

· 基础研究 ·

# 丹皮酚对骨质疏松骨折大鼠骨代谢的影响

李鸿儒<sup>a</sup>, 赵清辉<sup>a\*</sup>, 王永辉<sup>a</sup>, 周静<sup>a</sup>, 陈庭瑞<sup>b</sup>

(驻马店市中心医院 a: 药学部; b: 创伤骨科, 河南驻马店 463000)

**摘要:** [目的] 探讨丹皮酚对骨质疏松性 (osteoporosis, OP) 骨折大鼠骨代谢、核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) / 基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases, MMP-9) 信号通路的影响。[方法] 52 只 SD 雌性大鼠随机分为假手术组、模型组、骨化醇组及丹皮酚组, 每 13 只。除了假手术组外, 其他大鼠均切除双侧卵巢, 10 周后所有动物再行建立股骨骨折手术处理, 假手术组、模型组分别给予生理盐水; 骨化醇组给予 0.05  $\mu$ g/kg 阿法骨化醇; 丹皮酚组给予 200 mg/kg 丹皮酚灌胃, 1 次/d, 连续 12 周。行 BMD 与骨微 CT 定量检测, 并血清检测、髓标志物 mRNA 和蛋白表达检测。[结果] 给药 12 周后, BMD [(0.31 $\pm$ 0.06) g/cm<sup>2</sup> vs (0.26 $\pm$ 0.06) g/cm<sup>2</sup> vs (0.25 $\pm$ 0.05) g/cm<sup>2</sup> vs (0.19 $\pm$ 0.04) g/cm<sup>2</sup>,  $P$ <0.001]、骨小梁数 [(5.5 $\pm$ 0.6) mm<sup>-1</sup> vs (4.7 $\pm$ 0.6) mm<sup>-1</sup> vs (4.5 $\pm$ 0.5) mm<sup>-1</sup> vs (3.0 $\pm$ 0.4) mm<sup>-1</sup>,  $P$ <0.001] 和骨小梁厚度 [(78.5 $\pm$ 5.4)  $\mu$ m vs (72.3 $\pm$ 4.7)  $\mu$ m vs (70.8 $\pm$ 5.0)  $\mu$ m vs (46.9 $\pm$ 3.8)  $\mu$ m,  $P$ <0.001] 由高至低依次均为假手术组>丹皮酚组>骨化醇组>模型组, 差异有统计意义。血清检测方面, PINP、BGP 和 ALP 由高至低依次均为: 假手术组>丹皮酚组>骨化醇组>模型组, 差异有统计意义 ( $P$ <0.05)。而血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 由低至高依次均为: 假手术组<丹皮酚组<骨化醇组<模型组, 差异有统计意义 ( $P$ <0.05)。通道标志物检测方面, NF- $\kappa$ B p65 和 MMP 的 mRNA 以及蛋白表达由低至高依次均为: 假手术组<丹皮酚组<骨化醇组<模型组, 差异均有统计意义 ( $P$ <0.05)。[结论] 丹皮酚能明显改善 OP 骨折大鼠骨密度、骨微 CT 测量和血清骨代谢指标, 下调 NF- $\kappa$ B/MMP9 信号通路标志物的表达。

**关键词:** 骨质疏松性骨折, 丹皮酚, 骨代谢, 核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)

**中图分类号:** R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 24-2264-06

**Effect of paeonol on bone metabolism in osteoporotic fracture in rats // LI Hong-ru, ZHAO Qing-hui, WANG Yong-hui, ZHOU Jing, CHEN Ting-rui. a. Department of Pharmacy; b. Department of Traumatic Orthopedics, Central Hospital of Zhumadian City, Zhumadian 463000, China**

