

香菇多糖对基于维生素 D-成纤维细胞生长因子 23-Klotho 蛋白轴中维生素 D 缺乏大鼠骨代谢的保护作用

陈秋, 李嘉铨

(平顶山学院医学院, 河南平顶山 467000)

摘要: 探究香菇多糖基于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴对维生素 D 缺乏大鼠骨代谢的影响。选取 50 只 SD 健康大鼠, 10 只作为对照组, 其余 40 只建立维生素 D 缺乏模型, 分为模型组、维生素 D₃ 组 (1000 U/kg)、低剂量香菇多糖组 (150 mg/kg) 和高剂量香菇多糖组 (450 mg/kg) 各 10 只。检测大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶水平、维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子水平、骨代谢指标水平。研究结果显示, 对照组大鼠血清 25 (OH) VD₃、1,25 (OH) VD₃、FGF-23、Klotho 水平分别为 (75.58 ng/mL、4.98 ng/mL、468.25 pg/L、62.58 pg/mL), 模型组大鼠 25 (OH) VD₃、1,25 (OH) VD₃、Klotho 下降至 (34.35 ng/mL、3.52 ng/mL、40.12 pg/mL), FGF-23 水平上升至 (896.35 pg/L), 与对照组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。高剂量香菇多糖组大鼠 25 (OH) VD₃、1,25 (OH) VD₃、Klotho 水平上升至 (71.24 ng/mL、4.85 ng/mL、58.68 pg/mL), 统计上高于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组, FGF-23 下降至 (552.23 pg/L), 统计上低于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组 ($p < 0.05$)。香菇多糖通过作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴, 调控轴因子, 增加维生素 D 的含量, 改善因维生素缺乏所导致的成骨障碍, 起到保护维生素 D 缺乏大鼠骨质的作用。

关键词: 香菇多糖; 维生素 D 缺乏; 维生素 D-FGF-23-Klotho 轴; 骨代谢

文章编号: 1673-9078(2020)01-52-57

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.008

Protective Effects of Lentinan on Bone Metabolism in Vitamin D Deficient Rats via Vitamin D-fibroblast Growth Factor-23-Klotho Axis

CHEN Qiu, LI Jia-xin

(Medical School Pingdingshan University, Pingdingshan 467000, China)

Abstract: To investigate the effect of Lentinan on bone metabolism in vitamin D deficient rats via vitamin D-fibroblast growth factor-23-Klotho axis, fifty SD healthy rats were selected, with 10 as control group, and the remaining 40 as the vitamin D deficient models (which were divided into the model group, vitamin D₃ group (1000 U/kg), low-dose lentinan group (150 mg/kg) and high-dose lentinan group (450 mg/kg), with 10 rats per each group). The levels of serum calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, vitamin D-fibroblast growth factor (FGF)-23-Klotho axis factors and bone metabolism indices were measured. The results showed that the serum levels of 25 (OH) VD₃, 1,25 (OH) VD₃, FGF-23 and Klotho in the control group were 75.58 ng/mL, 4.98 ng/mL, 468.25 pg/L, 62.58 pg/mL, respectively, while for the model group, the 25(OH)VD₃, 1,25(OH)VD₃ and Klotho decreased to 34.35 ng/mL, 3.52 ng/mL and 40.12 pg/mL, respectively, and the FGF-23 level increased to 896.35 pg/L. The differences between the data of these two groups of rats were statistically significant ($p < 0.05$). The levels of 25 (OH) VD₃, 1,25 (OH) VD₃ and Klotho in the high dose lentinan group increased to 71.24 ng/mL, 4.85 ng/mL and 58.68 pg/mL, respectively, which were statistically higher than those in the vitamin D₃ group and the low dose lentinan group. Whereas, the level of FGF-23 of the high dose lentinan group decreased to 552.23 pg/L, which was statistically lower than those in the vitamin D₃ group and the low dose lentinan group ($p < 0.05$). Lentinan polysaccharides acts on the vitamin D-FGF-23-Klotho axis, regulates the axis factors, and increases the vitamin D content to improve osteogenesis and protect the bones of the vitamin D deficient rats.

