

骨肽对高原低氧环境下小鼠骨结构的影响

罗唐君¹, 刘鑫^{1,2}, 杨芳¹, 童丽¹, 赵成周¹, 孙胜男^{1*}

(¹青海大学药学院 西宁 810016

²金昌市医疗保障局 甘肃金昌 737100)

摘要 高原低氧环境对人体的影响是生物医学研究的热点之一,特别是对骨骼健康的影响日益受到关注。本研究模拟 6 000 m 高原低氧环境,建立低氧小鼠模型,探讨骨肽对暴露于该环境下小鼠骨结构的影响。将 6~8 周龄的 C57BL/6N 小鼠随机分为空白对照组、模型组、阳性药组和骨肽低、中、高剂量组,每组 8 只。空白对照组小鼠饲养在常氧环境中,灌胃去离子水;其余各组小鼠置于 6 000 m 低压氧舱中模拟高原低氧环境,模型组灌胃去离子水,阳性药组和骨肽低、中、高剂量组分别灌胃红景天口服液和不同浓度骨肽溶液,处理 14 d。末次给药后,收集血清、脏器及股骨,检测小鼠血清中骨钙素(BGP)和碱性磷酸酶(ALP)含量,并通过 Micro-CT 扫描评估小鼠股骨的骨结构变化。结果显示:与空白对照组相比,低氧环境下,小鼠的摄食量和体质量均降低,前 3 d 下降明显,之后逐渐恢复。与模型组相比,骨肽各剂量组均显著提高了小鼠血清中 BGP 的含量,降低了 ALP 水平。以 2 000 mg/kg/d 的骨肽高剂量组效果最好,BGP 含量提高了 477.18%,ALP 含量降低了 24.97%。此外,骨肽不同剂量组小鼠骨组织中,骨矿物质含量、骨体积分数、骨小梁厚度和骨小梁数量均提高,而骨小梁分离度降低。表明骨肽可通过提高 BGP 水平,降低 ALP 含量,并减少骨小梁分离度,使骨小梁排列紧密,有效维持骨小梁的空间结构,在一定程度上对抗高原低氧环境造成的骨结构损伤,预防骨质疏松的发生。

关键词 骨肽;高原低氧;骨结构;骨钙素;碱性磷酸酶

文章编号 1009-7848(2026)01-0132-08

DOI: 10.16429/j.1009-7848.2026.01.012

我国高原地区约占国土总面积的 26%,包括青藏高原、内蒙古高原、黄土高原和云贵高原等。由于低氧、干燥、强紫外线辐射和寒冷等环境特征,这些地区的资源开发和利用效率相对不高。尤其是低氧环境对人体的心血管和呼吸系统造成显著影响,严重损害人类健康^[1]。此外,研究表明,高原缺氧环境对骨骼健康有显著危害,影响骨细胞功能和骨密度^[2]。保障高原人群的骨骼健康已成为亟待解决的问题。

长期处于低氧环境会导致骨密度下降和骨微结构损伤^[3-4]。例如,将小鼠暴露于模拟海拔 5 500 m 的低氧环境 28 d,其骨密度、骨体积分数和骨小梁厚度均下降,表明缺氧对骨骼造成一定的损伤^[5]。另 1 项研究发现,经过 14 d 低氧处理的大鼠,骨量明显下降,破骨细胞密度增加,血清中碱性磷酸酶水平显著升高,表明低氧环境抑制了成

骨细胞的功能^[6]。对 Wistar 大鼠经过 7 d 和 15 d 的慢性缺氧暴露后,皮质股骨组织的矿物质密度、胫骨小梁、胫骨下部骨小梁的厚度均降低,低氧条件下骨重塑的改变可能进一步影响骨微结构^[7]。随着经济发展,进入高原的人群逐年递增,保障高原人群骨骼健康至关重要。

骨肽是从动物骨中提取的活性蛋白肽,具有良好的溶解性和流动性^[8],且具有较高的生物效价和优良的安全性。研究表明,骨肽在预防骨质疏松^[9],促进 MC3T3-E1 细胞增殖^[10]和改善骨关节炎^[11]等方面表现出积极效果。例如,鳕鱼骨胶原肽能够降低大鼠血清中的碱性磷酸酶和肿瘤坏死因子- α 水平,从而减轻因卵巢切除而引起的骨重塑过快,帮助恢复骨重建平衡^[12]。此外,海洋鱼骨胶原低聚肽能够显著提高大鼠的骨密度和骨钙含量,证实其在增加骨密度方面有效^[13]。另 1 项研究发现,来源于牛骨胶原水解物的新型成骨肽能够增强 MC3T3-E1 细胞的成骨活性,对促进骨骼健康具有重要意义^[14]。这些研究结果表明,骨肽在促进骨骼健康和维持骨密度方面具有广泛的应用潜力。