**Abstract: [Objective]** To investigate the effects of paeonol on bone metabolism, involving nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) / matrix metalloproteinases-9 (MMP-9) signaling pathway, in osteoporotic fracture in rat. **[Methods]** A total of 52 SD female rats were randomly divided into the sham operation (SO) group, model group, calcitriol group and paeonol group, with 13 in each group. Except those in the SO group, all the rats underwent bilateral total ovariectomy (OVX), and all animals underwent operation to establish femur fracture with internal fixation 10 weeks later. The sham operation group and model group were respectively given normal saline, while the calcitriol group was given 0.05  $\mu$ g/kg alfacalcitol, and the paeonol group was given 200 mg/kg paeonol intragastrically once a day for 12 weeks. The BMD and bone microCT were conducted, and serum makers, signaling pathway markers mRNA and protein expression were detected. **[Results]** At 12 weeks after drug administration, the BMD [(0.31 $\pm$ 0.06) g/cm<sup>2</sup> vs (0.26 $\pm$ 0.06) g/cm<sup>2</sup> vs (0.25 $\pm$ 0.05) g/cm<sup>2</sup> vs (0.19 $\pm$ 0.04) g/cm<sup>2</sup>,  $P$ <0.001], the trabecular number (Tb.N) [(5.5 $\pm$ 0.6) mm<sup>-1</sup> vs (4.7 $\pm$ 0.6) mm<sup>-1</sup> vs (4.5 $\pm$ 0.5) mm<sup>-1</sup> vs (3.0 $\pm$ 0.4) mm<sup>-1</sup>,  $P$ <0.001] and bone trabecular thickness (Tb.Th) [(78.5 $\pm$ 5.4)  $\mu$ m vs (72.3 $\pm$ 4.7)  $\mu$ m vs (70.8 $\pm$ 5.0)  $\mu$ m vs (46.9 $\pm$ 3.8)  $\mu$ m,  $P$ <0.001] were ranked from high to low as follows: the SO group>the paeonol group>the calcitriol group>the model group with statistically significant differences. In terms of serum detections, the PINP, BGP and ALP were ranked in descending order as the SO group>the paeonol group>the calcitriol group>the model group with statistically significant differences ( $P$ <0.05), while the serum TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8 were in the order from low to high: the SO group<the paeonol group<the calcitriol group<the model group with statistically significant differences ( $P$ <0.05). In terms of signaling pathway marker detection, both the mRNA and protein expressions of NF- $\kappa$ B p65 and MMP ranked as follows: the SO group<the paeonol group<the calcitriol group<the model group, which all were statistically significant ( $P$ <0.05). **[Conclusion]** The paeonol does significantly improve bone mineral density, bone microCT measurement and serum bone metabolism markers, while down-regulate the expression of NF- $\kappa$ B/MMP9 signaling

DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.24.11

作者简介: 李鸿儒, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向: 临床药学, (电话)19939663005, (邮箱)19939663005@163.com

\* 通信作者: 赵清辉, (电话)16619708603, (电子信箱)qinghui Zhao2046@163.com

pathway markers in OP fractured rats in this study.

**Key words:** osteoporotic fracture, paeonol, bone metabolism, nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 好发于中老年人与绝经后女性, 易引发脆性骨折, 致残、死亡风险较大<sup>[1]</sup>。有报道中老年人群 OP 患病率 20%, 且以肾虚血瘀证常见<sup>[2]</sup>。有指南指出, OP 发病率较高, 发生骨折的风险大且 80% 左右为女性, 特别是绝经后女性, 建议对高风险女性加强筛查<sup>[3]</sup>。可见加强高风险人群 OP 筛查, 防治 OP 相关骨折具有重要的临床、社会意义。目前治疗 OP 及其相关骨折的方法较多, 药物上有雌激素、钙剂等, 部分用药效果不好或有严重不良反应<sup>[4]</sup>。近年来中医药在 OP 骨折治疗中应用较多, 中医上 OP 属于“骨痿”“骨痹”等范畴, 其发病与肾、肝、脾虚损、外邪侵袭等有关, 且呈现渐进缓慢特点<sup>[5]</sup>。丹皮酚为牡丹、徐长卿提取物, 具有散瘀止痛、抗菌消炎功效, 还能抗氧化、抑炎、改善微循环, 且可对 p38 MAPK 等相关通路影响以抑制滑膜细胞损伤、炎症反应等<sup>[6]</sup>。有报道丹皮酚保护软骨细胞的机制可能与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制, 降低基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases, MMP-9) 等指标有关<sup>[7]</sup>。杨黎等<sup>[8]</sup>报道称丹皮酚可能通过抑制 Toll 样受体-4 (toll-like receptor, TLR4) / 核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路降低肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的产生。MMP-9 与破骨吸收密切相关, 参与 OP 发病<sup>[9]</sup>; NF- $\kappa$ B 被认为是破骨细胞活性的关键调节因子, 能介导炎症、免疫应答等, 于 OP 中高表达<sup>[10]</sup>。本研究通过分析丹皮酚对 OP 骨折大鼠骨代谢及 NF- $\kappa$ B/MMP9 信号通路的影响, 为 OP 骨折防治提供新的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与分组

