

淫羊藿苷介导 PI3K/Akt 信号通路干预大鼠早期激素性股骨头坏死的研究

石威^{1,2}, 金鑫¹, 王金凤¹, 王志洲², 王杰², 侯燕¹, 严伟¹, 姜红江^{1,2*}

1. 山东省文登整骨医院, 山东 威海 264400

2. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012

摘要: **目的** 探讨淫羊藿苷调控磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路干预大鼠早期激素性股骨头坏死的作用机制。**方法** 50 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组和淫羊藿苷 10、20、40 mg/kg 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余各组 ip 脂多糖和 im 甲泼尼龙制备激素性股骨头坏死大鼠模型。淫羊藿苷组大鼠分别 ig 10、20、40 mg/kg 的淫羊藿苷, 对照组、模型组均 ig 等量生理盐水, 每天 1 次, 连续 6 周。采用 Micro-CT 评估造模是否成功并分析骨密度 (BMD)、骨体积密度 (BV/TV)、骨表面积密度 (BS/TV)、骨小梁厚度 (Tb.Th)、骨小梁数量 (Tb.N)、骨小梁分离度 (Tb.Sp); ELISA 法检测血清中血管内皮生长因子 (VEGF)、一氧化氮 (NO) 水平; Western blotting 法检测股骨头 PI3K、Akt、磷酸化 Akt (p-Akt) 蛋白的表达。**结果** 与对照组比较, 模型组 BMD、Tb.Th、BV/TV、Tb.N、BS/TV、VEGF 和 NO 水平明显降低, Tb.Sp 明显增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 淫羊藿苷组的 BMD、Tb.N、BV/TV、Tb.Th、BS/TV、VEGF 和 NO 水平明显增高, Tb.Sp 明显降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达均减少 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 淫羊藿苷组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达均增加 ($P < 0.05$)。**结论** 淫羊藿苷能够有效缓解激素性股骨头坏死的进展, 其机制可能与调节血清中 VEGF、NO 水平和增加骨组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达有关, 从而诱导血管修复与新生, 促进骨形成和愈合。

关键词: 淫羊藿苷; 激素性股骨头坏死; 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路; 骨密度; 血管内皮生长因子; 一氧化氮

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)12-2680-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.12.002

Effect of icariin mediated PI3K/Akt signaling pathway on early steroid-induced avascular necrosis of the femoral head in rats

SHI Wei^{1,2}, JIN Xin¹, WANG Jin-feng¹, WANG Zhi-zhou², WANG Jie², HOU Yan¹, YAN Wei¹, JIANG Hong-jiang^{1,2}

1. Shandong Province Wendeng Orthopaedic Hospital, Weihai 264400, China

2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of icariin PI3K/Akt signaling pathway in the intervention of early steroid-induced femur head necrosis in rats. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into control group, model group, icariin 10, 20, 40 mg/kg group, with 10 rats in each group. Except for the control group, the other groups were successively injected with lipopolysaccharide and methylprednisolone by intraperitoneal injection, to prepare the Hormonal necrosis of the femoral head model. Icariin group were given 10, 20, and 40 mg/kg icariin intragastrically, respectively, while control group and model group were given the same amount of normal saline intragastrically, once daily, for 6 weeks. Micro-CT was used to evaluate the success of modeling and to analyze BMD, BV/TV, BS/TV, Tb.Th, Tb.N, and Tb.Sp. ELISA was used to detect the levels of VEGF and NO in serum. Western blotting was used to detect PI3K, Akt, p-Akt protein. **Results** Compared with the control group, the levels of BMD, Tb.Th, BV/TV, Tb.N, BS/TV, VEGF and NO were significantly decreased in model group, while the levels of Tb.Sp were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with model group, the levels of BMD, Tb.N, BV/TV, Tb.Th, BS/TV, VEGF and NO were significantly increased in icariin group, while the levels of Tb.Sp were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with control group, PI3K and P-Akt protein expression in model