课题组前期通过酶解法从藏羊骨中制备骨

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 青海省“帅才科学家负责制”项目
(2022-NK-169-4)

第一作者: 罗唐君,女,硕士生

通信作者: 孙胜男 E-mail: sunsn@qhu.edu.cn

肽^[15],尚缺乏其针对低氧导致骨损伤的体内研究。本研究模拟海拔6 000 m的低氧环境,建立低氧骨损伤小鼠模型,通过灌胃给予藏羊骨肽溶液,探究骨肽对高原低氧骨损伤小鼠骨结构的影响。研究旨在通过评估骨肽对骨骼的保护作用,为高原地区骨骼健康保护与骨质疏松预防产品的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

骨肽为本实验室采用碱性蛋白酶从藏羊骨中提取,具体工艺参数为:在底物质量浓度0.1 g/mL,pH 10.3、温度45 ℃和酶添加量8%的条件下,酶解6 h得到酶解液,经离心和冷冻干燥后获得骨肽;红景天口服液,杭州华威药业股份有限公司;小鼠骨钙素ELISA试剂盒,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

分析天平(XS205),上海精若科学仪器有限公司;台式冷冻高速离心机(Thermo scientific ST 8R),孚约生物科技(上海)有限公司;数显恒温水浴锅(GHH-1),常州市国旺仪器制造有限公司;酶标仪(TECAN Spark),上海滴冠实业有限公司;Micro CT仪(NMC-200),NEMO公司;低压氧舱室,青海大学高原医学中心。

1.2 实验动物

6~8周龄健康雄性SPF级C57BL/6N小鼠48只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物质量合格证许可证号为SCXK(京)2012-0006。实验方案经过青海大学动物福利伦理审查委员会审批,批件编号为SL202401-53。整个实验过程严格遵循“3R”原则(替代、减少、完善),并遵守《关于善待实验动物的指导性意见》。所有实验废弃物及动物尸体均按照《医疗废物管理条例》的要求进行无害化处理,以确保对环境和动物福利的责任。

1.2.1 动物分组及给药 小鼠的饲养环境设定为温度(25±2)℃,相对湿度50%~60%,在12 h的光/暗周期下自由饮水和进食。每个笼养8只小鼠,以确保其自由活动。适应期为1周,适应后小鼠随机分为6组:空白对照组(Blank control,BC)、模型组(Model,Mod)、红景天口服液组(*Rhodiola* oral

liquid,RL)、骨肽低剂量组(Bone peptide low dose,BP-L)、骨肽中剂量组(Bone peptide medium dose,BP-M)和骨肽高剂量组(Bone peptide high dose,BP-H),每组8只。BC放于常氧环境,灌胃去离子水;其余组小鼠则置于模拟6 000 m海拔的低压氧舱内。Mod小鼠灌胃去离子水,RL灌胃1.7 mg/kg/d的红景天口服液;BP-L、BP-M和BP-H分别灌胃500,1 000,2 000 mg/kg/d的骨肽溶液,各组的灌胃体积均为0.01 mL/g,灌胃频率为每天1次,持续14 d。在实验过程中,定期清理鼠笼,更换垫料和饮水,补充鼠粮。实时监测小鼠的健康状况,每天记录摄食量,每3 d测量和记录1次体质量。

1.2.2 小鼠解剖取材 小鼠末次给药后30 min,采集血样。全血在室温下放置2 h后,于4 ℃,3 000 r/min离心15 min,分离血清,于-80 ℃保存。采血后立即解剖,取出肝脏、肾脏、心脏和肺,用生理盐水清洗各脏器,称量脏器质量并计算脏器指数。每组随机选择6只小鼠,将其右侧股骨固定于多聚甲醛中,进行Micro-CT扫描。用全自动生化分析仪测定血清中碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase,ALP)含量,根据试剂盒说明书测定血清中骨钙素(Bone gla protein,BGP)含量。

