

· 基础研究 ·

鸢尾素和体外冲击波对去势大鼠骨折愈合的影响[△]谢河秋^a, 李力^b, 杨紫芳^a

(驻马店市中心医院 a. 疼痛科; b. 神经外科, 河南驻马店 463000)

摘要: [目的] 探究鸢尾素联合体外冲击波 (extracorporeal shock waves, ESW) 治疗去势大鼠骨质疏松性骨折的作用与机理。[方法] 80只SD大鼠随机分为5组, 每组16只。分别为假手术组、模型组、模型+ESW组、模型+鸢尾素组、模型+ESW+鸢尾素组。除假手术组仅行手术切口外, 其他各组先后行双侧卵巢切除和左侧股骨骨折内固定, 术后分别给予相应处理, 其中, ESW治疗每周1次, 鸢尾素组骨折部位局部注射。治疗后8周处死动物, 行骨密度、破骨细胞指数、micro-CT、Western blot和RT-qPCR检测。[结果] 在骨密度和破骨细胞指数均由优至劣低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素>模型+ESW组, 或模型+鸢尾素>模型组 ($P<0.05$)。MicroCT检测, 包括BS/BV、Tb.N、Tb.Th和Tb.Sp, 由优至劣低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素>模型+ESW组, 或模型+鸢尾素>模型组 ($P<0.05$)。Western blot检测BMP2、VEGF、Nrf2F的OH-1的蛋白相对表达量由高至低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素>模型+鸢尾素组, 或模型+ESW组>模型组 ($P<0.05$)。RT-qPCR检测Nrf2和OH-1 mRNA相对表达量由高至低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素>模型+鸢尾素组, 或模型+ESW组>模型组 ($P<0.05$)。[结论] 鸢尾素联合ESW可激活Nrf2/OH-1通路并促进VEGF和BMP2蛋白的表达, 促进骨质疏松大鼠的骨折愈合。

关键词: 骨质疏松, 骨折, 体外冲击波, 鸢尾素, Nrf2/OH-1通路

中图分类号: R683

文献标志码: A

文章编号: 1005-8478 (2022) 08-0732-05

Effects of irisin combined with extracorporeal shock wave on fracture healing in ovariectomized rats // XIE He-qiu^a, LI Li^b, YANG Zi-fang^a. a. Department of Pain; b. Department of Neurosurgery; Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: [Objective] To explore the effect on mechanism of irisin combined with extracorporeal shock wave (ESW) on fracture healing in the ovariectomized rats. [Methods] A total of 80 SD rats were randomly divided into 5 groups with 16 rats in each group, including sham operation group, model group, model +ESW group, model + irisin group, model +ESW+ irisin group. Except the animals in sham operation group that received surgical incision only, all rates received bilateral ovariectomy, and then left femoral fracture and internal fixation successively, subsequently, corresponding postoperative treatments were given respectively, including ESW treatment once a week, and local injection of irisin group in fracture site. At 4 weeks after treatment, the animals were sacrificed for bone mineral density, osteoclast index, microCT, Western blot and RT-QPCR assays. [Results] Bone mineral density and osteoclast index were ranked superior-inferiorly in orders of sham operation group > model + ESW + irisin group > model + ESW group or model + irisin group > model group ($P>0.05$). MicroCT detection items, including BS/BV, Tb.N, Tb.Th and Tb also ranked superior-inferiorly in sequence of model + ESW+ irisin group > model +ESW group or model + irisin group > model group ($P<0.05$). In term of Western blot detection, the relative protein expression of BMP2, VEGF, Nrf2F and OH-1 arranged up-down in order of sham operation group > model + ESW+ irisin group > model +ESW group or model + irisin group > model group ($P<0.05$). In term of RT-QPCR assay, the relative mRNA expression of Nrf2 and OH-1 from high to low were: sham operation group > model +ESW+ irisin group > model + irisin group or model +ESW group > model group ($P<0.05$). [Conclusion] Irisin combined with ESW might activate Nrf2/OH-1 pathway to promote the expression of VEGF and BMP2 proteins, and promote fracture healing in the ovariectomized rats

Key words: osteoporosis, fracture, extracorporeal shock wave, irisin, Nrf2/OH-1 pathway

骨质疏松症是一种临床常见的代谢性骨病, 随着年龄的增长而逐渐加剧, 尤其是在绝经后的女性

中^[1]。骨质疏松会导致骨矿物质密度下降、骨质量下降以及骨骼的微结构性骨折, 而骨质疏松患者的骨折

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.08.12

△基金项目:河南省医学科技项目(编号:H02019204Y)

