

红芪多糖对骨髓间充质干细胞和成骨细胞的影响

赵良功^{1,2}, 方瑶瑶³, 刘小花³, 封士兰^{3*}

1. 甘肃省骨关节疾病研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

2. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730000

3. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000

摘要: 目的 研究 3 种新型红芪多糖 (HPS-1、HPS-2、HPS-3) 对大鼠骨髓间充质干细胞 rBMSCs 和颅骨成骨细胞 ROBs 成骨性分化的影响。方法 采用 MTT 法检测 rBMSCs 细胞和 ROBs 细胞增殖; 采用碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 试剂盒检测 rBMSCs 细胞和 ROBs 细胞的 ALP 活性; 采用茜素红染法检测 rBMSCs 和 ROBs 细胞矿化结节的形成情况。结果 HPS-1 (20、50 $\mu\text{g/mL}$) 作用 48 h 显著促进 rBMSCs 细胞增殖 ($P < 0.05$ 、 0.01), HPS-1 (20 $\mu\text{g/mL}$) 作用 48 h 显著促进 ROBs 细胞增殖 ($P < 0.01$); HPS-2 和 HPS-3 对 2 种细胞的增殖无促进作用。HPS-1 (50、100 $\mu\text{g/mL}$) 显著升高 rBMSCs 细胞的 ALP 活性 ($P < 0.01$), HPS-1 (10、20、50 $\mu\text{g/mL}$) 显著升高 ROBs 细胞的 ALP 活性 ($P < 0.05$ 、 0.01); HPS-3 (50 $\mu\text{g/mL}$) 显著升高 rBMSCs 细胞的 ALP 活性 ($P < 0.05$), HPS-2 对 2 种细胞 ALP 活性没有促进作用。HPS-1 显著增加 rBMSCs 和 ROBs 细胞中钙化结节面积和数量 ($P < 0.01$), HPS-2 和 HPS-3 对 rBMSCs 和 ROBs 细胞钙化结节的形成没有促进作用。结论 HPS-1 可增强 rBMSCs 和 ROBs 细胞 ALP 活性和成骨相关因子表达, 并显著促进 rBMSCs 和 ROBs 细胞分化、矿化。

关键词: 红芪多糖; 成骨分化; 骨髓间充质干细胞; 颅骨成骨细胞; 碱性磷酸酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)02-0432-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.016

Effects of hedysarum polysaccharides on osteogenic differentiation of rBMSCs and ROBs

ZHAO Liang-gong^{1,2}, FANG Yao-yao³, LIU Xiao-hua³, FENG Shi-lan³

1. Gansu Provincial Key Laboratory of Bone and Joint Diseases, Lanzhou 730000, China

2. Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730000, China

3. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of hedysarum polysaccharides (HPS-1, HPS-2, HPS-3) on promoting osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells (rBMSCs) and rat calvarial osteoblasts (ROBs). **Methods** MTT assay was used to detect the proliferation of rBMSCs and ROBs. Alkaline phosphatase (ALP) activity of rBMSCs and ROBs were detected by ALP kit. Mineralized nodule formation of rBMSCs and ROBs was detected by alizarin red S staining. **Results** HPS-1 (20, 50 $\mu\text{g/mL}$) significantly promoted the proliferation of rBMSCs ($P < 0.05$, 0.01), HPS-1 (20 $\mu\text{g/mL}$) significantly promoted the proliferation of ROBs ($P < 0.01$), HPS-2 and HPS-3 had no influence on promoting the proliferation of rBMSCs and ROBs. HPS-1 (50, 100 $\mu\text{g/mL}$) significantly increased ALP activity in rBMSCs ($P < 0.01$), HPS-1 (10, 20, 50 $\mu\text{g/mL}$) significantly increased ALP activity in ROBs ($P < 0.05$, 0.01), HPS-3 (50 $\mu\text{g/mL}$) significantly increased ALP activity in rBMSCs ($P < 0.05$). HPS-2 had no influence on increasing ALP activity in rBMSCs and ROBs. HPS-1 significantly increased the area and number of calcified nodules of rBMSCs and ROBs ($P < 0.01$), HPS-2 and HPS-3 had no influence on promoting the formation of calcified nodules of rBMSCs and ROBs. **Conclusion** HPS-1 could enhance the cell activity and osteogenesis-related factor expression, and significantly promote the differentiation and mineralization of rBMSCs and ROBs cells.