清洁级 SD 雌性大鼠 52 只, 体重 250~300 g, 平均 (280.0 $\pm$ 15.0) g, 由河南省实验动物中心提供, 许可证号为 SYXK (豫) 2017-0001, 关于大鼠相关操作符合实验动物伦理要求。随机将其分为假手术组、模型组、骨化醇组与丹皮酚组, 每组 13 只。

### 1.2 模型建立

假手术组, 仅打开腹腔, 对卵巢附近脂肪组织切除。其他三组均腹腔打开, 且将双侧卵巢切除, 伤口缝合。常规饲养 10 周后, 通过双能 X 线骨密度仪对

各大鼠骨密度值 (bone mineral density, BMD) 进行测定, 若建模大鼠 BMD 值比假手术组大鼠 BMD 平均值小 2.5 个标准差, 则提示建模成功。

随后将所有大鼠右侧股骨横向锯断, 立即用克氏针固定骨折, 伤口缝合。

### 1.3 药物干预

于骨折固定术后次日对大鼠进行药物干预, 假手术组、模型组均给予用药同体积生理盐水灌胃, 均 1 次/d, 连续 12 周。骨化醇组大鼠行阿法骨化醇 (华润双鹤药业股份有限公司) 0.05  $\mu$ g/kg 灌胃, 丹皮酚组给予 200 mg/kg 丹皮酚 (陕西博林生物技术有限公司) 灌胃, 均 1 次/d, 连续 12 周。

### 1.4 检测指标

#### 1.4.1 BMD 测量

于给药前和给药 12 周后, 采用双能 X 线骨密度仪测定各组大鼠股骨 BMD, 模式为 Hi-red small animal。

#### 1.4.2 骨微 CT 检测

于给药 12 周处死动物后取各组大鼠股骨样本, 于股骨远端干骺区域通过 micro-CT 扫描仪测定各组大鼠骨小梁数量、厚度与分离度。分辨率 18  $\mu$ m、电流分别为 385  $\mu$ A。

#### 1.4.3 血清检测

给药 12 周后取血, 采用酶联免疫分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定各组大鼠血清 I 型前胶原羧基端前肽 (type I procollagen propeptide, PINP)、骨钙素 (bone gla protein, BGP)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 水平。通过酶标仪在 450 nm 处对吸光度值进行测定, 依据标准曲线计算样本浓度。同时经由 ELISA 测定各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素 (Interleukin) -6、IL-8 水平。相关试剂盒购自汉云克隆科技股份有限公司与上海酶联生物科技有限公司。

#### 1.4.4 qRT-PCR 检测

TRIzol 法提取各组大鼠股骨骨髓组织总 RNA, 逆转录合成 cDNA, PCR 扩增, 严格按照相关说明书进行。NF- $\kappa$ B p65 上下游引物分别为 5' -CATAC-GCTGACCCTAGCCTG-3'、5' -TTTCTTCAATCCG-GTGCGA-3'; MMP-9 上下游引物分别为 5' -GCC-GACTTATGTGCTCTTCC-3'、5' -GCTTCTCTCCCAT

CATCTGG-3', 以 GAPDH 为内参, 其上下游引物分别为 5' -GAAGCTGTCATCAACGGGA-3'、5' -GCGGAGATGATGACCCTT-3'。相关参数: 50℃ 120 s, 95℃ 10 min, 95。经由 2- $\Delta\Delta$ CT 法计算 NF- $\kappa$ B p65、MMP9 mRNA 相对表达量。