Key words: lentinan; vitamin D deficiency; Vitamin D-FGF-23-klotho axis; bone metabolism

维生素 D 是由皮肤在光解阳光中的紫外线后所生

收稿日期: 2019-07-22

基金项目: 河南省优秀社科调研课题 (SKL-2019-575)

作者简介: 陈秋 (1970-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 药物不良反应与活性研究

成的一种脂溶性物质, 在人体中属于一种类固醇类激素; 当机体内的维生素 D 缺乏后会导致多种疾病的发生, 如何佝偻病、骨质软化病、骨质疏松症以及手足搐搦症^[1]。维生素 D 与 FGF-23、Klotho 形成钙磷代谢内分泌轴 (维生素 D-FGF-23-Klotho 轴); 在正常的生理

情况下, 维生素 D₃ 前体在肾脏 1,25 羟化酶作用下生成具有活性的 1,25 (OH) VD₃, 但当机体缺乏维生素 D 时, 维生素 D-FGF-23-Klotho 轴会发生异常, FGF-23 升高, 1,25 羟化酶活性降低, 致维生素 D 缺乏, 最终导致维生素 D 缺乏症的发生^[2]。目前临床上治疗维生素 D 缺乏症常以补充维生素 D 为主, 但目前研究发现, 给予维生素 D 缺乏症患者维生素 D 补充对改善患者症状的效果并不理想, 因此寻找安全有效的治疗药物对维生素 D 缺乏症患者尤为重要^[3]。

香菇属于担子菌纲、侧耳科、伞菌目、真菌门、香菇属, 是一种食、药两用类真菌, 具有较高的食用价值和药用价值^[4]。香菇的主要成分为不饱和脂肪酸、多糖类, 且含有大量的转变为维生素 D 的菌甾醇、麦角甾醇, 经过提取工艺所提取出来的香菇多糖可对人体免疫功能进行调控, 降低甲基胆蒽诱发肿瘤的能力^[5]。目前随着对香菇多糖的研究发现香菇多糖具有多种功能, 包括抗肿瘤、抗病毒、降血糖血脂以及提高免疫力的作用, 且随着香菇多糖的广泛研究发现其生物活性较强且安全性较高, 目前已经广泛应用于多种疾病的治疗中^[6,7]。香菇中含有丰富的维生素 B 群、维生素 D 原和相关矿物质元素, 但是国内外关于使用香菇多糖对维生素 D 缺乏症的干预研究还鲜有报道。因此在本文研究中探究对香菇多糖影响维生素 D 缺乏症的作用进行研究, 建立维生素 D 缺乏大鼠, 研究香菇多糖是否对维生素 D 缺乏症大鼠的影响, 以明确香菇多糖通过作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴对维生素 D 缺乏大鼠骨代谢的影响, 为临床上维生素 D 缺乏的治疗提供新思路和研究方向。

1 材料与方法

1.1 材料

研究动物: 选取 50 只 SD 健康大鼠 (SPF 清洁级、合格证号: SYXK(京)2014-0032), 体质量 (150.5±6.5) g, 由中国科学院微生物研究所提供。分笼饲养, 室温维持温度 (26±2) °C, 空气相对湿度 (53±2) %。通风设置 8~14 次/h, 使用标准饲料统一喂养 1 周后再进行实验。

主要试剂: 氯化锶 (纯度 99.00%), 天津市科密欧化学试剂有限公司; 25 (OH) VD₃ ELISA 试剂盒, 上海联迈生物工程有限公司; 1,25 (OH) VD₃ ELISA 试剂盒, 上海恒斐生物科技有限公司; FGF-23 ELISA 试剂盒, 上海晶抗生物工程有限公司; Klotho ELISA 试剂盒, 上海恒斐生物科技有限公司; 骨钙素 ELISA 试剂盒, 上海晶抗生物工程有限公司; BAP ELISA 试