Key words: hedysarum polysaccharides; osteogenic differentiation; bone marrow stromal cells; calvarial osteoblasts; alkaline phosphatase

收稿日期: 2020-07-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703664)

作者简介: 赵良功 (1986—), 男, 博士, 主治医师, 从事骨关节退行性疾病的治疗。E-mail: Lzxtj2008@hotmail.com

*通信作者: 封士兰 (1957—), 博士, 教授, 从事中草药及中药制剂中化学成分分离分析研究。E-mail: fengshl@lzu.edu.cn

红芪是豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根,为甘肃省的道地药材。红芪的主要成分包括多糖类、黄酮类、皂苷类、多种氨基酸类等,其中红芪多糖(hedysarum polysaccharides, HPS)是红芪的主要药效成分,具有提高免疫力、抗衰老、抗肝纤维化、抗氧化等药理作用^[1]。课题组前期研究发现经传统水提法分离纯化的红芪多糖 HPS3d 可促进成骨细胞增殖分化,具有防治骨质疏松的潜质^[2]。传统的水提法提取率低、溶解度差、后期纯化困难,课题组采用复合酶联合超声提取工艺显著提高了红芪粗多糖的得率和含量^[3];红芪粗多糖采用 DEAE-52 柱色谱分离纯化,用蒸馏水及 0.1、0.3 mol/L 氯化钠溶液依次洗脱,得到 3 种免疫活性较好的均质性多糖组分(HPS-1、HPS-2、HPS-3)^[4]。气相色谱分析表明,3 种新型多糖均由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖 5 种单糖组成,HPS3d 不含甘露糖;3 种新型多糖蛋白质含量均低于 HPS3d;HPS-1 多糖含量高于 HPS3d 且相对分子质量远小于 HPS3d^[2,4]。本研究探讨 3 种新型红芪多糖(HPS-1、HPS-2、HPS-3)对大鼠骨髓间充质干细胞 rBMSCs 和颅骨成骨细胞 ROBs 增殖、分化和矿化的影响,为红芪多糖的后续研究开发奠定基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠,1 月龄,体质量 120~170 g; SPF 级出生 48 h 以内的 SD 大鼠乳鼠,体质量 25~30 g,均由兰州大学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(甘)2013-0002。动物分笼饲养,3 只/笼,在(22±2)℃、12 h 光/暗周期、相对湿度(50±5)%下,自由饮食饮水,适应性饲养 1 周。所有程序和实验规程均经兰州大学动物保护与使用伦理委员会批准,批准号 SCXK(GaN)2018-0002,并按照国际标准和动物福利道德准则进行。

1.2 药品与试剂

胎牛血清购自 Clark 公司;II 型胶原酶购自 Biosharp 公司;青霉素、链霉素、DMEM 培养基、DMEM/F12 培养基,购自 Hyclone 公司;0.25%胰蛋白酶、柠檬酸、地塞米松(质量分数为 98%)、抗坏血酸、柠檬酸钠、 β -甘油磷酸钠均购自索莱宝公司;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)试剂盒(批号 20180614)购自南京建成生物工程研究所;木瓜蛋白酶、纤维素酶,购自上海麦克林生化

科技有限公司;95%乙醇、醋酸乙酯均为分析纯。

1.3 仪器

BS224S/BP211D 电子分析天平(德国 Sartorius 公司);XK96-6 调速平板振荡器(姜堰市新康医疗器械有限公司);KQ-3200DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);CKX53 倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司);CO-150 型 CO₂ 细胞培养箱(美国 LabServ 公司);DK-98-II 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);Vaioskan Flash 多功能酶标仪(美国赛默飞世尔公司);移液枪(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 红芪多糖的制备

采用复合酶联合超声提取法制备得到红芪粗多糖^[3,5]。将红芪粗多糖加适量蒸馏水溶解后,经 DEAE-52 柱分离纯化,用蒸馏水及 0.1、0.3 mol/L 氯化钠溶液依次洗脱,得到 3 种多糖组分,分别为 HPS-1、HPS-2、HPS-3,多糖质量分数分别为 96.44%、98.02%、95.20%。

2.2 rBMSCs 细胞和 ROBs 细胞的分离培养

2.2.1 贴壁分离法体外培养 rBMSCs 细胞 SD 大鼠脱颈椎处死,75%酒精浸泡消毒 10 min,无菌剥离股骨和胫骨,剪去两端骨髓,将 DMEM/F12 培养基(含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素、1000 U/mL 链霉素)注入骨髓腔并反复冲洗,收集细胞悬液,过 200 目细胞筛得到单细胞悬液。调整细胞密度为 1×10^7 /mL,接种于 25 cm² 培养瓶中,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,次日更换培养基,之后每 2 天用无菌磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,并更换培养基。当细胞融合度达到 80% 以上时,以 0.25% 胰蛋白酶消化传代用于后续实验。