收稿日期: 2022-10-12

基金项目: 山东省威海市中医药科技项目 (2021N-21)

作者简介: 石威, 男, 医师, 硕士, 研究方向为骨与关节损伤。E-mail: 1016390208@qq.com

*通信作者: 姜红江, 男, 主任医师/教授, 博士, 研究方向为骨与关节损伤。E-mail: boneman@163.com

group were decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, PI3K and P-Akt protein expression were increased in icariin group ($P < 0.05$). **Conclusion** Icariin can effectively alleviate the progression of steroid-induced femoral head necrosis, and its mechanism may be related to regulating the levels of VEGF and NO in serum and increasing the expression of PI3K, Akt and p-Akt in bone tissue, thus inducing vascular repair and regeneration and promoting bone formation and healing.

Key words: icariin; hormonal necrosis of the femoral head; PI3K/Akt signaling pathway; BMD; VEGF; NO

股骨头坏死是由于不同原因中断了股骨头的血液供给以及缺氧, 股骨头发生局部或完全性缺血, 继而软骨下骨微观结构被破坏, 骨细胞变性坏死, 最终导致股骨头塌陷的过程, 是骨科临床常见疾病, 临床表现为髋部的疼痛和髋关节内旋功能障碍^[1]。激素性股骨头坏死是最常见的类型, 坏死范围广且进展迅速, 及早干预至关重要^[2-3], 但迄今为止尚无公认的有效治疗方法。因此, 寻找防治激素性股骨头坏死的理想方法成为临床上亟需解决的问题。

中药在临床防治疾病方面具有独特优势, 其活性成分也为新药的研发提供了有价值的化合物^[4-5]。淫羊藿苷是中药淫羊藿的一种提取成分, 具有抗骨质疏松^[6-7]、促进血管修复和骨形成^[8-9]的功效, 可用于治疗早期激素性股骨头坏死^[10]。磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt) 信号通路在促进血管新生的过程中发挥着极其重要的作用, 其在缺血、缺氧环境下易被激活, 通过调控血管生成因子如血管内皮生长因子 (VEGF)、一氧化氮 (NO) 促进血管内皮细胞的增殖与再生, 进而修复受损血管, 为营养骨细胞提供必要的场所^[11-13]。研究发现, 淫羊藿苷可以通过调节 VEGF 来促进血管修复和骨形成^[14-15]。本研究拟使用不同浓度梯度的淫羊藿苷干预大鼠早期激素性股骨头坏死模型, 检测大鼠股骨头内的 PI3K/Akt 通路关键蛋白, 探索其干预激素性股骨头坏死的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量在 230~270 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司 [许可证号: SCXK (鲁) 20190003], 饲养于山东省文登整骨医院骨伤组织工程实验室 (三级) 实验动物房, 环境温度 (18 ± 2) °C, 湿度 40%~55%, 食用无菌水和 SPF 级大鼠饲料由广东省医学实验动物中心提供。动物福利获得山东省文登整骨医院医学伦理委员会批准 (伦理审批编号 LL2020121001)。

1.2 药物与试剂

淫羊藿苷 (北京索莱宝科技有限公司, 质量分

数 676.66, 批号 115H021); 脂多糖 (北京碧云天生物技术有限公司, 批号 012021210430); 甲泼尼龙 (国药集团容生制药有限公司, 批号 20110408); 青霉素钠 (山东鲁抗医药股份有限公司, 批号 43201105); 苯巴比妥钠 (天津金耀生物科技有限公司, 批号 2103071); 异氟烷 (北京科月华诚科技有限公司, 批号 202106); 生理盐水 (辰欣药业, 批号 2101010523); 牛血清白蛋白、脱脂奶粉、RIPA 裂解液、PMSF、一抗/二抗稀释液、PVDF 膜、特超敏 ECL 试剂盒、大鼠 VEGF ELISA 试剂盒、NO 试剂盒 (北京碧云天生物技术有限公司, 批号 ST025、P0216、P0013C、ST505、P0023A/P0023D、FFP26、P0231、PV960、S0021S); PI3K 抗体、Akt 抗体、p-Akt 抗体 (美国 Abcam 公司, 批号 ab32090、ab43021、ab8810)。