1.2.3 血清中骨钙素测定 采用ELISA试剂盒测定骨钙素。准备96孔板,预先包被小鼠骨钙素抗体,将100 μL标准品和血清样品分别加入各孔中,37 ℃孵育90 min。孵育结束后,弃去孔内液体,加入100 μL已稀释的生物素化抗体工作液,继续在37 ℃孵育60 min。弃去孔液,使用洗涤液洗涤孔板3次,以去除未结合的抗体。然后加入100 μL已稀释的酶结合物工作液,37 ℃孵育30 min。倒去孔内液体,再用洗涤液洗5次,以确保充分清洗孔内。加入90 μL底物溶液,37 ℃孵育15 min,以产生可测量的颜色反应。最后,于冰上加入50 μL终止液,利用酶标仪立即在波长450 nm处测标曲和样品的吸光度(OD值)。以浓度为横坐标,OD值为纵坐标,使用四参数逻辑模型进行数据拟合,从而确定样品中的骨钙素浓度。

1.2.4 Micro-CT检测 各组小鼠的右侧股骨在4%的多聚甲醛中固定24 h后,进行Micro-CT扫描,以评估该骨骼的微结构特征。扫描过程中,设

置管电压为 90 kV，源到扫描对象距离为 60 mm，扫描精度为 10 μm。扫描结束后，使用 Cruiser 软件进行数据采集，并应用 Recon 软件进行图像重建。最后，利用 Avatar 软件进行图像显示和分析，计算骨和骨小梁相关参数，包括骨体积分数、骨小梁分离度、骨矿物质含量、骨小梁数量和骨小梁厚度。

1.3 数据处理

使用 GraphPad Prism 9.0.0 软件绘制图表，采用 IBM SPSS Statistics 21.0 软件进行数据分析。实验均进行 3 次重复，数据用“平均数±标准差 (Mean±SD)”表示。采用 One-way ANOVA 分析进行比较， $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果与分析

2.1 小鼠体质量及摄食量变化

体质量和摄食量监测结果显示(图 1)，与空白对照组相比，小鼠在低氧环境暴露的前 3 d，体质量和摄食量均显著下降，体质量从约 20 g 降至约 17 g，说明低氧环境对小鼠的生长状态和运动

能力产生了明显的负面影响。在为期 14 d 的灌胃实验期间，各组小鼠经过适应后，饮食摄入量明显增加，体质量也逐渐回升。这一现象表明，虽然低氧环境在初期对小鼠的生理状态造成了影响，但小鼠能够通过适应机制逐步恢复正常的生理功能。此外，通过每日观察小鼠的行为特征和外观状态，发现所有小鼠均活跃无异常，精神状态良好，毛发光泽，未见明显不适。这些结果表明，尽管低氧环境对初期体质量和摄食量造成影响，而经过适应后，小鼠的整体活动水平和健康状况得到了恢复。

2.2 低氧环境对小鼠各脏器指数的影响

脏器指数计算结果显示(表 1)，在低氧环境下，与空白对照组(BC)相比，模型组(Mod)小鼠的肝脏、心脏和肾脏指数均降低，而肺指数升高，可能由于低氧导致小鼠肺部出现水肿或充血现象^[16]。与模型组相比，红景天口服液组(RL)以及骨肽各剂量组(BP-L、BP-M 和 BP-H)的小鼠，肝脏、心脏和肾脏的脏器指数均升高，同时肺指数降低。结果表明，骨肽对小鼠脏器无毒副作用，并且对低氧环

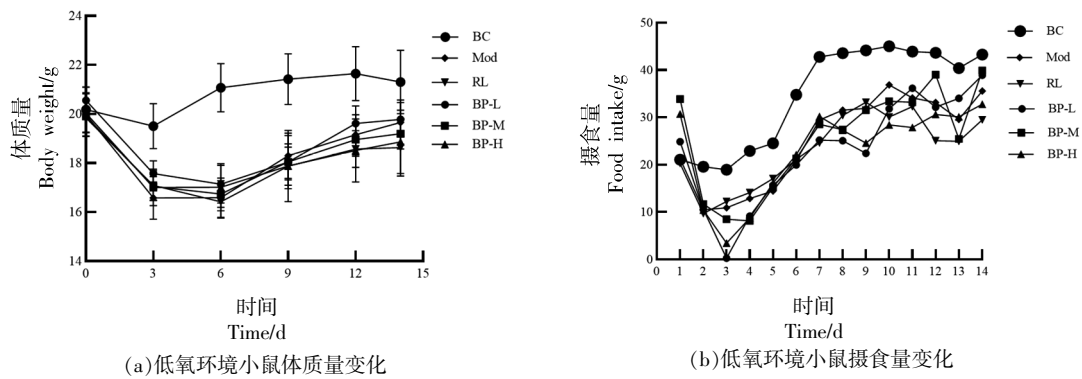


图 1 低氧疲劳小鼠体质量和摄食量的变化 (n=8)