作者简介:谢河秋, 副主任医师, 研究方向:临床疼痛诊疗, (电话)18439157856, (电子信箱)xieheqiu@126.com

修复难度极大,有效促进骨折愈合具有重要的临床意义^[2]。研究发现,核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)/OH-1通路在绝经后骨质疏松的发病过程中起重要作用,其激活可以增强对内源性抗氧化剂对活性氧(ROS)的抑制作用,从而促进骨再生^[3]。体外冲击波(extracorporeal shock waves, ESW)主要被用于结石的治疗,近年来研究显示,ESW可以促进骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP),从而加速骨形成和骨愈合^[4, 5]。中药也在骨质疏松的治疗中起到了重要作用,鸢尾素(irisin)主要由骨骼肌合成和分泌,可促进成骨细胞的再生,增加皮质骨的质量和强度,并使破骨细胞减少,从而发挥增加骨量的作用,研究发现,其可通过调控Nrf2抑制绝经后骨质疏松大鼠成骨细胞凋亡,缓解骨质疏松^[6],然而是否会促进骨折愈合仍不清楚。本文主要分析鸢尾素联合ESW治疗去势骨质疏松性骨折模型大鼠的作用机制,为临床更好地治疗骨质疏松性骨折提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

80只雌性SD大鼠随机分为5组,分别为假手术组、模型组、模型+ESW组、模型+鸢尾素组、模型+ESW+鸢尾素组,每组16只。

1.2 动物模型建立与处理

1:1体积的盐酸甲苯噻嗪(5 mg/kg)和盐酸唑拉西泮(20 mg/kg)麻醉大鼠,切除大鼠的两个卵巢(ovariectomy, OVX)^[7]。其中,假手术组大鼠仅行开腹,没有切除卵巢。

OVX术后12周后再次麻醉大鼠,切开并暴露右侧股骨,通过击打的方法建立股骨骨折模型,然后使用1 mm克氏针固定。影像检查确认建模情况,并肌肉注射8万单位青霉素预防感染。

ESW干预通过ESW治疗仪进行^[8],能量密度为0.25 mJ/mm²,频率为5 Hz,脉冲次数为1 600次,每周1次,共治疗8周。鸢尾素的干预方法为骨折部位局部注射,浓度为500 ng/ml,剂量为0.1 ml,每周1次,连续8周^[9]。

药物干预8周后,对大鼠采用二氧化碳安乐死,分别进行以下检测。

1.3 检测指标

1.3.1 骨密度和破骨细胞指数

采用小动物骨密度仪检测左侧股骨密度。然后,

取出中段骨痂组织,将组织在4%的多聚甲醛中浸泡过夜将其固定,固定后使用石蜡进行常规包埋。然后利用切片机将样本切成5 μm厚的切片。制作成玻片标本后加入苏木精(10%,室温,10 min)和曙红(0.5%,室温,10 min)分别对细胞质和细胞核进行染色。在每个样本中随机选择三个高倍视野进行观察,破骨细胞指数即为单位面积中破骨细胞数目(个/μm²)。

1.3.2 MicroCT扫描

使用Micro-CT机在555 uA电流和42 kV电压下扫描,层厚为1 mm,分辨率为8.73 μm,扫描角度为360°,以骨折部位为 midpoint 分别在上部和下部各选择200张,然后统计骨体积分数(BV/TV)以及骨小梁的数量、厚度和分离度。

1.3.3 Western blot

将中段骨痂组织,假手术组取骨组织,裂解后收集总蛋白。通过8%的SDS-PAGE分离每个样品中等量(50 μg)的蛋白质,并将其转移到硝酸纤维素膜上。然后将5%脱脂牛奶完全浸没硝酸纤维素膜来封闭非特异性抗原(室温下2 h),将膜分别与一抗(1:800稀释)在4°C下孵育过夜,然后将山羊抗兔IgG二抗按照1:2 000的比例稀释并在室温下孵育1 h进行反应。使用化学发光试剂显示,使用Quantum One软件分析灰度计算BMP2、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Nrf2、OH-1蛋白相对于GAPDH的表达量。