2.2.2 酶消化法体外分离培养 ROBs 细胞 新生 SD 大鼠乳鼠,75%酒精浸泡消毒 10 min,无菌取颅骨,剔除血管和结缔组织,无菌 PBS 冲洗 2 次,将颅骨剪碎至约 1 mm³。碎骨片装入无菌培养瓶中,加入胰蛋白酶(0.5 mg/mL)于 37℃ 振荡消化 2 次,10 min/次,弃去消化液;加入 II 型胶原酶(1 mg/mL)于 37℃ 振荡消化 6 次,15 min/次。收集最后 4 次消化液,过 200 目细胞筛除去骨碎片,将单细胞悬液调整至细胞密度为 3×10^4 /mL,接种于 25 cm² 培养瓶中。于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,次日更换培养基,之后每 2 天用无菌磷酸盐缓冲液洗涤 3 次。当细胞融合度达到 80% 以上时,以 0.25% 胰蛋白酶消化传代用于后续实验^[6]。

2.3 药物的配制

分别精密称取 HPS-1、HPS-2、HPS-3，溶解于培养基中，分别制成质量浓度为 1、5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。

2.4 红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞增殖的影响

分别取处于对数生长期的 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞，以 1×10^4 /孔接种于 96 孔板，细胞贴壁后，分别加入 100 μL HPS-1 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-2 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-3 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)，对照组加入不含药物的培养基，培养 24 h 或 48 h，避光加入 10 μL MTT，孵育 4 h，弃去培养基，加入 100 μL DMSO，振荡溶解结晶，用酶标仪测定 490 nm 处吸光度值。

2.5 红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞 ALP 活性的影响

分别取第 1 代 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞，以 1×10^4 /孔密度接种于 12 孔板，细胞生长接近融合时，更换成骨诱导培养基 (含 1×10^{-8} mol/L 地塞米松、10 mmol/L β -甘油磷酸钠、50 mg/L 抗坏血酸)，分别加入 100 μL HPS-1 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-2 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-3 (5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$)，对照组加入不含药物的培养基，每 3 天更换 1 次诱导培养基，连续培养 8 d 后，按照 ALP 试剂盒说明书检

测 ALP 活性^[7]。

2.6 红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞钙化结节的影响

分别取第 1 代 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞，以 1×10^4 /孔密度接种于 12 孔板，待细胞生长接近融合时，更换成骨诱导培养基，rBMSCs 细胞分别加入 100 μL HPS-1 (50 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-2 (50 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-3 (50 $\mu\text{g/mL}$)，ROB 细胞分别加入 100 μL HPS-1 (20 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-2 (20 $\mu\text{g/mL}$)、HPS-3 (20 $\mu\text{g/mL}$)，对照组加入不含药物的培养基，每 3 天更换 1 次培养液，连续培养 12 d，采用选择性结合钙的茜素红染色法检测钙化结节的形成情况，并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件统计钙化结节染色阳性区域的面积和数量。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件统计并分析，各组数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞增殖的影响

如表 1 所示，与对照组比较，20、50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 显著促进 rBMSCs 和 ROB 细胞增殖 ($P < 0.05, 0.01$)；HPS-2 和 HPS-3 对 rBMSCs 和 ROB 细胞增殖没有促进作用，且 200 $\mu\text{g/mL}$ HPS-2 显著抑制 rBMSCs 细胞增殖 ($P < 0.05, 0.01$)，200 $\mu\text{g/mL}$ HPS-3 显著抑制 rBMSCs 和 ROB 细胞增殖 ($P < 0.05, 0.01$)。