Fig.1 Changes in weight and food intake of mice experiencing hypoxic fatigue (n=8)

表 1 骨肽对低氧小鼠脏器指数的影响

Table 1 Effects of bone peptide on organ index of hypoxic mice

组别	肝脏指数/%	心脏指数/%	肺指数/%	肾脏指数/%
BC	4.26 ± 0.49	0.62 ± 0.12	1.03 ± 1.17	1.28 ± 0.12
Mod	3.87 ± 0.10	0.57 ± 0.07	1.23 ± 0.96	1.25 ± 0.19
RL	4.25 ± 0.86	0.69 ± 0.11	1.00 ± 0.18	1.31 ± 0.08
BP-L	4.67 ± 0.37	0.67 ± 0.10	1.00 ± 0.15	1.31 ± 0.08
BP-M	4.76 ± 0.60	0.68 ± 0.09	1.10 ± 0.08	1.33 ± 0.09
BP-H	4.36 ± 0.64	0.73 ± 0.10	1.01 ± 0.15	1.36 ± 0.15

注：脏器指数(%) = 器官质量(g)/小鼠体质量(g)×100。

境下小鼠的脏器损伤具有一定的改善作用,特别是改善对肺的负面影响。

2.3 骨肽对低氧环境小鼠血清中骨钙素含量的影响

与空白对照组相比,模型组小鼠血清中骨钙素(BGP)含量显著降低($P<0.01$),降低幅度达到 56.64%(图 2),可能由于低氧暴露对小鼠成骨细胞的合成活动产生了抑制作用,减少了骨钙素的分泌。与模型组相比,红景天口服液组和骨肽各剂量组小鼠血清骨钙素水平均显著提高($P<0.0001$),且骨肽各组呈明显的剂量依赖性上升趋势,以骨肽高剂量组提高最多,比模型组提高了 477.19%,比空白对照组提高了 150.22%。表明骨肽可以有效改善低氧环境对小鼠成骨细胞的损伤,促进骨钙素分泌,增加骨密度,维持骨骼正常。

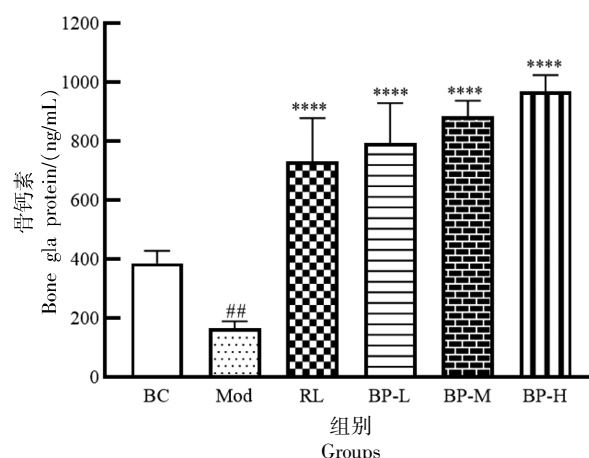
2.4 骨肽对低氧环境小鼠血清碱性磷酸酶含量的影响

与空白对照组相比,模型组小鼠血清中碱性磷酸酶(ALP)含量显著升高($P<0.05$),增加幅度达 28.19%(图 3)。可能由于低氧环境刺激了小鼠的骨形成功能,促使骨代谢进入高转换状态,促进了 ALP 的分泌。与模型组比较,红景天口服液组和骨肽低、中、高剂量组均降低了血清中 ALP 含量,分别降低了 25.88%,17.92%,23.84%和 24.97%,骨肽各剂量组呈现剂量依赖性,而低剂量组差异不显著。结果表明,骨肽显著抑制了低氧导致的 ALP 含量增加,可能通过调节骨代谢并防止骨转化指标异常升高,从而对低氧环境下的骨健康产生积极影响。

2.5 骨肽对低氧环境小鼠骨小梁结构的影响

Micro-CT 三维重建结果显示(图 4),与空白对照组相比,模型组小鼠股骨骨小梁的结构显著受损,骨量明显降低,骨小梁形态松散且空隙增大,表明低氧环境对骨骼结构具有损害作用。在红景天口服液和骨肽的干预下,小鼠骨量明显增加,骨小梁之间的空隙明显减小,表明红景天口服液和骨肽对低氧环境造成的骨损伤有一定保护效果。

