

中药促进骨折愈合在细胞分子水平的研究进展

张坤¹, 牛良晨¹, 袁福杰¹, 柳申鹏²

(1. 新乡医学院第一临床学院, 河南 新乡 453100; 2. 新乡医学院第一附属医院骨科, 河南 新乡 453100)

【摘要】 中药被广泛应用于治疗骨折和骨质疏松等骨科相关疾病, 已有许多动物实验和临床试验证明中药, 如淫羊藿、骨碎补等可刺激骨再生和抑制骨再吸收, 最终促进骨折愈合。许多细胞实验证明这些中药成分可上调胞内成骨性转录因子和成骨相关基因产物表达, 诱导前成骨细胞成骨分化和刺激成骨细胞增殖, 促进骨结节形成和基质矿化。同时也可上调胞内破骨性转录因子和破骨相关基因产物表达, 抑制前破骨细胞破骨分化和破骨细胞骨再吸收活性。此外这些中药成分还可影响胞内信号通路发挥以上相同的作用。由此发现前成骨细胞和前破骨细胞中的成骨性和破骨性转录因子、转录因子调节的基因表达和信号通路是中药促进骨折愈合的主要分子机制, 也是目前中药促进骨折愈合的研究热点。

【关键词】 中药; 骨折愈合; 分子机制; 信号通路

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.08.021

Research on promotory effect of traditional Chinese medicine on fracture healing in cell and molecular level ZHANG Kun, NIU Liang-chen, YUAN Fu-jie, and LIU Shen-peng*. *Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, Henan, China

ABSTRACT Traditional Chinese medicine is widely used in the treatment of fractures, osteoporosis, other bone related diseases for thousands of years. There are many animal experiments and clinical trials demonstrating that the traditional Chinese medicine such as epimedium, Drynaria and other traditional Chinese medicine can stimulate bone regeneration and inhibit bone resorption, accelerating the fracture healing. In recent years many cell experiments have shown that these herbal ingredients up-regulated the expression of intracellular osteogenic transcription factors and osteogenic related genes, and then induced osteoblastic differentiation and stimulated the proliferation of osteoblasts, bone nodule formation and matrix mineralization. Meanwhile these herbal ingredients up-regulated the expression of intracellular osteoclastic transcription factors and osteoclast related genes, inhibited osteoclast differentiation and bone resorption of osteoclasts. In addition, intracellular signaling pathways regulated these herbal ingredients by might be involved in the above effects. We can have a conclusion that the genes expression regulated by transcription factors in pre-osteoblast and pre-osteoclast and these signaling pathways are the major molecular mechanisms and research hotspots of traditional Chinese medicine in promoting fracture healing. Based on these molecular mechanisms to review, this review provides not only the foundation for the study of traditional Chinese medicine in promoting fracture healing, but also the basis for clinical treatment of fracture.

KEYWORDS Traditional Chinese medicine; Fracture healing; Molecular mechanism; Signaling pathway

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2017, 30(8): 777-782 www.zggszz.com

随着人们活动量及空间的增大, 遭受外伤的可能性增多, 以及我国进入老龄化社会, 伴随着骨质疏松患者增多, 骨折发病率有上升的趋势。骨折愈合是一个复杂的生理过程, 伴有局部血肿和局部炎症的形成, 愈合过程涉及成骨细胞的增殖、分化和基质矿化, 控制炎症、促进血液循环和刺激骨再生的中药能改善骨折愈合^[1-2]。中医认为肾主骨, 骨折愈合依赖肾的滋养, 肾精缺乏不利于骨折愈合, 因此治疗骨折的中药通过滋阴补肾、收敛气血、活血生髓促进骨折

愈合^[3]。中药已被广泛证明可诱导成骨分化和增加骨密度, 促进骨折愈合^[4-6]。本文总结了近年来国内外关于中药促进骨折愈合分子机制的研究进展, 从成骨细胞和破骨细胞增殖分化、胞内转录因子和基质蛋白的表达, 以及胞内信号通等几个方面进行阐述。

1 中药成分对成骨细胞、破骨细胞的调节

成骨细胞来源于骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs), 破骨细胞由造血干细胞来源的单核巨噬细胞融合而成^[7]。成骨细胞分泌的骨基质特异性蛋白和释放的钙盐等矿物质在促进骨形成过程中发挥主要作用。破骨细胞分泌的抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phospho-