剂盒, 上海晶抗生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及维生素 D 缺乏模型建立

将 50 只大鼠随机分为对照组、模型组、维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组、高剂量香菇多糖组各 10 只, 模型组、维生素 D₃ 组、香菇多糖组参照文献^[8]建立维生素 D 缺乏大鼠模型, 使用缺乏维生素 D 的饲料喂养, 自由饮用清洁过滤水, 光照采用无紫外光的白炽灯, 维持光暗周期 12 h: 12 h, 建立维生素 D 缺乏大鼠模型。对照组大鼠使用普通饲料喂养, 自由饮用清洁过滤水, 每日正常光照 12 h, 不做任何处理, 为正常健康大鼠。饲养环境为清洁级。

1.2.2 香菇多糖制备及干预

参照文献^[9], 提取香菇多糖, 取干香菇放置于温度为 80 °C 的烘箱中进行干燥, 至恒重状态时使用万能粉碎机进行粉碎, 过 60 目筛网, 制备香菇粉。取 1.00 g 香菇粉, 按照一定的料液比加入蒸馏水, 行超声波提取, 在超声后将缓冲液加入, 使用酸度计调节 pH 值, 按照 1:1:1 的质量比将纤维素酶、木瓜蛋白酶、果胶酶加入, 水浴恒温提取 1 h 后, 90 °C 灭酶处理 10 min, 使用转速为 5000 r/min 的离心机离心 10 min, 取上清液, 使用旋转蒸发器进行浓缩处理。浓缩液加入 3 倍体积分数 95% 的乙醇溶液, 之后在温度为 4 °C 的条件下静置处理 24 h, 再次使用转速为 5000 r/min 的离心机离心 10 min, 之后经过真空干燥箱干燥获得香菇多糖。低剂量香菇多糖组、高剂量香菇多糖组大鼠给予香菇多糖干预, 分别使用 150 mg/kg、450 mg/kg 的香菇多糖灌胃, 维生素 D₃ 组大鼠给予维生素 D₃ 干预, 使用 0.2 μg/kg 的维生素 D₃ 灌胃^[10], 对照组和模型组大鼠给予 4.0 mL/kg 的生理盐水灌胃。五组大鼠均每日 1 次灌胃给药处理, 连续干预 14 d, 在干预治疗过程中均正常饲养, 自由饮水。

1.2.3 病理学观察

随机选取各组中 3 只大鼠采用断头法处死, 摘取左股骨, 使用冷生理盐水冲洗后使用 4% 多聚甲醛固定, 行常规脱钙、石蜡包埋、切片处理。取大鼠左股骨行 HE 染色, 观察大鼠骨组织形态变化。

1.2.4 血清样本采集

取剩余的 7 只大鼠 (除去 10 只大鼠中 3 只病理学观察的大鼠), 腹腔注射 45 mg/kg 的 3% 戊巴比妥钠麻醉, 麻醉后取大鼠腹股沟股动脉血 3 mL, 放置在干净的 EP 管中, 经过冷凝处理后, 用离心机以 2500 r/min 的转速分离, 取上层血清保存至 -70 °C 的冰箱中, 冷藏待测。

1.2.5 血清钙、磷、碱性磷酸酶水平检测

使用乙二胺四乙酸滴定法检测大鼠的血清钙水平；使用抗坏血酸还原法检测大鼠血清磷水平；使用磷酸对硝基苯基质动力学法检测大鼠血清碱性磷酸酶水平^[11]。

1.2.6 25 (OH) VD₃、1,25 (OH) VD₃、FGF-23、Klotho、BAP、TRAP5b、BGP、BMD 检测

使用 ELISA 双抗体夹心法检测大鼠血清维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子中 25 (OH) VD₃、1,25 (OH) VD₃、FGF-23、Klotho 水平及骨代谢指标骨特异性碱性磷酸酶(BAP)、抗酒石酸酸性磷酸酶 5b(TRAP5b)、骨钙素 (BGP) 水平。抽取大鼠腹股沟动脉血后采用断头法处死大鼠，摘取大鼠左侧股骨使用骨密度仪检测大鼠骨密度 (BMD)：包括大转子、干部、髌部，取三者平均值，计算平均 BMD 值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析，计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 进行描述，多组间比较采用 *F* 值检验，两组间比较采用实施独立样本 *t* 检验，*p*<0.05 则说明差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 大鼠病理学观察