#### 1.4.5 Western Blot 检测

裂解液提前室温解冻, 适量骨髓组织放入研钵中, 裂解液滴入后冰上静置, 上清液提取后通过 BCA 蛋白试剂盒检测蛋白浓度。制备好电泳装置与聚丙烯酰胺凝胶, 电泳操作: 80 V 电泳 150 min。300 mA 让蛋白转移到 PVDF 膜上。TBST 缓冲液内滴入脱脂牛奶制备封闭液, 膜入封闭液, 室内常温封闭 120 min, 之后分别加入磷酸化 (p)-NF- $\kappa$ B p65、MMP9 一抗 (体积比均为 1:1 000 稀释), 4℃ 孵育过夜。次日 TBST 缓冲液洗膜 4 次, 5 min/次, 加入 1:5 000 稀释的二抗, 室温孵育 1 h。洗膜后滴入 ECL 试剂, 让其显色, 凝胶成像系统成像分析。 $\beta$ -actin 为内参, Image J 软件对相关蛋白显影图进行分析。

#### 1.5 统计学方法

应用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 资料呈正态分布时, 多组间行单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 BMD 与骨微 CT 定量检测

四组大鼠 BMD 与骨微 CT 定量检测结果见表 1。给药 12 周后 BMD 由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ )。骨小梁数由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ )。骨小梁厚度由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ ); 而骨小梁分离由低至依次为: 假手术组 < 丹皮酚组 < 骨化醇组 < 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 四组大鼠 BMD 与骨微 CT 定量检测比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of bone mineral density and bone micro-CT measurements among the four groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	假手术组 (n=13)	模型组 (n=13)	骨化醇组 (n=13)	丹皮酚组 (n=13)	P 值
BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.31±0.06	0.19±0.04	0.25±0.05	0.26±0.06	<0.001
骨小梁数 (mm <sup>-1</sup> )	5.5±0.6	3.0±0.4	4.5±0.5	4.7±0.6	<0.001
骨小梁厚度 ( $\mu$ m)	78.5±5.4	46.9±3.8	70.8±5.0	72.3±4.7	<0.001
骨小梁分离度 (mm)	0.23±0.04	0.37±0.07	0.26±0.05	0.25±0.06	<0.001

### 2.2 血清检测

给药 12 周后血清检测结果见表 2。PINP 由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ ); 血清 BGP 由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有

统计意义 ( $P < 0.05$ ); 血清 ALP 由高至低依次为: 假手术组 > 丹皮酚组 > 骨化醇组 > 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ )。而血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 由低至高依次均为: 假手术组 < 丹皮酚组 < 骨化醇组 < 模型组, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ )。

表 2 四组大鼠血清指标检测比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum markers among the four groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	假手术组 (n=13)	模型组 (n=13)	骨化醇组 (n=13)	丹皮酚组 (n=13)	P 值
PINP ( $\mu$ g/L)	93.6±13.0	26.5±6.2	80.7±10.5	82.4±11.3	<0.001
BGP ( $\mu$ g/L)	2.1±0.2	0.9±0.2	1.6±0.3	1.7±0.4	<0.001
ALP (U/L)	201.0±23.6	112.4±12.7	175.2±15.4	180.3±18.6	<0.001
TRAP ( $\mu$ g/L)	1.5±0.4	2.8±0.6	2.0±0.5	1.8±0.4	<0.001
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	4.0±1.3	20.4±4.6	8.6±2.3	8.0±2.9	<0.001
IL-6 (pg/ml)	1.7±0.4	3.5±0.8	2.2±0.6	2.0±0.5	<0.001
IL-8 (pg/ml)	2.9±0.7	12.3±2.4	5.0±1.3	4.7±1.2	<0.001

### 2.3 标志物 mRNA 和蛋白表达检测

给药 12 周后骨标志物 mRNA 和蛋白检测结果见表 3。NF- $\kappa$ B p65 和 MMP 的 mRNA 表达均由低至高依次依次为：手术组<丹皮酚组<骨化醇组<模型组，差