通讯作者: 柳申鹏 E-mail: xilimeiliuyang@163.com

Corresponding author: LIU Shen-peng E-mail: xilimeiliuyang@163.com

hatase, TRAP), 降钙素受体 (calcitonin receptor, CTR) 和组织蛋白酶 K (cathepsin K, Cts κ) 可分解骨基质蛋白, 减少钙盐等矿物质沉积, 在骨吸收过程中发挥重要作用。中药成分增强成骨细胞中成骨基因表达, 促进骨基质蛋白分泌和基质矿化, 抑制破骨细胞中破骨相关基因表达, 抑制蛋白酶分泌并减弱其降解骨基质蛋白、抑制基质矿化。此外中药成分也可增加细胞中成骨性转录因子 runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 和成骨细胞特异性转录因子 (osterix, Osx) 等的表达, 促进 BMSCs 分化为成骨细胞, 减少细胞中破骨性转录因子 NF- κ B 配体受体激活物 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 和 NFATc1 的表达, 抑制破骨细胞形成。最终这些中药可促进骨折愈合过程中的骨形成和重塑, 加速骨折愈合。

1.1 中药成分对成骨基因表达产物的调节

1.1.1 成骨基因表达产物 成骨细胞中骨基因表达产物有骨特异性基质蛋白碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP), 骨涎蛋白 (bone sialoprotein, BSP), I 型胶原蛋白 (collagen I, COLL I), 骨钙素 (osteocalcin, OCN), 骨桥蛋白 (osteopontin, OPN), 成骨性生长因子骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2) 等, 以及转录因子 Runx2、Osx 和 RANKL 等^[8]。BMP-2 可显著增加胶原蛋白和 OCN 的合成分泌, 促进成纤维细胞的增殖和成骨分化, 诱导体外细胞成骨分化和骨形成^[9]。Runx2 和 Osx 可促进骨特异性基质蛋白 ALP、BSP、COLL I、OCN 和 OPN 的表达, 刺激骨结节形成和基质矿化。Runx2 是胚胎期骨形成和骨细胞分化的关键介质, Runx2 是能与成骨基因启动子区中的成骨细胞特异性顺式作用元件 (OSE)2 结合的成骨性转录因子。Runx2 基因序列损失一个拷贝或基因敲除后会导致锁骨颅骨发育不全或敲除小鼠成骨细胞发育受阻。Osx 是一种新型的成骨性转录因子, 在成骨细胞增殖分化和骨形成中发挥重要作用。Osx 蛋白调节包括 Runx2 和骨连接蛋白 (osteonectin, ON) 在内的许多特异性成骨细胞分化标记物的表达。此外基因研究提示在成骨细胞分化信号通路中, Osx 作为 Runx2 的下游基因^[8]。以上说明成骨性转录因子 Runx2 和 Osx 二者共同调节成骨细胞中相关基因表达, 诱导间充质干细胞细胞分化为成骨细胞的同时, 促进成熟成骨细胞分泌基质蛋白和基质矿化。

1.1.2 相关中药成分 淫羊藿苷是从淫羊藿中提取的黄酮类物质, 它能上调胞内 BMP-2、早期成骨性转录因子 Runx2 和晚期成骨性转录因子 Osx 表达, 诱导 BMSCs 成骨分化, 也能增强细胞 ALP 活性

及 COLL、BSP、OCN、OPN 的分泌, 促进 BMSCs 成骨分化和增殖以及骨结节形成^[10-14]。淫羊藿苷通过以上作用促进骨折断端骨痂形成, 最终加速骨折愈合。大黄素是从大黄根茎中分离的一种蒽醌化合物, 在小鼠颅骨成骨细胞中能增加基质蛋白 OCN、ALP 和 BMP-2 表达以及 Runx2 转录。此外, 由于 OCN 是 Runx2 的靶基因, 大黄素可显著增强 HEK293T 胞内转录因子 Runx2 刺激 OCN 表达的效应^[7]。大黄素通过以上作用刺激前成骨细胞成骨分化和成骨细胞增殖, 加速骨形成, 改善骨折愈合。美迪紫檀素 (medicarpin, Med) 在卵巢切除大鼠股骨钻孔模型中增加 Runx2 和转化生长因子 β (TGF- β) 的转录水平以及 OCN 表达, 刺激成骨细胞分化和生成^[15]。丙二醇 (propanediol, PPD) 是接骨木中的一种雌激素样活性物质, 在 UMR106 细胞中, PPD 通过上调 Runx2 和 ALP、OCN 以及骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 表达, 刺激成骨样细胞 UMR106 和前成骨细胞 MC3T3-E1 增殖, 促进 BMSCs 成骨分化及骨基质钙盐沉积^[16]。牛膝总皂苷在 BMSCs 中增强 ALP 活性和 BMP-2 表达以及 Runx2 和 Osx 转录水平, 诱导 BMSCs 成骨化及成骨细胞增殖^[17], 最终促进骨结节形成和基质矿化, 加速骨折愈合。水飞蓟素在 MC3T3-E1 细胞中刺激 Runx2 转录, 随后增强 COLL I, ALP 和 OCN 的分泌, 促进基质矿化, 增加骨密度。水飞蓟素在动物模型中升高 ALP 和 OCN 血清水平, 加速骨折断端相连和改善骨痂重塑^[18]。丹酚酸 B 是中草药丹参的主要生物活性成分, 可增加胞内 ALP 活性和 OPN 分泌以及胞内 Runx2 和 Osx 的转录, 诱导 BMSCs 成骨分化和成骨细胞增殖, 促进骨结节形成和基质矿化^[19]。以上这些中药成分都是通过增加前成骨细胞胞内成骨性转录因子的转录水平促进细胞成骨分化, 同时刺激成骨细胞增殖和诱导骨结节形成以及基质矿化, 这些效应最终加速新骨再生和骨折愈合。

