

## 骨碎补治疗外伤性骨折作用机制的研究进展

梅晓龙, 张涛, 陆娜

天津市天津医院 创伤矫形一病区, 天津 300211

**摘要:** 外伤性骨折是临床骨科常见病和多发病, 积极有效促进骨折愈合对改善患者预后具有重要临床价值。骨碎补可促进骨髓间充质干细胞分化、促进成骨细胞增殖、抑制破骨细胞活性、促进软骨细胞生长、抑制氧化应激反应、调节相关分子信号通路。探讨了骨碎补促进骨折愈合、治疗外伤性骨折的作用机制, 为骨碎补临床上提供参考。

**关键词:** 骨碎补; 外伤性骨折; 骨髓间充质干细胞; 成骨细胞; 破骨细胞; 软骨细胞; 氧化应激反应; 信号通路

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2022)10 - 2386 - 04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.039

## Research progress on mechanism of *Drynariae Rhizoma* in treatment of traumatic fracture

MEI Xiao-long, ZHANG Tao, LU Na

Trauma Orthopaedic Ward 1, Tianjin Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

**Abstract:** Traumatic fracture is a common and frequently-occurring disease in clinical orthopaedics. Active and effective promotion of fracture healing has important clinical value in improving the prognosis of patients. *Drynariae Rhizoma* can promote the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, promote the proliferation of osteoblasts, inhibit the activity of osteoclasts, promote the growth of chondrocytes, inhibit the oxidative stress response, and regulate related molecular signaling. This paper summarizes the mechanism of *Drynariae Rhizoma* in treatment of traumatic fractures, and provides reference for *Drynariae Rhizoma* to promote fracture healing in clinic.

**Key words:** *Drynariae Rhizoma*; traumatic fracture; bone marrow mesenchymal stem cell; osteoblast; osteoclast; chondrocytes; oxidative stress response; signaling pathway

随着工业化水平升高和人类活动空间的增多, 外伤性骨折的发生率明显增多, 同时我国逐渐进入老龄化社会, 伴随骨质疏松症患者人群的扩大, 发生外伤性骨折的风险呈明显上升趋势<sup>[1]</sup>。外伤性骨折患者经治疗后骨折愈合是个非常复杂的生理进程, 成骨细胞、破骨细胞、骨髓间充质干细胞、软骨细胞、多种细胞、细胞因子和信号通路在调节软骨基质、骨痂的形成中发挥重要作用, 参与骨修复、再生<sup>[2]</sup>。目前临床对骨折愈合的全过程的了解还远不够, 还需进一步明确药物对相关细胞或信号通路影响的作用机制<sup>[3]</sup>。中医认为肾主骨生髓, 骨折愈合与肾精关系密切, 肾精充足则骨折愈合有力。骨碎补为水龙骨科植物槲蕨 *Drynaria fortune* (Kunze)

*J. Sm.* 的干燥根茎, 味苦、性温, 归肝、肾经, 具有续伤止痛、强骨补肾的功效<sup>[4]</sup>。骨碎补含有黄酮类、三萜类、木脂素、苯丙素类、甾体类等多种有效成分, 具有抗炎、调血脂、抗骨质疏松、促进骨折愈合、促牙齿生长、肾功能保护等多种生物学功能<sup>[5]</sup>。骨碎补可促进骨髓间充质干细胞分化、促进成骨细胞增殖、抑制破骨细胞活性、促进软骨细胞生长、抑制氧化应激反应、调节相关分子信号通路。因此本文探讨了骨碎补促进骨折愈合、治疗外伤性骨折的作用机制, 为骨碎补临床上提供参考。

### 1 促进骨髓间充质干细胞分化

骨髓间充质干细胞具有成骨、软骨、神经、脂肪、成肌细胞形成的多种分化潜能, 广泛存在于骨

收稿日期: 2022-07-25

基金项目: 天津市卫生健康科技项目 (RC20016)