1.3.4 RT-qPCR

使用RNeasy Mini试剂盒取中段骨痂组织(假手术组取骨组织)中的总RNA,然后使用Bestar qPCR RT试剂盒将其逆转转录为cDNA,条件如下:37°C/15 min;98°C/5 min。然后使用Bestar™qPCR预混液进行qPCR实验,条件如下:95°C/2 min,94°C/20 s,58°C/20 s,72°C/20 s,40个循环,最后在72°C下延伸4 min。使用Agilent Stratagene Mx3000P序列检测系统进行RT-qPCR分析。通过比较循环阈值并以GAPDH作为内参计算Nrf2、OH-1 mRNA相对表达水平

1.4 统计学方法

使用SPSS 19.00软件进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,资料呈正态分布时,采用单因素方差分析,两两比较采用LSD法;资料呈非正态分布时,采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度和破骨细胞指数

骨密度和破骨细胞指数检测结果见表 1，骨密度检测值由高至低依次为，假手术组 > 模型+ESW+鸢尾素 > 模型+ESW 组 > 模型+鸢尾素组 > 模型组，差

异有统计学意义 ($P < 0.05$)。破骨细胞指数由低至高依次为，假手术组 < 模型+ESW+鸢尾素组 < 模型+鸢尾素组 < 模型+ESW 组 < 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 五组动物股骨骨折标本骨密度和破骨细胞指数检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	假手术组 (n=16)	模型组 (n=16)	模型+ESW 组 (n=16)	模型+鸢尾素组 (n=16)	模型+ESW+鸢尾素组 (n=16)	P 值
骨密度 (mg/cm ²)	82.93±5.18	49.47±4.85 ^a	60.21±5.27 ^b	59.62±5.46 ^b	77.94±7.04 ^{c,d}	<0.001
破骨细胞指数 (n/μm ²)	35.72±3.15	74.18±7.29 ^a	64.06±5.76 ^b	59.72±5.04 ^b	42.58±4.22 ^{c,d}	<0.001

注：^a $P < 0.05$ vs. 假手术组；^b $P < 0.05$ vs. 模型组；^c $P < 0.05$ vs. 模型+ESW 组；^d $P < 0.05$ vs. 模型+鸢尾素组

2.2 MicroCT 检测

MicroCT 检测结果见表 2。骨表面积骨体积比值 (bone surface/ bone volume, BS/BV) 由高至低依次为，模型+ESW+鸢尾素 > 模型+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。骨小梁数 (trabecular number, Tb.N) 由高至低依次为，模型+ESW+鸢尾素组 > 模型+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb.Th) 由高至低依次为，模型+ESW+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型+鸢尾素组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。骨小梁分离度 (trabecular separation, Tb.Sp) 由低至高依次为，模型+ESW+鸢尾素 < 模型+鸢尾素组 < 模型+ESW 组 < 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 五组动物股骨骨折中心样本 microCT 检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	假手术组 (n=16)	模型组 (n=16)	模型+ESW 组 (n=16)	模型+鸢尾素组 (n=16)	模型+ESW+鸢尾素组 (n=16)	P 值
BS/BV (%)	-	37.15±2.14	44.35±3.25 ^b	47.52±3.87 ^b	51.74±4.02 ^{c, d}	<0.001
Tb.N (1/mm)	-	0.12±0.01	0.20±0.02 ^b	0.21±0.02 ^b	0.27±0.30 ^{c, d}	<0.001
Tb.Th (μm)	-	0.11±0.01	0.21±0.02 ^b	0.20±0.02 ^b	0.27±0.30 ^{c, d}	<0.001
Tb.Sp (μm)	-	5.02±0.65	4.47±0.49 ^b	4.30±0.47 ^b	3.45±0.36 ^{c, d}	<0.001

注：^a $P < 0.05$ vs. 假手术组；^b $P < 0.05$ vs. 模型组；^c $P < 0.05$ vs. 模型+ESW 组；^d $P < 0.05$ vs. 模型+鸢尾素组

2.3 Western blot 检测结果

Western blot 检测结果见图 1、表 3。BMP2 表达量由高至低依次为，模型+ESW+鸢尾素 > 假手术组 > 模型+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。VEGF 表达量由高至低依次为，模型+ESW+鸢尾素组 > 假手术组 > 模型+ESW 组 > 模型+鸢尾素组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

Nrf2F 表达量由高至低依次为，假手术组 > 模型+ESW+鸢尾素组 > 模型+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。OH-1 表达量由高至低依次为，假手术组 > 模型+ESW+鸢尾素组 > 模型+鸢尾素组 > 模型+ESW 组 > 模型组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