1.2 中药成分对破骨相关基因表达产物的调节

1.2.1 破骨相关基因表达产物 骨髓巨噬细胞 (bone marrow macrophages, BMMs) 中 RANKL 和集落刺激因子 (M-CSF-1) 可诱导其分化为破骨细胞, M-CSF-1 可诱导破骨细胞增殖, 在 RANKL 诱导破骨细胞生成中, NFATc1 是一个主要转录因子, 也是 NF- κ B 的一个关键靶基因, 胞内 NF- κ B 蛋白表达后被募集到 NFATc1 启动子区与其相互作用并调节 NFATc1 表达, NFATc1 和 c-Fos 信号通路在 RANKL 诱导的破骨细胞分化形成中发挥重要作用。此外 RANKL 可刺激破骨细胞分泌特异性标记物如 TRAP, CTR 和 Cts κ 、ATP6V0D2 和树突状细胞特异

性跨膜蛋白^[7,20],这些物质可增强破骨细胞骨吸收活性,分解骨基质蛋白和抑制基质矿化,最终导致骨折愈合延迟甚至引起假关节。在 RANKL-RANK-OPG 系统中,BMMs 的 RANKL 与 RANK 受体结合刺激其破骨分化,而胞内 OPG 可干扰这一过程,胞内 OPG 表达上调抑制 BMMs 破骨分化和破骨细胞活性,因此胞内 OPG/RANKL 的比值可反映骨折部位 BMMs 成骨分化的程度^[8,21-22],中药成分可最终升高比值抑制骨折部位破骨细胞生成,保护骨基质蛋白和矿化基质,改善骨折愈合。

1.2.2 相关中药成分 RANKL 可升高 NF- κ B、C-Fos 和 NFATc1 的转录水平,也可上调 TRAP、Cts κ 等破骨标记物和破骨细胞相关受体 (osteoclast associated receptor, OSCAR) 表达,而大黄素可抑制该过程,从而抑制 BMMs 的破骨分化和破骨细胞骨吸收活性^[7]。穿心莲内酯是一种二萜内酯,在 BMMs 和 RAW 264.7 细胞中,不仅显著降低 RANKL 诱导的破骨细胞特异性标记物如 TRAP、CTR 和 Cts κ 、DC-STAMP 和 ATP6VOD2 的表达,抑制破骨细胞骨吸收活性,也剂量依赖性抑制体外 RANKL 介导的破骨分化^[20]。大黄素和穿心莲内酯最终减弱成熟破骨细胞分解骨基质,保护骨结节和矿化基质,防止新生骨被破坏,改善骨折愈合。PPD^[16],银杏叶提取物^[21],仙茅苷^[22],柚皮苷^[23]和淫羊藿苷^[24]都能上调胞内 OPG、RANKL 的表达,升高 OPG/RANKL 比值,抑制破骨细胞分化和破骨细胞侵蚀骨基质。总之,这些中药成分可抑制 RANKL、M-CSF-1 的诱导作用,减少前破骨细胞中破骨性转录因子和破骨相关分泌物的表达,从而减少破骨细胞的生成和降低成熟破骨细胞骨再吸收活性,最终加速骨折断端连接和骨痂形成,促进骨折愈合。