作者简介: 梅晓龙 (1979—), 男, 河北石家庄人, 主治医师, 硕士, 研究方向为创伤矫形骨科。E-mail: nksod@163.com

髓、骨髓、骨外膜、骨骼肌、骨小梁中,在骨折愈合中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。Sun 等<sup>[7]</sup>体外实验使用骨碎补总黄酮干预骨髓间充质干细胞生成,结果显示,0.11、0.22、0.44 g/kg 骨碎补总黄酮能提高血管内皮生长因子(VEGF)、缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )、Runt 相关转录因子 2(RUNX2)和骨形态发生蛋白 2(BMP-2)及其相关 mRNA 的表达,增加骨髓间充质干细胞的数量和大小,其作用机制为激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,促进骨骼形成。Shen 等<sup>[8]</sup>运用人工手术建立骨质大鼠和牵引成骨大鼠模型,结果显示,75 mg/kg 骨碎补总黄酮能增加 H 型血管的形成,以提高骨连接、矿化骨组织、新形成骨面积的水平,其机制与剂量相关性方式增加内皮祖细胞(EPC)的数量和人血小板衍生生长因子 BB(PDGF-BB)的产生、上调磷酸化血小板源性生长因子受体  $\beta$ (p-PDGFR- $\beta$ )、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)和磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2(p-ERK1/2)的表达、增强 EPC 的 PDGF-BB 介导骨髓间充质干细胞在应激条件下的成骨分化有关。

## 2 促进成骨细胞增殖

成骨细胞主要是由骨髓间充质干细胞分化形成,能分泌多种骨基质特异性蛋白、钙盐,促进骨形成,在骨折愈合中发挥积极作用<sup>[9]</sup>。Hu 等<sup>[10]</sup>使用双侧卵巢切除术建立去卵巢大鼠模型,50 mg/kg 骨碎补总黄酮能提高 Wnt3a、 $\beta$ -catenin 和 p- $\beta$ -catenin 的表达,提高骨密度(BMD)、骨小梁厚度、胶原纤维、软骨的水平,促进成骨细胞活化、增殖,其机制与激活 Wnt3a/ $\beta$ -catenin 通路有关。Guo 等<sup>[11]</sup>使用维甲酸饲养建立骨质疏松症右侧股骨中部骨折大鼠模型,结果显示,30、90 mg/kg 骨碎补能促使骨折愈合组织、股骨总矢状面横截面积、股骨骨干极限载荷力、骨小梁骨密度明显提高,其机制与促进成骨细胞分化和胶原纤维形成,从而促使骨痂形成和骨折愈合。Jeong 等<sup>[12]</sup>采用 MC3T3-E1 成骨细胞前细胞系进行体外实验,结果显示,50、150  $\mu$ g/mL 骨碎补提取物可剂量相关性增加碱性磷酸酶(ALP)的活性,促进成骨细胞增殖,增强骨吸收活性。

## 3 抑制破骨细胞活性

破骨细胞主要由单核细胞细胞融合而成,可分泌降钙素受体、组织蛋白酶 K、抗酒石酸酸性磷酸酶,降低矿物质沉积和分解骨基质蛋白,促进骨吸收,在骨折愈合进程中发挥抑制作用<sup>[13]</sup>。Chen 等<sup>[14]</sup>

使用维甲酸建立骨质疏松大鼠模型,结果显示,90 mg/kg 骨碎补提取物可提高胫骨干骺端骨密度和股骨 T.Ar,缩短骨折愈合时间,促进骨痂的形成,其机制与抑制破骨细胞活性、促进骨形成有关。