表 1 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of three HPS on cell proliferation of rBMSCs and ROB ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药物	质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	rBMSCs 增殖率/%		ROB 增殖率/%	
		24 h	48 h	24 h	48 h
对照	—	100.00 $\pm$ 3.22	100.00 $\pm$ 4.38	100.00 $\pm$ 2.03	100.00 $\pm$ 5.77
HPS-1	5	101.20 $\pm$ 9.54	99.61 $\pm$ 1.43	101.20 $\pm$ 0.73	100.30 $\pm$ 3.28
	10	101.50 $\pm$ 5.31	110.70 $\pm$ 11.07	101.30 $\pm$ 3.01	102.30 $\pm$ 3.42
	20	109.50 $\pm$ 7.04	118.40 $\pm$ 4.68*	101.40 $\pm$ 1.51	110.30 $\pm$ 3.76**
	50	110.20 $\pm$ 3.38*	136.70 $\pm$ 8.66**	103.60 $\pm$ 1.46*	104.20 $\pm$ 4.03
	100	103.80 $\pm$ 4.73	111.80 $\pm$ 13.46	101.90 $\pm$ 1.61	102.10 $\pm$ 3.23
	200	100.60 $\pm$ 2.67	97.64 $\pm$ 4.54	99.24 $\pm$ 2.13	98.46 $\pm$ 4.34
HPS-2	5	99.55 $\pm$ 4.84	95.37 $\pm$ 3.17	99.42 $\pm$ 2.18	100.60 $\pm$ 2.32
	10	100.20 $\pm$ 5.10	96.15 $\pm$ 2.47	100.10 $\pm$ 3.41	100.20 $\pm$ 7.21
	20	98.64 $\pm$ 3.67	95.53 $\pm$ 2.84	100.40 $\pm$ 2.47	103.30 $\pm$ 4.19
	50	97.74 $\pm$ 5.41	95.68 $\pm$ 2.41	98.58 $\pm$ 1.80	98.46 $\pm$ 2.50
	100	96.72 $\pm$ 1.67	94.24 $\pm$ 8.96	97.03 $\pm$ 2.96	95.39 $\pm$ 3.10
	200	88.02 $\pm$ 5.19*	80.53 $\pm$ 3.08**	97.35 $\pm$ 2.16	95.13 $\pm$ 4.34
HPS-3	5	96.79 $\pm$ 2.28	96.78 $\pm$ 4.36	100.30 $\pm$ 3.47	100.10 $\pm$ 2.05
	10	100.60 $\pm$ 6.13	99.45 $\pm$ 2.36	97.96 $\pm$ 2.65	100.40 $\pm$ 2.06
	20	101.70 $\pm$ 5.00	101.90 $\pm$ 6.62	98.71 $\pm$ 5.01	96.48 $\pm$ 2.82
	50	102.90 $\pm$ 7.33	106.40 $\pm$ 7.11	100.30 $\pm$ 6.20	96.32 $\pm$ 2.69
	100	99.78 $\pm$ 4.74	94.66 $\pm$ 2.35	97.07 $\pm$ 4.29	95.64 $\pm$ 3.15
	200	98.93 $\pm$ 2.51	90.11 $\pm$ 1.83**	92.65 $\pm$ 3.26*	93.47 $\pm$ 3.34*

与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ，下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below tables

3.2 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞 ALP 活性的影响

ALP 活性的提高是骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的重要标志。如表 2 所示,与对照组比较,50、100 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 显著升高 rBMSCs 细胞中 ALP 活性 ($P<0.01$),10、20、50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 显著升高 ROB 细胞中 ALP 活性 ($P<0.05$ 、 0.01);200 $\mu\text{g/mL}$ HPS-2 显著降低 rBMSCs 细胞中 ALP 活性 ($P<0.01$);50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-3 显著升高 rBMSCs 细胞中 ALP 活性 ($P<0.05$),50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-3 显著升高 rBMSCs 细胞中 ALP 活性 ($P<0.05$),200 $\mu\text{g/mL}$ HPS-3 显著降低 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞中 ALP 活性 ($P<0.05$ 、 0.01),100 $\mu\text{g/mL}$ HPS-3 显著降低 ROB 细胞中 ALP 活性 ($P<0.01$)。