如图 1 所示，为大鼠左股骨骨组织组织病变观察图。对照组大鼠骨组织细胞、细胞柱正常；模型组大鼠可见有软骨细胞肥大、细胞注扭曲、骨化线不规格；

维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组、高剂量香菇多糖组大鼠骨组织病变均有所恢复，软骨细胞细胞柱排列整齐，但是高剂量香菇多糖组大鼠的病变改善程度最明显。

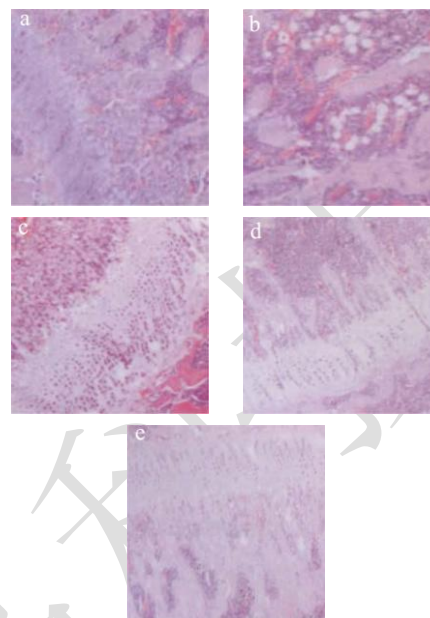


图 1 各组大鼠左股骨骨组织学观察图 HE 染色观察图

Fig.1 Histological observation of left femur in each group of rats (x200)

注：a：对照组；b：模型组；c：维生素 D₃ 组；d：低剂量香菇多糖组；e：高剂量香菇多糖组。

2.2 大鼠血清钙、磷水平以及碱性磷酸酶水平比较

表 1 大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶水平比较

组别	只数/n	血清钙/(mmol/L)	血清磷/(mmol/L)	血清碱性磷酸酶/(U/L)
对照组	7	3.50±0.14	1.94±0.09	165.24±10.26
模型组	7	2.10±0.28 ^a	2.68±0.35 ^a	298.65±15.68 ^a
维生素 D ₃ 组	7	2.53±0.01 ^{ab}	2.53±0.21 ^{ab}	235.26±6.57 ^{ab}
低剂量香菇多糖组	7	2.98±0.05 ^{abc}	2.34±0.10 ^{abc}	198.56±5.48 ^{abc}
高剂量香菇多糖组	7	3.11±0.35 ^{abcd}	2.00±0.34 ^{abcd}	170.24±3.45 ^{abcd}

注：与对照组相比，a: *p*<0.05；与模型组相比，b: *p*<0.05；与维生素 D₃ 组相比，c: *p*<0.05；与低浓度香菇多糖组相比，d: *p*<0.05。下表同。

维生素 D 和钙、磷代谢具有一定的相关性，充足的为维生素 D 可能产生较为充足的钙、磷产物，导致机体产生有效的骨骼矿化；当机体维生素 D 缺乏后会影影响钙、磷的吸收，导致骨矿含量显著降低，最终导致成骨障碍，增加成骨细胞的活性，而成骨细胞代偿性增生，增加碱性磷酸酶^[12]。有研究表明^[13]，当维生素 D 缺乏症发生后会引起全身性的钙、磷代谢失常，

当钙、磷代谢失常后会导致钙盐不能正常在骨骼生长部分沉着，最终引发骨骼畸形的发生。有研究发现^[14]在其研究中发现维生素 D 与钙、磷、碱性磷酸酶具有一定的相关性，可促进钙、磷的肾吸收、小肠中钙离子的吸收、磷酸盐的摄取以及矿物质的骨更新，可维持钙磷的稳态。本文研究对各组大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶进行检测，结果如表 1 所示，对照组大鼠血