## 4 促进软骨细胞生长

Zhao 等<sup>[15]</sup>使用切除颈背肌肉和肉带建立颈椎间盘退变大鼠模型,结果显示,62.5、125、250 mg/kg 骨碎补总黄酮能降低基质金属蛋白酶 3、13、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、I、III型胶原蛋白的表达,促进 II 型胶原蛋白、聚集蛋白的表达,抑制细胞外基质的变性,增强软骨细胞的活性,其机制可能与抑制 MAPK 通路有关。Yao 等<sup>[16]</sup>使用福美双培养软骨原代细胞,结果显示,骨碎补总黄酮能显著促进软骨细胞增殖和生长,提高软骨细胞活力,其机制与上调 BMP-2/Runx2 和 Ihh/PTHrP 的表达有关。Yao 等<sup>[17]</sup>使用福美双饲养建立胫骨软骨发育不良鸡模型,结果显示,20 mg/kg 骨碎补总黄酮能降低血清 ALP、ALT 水平,升高总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平,促进胫骨血管、软骨细胞生长,其机制与增强 BMP-2/Runx2 蛋白、基因表达有关。

## 5 抑制氧化应激反应

骨折部位通常存在局部炎症反应,大量炎症介质可促使局部产生大量活性氧和自由基,加重局部氧化应激反应,影响骨基质矿化进程<sup>[18]</sup>。Liu 等<sup>[19]</sup>使用泼尼松龙建立骨质疏松大鼠模型,10 g/kg 骨碎补提取物能提高溶血磷脂酰胆碱(C16:0 LPC、C18:0 LPC、C18:1 LPC、C18:2 LPC)、色氨酸和苯丙氨酸 6 种代谢生物标志物的水平,提高骨密度水平,其可能机制与提高调节氧化应激反应平衡有关。

## 6 调节相关分子信号通路

BMP 家族可促进骨细胞形成骨基质和骨折愈合,与相关受体结合后能激活胞内信号通路,促进成骨细胞分化和骨基质蛋白的分泌<sup>[20]</sup>。Sun 等<sup>[21]</sup>使用环形外固定器建立右侧胫骨骨折大鼠模型,结果显示,0.22、0.44 mg/kg 骨碎补总黄酮能提高骨折缺损部位 X 射线评分,促进骨髓间充质干细胞中 BMP-2、Smad1、Smad4、RUNX-2、OSX 和 VEGF 基因、蛋白的表达,提高新生骨、骨髓、类骨质基质、软骨样基质和新生骨组织中成骨细胞数量,其机制与激活 BMP-Smad 信号通路促进大胫骨缺损中的骨形成有关。Hung 等<sup>[22]</sup>采集新生大鼠颅骨制

备的原代成骨细胞进行体外实验,结果表明,1、10、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  骨碎补提取物能够诱导胰岛素样生长因子-1、基质成熟相关 BMP-2 和 BMP-6 mRNA 的表达,以促进成骨细胞成熟,其机制与调节骨分化相关基因的表达有关。

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路参与机体骨形成和成骨分化,可增强 ALP 的活性,促进成骨细胞增殖,抑制破骨细胞形成,促进骨生成<sup>[23]</sup>。Li 等<sup>[24]</sup>使用人工手术建立股骨骨损伤大鼠模型,结果显示,0.22、0.44  $\text{mg}/\text{kg}$  骨碎补总黄酮能提高骨体积分数、小梁数、小梁厚度、连接密度的水平,降低骨表面分数、结构模型指数、小梁间距,有效促进右侧股骨骨小梁的形成,其机制为能剂量相关性促进骨组织中  $\beta$ -catenin 和 c-myc 的表达,通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进成骨细胞分化和成骨相关蛋白的表达,有效促进骨折骨合。Song 等<sup>[25]</sup>建立后肢卸尾悬吊大鼠模型,使用 75  $\text{mg}/\text{kg}$  骨碎补总黄酮处理,结果显示,75  $\text{mg}/\text{kg}$  骨碎补总黄酮能提高骨体积/组织体积、骨小梁数量、小梁厚度矿物质沉积率的水平和减少小梁分离,其主要机制为增强 Wnt3a、 $\beta$ -catenin 和 LEF1 3 种基因和  $\beta$ -catenin 的蛋白的表达,防治后肢卸荷引起的骨质流失。