2 中药成分对骨折愈合相关分子信号通路的调节

在骨折愈合和骨痂重塑过程中,中药成分可通过激活细胞内成骨或破骨相关的信号通路,促进成骨效应和抑制破骨效应,刺激骨组织再生和基质矿化,最终加速骨折愈合,增强骨密度。

2.1 MAPK 信号通路

以往研究表明,在 RANK 信号介导的破骨细胞生成过程中丝裂原蛋白活化激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs) 的 3 个亚族(P38, ERK1/2 和 JNK)发挥重要作用^[20]。淫羊藿苷可促进间充质干细胞株 C3H10T1/2 和 BMSCs 向成骨细胞分化和快速磷酸化 ERK、p38 激酶和 JNK,而 ERK 抑制剂(PD98059)、p38 抑制剂(SB202190)和 JNK 抑制剂(SP600125)可显著减弱淫羊藿苷成骨分化作用^[12,25],这说明 ERK、p38、JNK 信号通路在淫羊藿苷

诱导骨形成过程中发挥重要作用。在 HEK293T 细胞中,大黄素主要激活磷酸化 p38 通路和增强其下游的 Runx2 转录活性,增强成骨细胞分化和成骨细胞增殖,促进骨结节形成^[7]。牛膝皂苷可诱导 BMSCs 增殖和成骨分化和磷酸化 ERK,而 ERK 抑制剂(PD98059)可阻滞该效应,这说明牛膝皂苷是通过激活 ERK 信号通路刺激 BMSCs 成骨分化和增殖^[17]。丹酚酸 B 可诱导人间充质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs) 成骨分化和增加 ERK1/2 的磷酸化,而 U0126(MEK1/2 抑制剂)可阻断该效应,这说明丹酚酸 B 通过激活 ERK 信号通路促进 hMSCs 成骨分化^[19]。在 RANKL 诱导的破骨细胞形成过程中,NF- κ B 和 ERK/MAPK 被 RANKL 活化,而穿心莲内酯在体外培养细胞中可减弱 RANKL 的诱导作用,这提示穿心莲内酯可抑制破骨细胞的生成^[20]。槲皮素可促进 BMSCs 增殖和成骨分化,同时激活胞内 ERK 和 p38 信号通路,但这些效应可被 PD98059 或 SB202190 抑制,此外 p38 可影响槲皮素对 ERK 的磷酸化,这说明槲皮素通过激活 ERK 和 p38 信号通路促进 BMSCs 增殖和成骨分化^[26]。以上这些中药成分通过激活胞内 MAPK 信号通路中的激酶,增强信号传导促进成骨分化,最终刺激骨结节再生和基质矿化,加速骨折愈合。

2.2 BMP 信号通路

BMPs 家族中的 BMP-2、BMP-4 和 BMP-7 可显著促进骨细胞形成骨结节和动物骨折愈合。BMPs 与细胞上受体结合后,BMPs 受体活化后磷酸化 Smad1、Smad5 和 Smad8 传递成骨信号^[27]。BMPs 与受体结合后激活胞内信号通路,上调 COLL I 和 Runx2 的表达,促进前成骨细胞成骨分化和细胞分泌骨基质蛋白,最终促进骨结节形成和基质矿化。比如,BMP-2 可诱导前成骨细胞、间充质细胞和骨髓间质细胞成骨分化,同时磷酸化 Smad 抑制 capsase-3 活性保护成骨细胞^[9,24,28-29]。在人 BM-MSCs、人成骨样细胞和 hFOB 1.19 细胞中,淫羊藿中的黄酮类物质可上调 BMP 信号通路中 BMP-2、BMP-4、Cbfa1/Runx2、Osx、OPG、RANKL 的表达和促进细胞成骨分化,而 BMP 抑制剂 Noggin 可阻滞该效应,这表明淫羊藿中的黄酮类物质激活 BMP 信号通路促进这些细胞成骨分化^[24,29-30]。茂藿甙 A 是从朝鲜淫羊藿中分离的物质,在小鼠 BM-MSCs 中激活 BMP/Smad 通路和诱导骨形成标记物 Smad4 表达促进成骨分化和骨结节生成^[27]。水飞蓟素在小鼠骨折模型中升高血清 ALP、OCN 水平促进骨折愈合,也可在促进 MC3T3-E1 细胞成骨分化的同时促进 BMP-2 磷酸化 Smad1/5/8 和 Runx2 转录,而 BMP 抑制剂 noggin 抑