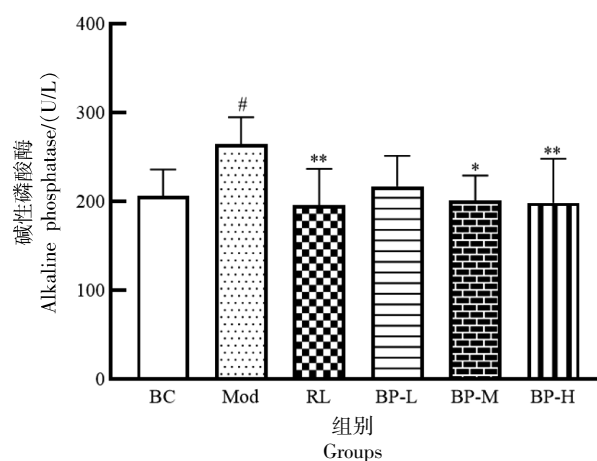
对 Micro-CT 结果进行量化分析(表 2),发现模型组的骨矿物质含量(BMC)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)和骨体积分数(BV/TV)指标均低于空白对照组,而骨小梁分离度(Tb.Sp)则



注:与空白组比,##. $P<0.01$;与模型组相比,****. $P<0.0001$, $n=8$ 。

图 2 骨肽对低氧小鼠血清中骨钙素含量的影响

Fig.2 Effects of bone peptide on serum osteocalcin levels in hypoxic mice



注:与空白组比,#. $P<0.05$;与模型组相比,*. $P<0.05$,**. $P<0.01$, $n=8$ 。

图 3 骨肽对低氧小鼠血清中 ALP 含量的影响

Fig.3 Effect of bone peptide on serum ALP content in hypoxic mice

升高,表明低氧导致骨小梁排列疏松,间隙扩大,对骨骼结构造成了损伤。相比之下,骨肽各剂量组(BP-L、BP-M 和 BP-H)及红景天口服液组(RL)均表现出对骨结构的修复效果。具体表现为: BMC、Tb.N、Tb.Th 及 BV/TV 等正向指标明显提升,同时 Tb.Sp 明显降低,且骨肽各剂量组 BV/TV 与 Tb.N 指标均优于空白对照组和阳性药组,表明骨肽能够有效逆转低氧环境引起的骨骼损伤,促进骨小梁厚度的增加与数量的回升,并减少骨小梁间的间隙,从而强化骨骼的整体结构稳定性。



图4 骨肽对低氧小鼠股骨影响的 Micro CT 扫描图

Fig.4 Micro CT scan of the effect of bone peptide on the femur of hypoxic mice

表2 骨肽对低氧小鼠股骨 Micro CT 测量结果

Table 2 Micro CT results of bone peptide on femur of hypoxic mice

组别	骨矿物质含量/mg	骨体积分数/%	骨小梁厚度/mm	骨小梁分离度/mm	骨小梁数量/mm ⁻¹
BC	2.95 ± 0.12	0.17 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.22 ± 0.00	3.38 ± 0.05
Mod	2.28 ± 0.53	0.15 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.41 ± 0.16	2.61 ± 0.05
RL	2.87 ± 0.09	0.18 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.22 ± 0.01	3.39 ± 0.17
BP-L	2.75 ± 0.12	0.20 ± .001	0.08 ± 0.01	0.27 ± 0.07	3.44 ± 0.07
BP-M	2.92 ± 0.01	0.26 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.2 ± 0.00	3.47 ± 0.02
BP-H	2.9 ± 0.05	0.26 ± 0.04	0.09 ± 0.01	0.2 ± 0.01	3.42 ± 0.18

3 讨论

随着高原常住人口增长及旅游业的蓬勃发展,高原低氧环境对人体健康的挑战日益凸显。传统观点认为低氧主要影响心脏、脑部和肺部功能,然而近期研究表明,低氧对骨骼健康同样构成威胁,造成骨损伤与骨质疏松等病变^[17]。一项研究发现,在极端海拔高度(5 400~6 700 m)停留4个月的健康男性中,在近端指骨检测到骨损伤,并且血清碱性磷酸酶(ALP)和骨特异性碱性磷酸酶(BAP)活性显著下降,表明极端高海拔环境对骨健康存在潜在危害^[18]。另有实验表明,在5%氧浓度下进行的去卵巢大鼠实验中,骨髓间充质干细胞的增殖能力显著增强,且其成骨分化能力明显提高^[19]。以上结果表明,低氧环境显著影响了骨代谢,导致高原性骨疾病的发生,引起广泛关注。