1.3 仪器

NMC-100 Micro-CT (昆山平生医疗科技有限公司); MS-2 双通道流量计 (上海玉研科学仪器有限公司); LUX 多功能微孔板读数仪、Micro21R 高速冷冻离心机 (赛默飞世尔科技公司); Western-blotting 系统 (上海天能科技有限公司); 注射器 (山东威高); 耳标+耳标钳、小动物手术器械套装、大鼠灌胃器 (北京碧云天生物技术有限公司)。

1.4 分组和模型制备

将所有大鼠称质量后使用耳标进行编号 1~50 号, 采用随机数字表法分为 5 组, 即对照组、模型组和淫羊藿苷低、中、高剂量组, 每组 10 只。除对照组外, 其余各组参照文献方法进行造模^[16]: 分 2 次 ip 脂多糖 2 mg/kg; im 甲泼尼龙 40 mg/kg, 10 次, 每次间隔 24 h。为了防止实验动物感染, 所有造模实验动物 ip 青霉素钠 80 U/只, 1 次/d。造模完成后第 2 天起普食饲养 1 周, 第 7 天时随机选取 4 只造模大鼠, 在吸入异氟烷麻醉下使用 Micro-CT 扫描股骨头以验证造模是否成功。造模成功可见股骨头关节面明显变形、塌陷, 骨质疏松明显, 骨小梁变细、断裂。

1.5 干预方法

根据体质量确定每只大鼠的淫羊藿苷干预剂

量, 对照组、模型组均 ig 生理盐水 5 mL, 淫羊藿苷低、中、高剂量组按照实验动物用药换算法计算给药剂量, 根据体质量分别 ig 10、20、40 mg/kg 淫羊藿苷。将淫羊藿苷用生理盐水配成 5 mL 药液, 给药前对药物进行恒温预热。每天 ig 给药 1 次, 连续 6 周。所有实验动物在相同条件下喂养, 用悬吊法饮水使其下肢直立行走。

1.6 检测指标

1.6.1 大体观察 实验大鼠在 ig 6 周后, ip 苯巴比妥钠深度麻醉所有实验动物, 在清洁条件下剖开双侧股骨头, 剔除周围软组织, 观察股骨头轮廓外形、质地及表面软骨色泽、光滑度和软骨剥脱的情况。

1.6.2 Micro-CT 观测 大体观察后, 使用 Micro-CT 对大鼠股骨头进行扫描, 并定量分析骨小梁指标参数。主要测量参数指标包括骨矿物质密度 (BMD)、骨体积密度 (BV/TV)、骨表面积密度 (BS/TV)、骨小梁厚度 (Tb.Th)、骨小梁数量 (Tb.N)、骨小梁分离度 (Tb.Sp)。

1.6.3 血清 VEGF、NO 水平测定 深度麻醉后, 在清洁条件下使用采血针腹主动脉取血 5 mL, 所取血液置于 4 °C 冰箱中静置 3 h 后, 离心机以 3 000 r/min 离心 20 min, 收集上层血清采用 ELISA 法检测血清中 VEGF、NO 水平。

1.6.4 Western blotting 检测相关蛋白表达 将大鼠股骨头剪碎与 RIPA 裂解液、PMSF 进行混合后加入到离心管中, 充分研磨并碾碎, 再使用组织匀浆机充分裂解, 结束后 4 °C 离心 10 min, 取上清装至离心管中以待检测。使用 BCA 蛋白质定量试剂盒测定蛋白含量。取适量上清, 加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 煮沸 10 min。电泳后, 转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。加入一抗 (PI3K 按 1 : 500 稀释, Akt 按 1 : 1 000 稀释, p-Akt 按 1 : 1 000 稀释, Actin 按 1 : 1 000 稀释), 4 °C 孵育过夜。TBST 溶液洗 3 遍后加入二抗 (按 1 : 200 00 稀释), 室温孵育 2 h。TBST 溶液洗 3 遍, 使用 ECL 试剂盒进行显影。以 Actin 为内参, 计算 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量。