制该效应,证明水飞蓟素可通过 BMP/Smad/Runx2 信号通路增强成骨效应,改善骨折愈合和骨强度^[18,31]。GBE 和柚皮苷可刺激 BM-MSCs 增殖和成骨分化,同时上调 BMP 信号通路中的 ALP、BMP4、OPN、COL1 和 Runx2 表达,而 BMP 抑制剂 Noggin 可抑制该效应^[21,28],这些结果表明 GBE 和柚皮苷通过激活 BMP 信号通路促进成骨和钙沉积,改善骨折愈合。BMPs 可磷酸化 R-Smads1/5/8 激活 BMP 信号通路促进 BMSCs 成骨分化,但 NF- κ B 可抑制该效应,而 TNF α 通过 NF- κ B 介导的抑制作用抑制成骨细胞分化^[32]。作为厚朴提取物的主要活性成分,和厚朴酚在 MC3T3 细胞中发挥类似 NF- κ B 拮抗剂的作用,减弱 TNF α 对成骨分化的抑制,促进 MC3T3 细胞成骨分化和基质矿化^[32]。以上这些中药成分上调胞内 BMP 信号通路中相关物质和胞内成骨性转录因子的表达以及细胞分泌基质蛋白,刺激成骨分化和基质矿化,最终改善骨折愈合。

2.3 ER 介导信号通路

雌激素的缺乏可引起骨质疏松和骨折发生,雌激素受体(estrogen receptors, ERs)属于核受体基因超家族,雌激素与 ERs 结合后,ERs 直接或间接与靶基因启动子中的特异基因元件结合,通过染色质重组和组蛋白修饰控制骨细胞内成骨和破骨相关基因表达,促进骨形成和抑制骨吸收^[33]。PPD 和淫羊藿苷促进成骨细胞合成分泌基质蛋白和钙盐,促进骨结节形成和基质矿化,但 ER 拮抗剂可阻滞该效应,这说明二者发挥雌激素样作用促进骨形成。然而由于二者不能与 ER α 、ER β 结合,且丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)抑制剂 U0126 可拮抗 PPD 磷酸化 ER α ,这表明二者不是通过经典 ER 依赖性信号通路发挥合成代谢作用,而是通过非基因组性的 ER α /ERK/MAPK 通路发挥雌激素样作用促进骨折愈合^[16]。卵巢切除大鼠 BMSCs(OVX-BMSCs)的成骨分化增殖和基质矿化能力下降,同时成骨基因 ER1、SP-2 和 PR 的表达减弱,淫羊藿苷可改善这些现象,而 ER 抑制剂 ICI182780 可抑制淫羊藿苷的改善作用,这说明淫羊藿苷可激活 ER 通路诱导 OVX-BMSCs 形成骨结节,改善骨折愈合^[33]。骨碎补总黄酮中含有柚皮苷和其他黄酮类成分,这些黄酮成分刺激 UMR106 细胞增殖和增强 ALP 活性,也可增加 BMMs 中的 OPG/RANKL 比值抑制破骨细胞生成,但这些作用可被 ICI182780 阻滞,说明骨碎补中的黄酮通过 ER 信号通路刺激成骨细胞增殖分化和骨形成,抑制破骨生成和骨吸收,最终改善骨折愈合^[34]。这些中药成分激活胞内 ER 通路发挥雌激素样作用,增强骨形成抑制骨吸收促进骨折愈合。

2.4 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路参与胚胎骨形成、胎儿骨发育和成人骨重塑,对成骨分化和骨形成至关重要^[22,28]。Wnt 信号可激活 β -catenin 信号分子,从而增强 ALP 活性和诱导 BM-MSCs 成骨分化以及成骨细胞增殖,也可刺激成骨细胞分泌 OPG 抑制破骨细胞形成,最终促进骨生成。在人羊水来源干细胞和 BM-MSCs 中,仙茅苷^[22]、柚皮苷^[28]、GBE^[21]和 HEF^[30]可激活 Wnt/ β -catenin 信号通路上调成骨细胞标志物 OPN、COL1 表达,促进细胞成骨分化、骨结节形成和基质矿化,最终加速骨折愈合。在动物骨折模型中,Med 可激活 Wnt/canonical 和 Notch 信号通路促进骨折部位骨祖细胞的成骨分化和增殖,刺激新生骨形成和改善骨折愈合^[15]。蛇床子素是从蛇床子中提取的香豆素衍生物,靶向敲除 β -catenin 或 BMP-2 基因后,蛇床子素不能诱导 BMSCs 成骨分化,且 BMP-2 是 β -catenin 信号的下游靶基因,这说明蛇床子素通过 Wnt/ β -catenin-BMP 信号通路诱导细胞成骨分化和成熟,促进骨结节形成和基质矿化^[35]。总之,这些中药成分可激活胞内 Wnt/ β -catenin 信号通路及其下游信号如 BMP-2 等,诱导细胞增殖和成骨分化,刺激基质蛋白分泌,促进骨折愈合。