清钙、磷、碱性磷酸酶水平分别为 3.50 mmol/L、1.94 mmol/L、165.24 U/L，模型组大鼠血清钙下降至 2.10 mmol/L，磷、碱性磷酸酶水平上升至 2.68 mmol/L、298.65 U/L，与对照组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。使用香菇多糖干预后，高剂量香菇多糖组大鼠血清钙上升至 3.11 mmol/L，高于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，磷、碱性磷酸酶水平下降至 2.00 mmol/L、170.24 U/L，均低于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。说明香菇多糖能够有效改善维生素 D 缺乏大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶水平，调控其稳态，最终起到增加维生素 D 含量的作用，且高剂量香菇多糖调控作用更为明显。

2.3 大鼠维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子水平

维生素 D 通过内源产生或者外来吸收后，会与 25-羟化酶发生作用，发生作用后会产生 25-OH-VD，之后在有氧条件下在还原性辅酶 I 的辅助下生成 25(OH)D₃。25(OH)D₃ 一部分通过血液发生转运，另一部分储存在肝内脂肪中^[15]。25(OH)D₃ 属于维生素 D 的代谢产物，在人体内的含量较高，25(OH)D₃ 在 1 α 羟化酶羟基化下会形成 1,25(OH)₂D₃，属于促进钙离子吸收的最终活化产物^[16]。1,25(OH)₂D₃ 具有高度生理活性，可促进肠道对钙离子的摄取和促进骨形成，抑制骨吸收，属于机体内维持钙离子平衡的重要因素^[17]。维生素 D 一方面可促进新骨钙化、骨钙盐的沉积，另一方面又能促进骨吸收，使得老骨中的钙游离出，促进骨盐的不断更新。维生素 D 与 FGF-23、Klotho 功能形成钙磷代谢分泌轴-维生素 D-FGF-23-Klotho 轴

^[18]。在正常的生理条件下，维生素 D₃ 前体会在肾脏 1,25 羟化酶的作用下生成具有活性的 1,25(OH)VD₃。而 Klotho 属于 FGF-23 通路中辅助细胞生长因子受体的辅助因子，当和 FGF 受体相结合后会与 FGF-23 共同协同，一方面可调节钙、磷、维生素 D 代谢，另一方面何可对肾脏 1 α 羟化酶的活性进行抑制，导致血浆中维生素 D 含量降低，FGF-23 属于 1,25 羟化酶的一种负性调节因子。有研究发现^[19]当肾脏发生损伤后，FGF-23 含量会显著升高，降低 1,25 羟化酶的活性，最终的导致维生素 D 缺乏，维生素 D-FGF-23-Klotho 轴在其过程中具有相互调节作用。在本文研究中对各组大鼠维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子水平进行检测，结果如表 2 所示，对照组大鼠维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子 25(OH)VD₃、1,25(OH)VD₃、FGF-23、Klotho 水平分别为 75.58 ng/mL、4.98 ng/mL、468.25 pg/L、62.58 pg/mL，模型组大鼠 25(OH)VD₃、1,25(OH)VD₃、Klotho 水平下降至 34.35 ng/mL、3.52 ng/mL、40.12 pg/L，FGF-23 上升至 896.35 pg/L，与对照组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。使用香菇多糖干预后，高剂量香菇多糖组大鼠 25(OH)VD₃、1,25(OH)VD₃、Klotho 水平上升至 71.24 ng/mL、4.85 ng/mL、58.68 pg/mL，高于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，FGF-23 下降至 552.23 pg/L，低于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。说明香菇多糖通过作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴，调控 25(OH)VD₃、1,25(OH)VD₃、FGF-23、Klotho 水平，改善维生素 D 异常的代谢，且高剂量香菇多糖改善作用更为明显。