异有统计意义 ( $P<0.05$ )。p-NF- $\kappa$ B p65 和 MMP9 蛋白表达由低至高依次为：假手术组<丹皮酚组<骨化醇组<模型组，差异有统计意义 ( $P<0.05$ )。

表 3 四组标志物 mRNA 和蛋白表达检测 (相对表达量,  $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 Comparison of mRNA and protein expressions of bone marrow markers among the four groups (RQ,  $\bar{x} \pm s$ )

指标	假手术组 (n=13)	模型组 (n=13)	骨化醇组 (n=13)	丹皮酚组 (n=13)	P 值
qRT-PCR					
NF- $\kappa$ B-p65	3.0 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.3	3.5 $\pm$ 0.7	3.3 $\pm$ 0.5	<0.001
MMP9	1.0 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.3	<0.001
Western Blot					
P-NF- $\kappa$ B-p65	0.15 $\pm$ 0.03	0.50 $\pm$ 0.10	0.22 $\pm$ 0.06	0.20 $\pm$ 0.04	<0.001
MMP9	0.4 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.2	<0.001

### 3 讨论

据统计,我国>50 岁居民 OP 发生率 19.2%, 女性 OP 比例 32.1%, 是男性的 5 倍左右<sup>[11]</sup>。故选择雌性大鼠进行本次实验, 通过切除卵巢构建 OP, 且横向锯断股骨以形成骨折, 相比假手术组, 模型组及其他组给药前 BMD 值均显著降低, 提示 OP 骨折大鼠建模成功。相比模型组, 骨化醇组、丹皮酚组给药 12 周后 BMD 值均显著高, 且骨小梁数目明显增多, 骨小梁形态明显改善。提示西药 (阿法骨化醇) 与丹皮酚均能提高 OP 骨折大鼠骨密度, 恢复骨小梁异常形态, 与张富财等<sup>[12]</sup>报道基本相符。骨代谢指标与 OP 及其相关骨折密切相关<sup>[13]</sup>。其中 PINP 可直接反映 I 型胶原合成速率<sup>[14]</sup>; ALP 参与成骨过程, 通过对磷酸酯、焦磷酸盐活性水解可促骨形成<sup>[15]</sup>; BGP 多源于成骨细胞, 其水平高低关系到成骨细胞活性<sup>[16]</sup>; TRAP 则与破骨细胞有关, 其水平高低反映破骨细胞活性<sup>[17]</sup>。本实验骨化醇组、丹皮酚组给药后血清 PINP、BGP、ALP 水平比模型组均显著增高, TRAP 水平显著降低。提示阿法骨化醇与丹皮酚均能抑制破骨细胞活性, 促进骨细胞形成。这可能与丹皮酚具有促进骨折愈合、抗骨关节炎等药理作用有关。

OP 骨折属于慢性炎症疾病, IL、TNF- $\alpha$  等炎症因子参与 OP 骨折发生、进展<sup>[18]</sup>。MMP-9 被发现在 OP 发病中发挥重要作用, 其抑制 MMP-9 基因及蛋白表达是促破骨细胞凋亡的可能机制<sup>[19]</sup>, 并通过对软骨组织 (非矿化) 降解, 释放血管内皮生长因子直接活化破骨细胞。NF- $\kappa$ B 参与炎症过程, 通过对