杨丽等<sup>[26]</sup>建立间充质干细胞体外实验,结果显示,50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  骨碎补水提取物能提高 I 型胶原蛋白、ALP、BGP、钙淋巴结的水平,提高成骨分化能力,其机制与调节 TGF- $\beta_1$ 、BMP-2 的水平有关。王华松等<sup>[27]</sup>使用手术建立右后肢胫骨骨缺损大鼠模型,结果显示,20  $\text{g}/\text{kg}$  骨碎补能提高骨痂厚度,其机制与调节 TGF- $\beta_1$  的 mRNA 的表达有关。

段冠清等<sup>[28]</sup>提取新生大鼠成骨细胞进行体外实验,结果显示,50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  骨碎补总黄酮可提高雄激素受体 mRNA 水平,其机制与类雄激素效应有关。

## 7 结语

外伤性骨折是临床骨科常见病和多发病,轻者引起肢体局部肿胀、疼痛、出血,重者引起关节活动受限、关节畸形甚至残疾,严重影响患者的身体健康、生活工作能力<sup>[29]</sup>。积极有效促进骨折愈合对改善患者预后具有重要临床价值。随着中医药理论和技术的进步,近年来关于中药促进骨折愈合分子机制的研究明显增加,推动了中药治疗外伤性骨折的研究<sup>[30]</sup>。骨碎补可通过促进骨髓间充质干细胞分化和成骨细胞增殖,抑制破骨细胞活性,促进软骨细胞生长,抑制氧化应激反应,调节 BMP-Smad 信

号通路、Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、VEGF/VEGFR-2 信号通路、OPG、TGF- $\beta_1$  的 mRNA、雄激素受体 mRNA 分子的表达,多种途径促进外伤性骨折患者骨折的愈合。但目前骨碎补用于外伤性骨折的研究尚停留于基础实验阶段,尚缺乏以骨碎补为主要活性成分的药物和相关临床治疗报道,对人体的疗效还未明确。并且上述实验中建立的骨折模型也无法准确反映外伤性骨折患者真实的病理变化,骨碎补的疗效需进一步确认。治疗外伤性骨折可能是骨碎补以后的研究方向,也是中药骨科临床的重要课题。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Kironde E, Sekimpi P, Kajja I, et al. Prevalence and patterns of traumatic bone loss following open long bone fractures at Mulago Hospital [J]. *OTA Int*, 2019, 2(1): e015.
- [2] Einhorn T A, Gerstenfeld L C. Fracture healing: Mechanisms and interventions [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(1): 45-54.
- [3] Wang T, Zhang X, Bikle D D. Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(5): 913-921.
- [4] 毕锴, 温建民, 孙永生, 等. 中医药对骨折愈合作用及其机制的实验研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2014, 20(1): 137-140.
- [5] 谌顺清, 梁伟, 张雪妹, 等. 骨碎补化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(11): 2737-2745.
- [6] Zhang L, Jiao G, Ren S, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 38.
- [7] Sun W, Li M, Xie L, et al. Exploring the mechanism of total flavonoids of *Drynariae Rhizoma* to improve large bone defects by network pharmacology and experimental assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 603734.
- [8] Shen Z, Chen Z, Li Z, et al. Total flavonoids of *Rhizoma Drynariae* enhances angiogenic-osteogenic coupling during distraction osteogenesis by promoting type H vessel formation through PDGF-BB/PDGFR- $\beta$  instead of HIF-1 $\alpha$ /VEGF axis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 27(11): 503524.
- [9] Wang L, You X, Lotinun S, et al. Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 282.
- [10] Hu Y, Mu P, Ma X, et al. *Rhizoma drynariae* total