表 2 大鼠维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子水平比较

Table 2 Comparison of Vitamin D-FGF-23-Klotho Axis Factor Levels in Rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	25(OH)VD ₃ (ng/mL)	1,25(OH)VD ₃ (ng/mL)	FGF-23/(pg/L)	Klotho/(pg/L)
对照组	7	75.58±11.96	4.98±1.13	468.25±12.45	62.58±10.24
模型组	7	34.35±2.13 ^a	3.52±0.14 ^a	896.35±16.58 ^a	40.12±5.23 ^a
维生素 D ₃ 组	7	53.56±5.14 ^{ab}	3.86±0.09 ^{ab}	732.45±5.14 ^{ab}	46.89±2.04 ^{ab}
低剂量香菇多糖组	7	68.59±6.24 ^{abc}	4.12±0.24 ^{abc}	635.23±2.04 ^{abc}	50.12±3.98 ^{abc}
高剂量香菇多糖组	7	71.24±8.62 ^{abcd}	4.85±0.68 ^{abcd}	552.23±10.12 ^{abcd}	58.68±8.24 ^{abcd}

2.4 大鼠骨代谢指标水平比较

维生素 D 缺乏后会导致机体内钙、磷代谢异常，导致骨组织矿化不全，导致骨骼病变的发生。有研究表明^[20]，维生素 D 缺乏会导致骨质疏松、骨折、下肢弓形等骨骼病变类疾病的发生。本文上述研究结果显示，对维生素 D 缺乏大鼠使用香菇多糖干预后，可作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴，调控通路轴因子 25(OH)VD₃、1,25(OH)VD₃、FGF-23、Klotho，进

而改善维生素 D 异常代谢。而王瑶瑶等^[11]在其研究中认为，通过作用于维生素 D 缺乏大鼠维生素 D-FGF-23-Klotho 轴，调节维生素 D-FGF-23-Klotho 轴因子 FGF-23、Klotho 水平，可有效保护维生素 D 缺乏大鼠骨质。基于上述研究在本文研究中使用探究香菇多糖基于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴对维生素 D 缺乏大鼠骨代谢的影响，以研究香菇多糖对维生素 D 缺乏的作用。本文研究结果如表 3 所示，对照组大鼠 BAP、TRAP5b、BMD、BGP 水平分别为 55.62 U/L、

4.65 U/L、1.32 g/cm²、48.57 μg/L，模型组大鼠 BAP、TRAP5b 上升至 106.23 U/L、9.56 U/L，BMD、BGP 下降至 0.83 g/cm²、28.65 μg/L，与对照组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。使用香菇多糖干预后，高剂量香菇多糖组大鼠 BAP、TRAP5b 下降至 76.25 U/L、5.20 U/L，低于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，BMD、BGP 上升至 1.16 g/cm²、43.25 μg/L，高于维生素 D₃ 组、低剂量香菇多糖组，差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。本文上述研究结果显示香菇多糖通过作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴，调控轴因子水平，改善 BAP、TRAP5b、BMD、BGP 水平。其中 BAP 属于一种成骨细胞分泌活动的标志物。在骨形成、骨矿

化中具有重要的作用，当人体发生钙营养不良是会导致血钙下降，全段甲状腺激素含量上升，促进 1, 25(OH)2D₃ 的合成，使得静止的成骨细胞活性增强，合成大量的 BAP 并释放至血液中，BAP 可有效反映出骨转换的变化^[21]。TRAP5b 主要在破骨细胞中存在，在成骨细胞中含量相对较少，血液中的 TRAP5b 主要来源于骨吸收过程中破骨细胞的释放，TRAP5b 含量越高，骨密度 (BMD) 越低，进而加重骨骼病变^[22]。本文研究结果说明香菇多糖通过作用于维生素 D-FGF-23-Klotho 轴，调控轴因子水平，进而改善骨代谢异常，保护骨质，且高剂量香菇多糖改善作用更为明显。