本研究探讨骨肽在模拟6 000 m高原低氧环境下对小鼠骨损伤的改善作用。与常氧环境的空

白对照组相比,小鼠处于低氧环境暴露的前3 d,体质量和摄食量均显著下降。这可能与低氧环境诱发的高原反应有关,表现为厌食症状。此外,小鼠体质量减轻也可能是其为了降低氧气消耗而作出的适应性生理反应,这一结果与文献观察一致^[20]。在给予骨肽溶液和红景天口服液实验期间,各组小鼠摄食量明显增加,体质量逐渐恢复,表明骨肽溶液和红景天口服液能有效缓解低氧条件对小鼠生理状态的损害,从而促进其适应低氧环境。研究指出,红景天具有预防高原反应、缓解疲劳、治疗骨相关疾病以及预防和治疗骨质疏松症的作用^[21-23],因此,本研究选用红景天口服液作为阳性对照,以便通过比较评估骨肽在缓解小鼠低氧骨损伤方面的效果。

骨钙素主要由骨骼和牙齿中的成熟成骨细胞合成,大部分沉积在骨基质中,少部分释放入血液循环^[24]。血液中的骨钙素是通过成骨细胞合成并

分泌入血液,而非通过骨基质释放,因此其浓度可作为成骨细胞活性的指标。血清中的碱性磷酸酶是另一种特异性生化标志物,属于磷酸单酯酶类,主要由成骨细胞分泌,能够促进钙盐在骨骼中的沉积,从而反映成骨细胞的功能和活性^[25]。本研究显示,模型组小鼠血清骨钙素水平显著降低,而碱性磷酸酶含量显著升高,表明低氧造成小鼠骨吸收与骨形成的不平衡,从而加剧骨量流失。经过骨肽干预后,骨钙素水平显著上升,同时碱性磷酸酶水平显著降低,表明骨肽能有效纠正小鼠体内的骨吸收与骨形成的失衡,从而维持骨骼代谢的正常水平。研究表明,低氧环境能够引起生长早期大鼠股骨形态的显著改变,这与本研究的发现相一致^[26]。本研究采用 Micro-CT 对小鼠股骨的微观结构进行分析,结果显示模型组小鼠的骨质量指标,如骨矿物质含量、骨体积分数、骨小梁厚度和数量均明显降低,而骨小梁间距升高,说明低氧环境导致小鼠骨量减少,并造成骨小梁排列疏松,进一步造成骨质疏松。经过骨肽干预后,上述指标的变化趋势得以逆转,骨结构得到了改善。这些结果提示骨肽在改善和恢复高原低氧造成的骨损伤方面具有积极作用,可能为高原性骨骼疾病和骨质疏松的防治提供新思路。

综上所述,低氧环境对机体健康产生不利影响,进而干扰骨骼的生长与发育,导致骨功能障碍。而骨肽能够有效修复低氧对小鼠成骨细胞造成的损害,并抑制与骨重塑相关指标的升高,从而展现出对骨组织的保护作用。此外,骨肽的干预还降低了骨小梁间的分离度,减小了骨小梁间隙,使骨小梁的排列更加紧密,进而在一定程度上维持了骨小梁的空间结构,减少骨质疏松症的发生。本研究结果为骨肽在促进骨骼健康研究方面提供了支持,并为高原地区骨损伤与骨质疏松症的预防提供了参考。