NF- $\kappa$ B 信号通路及其相关炎症指标抑制可促成骨细胞生长, 在 OP 防治中发挥作用<sup>[20]</sup>。有报道称, NF- $\kappa$ B 的结合位点在 MMP-9 启动子内, MMP-9 表达受 NF- $\kappa$ B 影响<sup>[21]</sup>。Sabry M 等<sup>[22]</sup>研究表明, MMP-9、NF- $\kappa$ B 高表达与绝经后骨质疏松发生有关。Liu 等<sup>[23]</sup>研究表明丹皮酚可通过抑制 IL-1 $\beta$  等诱导的软骨细胞炎症以控制骨关节炎病情。本实验中, 相比假手术组, 模型组血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 水平均显著增高。提示血清炎症指标参与 OP 骨折发病过程。且骨化醇组、丹皮酚组治疗后血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 水平均比模型组显著降低。提示丹皮酚能有效抑制血清促炎因子, 这可能与丹皮酚抗菌消炎、抗氧化、抑炎作用有关。另外, 周晓慧等<sup>[24]</sup>研究表明丹皮酚通过对 NF- $\kappa$ B/MMP-9 信号通路下调可逆转心肌梗死后心室重构。有研究表明, 丹皮酚可能通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin、TLR4/MYD88/NF- $\kappa$ B 信号通路发挥软骨细胞保护、减轻肝脏缺血再灌注损伤的作用<sup>[7, 25]</sup>。本实验中, 丹皮酚组治疗后股骨骨髓组织中 NF- $\kappa$ B p65、MMP mRNA 表达与 p-NF- $\kappa$ B p65、MMP9 蛋白水平比模型组均显著降低。提示丹皮酚能有效调控 OP 骨折大鼠 NF- $\kappa$ B/MMP-9 信号通路, 抑制炎症以促进骨愈合。

综上所述, 丹皮酚可能通过下调 NF- $\kappa$ B/MMP-9 信号通路, 抑制 IL-6、IL-8 等炎症因子, 以恢复破骨、成骨细胞平衡, 达到治疗 OP 骨折的目的, 可为临床 OP 骨折患者治疗提供新参考。但由于骨形成相关信号通路比较多, 丹皮酚是否也影响其他信号通路尚需进一步研究。