2.5 NO 介导信号通路

一氧化氮(NO)是由 L-精氨酸一氧化氮合酶(NOS)同工酶催化生成的一种信号分子。NO 进入骨祖细胞、前成骨细胞内激活 PKG,PKG 转位到细胞核内刺激成骨性转录因子 Runx2 表达,促进细胞增殖和成骨分化增殖以及成骨细胞增殖,最终刺激骨组织再生和基质矿化。淫羊藿苷衍生物 ICT 抑制 i-NOS 表达,降低骨组织中 NO 水平,保护新生骨和矿化基质^[8,24]。血管生成是骨折愈合的关键,淫羊藿苷可激活 PI3K-Akt-eNOS 信号通路刺激内皮细胞再生,促进血管再生改善微循环,有利于骨折愈合^[24]。在细胞培养基中,淫羊藿苷在诱导大鼠 BMSCs 成骨分化和刺激成骨细胞增殖的同时,可剂量依赖性增强大鼠 BMSCs 中的 AKT 磷酸化、iNOS、eNOS 表达和活性,随后增加胞内 NO、sGC、cGMP 含量和 PKG 表达,这些效应可被该通路中任意一个物质的特异性拮抗剂阻滞,且 AKT 主要激活 eNOS,这说明 PI3K-AKT-eNOS-NO-cGMP-PKG 信号通路在淫羊藿苷促进大鼠 BMSCs 成骨分化和增殖中发挥重要作用^[36]。总之,淫羊藿苷激活胞内 NO 信号通路及其上下游信号分子,上调胞内成骨性转录因子表达诱导细胞增殖和成骨分化,最终加速骨折愈合。

2.6 氧化应激介导信号通路

骨折部位存在局部炎症,炎症诱导的氧化应激

产生大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 如 H_2O_2 和 NO 等, 炎症区域的骨组织也会有大量基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinases, MMP) 生成。ROS 能维持骨基质矿化平衡, 在骨痂重塑期可通过吸收多余骨组织和增加受力部位骨密度, 改善骨折愈合^[1,8,11]。骨碎补水提取物抑制 H_2O_2 氧化活性并减少小鼠成骨细胞死亡^[1]。在 LPS 诱导的骨组织急性炎症中, 淫羊藿苷通过激活 PI3K/Akt 通路, 抑制 NF- κ B 和沉默 CD14/TLR4 信号通路发挥抗炎作用, 从而抑制 NO 和 MMP 生成保护骨基质, 同时在低氧环境下, 淫羊藿苷衍生物 ICT 降低原代成骨细胞中 ROS 含量和增强胞内超氧化物歧化酶活性, 保护成骨细胞, 这说明淫羊藿苷和其衍生物 ICT 可通过抑制氧化应激和抗炎促进骨折愈合^[11,24]。方茎青紫葛抑制 MMP 和 ROS 生成发挥抗炎作用, 同时刺激软骨再生改善骨折愈合^[37]。淫羊藿苷和方茎青紫葛通过抑制氧化应激信号通路发挥抗炎作用, 最终促进骨折愈合。

3 展望

中药治疗骨折时往往较少使用单味中药, 而经常使用中药复方及不同的制剂, 如治疗骨折时最常用化学成分复杂的膏剂和汤剂。虽然这些中药制剂有较好疗效, 但往往由于缺乏科学严谨的实验证据, 在临床上不易被重视和推广应用。但近些年国内外已有较多研究从细胞分子水平证实中药促进骨折愈合的机制, 这为临床上使用中药治疗骨折提供理论依据, 也为治疗骨折提供了新疗法。虽然目前对中药促进骨折愈合的分子机制还缺乏足够的认识, 但随着治疗骨折相关中药研究的深入, 会更全面地揭示中药促进骨折愈合的分子机制, 从这些分子机制中可能会发现未来治疗骨折和骨质疏松等骨相关疾病的新靶点, 而这些中药将取代副作用较多的化学药物治疗骨折和骨质疏松等疾病。