1.7 统计学分析方法

采用 SPSS 23.0 软件对数据统计分析, 计量资料使用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 采用 *t* 检验或方差分析。

2 结果

2.1 Micro-CT 验证造模成功

随机选取 4 只大鼠使用 Micro-CT 扫描股骨头,

结果可见股骨头关节面明显变形、塌陷, 骨质疏松明显, 骨小梁变细、断裂, 见图 1。通过 Micro-CT 证明了早期激素性股骨头坏死动物模型构建成功。

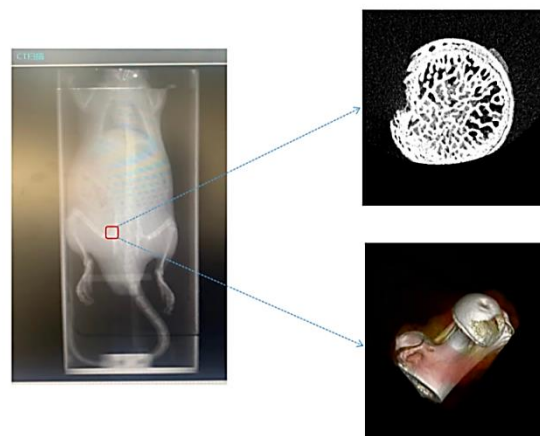


图 1 Micro-CT 评估激素性股骨头坏死大鼠模型

Fig. 1 Micro-CT was used to evaluate the rat model of steroid-induced femur head necrosis

2.2 各组大鼠股骨头形态与质地比较

对照组大鼠股骨头可见外观圆润, 软骨关节面光滑、透亮、完整, 手术刀探割时感骨质坚硬, 阻力很大, 难以进入, 股骨头未见变形、塌陷。模型组大鼠股骨头可见外观欠圆润, 整个股骨头表面晦暗无光泽, 软骨呈暗红色, 关节面破坏严重且明显变薄, 手术刀探割时感骨质松软, 容易进入, 部分股骨头变形、塌陷。相较于模型组大鼠股骨头表面观, 淫羊藿苷各组大鼠股骨头外形与质地均有不同程度的改观。淫羊藿苷 10 mg/kg 组大鼠股骨头外观稍圆润, 光泽度稍差, 软骨关节面小面积破坏变薄, 手术刀探割时感骨质较松软, 较易进入, 股骨头小面积变形、塌陷。淫羊藿苷 20 mg/kg 组股骨头外观相对圆滑, 股骨头表面略感晦暗, 有一定的光泽, 手术刀探割时存在一定的阻力, 无变形、塌陷。淫羊藿苷 40 mg/kg 组股骨头外观光泽度较好, 软骨下可见少许的暗红色, 软骨完整、光滑, 手术刀切割时不易进入, 刀下阻力较大, 感骨质比模型组明显坚硬, 无变形、塌陷, 见图 2。

2.3 各组 Micro-CT 观测结果比较

对照组大鼠股骨头见骨小梁结构致密有规则, 未见坏死征象; 模型组大鼠股骨头可见明显骨质疏松, 骨小梁变细、断裂, 骨小梁间隙明显增宽, 数目明显减少, 提示有明显骨坏死征象; 淫羊藿苷 10 mg/kg 组可见大鼠股骨头骨小梁断裂稍少, 间隙稍有改善, 骨质疏松依然存在, 有一定程度骨坏死征