参 考 文 献

- [1] 郝晓霞,王丹,丁元钧,等.高原低压低氧环境对大鼠骨形态和微结构的影响研究[J]. 医疗卫生装备, 2022, 43(7): 6-9, 22.
HAO X X, WANG D, DING Y J, et al. Effects of low pressure and low oxygen environment on bone morphology and microstructure in rats[J]. Medical and Health Equipment, 2022, 43(7): 6-9, 22.
- [2] CHEN P, LIU Y S, LIU W J, et al. Impact of high-altitude hypoxia on bone defect repair: A review of molecular mechanisms and therapeutic implications[J]. Frontiers in Medicine, 2022, 10: 842800.
- [3] HANNAH S S, MCFADDEN S, MCNEILLY A, et al. 'Take My Bone Away?' Hypoxia and bone: A narrative review[J]. Journal of Cellular Physiology, 2021, 236(2): 721-740.
- [4] BRENT M B. A review of the skeletal effects of exposure to high altitude and potential mechanisms for hypobaric hypoxia-induced bone loss[J]. Bone, 2022, 154: 116258.
- [5] SEMENZA G L. Pharmacologic targeting of hypoxia-inducible factors[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2019, 59(1): 379-403.
- [6] WANG G X, WANG J, SUN D W, et al. Short-term hypoxia accelerates bone loss in ovariectomized rats by suppressing osteoblastogenesis but enhancing osteoclastogenesis[J]. Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 2016, 22: 2962.
- [7] USATEGUI-MARTÍN R, REAL Á D, SAINZ-AJA J A, et al. Analysis of bone histomorphometry in rat and guinea pig animal models subject to hypoxia[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(21): 12742.
- [8] 易一帆,王越,程宽,等.胶原蛋白肽的制备、生物活性及应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(16): 1-16.
YI Y F, WANG Y, CHENG K, et al. Research progress on preparation, bioactivity and application of collagen peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(16): 1-16.
- [9] 李亚然,张艳玲,尹中夏,等.牛骨肽预防骨质疏松的作用研究[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 179-183.
LI Y R, ZHANG Y L, YIN Z X, et al. Effect of bovine bone peptide on prevention of osteoporosis[J]. Food Industry, 2017, 38(5): 179-183.
- [10] WANG M, YUE H, BO Y Y, et al. Purification and identification of novel osteogenic peptides from sea cucumber intestine hydrolysates and their pro-osteogenesis effects on MC3T3-E1 cells[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104390.

- [11] 段毅超, 郭汝悦, 刘怀高, 等. 黄牛骨肽对巨噬细胞及免疫低下小鼠的免疫调节作用[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(24): 58–65.
DUAN Y C, GUO R Y, LIU H G, et al. Immunomodulatory effects of bovine bone peptide on macrophages and immunocompromised mice[J]. Food Research and Development, 2022, 43(24): 58–65.
- [12] 王珊珊. 鳕鱼骨胶原肽与活性钙的制备及其抗骨质疏松活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
WANG S S. Preparation of cod bone collagen peptide and active calcium and their anti-osteoporosis activities[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [13] 杨溢, 岳午阳, 张大超, 等. 海洋鱼骨胶原低聚肽与天门冬氨酸钙联用增加去卵巢大鼠骨密度[J]. 卫生研究, 2019, 48(4): 606–610.
YANG Y, YUE W Y, ZHANG D C, et al. Marine fish bone collagen oligopeptide combined with calcium aspartate increases bone mineral density in ovariectomized rats [J]. Health Research, 2019, 48(4): 606–610.
- [14] QI L W, DUAN R P, ZHOU J J, et al. Novel osteogenic peptide from bovine bone collagen hydrolysate: Targeted screening, molecular mechanism, and stability analysis [J]. Food Chemistry, 2024, 459: 140359.
- [15] 罗唐君, 刘鑫, 陈秀梅, 等. 藏羊骨肽的制备及其体外抗氧化与降血脂活性[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(8): 127–135.
LUO T J, LIU X, CHEN X M, et al. Preparation of bone peptide from Tibetan sheep and its *in vitro* antioxidant and hypolipidemic activities[J]. Food Research and Development, 2025, 46(8): 127–135.
- [16] BÖLTER C, GABRIEL P, APPELT P, et al. Effects of adrenergic agonists and antagonists on cardiopulmonary function during normobaric hypoxia in rat[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 860.
- [17] WANG X M, LIU H, LI J Y, et al. Rosamultin attenuates acute hypobaric hypoxia-induced bone injuries by regulation of sclerostin and its downstream signals[J]. High Altitude Medicine & Biology, 2020, 21(3): 273–286.
- [18] BASU M, MALHOTRA A S, PAL K, et al. Determination of bone mass using multisite quantitative ultrasound and biochemical markers of bone turnover during residency at extreme altitude: A longitudinal study[J]. High Altitude Medicine & Biology, 2013, 14(2): 150–154.
- [19] 黄晓雄, 陈维凯, 刘滔, 等. 低氧预处理改善去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞的成骨分化潜能[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(13): 2034–2039.
HUANG X X, CHEN W K, LIU T, et al. Hypoxic preconditioning improves osteogenic differentiation potential of bone marrow mesenchymal stem cells in ovariectomized rats[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering, 2022, 26(13): 2034–2039.
- [20] ZEPEDA A B, PESSOA A, CASTILLO R L, et al. Cellular and molecular mechanisms in the hypoxic tissue: Role of HIF - 1 and ROS[J]. Cell Biochemistry and Function, 2013, 31(6): 451–459.
- [21] QIN N N, XIE H, ZHAO A P, et al. Effects of salidroside on exercise tolerance of mice under high altitude hypoxia environment[J]. Journal of Zhejiang University (Medical Sciences), 2022, 51(4): 397–404.
- [22] LI L L, MA S K, PENG W, et al. Genetic diversity and population structure of Tibetan sheep breeds determined by whole genome resequencing[J]. Tropical Animal Health and Production, 2021, 53: 1–9.
- [23] WOJDASIEWICZ P, BRODAKCI S, CIEŚLICKA E, et al. Salidroside: A promising agent in bone metabolism modulation[J]. Nutrients, 2024, 16(15): 2387.
- [24] 杨鑫, 李源力, 蒋萍, 等. 漆黄素对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响[J]. 临床误诊误治, 2023, 36(7): 38–43.
YANG X, LI Y L, JIANG P, et al. Effect of urushetin on osteoporosis in ovariectomized rats [J]. Clinical Misdiagnosis and Treatment, 2023, 36(7): 38–43.
- [25] 史佩玉, 高帅, 綦向军, 等. 基于网络药理学探讨二仙汤治疗骨质疏松症作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(5): 702–709, 736.
SHI P Y, GAO S, QI X J, et al. Study on the mechanism of erxian decoction in treating osteoporosis based on network pharmacology[J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2020, 26(5): 702–709, 736.
- [26] BOZZINI C, PICASSO E O, CHAMPIN G M, et al. Structural and material mechanical quality of femoral shafts in rats exposed to simulated high altitude from infancy to adulthood [J]. High Altitude Medicine & Biology, 2016, 17(1): 50–53.