表 3 大鼠骨代谢指标水平的比较

Table 3 Comparison of serum calcium, phosphorus and alkaline phosphatase levels in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	BAP/(U/L)	TRAP5b/(U/L)	BMD/(g/cm ²)	BGP/(μg/L)
对照组	7	55.62±3.14	4.65±0.16	1.32±0.21	48.57±10.14
模型组	7	106.23±15.62 ^a	9.56±1.25 ^a	0.83±0.10 ^a	28.65±3.45 ^a
维生素 D ₃ 组	7	96.25±10.12 ^{ab}	8.59±0.98 ^{ab}	0.97±0.01 ^{ab}	33.24±6.24 ^{ab}
低剂量香菇多糖组	7	88.23±1.65 ^{abc}	6.25±0.18 ^{abc}	1.01±0.09 ^{abc}	39.68±5.32 ^{abc}
高剂量香菇多糖组	7	76.25±5.62 ^{abcd}	5.20±0.32 ^{abcd}	1.16±0.12 ^{abcd}	43.25±6.58 ^{abcd}

3 结论

香菇多糖能够提高维生素 D 缺乏大鼠血清钙、磷水平，降低碱性磷酸酶水平，通过调控 D-FGF-23-Klotho 轴相关因子，改善 BAP、TRAP5b、BMD、BGP 骨代谢指标，从而增加维生素 D 的含量，改善因维生素 D 缺乏所导致的成骨障碍，起到保护维生素 D 缺乏大鼠骨质的作用。其中高剂量香菇多糖对维生素 D 缺乏大鼠的干预效果显著，为临床应用提供数据支持。

参考文献

[1] Berridge M J. Vitamin D deficiency accelerates ageing and age-related diseases: a novel hypothesis [J]. *J Physiol*, 2017, 595(22): 6825-6836

[2] De Borst M H, Vervloet M G, Ter Wee PM, et al. Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(9): 1603-1609

[3] Holick M F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention [J]. *Rev Endocr Metab Disorder*, 2017, 18(2): 153-165

[4] 万茜淋,任雨贺,刘淑莹.香菇多糖的药理活性研究进展[J]. *中国药房*, 2018, 29(8): 1140-1144

WAN Qian-lin, REN Yu-he, LIU Shu-ying. Advances in pharmacological activities of lentinan [J]. *Chinese Pharmacy*,

2018, 29(8): 1140-1144

[5] Ahn H, Jeon E, Kim J C, et al. Lentinan from shiitake selectively attenuates AIM2 and non-canonical inflammasome activation while inducing pro-inflammatory cytokine production [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1314

[6] 杨溢烁,曾德永,刘艳,等.香菇多糖体内抗氧化活性研究[J]. *中国食物与营养*, 2016, 22(8): 72-74

YANG Yi-shuo, ZENG De-yong, LIU Yan, et al. Antioxidant activity of lentinan *in vivo* [J]. *Food and Nutrition in China*, 2016, 22(8): 72-74

[7] 马维娜.香菇多糖的作用机制及临床应用进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(22): 4396-4399

MA Wei-na. Advances in mechanism and clinical application of Lentinan [J]. *Medical Review*, 2016, 22(22): 4396-4399

[8] 李清华,张丰香,邵丽军等.成年维生素 D 缺乏大鼠模型的建立及评价[J]. *重庆医学*, 2013, 42(32): 3923-3925

LI Qing-hua, ZHANG Feng-xiang, SHAO Li-jun, et al. Establishment and evaluation of adult vitamin D deficiency rat model [J]. *Chongqing Medicine Chongqing Med*, 2013, 42(32): 3923-3925

[9] 秦令祥,周婧琦,崔胜文,等.超声波协同复合酶法提取香菇多糖的工艺优化[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(19): 63-67

QIN Ling-xiang, ZHOU Jing-qi, CUI Sheng-wen, et al. Optimization of extraction technology of lentinan by ultrasonic-assisted complex enzymatic method [J]. *Food*