象;淫羊藿苷 20 mg/kg 组骨小梁结构增多,稍有骨小梁变细、断裂迹象,股骨头稍有坏死征象;淫羊

藿苷 40 mg/kg 组骨小梁明显增多,骨小梁变细、断裂极少,未见股骨头明显坏死征象,见图 3。



图 2 大鼠股骨头大体表面形态观

Fig. 2 Morphology of rat femoral head gross surface

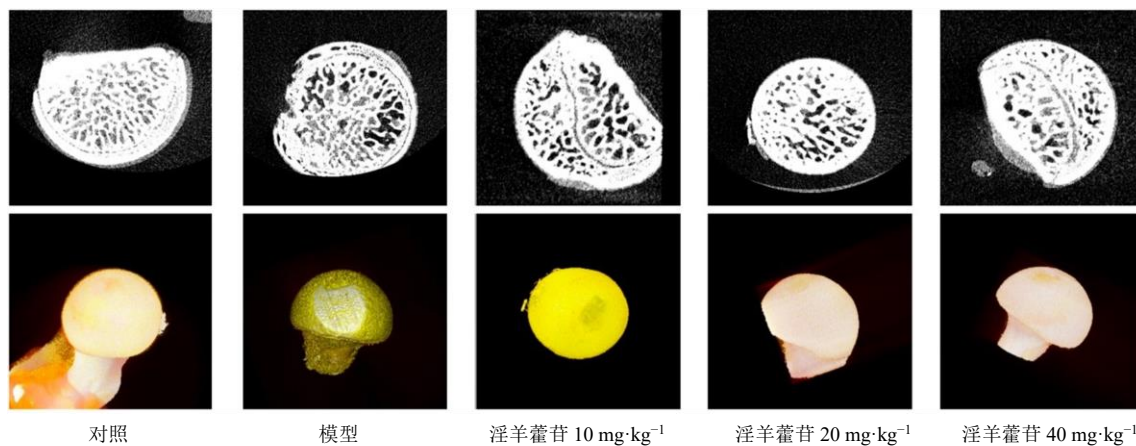


图 3 Micro-CT 扫描大鼠股骨头情况

Fig. 3 Micro-CT scan of femoral head of rats

2.4 各组 BMD、Tb.Th、BV/TV、Tb.N、BS/TV、Tb.Sp 结果比较

相比于对照组,模型组 BMD、Tb.Th、BV/TV、Tb.N、BS/TV 明显降低,Tb.Sp 明显增高($P<0.05$)。相比于模型组,淫羊藿苷各剂量组的 BMD、Tb.N、BV/TV、Tb.Th、BS/TV 明显增高,Tb.Sp 明显降低($P<0.05$),见表 1。

2.5 各组 VEGF、NO 表达水平比较

与对照组相比,模型组 VEGF、NO 水平明显降低($P<0.05$);与模型组相比,淫羊藿苷各剂量组

的 VEGF、NO 水平明显增高($P<0.05$),见表 2。

2.6 各组 PI3K、Akt、p-AKT 蛋白表达水平比较

相比于对照组,模型组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达显著降低($P<0.05$)。相比于模型组,淫羊藿苷组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达增加($P<0.05$),而 Akt 蛋白低剂量组表达无统计学意义,见表 3、图 4。

3 讨论

中医学将激素性股骨头坏死归属于“骨痿”“骨蚀”的范畴^[7]。《素问》载“肾主身之骨髓,发为骨痿之症”。《脾胃论》认为肾藏精,主骨,生髓,髓

表 1 Micro-CT 骨参数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Comparison of Micro-CT bone parameters ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·g ⁻¹)	BMD/(g·cm ⁻³)	BV/TV/%	BS/TV	Tb.Th/mm	Tb.N/mm ⁻¹	Tb.Sp/mm
对照	—	0.961±0.016	0.851±0.022	11.261±0.557	0.641±0.021	5.977±0.042	0.055±0.012
模型	—	0.561±0.030*	0.391±0.030*	4.461±0.279*	0.322±0.022*	2.818±0.023*	0.162±0.016*
淫羊藿苷	10	0.684±0.017 [#]	0.573±0.053 [#]	6.159±0.263 [#]	0.403±0.025 [#]	3.184±0.026 [#]	0.121±0.008 [#]
	20	0.765±0.014 [#]	0.631±0.039 [#]	7.195±0.311 [#]	0.488±0.020 [#]	3.985±0.013 [#]	0.098±0.011 [#]
	40	0.859±0.026 [#]	0.734±0.043 [#]	8.647±0.232 [#]	0.563±0.022 [#]	4.795±0.029 [#]	0.088±0.010 [#]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group