Effect of Bone Peptide on Bone Structure in Mice Exposed to High-Altitude Hypoxic Environment

LUO Tangjun¹, LIU Xin^{1,2}, YANG Fang¹, TONG Li¹, ZHAO Chengzhou¹, SUN Shengnan^{1*}

¹Department of Pharmacy, Qinghai University, Xining 810016

²Jinchang Medical Security Bureau, Jinchang 737100, Gansu)

Abstract The effects of high-altitude hypoxic environments on the human body are a hot topic in biomedical research, particularly regarding their impact on bone health, which is increasingly gaining attention. This study simulated a high-altitude hypoxic environment at 6 000 meters to establish a hypoxia mouse model, aiming to investigate the influence of bone peptide on the changes in bone structure in mice exposed to this environment. C57BL/6N mice aged 6 to 8 weeks were randomly divided into a blank control group, a model group, a *Rhodiola* oral solution group, and low, medium, and high-dose bone peptide groups, with 8 mice in each group. The blank control group was raised in a normoxic environment and received deionized water via gavage, while the other groups were placed in a low-pressure oxygen chamber simulating the high-altitude hypoxic environment. The model group received deionized water via gavage, while the positive drug group and the bone peptide low, medium, and high-dose groups were administered *Rhodiola* oral solution and bone peptide solutions respectively, for a treatment duration of 14 days. After the final administration, serum, organs, and femurs were collected from the mice. The levels of bone gamma-carboxyglutamate protein (BGP) and alkaline phosphatase (ALP) in the serum were measured, and the Micro-CT scans were used to assess changes in bone structure in the femurs of the mice. The results showed that, compared with the blank control group in normoxic conditions, the food intake and body weight of mice in the hypoxic environment decreased, with a significant drop observed in the first three days, followed by a gradual recovery. Compared to the model group, all doses of bone peptide significantly increased the serum levels of BGP and decreased the levels of ALP. The group receiving the high dose of bone peptide (2 000 mg/kg/d) showed the best results, with BGP levels increasing by 477.18% and ALP levels decreasing by 24.97%. Furthermore, the bone tissues of mice in the different bone peptide dosage groups showed increased contents of bone mineral, bone volume fraction, trabecular thickness, and trabecular number, while the trabecular separation decreased. These findings indicate that bone peptide can counteract the bone structural damage induced by high-altitude hypoxic environments and help prevent osteoporosis by increasing BGP levels, reducing ALP levels, and decreasing trabecular separation, thus maintaining the spatial structure of trabecular bone.

Keywords bone peptide; high-altitude hypoxia; bone structure; bone gla protein; alkaline phosphatase