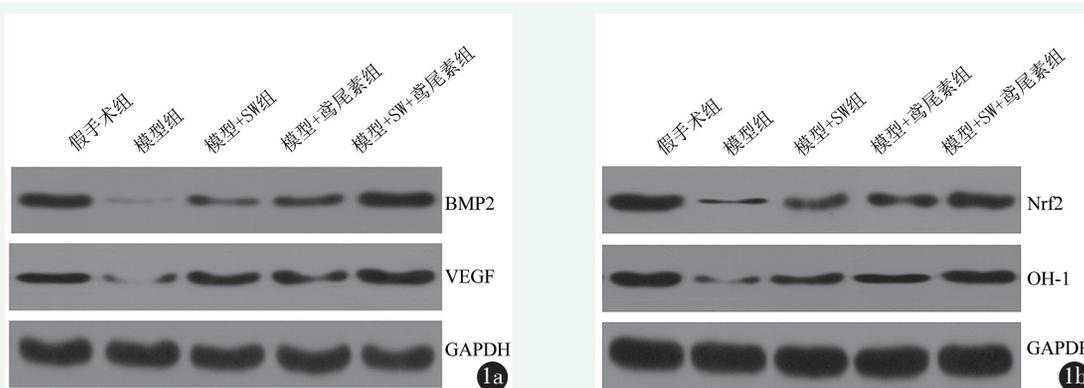


图 1 Westernblot 凝胶电泳图 1a: BMP2 和 VEGF 检测凝胶电泳 1b: Nrf2 和 OH-1 蛋白检测凝胶电泳

表 3 五组动物股骨骨折中心样本 Wester blot 检测结果 (蛋白相对表达量, $\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	假手术组 (n=16)	模型组 (n=16)	模型+ESW 组 (n=16)	模型+鸢尾素组 (n=16)	模型+ESW+鸢尾素组 (n=16)	P 值
BMP2	2.21±0.19	0.34±0.03 ^a	1.29±0.11 ^b	1.45±0.12 ^b	2.28±0.20 ^{c, d}	<0.001
VEGF	1.97±0.17	0.52±0.05 ^a	1.91±0.16 ^b	1.85±0.15 ^b	2.30±0.20 ^{c, d}	<0.001
Nrf2	3.12±0.27	0.49±0.04 ^a	1.45±0.12 ^b	1.67±0.14 ^b	2.95±0.27 ^{c, d}	<0.001
OH-1	2.89±0.26	0.42±0.04 ^a	1.70±0.14 ^b	1.76±0.15 ^b	2.77±0.25 ^{c, d}	<0.001

注: ^aP<0.05 vs. 假手术组; ^bP<0.05 vs. 模型组; ^cP<0.05 vs. 模型+ESW 组; ^dP<0.05 vs. 模型+鸢尾素组

2.4 RT-qPCR 检测结果

RT-qPCR 检测结果见 4。Nrf2 mRNA 相对表达量由高至低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素组>模型+鸢尾素组>模型+ESW 组>模型组, 差异有统计

学意义 (P<0.05)。OH-1 mRNA 相对表达量由高至低依次为, 假手术组>模型+ESW+鸢尾素组>模型+鸢尾素组>模型+ESW 组>模型组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。

表 4 五组动物股骨骨折中心样本 RT-qPCR 检测结果 (mRNA 相对表达量, $\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	假手术组 (n=16)	模型组 (n=16)	模型+ESW 组 (n=16)	模型+鸢尾素组 (n=16)	模型+ESW+鸢尾素组 (n=16)	P 值
Nrf2 mRNA	4.52±0.35	0.85±0.08 ^a	2.97±0.24 ^b	3.24±0.29 ^b	4.20±0.38 ^{c, d}	<0.001
OH-1 mRNA	4.49±0.39	0.81±0.08 ^a	3.04±0.25 ^b	3.22±0.28 ^b	4.38±0.39 ^{c, d}	<0.001

注: ^aP<0.05 vs. 假手术组; ^bP<0.05 vs. 模型组; ^cP<0.05 vs. 模型+ESW 组; ^dP<0.05 vs. 模型+鸢尾素组

3 讨论

绝经妇女是骨质疏松症的高危人群, 目前已经发现了许多预防绝经后骨质疏松的可能方法, 例如药物治疗、中药、体育锻炼、机械刺激和电刺激^[10]。而非药物方法包括锻炼计划和生物物理干预, ESW 治疗、磁场和低强度脉冲超声是常见生物物理干预措施, 而 ESW 也有助于提高骨质疏松合并骨折患者的疗效^[11]。但是, 其具体疗效和机制仍需要进一步研究。