表 2 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞 ALP 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of three HPS on ALP activity in rBMSCs and ROB ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药物	质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	ALP/($\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	
		rBMSCs 细胞	ROBs 细胞
对照	—	179.79 $\pm$ 9.09	564.99 $\pm$ 2.01
HPS-1	5	175.93 $\pm$ 7.48	569.56 $\pm$ 3.64
	10	180.89 $\pm$ 9.59	572.49 $\pm$ 4.31*
	20	185.77 $\pm$ 6.80	601.16 $\pm$ 8.05**
	50	205.46 $\pm$ 1.65**	594.08 $\pm$ 2.16**
	100	203.93 $\pm$ 2.91**	565.42 $\pm$ 3.37
	200	178.78 $\pm$ 4.54	562.78 $\pm$ 2.72
HPS-2	5	180.55 $\pm$ 8.05	563.74 $\pm$ 5.32
	10	184.91 $\pm$ 4.68	562.87 $\pm$ 3.80
	20	185.85 $\pm$ 2.33	564.08 $\pm$ 2.32
	50	185.14 $\pm$ 3.31	558.28 $\pm$ 6.69
	100	175.13 $\pm$ 0.58	557.16 $\pm$ 7.34
	200	149.60 $\pm$ 3.49**	531.89 $\pm$ 5.74
HPS-3	5	177.70 $\pm$ 4.30	564.83 $\pm$ 3.01
	10	178.05 $\pm$ 6.35	563.72 $\pm$ 2.55
	20	184.19 $\pm$ 5.78	565.31 $\pm$ 2.07
	50	192.13 $\pm$ 3.65*	561.04 $\pm$ 7.15
	100	181.47 $\pm$ 1.52	551.78 $\pm$ 7.37**
	200	168.57 $\pm$ 3.35*	548.98 $\pm$ 6.61**

3.3 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞钙化结节形成的影响

钙化结节的形成是成骨细胞成熟的标志之一。如图 1 所示,与对照组比较,HPS-1 (50 $\mu\text{g/mL}$) 显著增加 rBMSCs 细胞中钙化结节的数量和面积 ($P<0.01$),HPS-2 (50 $\mu\text{g/mL}$) 显著减少 rBMSCs 细胞中钙化结节的数量 ($P<0.01$),HPS-3 对 rBMSCs 细胞钙化结节的形成没有影响。如图 2 所示,与对照组比较,HPS-1 显著增加 ROB 细胞中

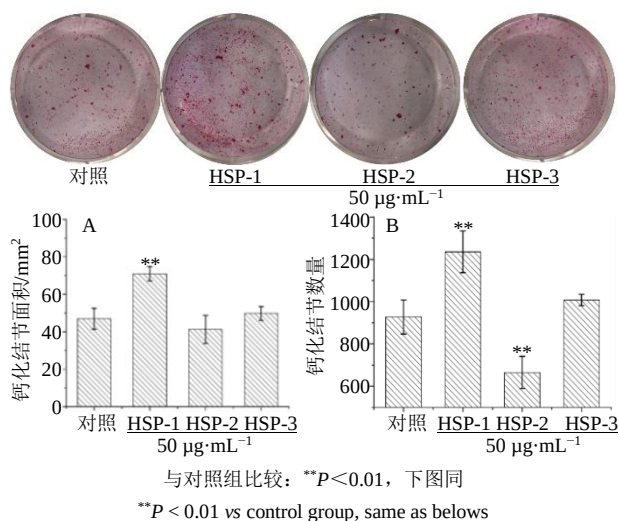


图 1 3 种红芪多糖对 rBMSCs 细胞钙化结节面积 (A) 和数量 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Effect of three HPS on calcified nodules area (A) and number (B) in rBMSCs ($\bar{x} \pm s, n=3$)

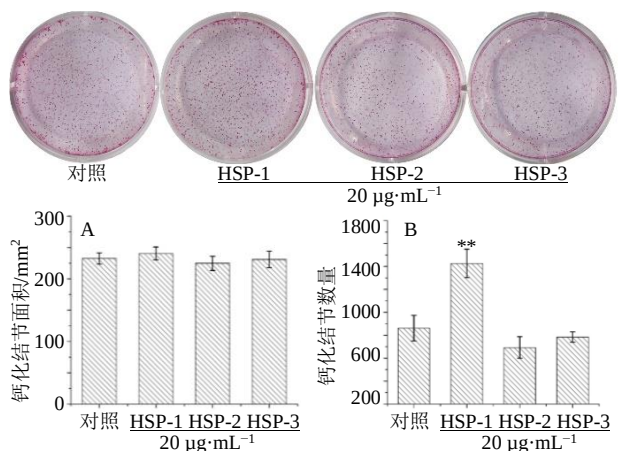


图 2 3 种红芪多糖对 ROB 细胞钙化结节面积 (A) 和数量 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of three HPS on calcified nodules area (A) and number (B) in ROB ($\bar{x} \pm s, n=3$)

