP、ALP水平。这与其他研究者的结果相似，如温补肾阳的中成药联合西药可提高骨质疏松症患者血清中PINP水平，缓解腰背部疼痛症状<sup>[12]</sup>。此外，牛膝丸含药血清可以上调成骨因子ALP、RUNX2表达，促进大鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)的增殖和成骨分化<sup>[13]</sup>。

为了进一步开展对衰老相关疾病的探索，有学者研究出了加速衰老小鼠(SAM)的实验小鼠模型。该类小鼠由易衰老(SAMP)和抗衰老(SAMR)两种小鼠近交组成<sup>[14]</sup>。其中，SAMP6系列小鼠是老年性骨质疏松症的自发实验模型鼠<sup>[15]</sup>，此类小鼠与人类老年性骨质疏松症患者的病理变化极为相似<sup>[16]</sup>。本研究结果表明，中药组小鼠血清中PINP、BMP2、BALP水平、股骨刚度及BMD等指标高于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。此外，中药组小鼠骨小梁数量增多变宽，骨小梁连续性增加。这些结果证实牛膝丸能显著上调血清成骨标志物，增强SOP模型小鼠骨骼的刚度，改善骨质及形态。中药组小鼠股骨组织p-PI3K/PI3K和p-Akt/Akt高于模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )，表明PI3K/Akt信号通路被激活。此外，中药组小鼠股骨组织成骨蛋白RUNX2及BMP2蛋白相对表达量高于模型组。这些实验结果与现有文献报告结果一致。骨碎补酮可以激活PI3K/Akt通路，调节去卵巢(OVX)大鼠骨代谢，改善骨质疏松症<sup>[17]</sup>。

骨形成减少是SOP的典型病理表现，其主要原因之一就是随着年龄的增长，成骨细胞分化受损，细胞衰老<sup>[18]</sup>。而成骨分化又受多种信号通路及转录因子的影响<sup>[18]</sup>。PI3K/Akt作为一种典型的信号通路，在骨代谢及骨稳态中具有重要作用<sup>[7,19]</sup>。研究表明，激活PI3K/Akt信号通路可以增强间充质干细胞对于BMP2、RUNX2等成骨细胞转录因子的应答，促进其向成骨细胞分化<sup>[20-21]</sup>，上调ALP及PINP等成骨相关基因的表达<sup>[16-7,22-23]</sup>。

综上所述，牛膝丸能改善SOP小鼠的骨微结构，机制可能为调节PI3K/Akt信号通路促进骨形成。本研究仍存在局限：本研究仅关注PI3K/Akt通路在牛膝丸治疗老年性骨质疏松症中的作用，并未考虑其他信号通路或机制。此外，本研究仅使用SAMP6小鼠作为模型。未来的研究应探索其他骨质疏松症模型(如糖皮质激素诱导的骨质疏松症或绝经后骨质疏松症)，以评估牛膝丸的适用性。因此，后续研究可以探讨牛膝丸的药理学机制及其在不同类型骨质疏松症中的疗效和安全性，旨在为治疗提供更全面的理论基础和实验依据。

### 参考文献

- [1] GONZÁLEZ-GONZÁLEZ A, ÁLVAREZ-IGLESIAS I, GARCÍA-SÁNCHEZ D, et al. Paracrine activity of Smurf1-silenced mesenchymal stem cells enhances bone regeneration and reduces bone loss in postmenopausal osteoporosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2025, 16(1): 50.
- [2] YADAV V K, BALAJI S, SURESH P S, et al. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis[J]. Nat Med, 2010, 16(3): 308-312.
- [3] CHANDRA A, RAJAWAT J. Skeletal aging and osteoporosis: Mechanisms and therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3553.
- [4] 金露, 周丹微, 谢日禧, 等. 督灸防治脾肾阳虚型老年低骨量患者40例疗效评价[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2025, 33(5): 85-88.
- [5] 李海勇, 方梅, 卢慧, 等. 督灸治疗脾肾阳虚型原发性骨质疏松症79例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2023, 31(1): 66-68.
- [6] ZHAO S J, KONG F Q, JIE J, et al. Macrophage MSR1 promotes BMSC osteogenic differentiation and M2-like polarization by activating PI3K/AKT/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin pathway[J]. Theranostics, 2020, 10(1): 17-35.
- [7] LI C S, YANG P P, LIU B, et al. Prednisolone induces osteocytes apoptosis by promoting Notum expression and inhibiting PI3K/AKT/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin pathway[J]. J Mol Histol, 2021, 52(5): 1081-1095.
- [8] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [9] 温经渊, 曾哈冰, 吴连国, 等. 骨质疏松症中医辨证分型研究进展[J]. 安徽中医药大学学报, 2021, 40(5): 101-104.
- [10] 王蓓蓓. 中医历代名家学术研究丛书-李中梓[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 141-142.
- [11] 金子开, 郭子为, 张思雅, 等. 李中梓痿证诊疗思想探微[J]. 河南中医, 2021, 41(1): 36-39.
- [12] 牛建明. 骨松宝颗粒联合阿仑膦酸钠治疗肾阳虚型绝经后骨质疏松症的临床研究[D]. 承德: 承德医学院, 2023.
- [13] 吴秀丽, 阎晓霞, 任之强, 等. 牛膝丸含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化的影响及其作用机制[J]. 中医正骨, 2024, 36(10): 10-17.