ESW 是一种携带能量并可以通过软组织传播的短时声波, 是一种经济有效的非侵入性治疗方式, 已广泛用于各种疾病的临床治疗, 主要包括肾结石、勃起功能障碍和肌肉骨骼疾病^[12]。最新研究显示, ESW 具有促进骨折愈合的作用^[13]。鸢尾素是一种肌动蛋白, 由骨骼肌分泌, 鸢尾素最初被认为是脂肪组织褐变的活化剂, 具有缓解肥胖症和糖尿病的作用^[14]。最新研究结果显示鸢尾素可诱导骨形成, 增加皮质骨的质量和强度, 使破骨细胞减少, 从而发挥增加骨量的作用^[15]。本研究通过 OVX 诱导大鼠骨质疏松, 并构建股骨 FF 模型, 分析 ESW 和鸢尾素联合使用对骨折愈合的影响。结果显示, ESW 和鸢尾素单独干预均能够提高骨密度, 减少破骨细胞数目,

并诱导骨痂生成促进骨折部位的愈合, 并且 ESW 和鸢尾素联合对骨密度和骨折愈合的促进作用更显著。这提示对于骨质疏松骨折大鼠, 鸢尾素和 ESW 二者能够协同, 共同作用加速骨再生和骨愈合。

为进一步分析 ESW 和鸢尾素联合促进骨质疏松大鼠骨折愈合的机制, 本研究检测了骨痂组织中 BMP2 和 VEGF 蛋白的表达量, 以及 Nrf2、OH-1 蛋白水平。研究显示 ESW 对伤口愈合、血管生成、组织再生和骨骼重塑具有积极作用^[16]。而 BMP2 蛋白是一种分泌蛋白, 是促进软骨和骨形成的关键蛋白, 其水平升高提示骨再生, 是骨折愈合的积极因子^[17]。VEGF 是促进血管生成的关键因子, 有研究显示 ESW 可通过诱导 VEGF 促进血管生成^[18]。VEGF 受到 Nrf2/HO-1 通路的调控, Nrf2/HO-1 通路会抑制氧化应激反应, 发挥抑制破骨细胞的作用, 并 Nrf2/HO-1 通路也会通过促进 VEGF 的表达促进血管生成, 起到组织修复的作用^[19, 20]。本研究结果显示, ESW 和鸢尾素均可显著促进 BMP2 和 VEGF 蛋白的表达, 并提高 Nrf2 和 OH-1 的转录水平和蛋白表达量, 二者联合可进一步促进它们的表达水平。Yu 等^[21]的研究结果显示, ESW 可通过上调 Nrf2/OH-1 通路促进 VEGF 的表达, 从而促进血管再生缓解缺血/再灌注损伤。研究发现, 鸢尾素可通过激活 Nrf2 通路缓解氧化型低密度脂蛋白诱导的血管生成

受损^[22]。Kubo等^[23]的研究也显示鸢尾素具有促进Nrf2/OH-1通路的功能。提示在ESW的基础上联合鸢尾素干预可刺激Nrf2/OH-1通路上调,会促进VEGF蛋白的表达诱导血管生成,从而促进血液循环,加速骨痂形成,并提高BMP2的表达,不但提高骨密度促进了骨形成,进而促进骨折愈合。

综上所述,鸢尾素联合ESW可激活Nrf2/OH-1通路并促进VEGF和BMP2蛋白的表达,促进骨质疏松大鼠的骨折愈合。关于鸢尾素联合ESW对骨质疏松骨折患者的治疗效果值得进一步的临床实验证明,为治疗骨质疏松骨折患者提供新思路。