参考文献

- [1] Mukwaya E, Xu F, Wong MS, et al. Chinese herbal medicine for bone health[J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(9): 1223-1228.
- [2] 尹霞, 李莉, 郑玲玲, 等. 刺老苞根皮水提物对骨折愈合相关因子受体表达的影响[J]. *中国骨伤*, 2011, 24(9): 761-765.
YIN X, LI L, ZHENG LL, et al. Influence of aqueous extract of *Aralia echinocaulis* Hand-Mazz on the expression of fracture healing-related factor receptors[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2011, 24(9): 761-765. Chinese with abstract in English.
- [3] Huang ZJ, Guan JZ, Xu YJ, et al. Clinical research on Zishengukang Pill(滋肾骨康丸) used to treat delayed union of fracture[J]. *J Tradit Chi Med*, 2011, 31(3): 189-191.
- [4] Wang WL, Sheu SY, Chen YS, et al. Enhanced bone tissue regeneration by porous gelatin composites loaded with the Chinese herbal decoction Danggui Buxue Tang[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0131999.
- [5] Wang WL, Sheu SY, Chen YS, et al. Evaluating the bone tissue regeneration capability of the Chinese herbal decoction Danggui Buxue Tang from a molecular biology perspective[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 853234.
- [6] Siu WS, Ko CH, Lam KW, et al. Evaluation of a topical herbal agent for the promotion of bone healing[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 905270.
- [7] Kim JY, Cheon YH, Kwak SC, et al. Emodin regulates bone remodeling by inhibiting osteoclastogenesis and stimulating osteoblast formation[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(7): 1541-1553.
- [8] An J, Yang H, Zhang Q, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: The effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation[J]. *Life Sci*, 2016, 147: 46-58.
- [9] Jia CR, Liu HX, Li M, et al. Effects of icariin on cytokine-induced ankylosing spondylitis with fibroblastic osteogenesis and its molecular mechanism[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(12): 9104-9109.
- [10] Zhao J, Ohba S, Komiyama Y, et al. Icariin: a potential osteoinductive compound for bone tissue engineering[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(1): 233-243.
- [11] Ma HP, Ma XN, Ge BF, et al. Icariin attenuates hypoxia-induced oxidative stress and apoptosis in osteoblasts and preserves their osteogenic differentiation potential in vitro[J]. *Cell Prolif*, 2014, 47(6): 527-539.
- [12] Wu YQ, Xia LG, Zhou YN, et al. Icariin induces osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells in a MAPK-dependent manner[J]. *Cell Prolif*, 2015, 48(3): 375-384.
- [13] Ma XN, Zhou J, Ge BF, et al. Icariin induces osteoblast differentiation and mineralization without dexamethasone in vitro[J]. *Planta Med*, 2013, 79(16): 1501-1508.
- [14] 马小妮, 葛宝丰, 陈克明, 等. 淫羊藿苷调节成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收的机制[J]. *中国医学科学院学报*, 2013, 35(4): 432-438.
MA XN, GE BF, CHEN KM, et al. Mechanism of icariin regulating bone formation of osteoblasts and bone resorption of osteoclasts[J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 2013, 35(4): 432-438. Chinese.
- [15] Dixit M, Raghuvanshi A, Gupta CP, et al. Medicarpin, a natural pterocarpan, heals cortical bone defect by activation of notch and Wnt canonical signaling pathways[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144541.
- [16] Xiao HH, Gao QG, Ho MX, et al. An 8-O-4' norlignan exerts oestrogen-like actions in osteoblastic cells via rapid nongenomic ER signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 170: 39-49.
- [17] He G, Guo W, Lou ZY, et al. *Achyranthes bidentata* saponins promote osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells through the ERK MAPK signaling pathway[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(1): 467-473.
- [18] Kim JL, Park SH, Jeong D, et al. Osteogenic activity of silymarin through enhancement of alkaline phosphatase and osteocalcin in osteoblasts and tibia-fractured mice[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2012, 237(4): 417-428.
- [19] Xu D, Xu L, Zhou C, et al. Salvianolic acid B promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells through activating ERK signaling pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 51: 1-9.
- [20] Zhai ZJ, Li HW, Liu GW, et al. Andrographolide suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis in vitro and prevents inflammatory

bone loss in vivo[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(3):663-675.

[21] Gu Q, Chen C, Zhang Z, et al. Ginkgo biloba extract promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in a pathway involving Wnt/beta-catenin signaling[J]. Pharmacol Res, 2015, 97:70-78.