### 参考文献

- [1] Yong EL, Logan S. Menopausal osteoporosis: screening, prevention and treatment [J]. Singapore Med J, 2021, 62 (4) : 159-166. DOI: 10.11622/smedj.2021036.
- [2] 张金梅, 夏京, 刘鑫琦, 等. 潍坊地区中老年人骨质疏松症流行病学调查及中医证型研究 [J]. 山东中医杂志, 2022, 41 (10) : 1077-1080. DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2022.10.007. Zhang JM, Xia J, Liu XQ, et al. Epidemiological investigation and TCM syndrome type of osteoporosis in middle-aged and elderly population in Weifang area [J]. Shandong J Trad Chin Med, 2022, 41 (10) : 1077-1080. DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2022.10.007.
- [3] Chandran M. AACE/ACE Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis-2020 update: Risk stratification and intervention thresholds [J]. Endocr Pract, 2021, 27 (4) : 378. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.01.019.
- [4] Muñoz M, Robinson K, Shibli-Rahhal A. Bone health and osteoporosis prevention and treatment [J]. Clin Obstet Gynecol, 2020, 63 (4) : 770-787. DOI: 10.1097/GRF.0000000000000572.
- [5] 马伟凤, 王亮, 马彦巧, 等. 人参皂苷 Rg3 通过调节 AMPK/mTOR 信号通路提高骨质疏松老年大鼠骨密度及骨代谢 [J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40 (1) : 163-169. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2023.01.026. Ma WF, Wang L, Ma YQ, et al. Ginsenoside Rg3 enhances bone mineral density and bone metabolism in aged rats with osteoporosis by regulating AMPK/mTOR signaling pathway [J]. J Guangzhou Univ Chin Med, 2023, 40 (1) : 163-169. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2023.01.026.
- [6] 郑家春, 熊正罡, 赵洋洋, 等. 丹皮酚对强直性脊柱炎小鼠跟腱滑膜的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (11) : 1019-1023. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.11.13. Zheng JC, Xing ZG, Zhao YY, et al. The effect of paeonol on the synovium of Achilles tendon in mice with ankylosing spondylitis [J]. Orthop J Chin, 2021, 29 (11) : 1019-1023. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.11.13.
- [7] 吴成武, 王伟, 汤休书, 等. 徐长卿丹皮酚通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路保护 IL-1 $\beta$  诱导的软骨细胞损伤 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41 (23) : 5346-5351. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.23.044. Wu CW, Wang W, Tang XS, et al. Paeonol protects IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte injury by regulating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway [J]. Chin J Gerontol, 2021, 41 (23) : 5346-5351. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.23.044.
- [8] 杨黎, 戴敏, 陈鹏. 丹皮酚对脂多糖诱导的大鼠血管内皮细胞 VCAM-1、TNF- $\alpha$  释放及 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响 [J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34 (1) : 46-50. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7246.2015.01.016. Yang L, Dai M, Chen P. Effects of paeonol on the release of VCAM-1, TNF- $\alpha$  and TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway in rat vascular endothelial cells induced by lipopolysaccharide [J]. J Anhui Univ Chin Med, 2015, 34 (1) : 46-50. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7246.2015.01.016.
- [9] Sabry M, Mostafa S, Rashed L, et al. Matrix metalloproteinase 9a potential major player connecting atherosclerosis and osteoporosis in high fat diet fed rats [J]. PLoS One, 2021, 16 (2) : e0244650. DOI: 10.1371/journal.pone.0244650.
- [10] Xiao L, Zhong M, Huang Y, et al. Puerarin alleviates osteoporosis in the ovariectomy-induced mice by suppressing osteoclastogenesis via inhibition of TRAF6/ROS-dependent MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12 (21) : 21706-21729. DOI: 10.18632/aging.103976.
- [11] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 中国骨质疏松症流行病学调查及"健康骨骼"专项行动结果发布 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12 (4) : 317-318. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2591.2019.04.001. Osteoporosis and Bone Mineral Salt Disease Branch, Chinese Medical Association. Epidemiological survey of osteoporosis in China and release of the results of the special action of "Healthy Bones" [J]. Chin J Osteoporosis Bone Miner Salt Dis, 2019, 12 (4) : 317-318. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2591.2019.04.001.
- [12] 张富财, 郑峰, 王福荣, 等. 丹皮酚对去卵巢骨质疏松大鼠叉头框蛋白 O3a/Wnt 信号通路及椎骨密度的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25 (32) : 5091-5096. Zhang FC, Zheng F, Wang FR, et al. Effects of paeonol on fuchsian O3a/Wnt signaling pathway and vertebral bone density in ovariectomized osteoporosis rats [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25 (32) : 5091-5096.
- [13] 张炳坤, 张喜善. 骨代谢标志物在骨质疏松症诊治中的应用 [J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30 (16) : 1483-1486. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.09. Zhang BK, Zhang XS. The application of bone metabolism markers in the diagnosis and treatment of osteoporosis [J]. Orthop J Chin, 2022, 30 (16) : 1483-1486. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.09.
- [14] 夏宁, 蔡云, 刘达, 等. 血清骨代谢指标与股骨颈骨量丢失的诊断价值 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (8) : 731-734. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.08.13. Xia N, Cai Y, Liu D, et al. Serum bone metabolism and the diagnostic value of femoral neck bone mass loss [J]. Orthop J Chin, 2021, 29 (8) : 731-734. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.08.13.
- [15] Green MR, Sambrook J. Alkaline phosphatase [J]. Cold Spring Harb Protoc, 2020, 2020 (8) : 100768. DOI: 10.1101/pdb.top100768.
- [16] Wang JS, Mazur CM, Wein MN. Sclerostin and osteocalcin: candidate bone-produced hormones [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 584147. DOI: 10.3389/fendo.2021.584147.
- [17] 杨豪, 曾范慧. 牛膝多糖调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路改善骨质疏松性骨折大鼠骨代谢的研究 [J]. 中医学报, 2021, 36 (10) : 2188-2194. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2021.10.457. Yang H, Zeng FH. Effect of achyranin polysaccharide on Wnt/ $\beta$ -catenin pathway on bone metabolism in rats with osteoporotic fracture [J]. J Trad Chin Med, 2021, 36 (10) : 2188-2194. DOI:

- 10.16368/j.issn.1674-8999.2021.10.457.
- [18] Li J, Wong RMY, Chung YL, et al. Fracture-related infection in osteoporotic bone causes more severe infection and further delays healing [J]. *Bone Joint Res*, 2022, 11 (2): 49-60. DOI: 10.1302/2046-3758.112.BJR-2021-0299.R1.
- [19] 李风波, 孙晓雷, 马剑雄, 等. 柚皮苷对破骨细胞凋亡的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (5): 450-454. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.05.15.  
Li FB, Sun XL, Ma JX, et al. The influence of naringin on osteoclast apoptosis [J]. *Orthop J Chin*, 2021, 29 (5): 450-454. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.05.15.
- [20] Tao H, Li W, Zhang W, et al. Urolithin A suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and postmenopausal osteoporosis by suppressing inflammation and downstream NF- $\kappa$ B activated pyroptosis pathways [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 74: 105967. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105967.
- [21] Al-Sadi R, Engers J, Haque M, et al. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) induced disruption of intestinal epithelial tight junction barrier is mediated by NF- $\kappa$ B activation [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (4): e0249544. DOI: 10.1371/journal.pone.0249544.
- [22] Sabry M, Mostafa S, Kamar S, et al. The cross-talk between matrix-metalloproteinase-9, RANKL/OPG system and cardiovascular risk factors in ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (10): e0258254. DOI: 10.1371/journal.pone.0258254.
- [23] Liu M, Zhong S, Kong R, et al. Paeonol alleviates interleukin-1 $\beta$ -induced inflammatory responses in chondrocytes during osteoarthritis [J]. *Biomed pharmacother*, 2017, 95 (1): 914-921. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.011.
- [24] 周晓慧, 赵静怡, 张树峰, 等. 丹皮酚通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路下调 MMP-9 的表达改善心梗后大鼠的心室重构 [J]. *中成药*, 2014, 36 (12): 2599-2602. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.12.035.  
Zhou XH, Zhao JY, Zhang SF, et al. Paeonol down-regulates the expression of MMP-9 by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling pathway to improve ventricular remodeling in rats after myocardial infarction [J]. *Chin Patent Med*, 2014, 36 (12): 2599-2602. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.12.035.
- [25] Morsy MA, Ibrahim YF, Abdel Hafez SMN, et al. Paeonol attenuates hepatic ischemia/reperfusion injury by modulating the Nrf2/HO-1 and TLR4/MYD88/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11 (9): 1687. DOI: 10.3390/antiox11091687.
- (收稿: 2023-04-17 修回: 2023-08-04)  
(同行评议专家: 张立峰, 干旻峰, 李慧阁)  
(本文编辑: 宁桦)

(上接 2263 页)

- [31] Li D, Liu J, Guo B, et al. Osteoclast-derived exosomal MIR-214-3P inhibits osteoblastic bone formation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10872.
- [32] 董世武, 胡文辉. 破而后立: 骨骼系统中破骨细胞新功能解析 [J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44 (1): 79-88.
- [33] Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, et al. Osteoimmunology: The conceptual framework unifying the immune and skeletal systems [J]. *Physiol Rev*, 2017, 97 (4): 1295-1349.
- [34] Cui Y, Fu S, Sun D, et al. EPC-derived exosomes promote osteoclastogenesis through LNCRNA-MALAT1 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (6): 3843-3854.
- [35] Saran U, Gemini Piperni S, Chatterjee S. Role of angiogenesis in bone repair [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 561: 109-117.
- [36] 田鹏, 马信龙. LNK 蛋白与内皮祖细胞在骨折愈合过程中作用的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25 (12): 1126-1128.
- [37] 周正楠, 张岩, 邱旭升, 等. 骨折愈合过程中 VEGF 的表达与调控及其作用的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23 (24): 2248-2251.
- [38] Takeuchi R, Katagiri W, Endo S, et al. Exosomes from conditioned media of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote bone regeneration by enhancing angiogenesis [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (11): e0225472.
- [39] Liu W, Li L, Rong Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of MIR-126 [J]. *Acta Biomater*, 2020, 103: 196-212.
- [40] 张晓勃, 施锦涛, 张凯, 等. 骨髓间充质干细胞及其外泌体治疗椎间盘退变的研究进展 [J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45 (8): 862-868.
- (收稿: 2022-10-10 修回: 2023-04-07)  
(同行评议专家: 王健, 李宏宇)  
(本文编辑: 宁桦)