(下转第54页)

- [18] MAO S, TIAN S N, LUO X H, et al. Overexpression of PLK1 relieved the myocardial ischemia-reperfusion injury of rats through inducing the mitophagy and regulating the p-AMPK/FUNDC1 axis[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1):2676-2687.
- [19] QI H P, REN J, BA L N, et al. MSTN attenuates cardiac hypertrophy through inhibition of excessive cardiac autophagy by blocking AMPK/mTOR and miR-128/PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19:507-522.
- [20] 吴雁泽,熊文俊.PINK1/parkin信号通路介导的线粒体自噬在心力衰竭中的作用[J].*中国病理生理杂志*, 2021, 37(10):1894-1899.
- [21] GUAN S B, XIN Y F, DING Y G, et al. Ginsenoside Rg1 protects against cardiac remodeling in heart failure via SIRT1/PINK1/parkin-mediated mitophagy[J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(2):e202200730.
- [22] 陈乘波,陈天宝,许友榜.川芎嗪通过JAK2/STAT3信号通路调节线粒体自噬减轻心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J].*中国免疫学杂志*, 2021, 37(7):819-823.
- [23] 邸松蕊,朱映黎,李一芄,等.基于药证相应探讨附子对虚寒、虚热证候一氧化氮/线粒体能量代谢信号通路的影响[J].*中华中医药杂志*, 2024, 39(8):3996-4001.
- [24] 谢丽钰,卢健棋,罗宇东,等.桂枝及桂枝类方治疗心血管疾病研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(7):82-86.
- [25] 杨敏,雷瑗琳,张立,等.益心附葶饮对心衰大鼠心肌能量代谢的影响[J].*临床医学研究与实践*, 2023, 8(28):22-25, 150.
- [26] 吴梦瑶,张卉,王陆,等.线粒体自噬受体蛋白BNIP3的研究进展[J].*中国病理生理杂志*, 2023, 39(3):534-542.
- [27] LI Y, WANG Y A, KIM E, et al. Bnip3 mediates the hypoxia-induced inhibition on mammalian target of rapamycin by interacting with Rheb[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(49):35803-35813.
- [28] SHIRES S E, GUSTAFSSON Å B. Mitophagy and heart failure[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2015, 93(3):253-262.
- [29] CHEN Y M, CHANG C Y, CHEN H H, et al. Association between autophagy and inflammation in patients with rheumatoid arthritis receiving biologic therapy[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1):268.
- [30] 顾超,杨家龙,舒超,等.FOXM1c调控选择性自噬接头蛋白p62启动子活性的研究[J].*塔里木大学学报*, 2024, 36(4):98-104.
- [31] 曾小芳.Becn1-1敲除抑制非经典线粒体自噬改善高脂诱导的心肌损伤[D].长沙:中南大学, 2023.
- [32] 卢少华,庄海霞,朱晨,等.线粒体自噬在心血管疾病中的作用[J].*中国病理生理杂志*, 2025, 41(1):142-156.

(收稿日期:2025-06-16 编辑:刘国华)

(上接第22页)

- [14] 孙婉玉,黄敏,成金罗,等.温暖暴露对SAMP6小鼠骨密度及CTX-1和ALP水平的影响[J].*中国老年学杂志*, 2024, 44(22):5544-5547.
- [15] 张玉凤,吴小红,辜向东,等.老年性骨质疏松模型小鼠的颅骨增龄性变化[J].*动物医学进展*, 2015, 36(4):73-78.
- [16] AZUMA K, ZHOU Q, KUBO K Y. Morphological and molecular characterization of the senile osteoporosis in senescence-accelerated mouse prone 6 (SAMP6)[J]. *Med Mol Morphol*, 2018, 51(3):139-146.
- [17] TAN C, CONG S B, XIE Y M, et al. Mechanistic integration of network pharmacology and in vivo validation: TFRD combat osteoporosis via PI3K/AKT pathway activation[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(8):3650.
- [18] WANG Y G, QU X H, YANG Y, et al. AMPK promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis through AMPK-Gli1-OPN axis[J]. *Cell Signal*, 2016, 28(9):1270-1282.
- [19] REN M X, LIU H D, JIANG W K, et al. Melatonin repairs osteoporotic bone defects in iron-overloaded rats through PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$ /P70S6k signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2023, 2023:7718155.
- [20] ZHANG R R, OYAJOBIB O, HARRIS S E, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling activates bone morphogenetic protein 2 expression in osteoblasts[J]. *Bone*, 2013, 52(1):145-156.
- [21] GAUR T, LENGNER C J, HOVHANNISYAN H, et al. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(39):33132-33140.
- [22] LI H B, YANG C L, LAN M, et al. Arctigenin promotes bone formation involving PI3K/Akt/PPAR $\gamma$  signaling pathway[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2020, 95(4):451-459.
- [23] 刘志恒,武永刚,阿日奔吉日嘎拉,等.骨碎补总黄酮通过调控PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B信号通路对老年骨质疏松大鼠的影响[J].*中国老年学杂志*, 2025, 45(15):3688-3692.

(收稿日期:2025-07-14 编辑:蒋凯彪)