- flavonoids combined with calcium carbonate ameliorates bone loss in experimentally induced osteoporosis in rats via the regulation of Wnt3a/ $\beta$ -catenin pathway [J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16(1): 1-9.
- [11] Guo W, Shi K, Xiang G, *et al.* Effects of *Rhizoma Drynariae* cataplasm on fracture healing in a rat model of osteoporosis [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 28(25): 3133-3139.
- [12] Jeong J C, Lee J W, Yoon C H, *et al.* Stimulative effects of *Drynariae Rhizoma* extracts on the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96(3): 489-495.
- [13] Andreev D, Liu M, Weidner D, *et al.* Osteocyte necrosis triggers osteoclast-mediated bone loss through macrophage-inducible C-type lectin [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(9): 4811-4830.
- [14] Chen L, Tao ZS, Chen H, *et al.* Combined treatment with alendronate and *Drynaria* rhizome extracts: Effect on fracture healing in osteoporotic rats [J]. *Z Gerontol Geriatr*, 2018, 51(8): 875-881.
- [15] Zhao K, Chen M, Liu T, *et al.* *Rhizoma drynariae* total flavonoids inhibit the inflammatory response and matrix degeneration via MAPK pathway in a rat degenerative cervical intervertebral disc model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138: 111466.
- [16] Yao W, Zhang H, Kulyar M F, *et al.* Effect of total flavonoids of *Rhizoma Drynariae* in thiram induced cytotoxicity of chondrocyte via BMP-2/Runx2 and IHH/PTHrP expressions [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 206: 111194.
- [17] Yao W Y, Zhang H, Jiang X, *et al.* Effect of total flavonoids of *Rhizoma Drynariae* on tibial dyschondroplasia by regulating BMP-2 and Runx2 expression in chickens [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 2(9): 1251.
- [18] Wang Z, Ehnert S, Ihle C, *et al.* Increased oxidative stress response in granulocytes from older patients with a hip fracture may account for slow regeneration [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014: 819847.
- [19] Liu X, Zhang S, Lu X, *et al.* Metabonomic study on the anti-osteoporosis effect of *Rhizoma Drynariae* and its action mechanism using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 311-317.
- [20] Garrison K R, Shemilt I, Donell S, *et al.* Bone morphogenetic protein (BMP) for fracture healing in adults [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010, 16(6): CD006950.
- [21] Sun W, Li M, Zhang Y, *et al.* Total flavonoids of *rhizoma drynariae* ameliorates bone formation and mineralization in BMP-Smad signaling pathway induced large tibial defect rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138(14): 111480.
- [22] Hung T Y, Chen T L, Liao M H, *et al.* *Drynaria fortunei* J. Sm. promotes osteoblast maturation by inducing differentiation-related gene expression and protecting against oxidative stress-induced apoptotic insults [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(1): 70-77.
- [23] Carrillo-López N, Martínez-Arias L, Fernández-Villabrille S, *et al.* Role of the RANK/RANKL/OPG and Wnt/ $\beta$ -Catenin systems in CKD bone and cardiovascular disorders [J]. *Calcif Tissue Int*, 2021, 108(4): 439-451.
- [24] Li S, Zhou H, Hu C, *et al.* Total flavonoids of *Rhizoma Drynariae* promotes differentiation of osteoblasts and growth of bone graft in induced membrane partly by activating Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 26(12): 675470.
- [25] Song S H, Gao Z, Lei X, *et al.* Total flavonoids of *Drynariae Rhizoma* prevent bone loss induced by hindlimb unloading in rats [J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1033.
- [26] 杨丽, 朱晓峰, 王攀攀, 等. 骨碎补水提液对大鼠 MSCs 骨向分化的影响及机制研究 [J]. *中药材*, 2013, 36(8): 1287-1292.
- [27] 王华松, 黄琼霞, 许申明. 骨碎补对骨折愈合中血生化指标及 TGF- $\beta$ 1 表达的影响 [J]. *中医正骨*, 2001, 13(5): 6-8.
- [28] 段冠清, 蔡莹, 沈慧. 骨碎补总黄酮含药血清对大鼠成骨细胞 AR mRNA 表达的影响 [J]. *中医药导报*, 2010, 16(2): 61-64.
- [29] Einhorn T A, Gerstenfeld L C. Fracture healing: mechanisms and interventions [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(1): 45-54.
- [30] Siu W S, Shiu H T, Shum W T, *et al.* Chinese topical herbal medicine gives additive effect on pharmaceutical agent on fracture healing [J]. *J Tradit Chin Med*, 2019, 39(6): 853-860.

[责任编辑 解学星]