钙化结节的数量 ($P<0.01$),HPS-2 和 HPS-3 对 ROB 细胞钙化结节的形成没有影响。

4 讨论

骨质疏松症是一种常见的系统性骨骼疾病,以骨密度降低和骨微观结构退化为特征,可导致骨骼无力、骨强度下降、骨脆性增加。国际骨质疏松基金会预计,2020—2050 年,中国患有骨质疏松症的人数为 2.87 亿,骨量减少的人数可能高达 5.33 亿^[8]。骨质疏松症的发病机制为多种因素促进骨组织的吸收,同时抑制骨组织的形成,骨重建平衡遭到破坏,破骨细胞骨吸收大于成骨细胞骨形成作用,因此增强成骨细胞活性或诱导骨髓间充质干细胞向成骨细

胞方向分化对骨质疏松的防治具有重要意义^[9-10]。

本研究探讨了 3 种红芪多糖 (HPS-1、HPS-2、HPS-3) 对 rBMSCs 细胞和 ROB 细胞增殖、分化和矿化的影响,发现 3 种红芪多糖 (5、10、20、50 $\mu\text{g/mL}$) 均不会对 rBMSCs 和 ROB 细胞产生毒性,20、50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 可促进细胞增殖。ALP 和钙化结节可分别作为成骨分化早期和晚期的标志,本研究表明 HPS-1 能明显促进 2 种细胞 ALP 活性和矿化结节的形成,HPS-2 和 HPS-3 对 2 种细胞成骨分化没有显著促进作用,甚至产生负性作用;50 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 对 rBMSCs 细胞的促进作用较大,20 $\mu\text{g/mL}$ HPS-1 对 ROB 细胞的促进作用较大。课题组前期研究结果发现,3 种红芪多糖均由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖 5 种单糖组成,但 HPS-1 主要由葡萄糖组成 (87.41%),HPS-2 和 HPS-3 主要由阿拉伯糖和半乳糖组成;HPS-2 相对分子质量最大,为 1.420×10^5 ,HPS-3 次之,HPS-1 最小,为 9.336×10^3 ;HPS-1 的糖苷键为 α 构型,HPS-2 和 HPS-3 主要为 β 构型^[3]。因此,推测 3 种红芪多糖对 rBMSCs 和 ROB 细胞成骨分化活性的差异可能与其单糖基组成、相对分子质量、结构和构象有关。综上,HPS-1 具有一定的成骨活性,具有潜在的增强骨骼强度的能力,为骨质疏松的治疗提供了新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 师志强,张雪梅,薛志远,等.红芪多糖 3 的荧光标记及其组织分布研究 [J].西北药学杂志,2018,33(5): 611-615.

- [2] Zhao L, Zhao H, Sheng X, et al. Structural characterization and stimulating effect on osteoblast differentiation of a purified heteropolysaccharide isolated from *Hedysarum polybotrys* [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 111(1): 714-721.
- [3] 杨秀艳,薛志远,杨亚飞,等.红芪多糖的复合酶联合超声提取工艺、理化特性及抗氧化活性的研究 [J].中国中药杂志,2018,43(11): 2261-2268.
- [4] Yang X, Xue Z, Fang Y, et al. Structure-immunomodulatory activity relationships of hedysarum polysaccharides extracted by a method involving a complex enzyme combined with ultrasonication [J]. *Food Funct*, 2019, 10(2): 1146-1158.
- [5] Xue Z Y, Shi G G, Fang Y Y, et al. Protective effect of polysaccharides from *Radix Hedysari* on gastric ulcers induced by acetic acid in rats [J]. *Food Funct*, 2019, 10(7): 3965-3976.
- [6] 方瑶瑶,薛志远,杨秀艳,等.红芪中 5 种黄酮类成分对大鼠骨髓间充质干细胞和成骨细胞成骨分化的影响 [J].中草药,2019,50(3): 632-638.
- [7] Xie Y F, Shi W G, Zhou J, et al. Pulsed electromagnetic fields stimulate osteogenic differentiation and maturation of osteoblasts by upregulating the expression of BMPRII localized at the base of primary cilium [J]. *Bone*, 2016, 93: 22-32.
- [8] 李方福,董碧蓉.骨质疏松症的规范性治疗策略 [J].现代临床医学,2015,41(6): 451-455.
- [9] 车晓明,陈亮,顾勇,等.茶多酚治疗骨质疏松症的研究进展 [J].中国骨质疏松杂志,2015,21(2): 235-240.
- [10] 农梦妮,曾高峰,宗少晖,等.黄精多糖调控骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化 [J].中国组织工程研究,2016,20(15): 2133-2139.

[责任编辑 李亚楠]