- Research and Development, 2018, 39(19): 63-67
- [10] 雒志恒, 祁珊珊, 吴婕, 等. 丹参酮IIA联合维生素D3对维甲酸诱导骨质疏松大鼠骨组织的影响[J]. 中药材, 2017, 40(6): 1457-1460
- LUO Zhi-heng, QI Shan-shan, WU Jie, et al. Effects of tanshinone IIA combined with vitamin D3 on bone tissue of retinoic acid-induced osteoporosis rats [J]. Chinese Medicinal Herbs, 2017, 40(6): 1457-1460
- [11] 王瑶瑶, 陈云志, 秦忠, 等. 黄芪对维生素D缺乏大鼠骨质的保护作用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(8): 1827-1830
- WANG Yao-yao, CHEN Yun-zhi, QIN Zhong, et al. Protective effect of astragalus membranaceus on bone in vitamin D deficient rats [J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2014, 16(8): 1827-1830
- [12] Olza J, Aranceta-Bartrina J, González-Gross M, et al. Reported dietary intake, disparity between the reported consumption and the level needed for adequacy and food sources of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin D in the Spanish population: findings from the ANIBES study [J]. Nutrients, 2017, 9(2): 168
- [13] Lin LY, Bhate K, Forbes H, et al. Vitamin D deficiency or supplementation and the risk of human herpesvirus infections or reactivation: A systematic review protocol [J]. BMJ Open, 2019, 9(10)
- [14] 邓庆先, 林梅芳, 袁新华, 等. 不同剂量维生素D对极低出生体重儿血清钙、磷、碱性磷酸酶和25-羟维生素D水平的影响[J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(3): 223-227
- DENG Qin-xian, LIN Mei-fang, YUAN Xin-hua, et al. Effects of different doses of vitamin D on serum calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and 25-hydroxyvitamin D levels in very low birth weight infants [J]. Chinese Journal of Perinatal Medicine, 2017, 20(3): 223-227
- [15] Guo J, Lovegrove J A, Givens D I. 25(OH)D₃-enriched or fortified foods are more efficient at tackling inadequate vitamin D status than vitamin D₃ [J]. Proc Nutr Soc, 2018, 77(3): 282-291
- [16] Klapkova E, Cepova J, Pechova M, et al. A Comparison of four methods (immunochemistry and HPLC) for determination of 25-(OH)-vitamin D in postmenopausal women [J]. Clin Lab, 2017, 63(2): 385-388
- [17] Hammami MM, Yusuf A. Differential effects of vitamin D₂ and D₃ supplements on 25-hydroxyvitamin D level are dose, sex, and time dependent: a randomized controlled trial [J]. BMC Endocr Disord, 2017, 17(1): 12
- [18] Navarro-García JA, Fernández-Velasco M, Delgado C, et al. PTH, vitamin D, and the FGF-23-klotho axis and heart: Going beyond the confines of nephrology [J]. Eur J Clin Invest, 2018, 48(4): 12902
- [19] Ahmadi R, Hajjalilo M, Ghorbanhaghjo A, et al. FGF-23, klotho and vitamin D levels in scleroderma [J]. Iran J Public Health, 2017, 46(4): 530-536
- [20] Brickley M B, Mays S, George M, et al. Analysis of patterning in the occurrence of skeletal lesions used as indicators of vitamin D deficiency in subadult and adult skeletal remains [J]. Int J Paleopathol, 2018, 23: 43-53
- [21] Azzam E Z, Ata M N, Younan D N, et al. DObesity: Relationship between vitamin D deficiency, obesity and sclerostin as a novel biomarker of bone metabolism [J]. J Clin Transl Endocrinol, 2019, 17: 100197
- [22] 陈超, 刘志超, 祝永刚, 等. 维生素D的最新研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(10): 1390-1395
- CHEN Chao, LIU Zhi-chao, ZHU Yong-gang, et al. Recent research progress of vitamin D [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2018, 24(10): 1390-1395

(上接第34页)

- [25] Müller T, Woitalla D, Kuhn W. Benefit of folic acid supplementation in Parkinsonian patients treated with levodopa [J]. Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry, 2003, 74(4): 549
- [26] Ortbauer M, Ripper D, Fuhrmann T, et al. Folate deficiency and over-supplementation causes impaired folate metabolism: Regulation and adaptation mechanisms in *Caenorhabditis elegans* [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2016, 60(4): 949-956
- [27] Virk B, Jia J, Maynard C A, et al. Folate acts in *E. coli* to accelerate *C. elegans* aging independently of bacterial biosynthesis [J]. Cell Reports, 2016, 14(7): 1611-1620