[22] Liu M, Li Y, Yang ST. Curculigoside improves osteogenesis of human amniotic fluid-derived stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(2):146-154.

[23] Xu T, Wang L, Tao Y, et al. The function of naringin in inducing secretion of osteoprotegerin and inhibiting formation of osteoclasts [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016, 2016:8981650.

[24] Zhang X, Liu T, Huang Y, et al. Icariin; does it have an osteoinductive potential for bone tissue engineering[J]. Phytother Res, 2014, 28(4):498-509.

[25] 毛项颖, 卞琴, 沈自尹. 淫羊藿苷介导 MAPK 信号通路促进间充质干细胞株 C3H10T1/2 成骨分化的体外研究[J]. 中西医结合学报, 2012, 10(11):1272-1278.

MAO XY, BIAN Q, SHEN ZY. Analysis of the osteogenetic effects exerted on mesenchymal stem strain C3H10T1/2 by icariin via MAPK signaling pathway in vitro[J]. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2012, 10(11):1272-1278. Chinese.

[26] Zhou Y, Wu Y, Jiang X, et al. The effect of quercetin on the osteogenic differentiation and angiogenic factor expression of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. PLoS One, 2015, 10(6):e0129605.

[27] Cai M, Li G, Tao K, et al. Maohuoside A acts in a BMP-dependent manner during osteogenesis[J]. Phytother Res, 2013, 27(8):1179-1184.

[28] Liu M, Li Y, Yang ST. Effects of naringin on the proliferation and osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem cells[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2017, 11(1):276-284.

[29] Liang W, Lin M, Li X, et al. Icariin promotes bone formation via the BMP-2/Smad4 signal transduction pathway in the hFOB 1.19 human osteoblastic cell line[J]. Int J Mol Med, 2012, 30(4):889-895.

[30] Zhang JF, Li G, Chan CY, et al. Flavonoids of Herba Epimedii regulate osteogenesis of human mesenchymal stem cells through BMP and Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314(1):70-74.

[31] Mohd Fozi NF, Mazlan M, Shuid AN, et al. Milk thistle; a future potential anti-osteoporotic and fracture healing agent[J]. Curr Drug Targets, 2013, 14(14):1659-1666.

[32] Yamaguchi M, Arbiser JL, Weitzmann MN. Honokiol stimulates osteoblastogenesis by suppressing NF-kappaB activation[J]. Int J Mol Med, 2011, 28(6):1049-1053.

[33] Luo Z, Liu M, Sun L, Rui F. Icariin recovers the osteogenic differentiation and bone formation of bone marrow stromal cells from a rat model of estrogen deficiency-induced osteoporosis[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1):382-388.

[34] Wong KC, Pang WY, Wang XL, et al. Drynaria fortunei-derived total flavonoid fraction and isolated compounds exert oestrogen-like protective effects in bone[J]. Br J Nutr, 2013, 110(3):475-485.

[35] Tang DZ, Hou W, Zhou Q, et al. Osthole stimulates osteoblast differentiation and bone formation by activation of beta-catenin-BMP signaling[J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(6):1234-1245.

[36] Zhai YK, Guo XY, Ge BF, et al. Icariin stimulates the osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells via activating the PI3K-AKT-eNOS-NO-cGMP-PKG[J]. Bone, 2014, 66:189-198.

[37] Kanwar JR, Samarasinghe RM, Kumar K, et al. Cissus quadrangularis inhibits IL-1beta induced inflammatory responses on chondrocytes and alleviates bone deterioration in osteotomized rats via p38 MAPK signaling[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9:2927-2940.

(收稿日期:2016-08-20 本文编辑:李宜)

·读者·作者·编者·

本刊关于参考文献著录的要求

按 GB/T 7714-2015《信息与文献 文后参考文献著录规则》采用顺序编码著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。中文参考文献要求用英汉双语著录;用汉语拼音书写的人名,姓全大写,其名缩写,取每个汉字拼音的首字母;刊名用汉语拼音拼写。参考文献中的作者,1~3 名全部列出,3 名以上只列前 3 名,后加“等”。外文期刊名称用缩写,以 Index Medicus 中的格式为准。每条参考文献均须著录起止页。①期刊:[序号]作者.题名[J].刊名,年,卷(期);起止页码。②专著:[序号] 著者.书名 [M].版次.出版地:出版者,出版年;起止页码。③专著中析出文献:[序号]作者.题名[M]//编者.书名.版次.出版地:出版者,出版年;起止页码。

《中国骨伤》杂志社