参考文献

- [1] 曾荣,黄淑玉,廖世波.绝经后女性2型糖尿病患者腰椎骨质疏松的影响因素研究[J].中国骨质疏松杂志,2021,27(11):1620-1625.
- [2] 张倩,王花欣,王媛,等.中药防治绝经后骨质疏松症的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(7):1083-1088.
- [3] Ma H, Wang X, Zhang W, et al. Melatonin suppresses ferroptosis induced by high glucose via activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway in type 2 diabetic osteoporosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020 (1): 9067610-9067615.
- [4] Huang X, Li Q, Wei X, et al. Indoor test system for liquid CO₂ phase change shock wave pressure with PVDF sensors [J]. *Sensors*, 2020, 20 (8): 2395-2399.
- [5] Li B, Wang R, Huang X, et al. Extracorporeal shock wave therapy promotes osteogenic differentiation in a rabbit osteoporosis model [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 1 (12): 627718-627723.
- [6] Xu L, Shen L, Yu X, et al. Effects of irisin on osteoblast apoptosis and osteoporosis in postmenopausal osteoporosis rats through up-regulating Nrf2 and inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19 (2): 1084-1090.
- [7] 蔡朋杉,蔡腾,李晓彬,等.慢病毒介导乳铁转蛋白对大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响[J].中华实验外科杂志,2019,36(1):31-33.
- [8] Hsu SL, Chou WY, Hsu CC, et al. Shockwave therapy modulates the expression of BMP2 for prevention of bone and cartilage loss in the lower limbs of postmenopausal osteoporosis rat model [J]. *Bio-medicines*, 2020, 8 (12): 614-619.
- [9] Xu L, Shen L, Yu X, et al. Effects of irisin on osteoblast apoptosis and osteoporosis in postmenopausal osteoporosis rats through up-regulating Nrf2 and inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19 (2): 1084-1090.
- [10] Spence JD, Viscoli CM, Inzucchi SE, et al. Pioglitazone therapy in patients with stroke and prediabetes: a post hoc analysis of the iris randomized clinical trial [J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76 (5): 526-535.
- [11] Mulders MA, Bentohami A, Beerekamp MS, et al. Demographics, fracture patterns and treatment strategies following wrist trauma [J]. *Acta Orthop Belg*, 2019, 85 (2): 234-239.
- [12] Oh JH, Park HD, Han SH, et al. Duration of treatment effect of extracorporeal shock wave on spasticity and subgroup-analysis according to number of shocks and application site: a meta-analysis [J]. *Ann Rehabil Med*, 2019, 43 (2): 163-177.
- [13] Göl EB, Özkan N, Bereket C, et al. Extracorporeal shock-wave therapy or low-level laser therapy: which is more effective in bone healing in bisphosphonate treatment [J]. *J Craniofac Surg*, 2020, 1 (7): 2043-2048.
- [14] Guarnotta V, Prinzi A, Pitrone M, et al. Circulating irisin levels as a marker of osteosarcopenic-obesity in Cushing's disease [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13 (1): 1565-1574.
- [15] Kang YS, Kim JC, Kim JS, et al. Effects of swimming exercise on serum irisin and bone FNDC5 in rat models of high-fat diet-induced osteoporosis [J]. *J Sports Sci Med*, 2019, 18 (4): 596-603.
- [16] Ramesh S, Zaman F, Madhuri V, et al. Radial extracorporeal shock wave treatment promotes bone growth and chondrogenesis in cultured fetal rat metatarsal bones [J]. *Clin Orthop*, 2020, 478 (3): 668-678.
- [17] Guo PY, Wu LF, Xiao ZY, et al. Knockdown of MiR-140-5 promotes osteogenesis of adipose-derived mesenchymal stem cells by targeting TLR4 and BMP2 and promoting fracture healing in the atrophic nonunion rat model [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (5): 2112-2124.
- [18] Long J, He C, Ding H, et al. Effect of shock wave on vascular lesions in diabetic rats [J]. *Pain Physician*, 2019, 22 (5): 505-510.
- [19] Fan J, Lv H, Li J, et al. Roles of Nrf2/HO-1 and HIF-1 α /VEGF in lung tissue injury and repair following cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (6): 7695-7707.
- [20] Huang Y, Mao Y, Li H, et al. Knockdown of Nrf2 inhibits angiogenesis by downregulating VEGF expression through PI3K/Akt signaling pathway in cerebral microvascular endothelial cells under hypoxic conditions [J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96 (4): 475-482.
- [21] Yu G, Guan Y, Liu L, et al. The protective effect of low-energy shock wave on testicular ischemia-reperfusion injury is mediated by the PI3K/AKT/NRF2 pathway [J]. *Life Sci*, 2018, 213 (1): 142-148.
- [22] Zhang M, Xu Y, Jiang L. Irisin attenuates oxidized low-density lipoprotein impaired angiogenesis through AKT/mTOR/S6K1/Nrf2 pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (10): 18951-18962.
- [23] Kubo H, Asai K, Kojima K, et al. Exercise ameliorates emphysema of cigarette smoke-induced COPD in mice through the exercise-irisin-Nrf2 Axis [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2019, 14 (1): 2507-2516.

(收稿:2021-05-01 修回:2021-07-31)

(同行评议专家:李丹)

(本文编辑:宁桦)