表 2 大鼠血清中 VEGF、NO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 2 Comparison of VEGF and NO levels in serum of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·g ⁻¹)	VEGF/(pg·mL ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	36.08 ± 3.01	16.36 ± 1.63
模型	—	16.59 ± 2.30*	8.04 ± 0.72*
淫羊藿苷	10	20.22 ± 1.89 [#]	10.18 ± 1.43 [#]
	20	25.03 ± 2.09 [#]	12.24 ± 1.09 [#]
	40	28.54 ± 3.53 [#]	13.89 ± 1.60 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group表 3 大鼠股骨头 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 3 Comparison of protein expression of PI3K, Akt and p-Akt in femoral head of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·g ⁻¹)	Akt	p-Akt	PI3K
对照	—	0.50 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.48 ± 0.02
模型	—	0.48 ± 0.05	0.35 ± 0.03*	0.43 ± 0.03*
淫羊藿苷	10	0.51 ± 0.03	0.43 ± 0.05 [#]	0.53 ± 0.03 [#]
	20	0.59 ± 0.04 [#]	0.52 ± 0.03 [#]	0.60 ± 0.03 [#]
	40	0.67 ± 0.05 [#]	0.54 ± 0.04 [#]	0.68 ± 0.05 [#]

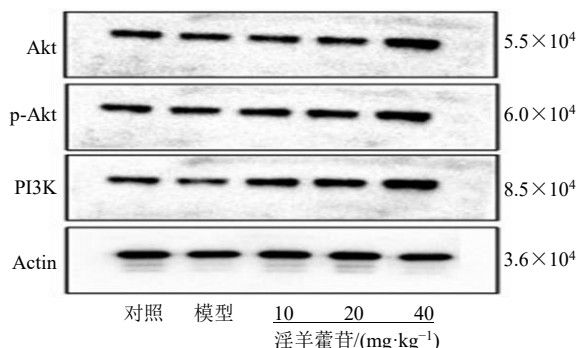
与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

图 4 大鼠股骨头 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达情况

Fig. 4 Expression of PI3K, Akt, and p-Akt proteins in femoral head of rats

养骨, 骨枯髓减, 发为骨蚀。激素性股骨头坏死的治疗方式分为保髋治疗和人工关节置换术。关节置换假体使用年限比较局限, 术后的不确定因素更是难以预估。因此, 寻求药物或是其他治疗方法能够促进血管新生, 使坏死的骨组织可以得到比较完善的修复, 从而能够保留一个形态和功能近似于基本正常的股骨头是治疗激素性股骨头坏死的关键^[18]。淫羊藿苷具有多种生物活性, 毒副作用小, 常用于治疗心血管疾病和骨骼系统疾病^[19]。Wang 等^[20]研究提示, 淫羊藿苷对血管内皮细胞的保护作用机制

可能与其具有抗凋亡的作用密切相关。此外, 有研究表明淫羊藿苷可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路发挥保护血管内皮细胞的作用, 其作用机制为干预血管内皮细胞的增殖和促进血管生成^[21]。

在激素性股骨头坏死治疗中, 血管内皮细胞的修复与新生能促进骨形成和愈合^[22]。股骨头血液供应受阻会引起股骨头缺血缺氧, 从而导致骨细胞坏死^[23]。VEGF 是已知最强的血管生成活性因子, 在机体的生长发育以及创伤修复过程中能够促进血管内皮细胞增殖和血管化^[24-25]。相关研究表明, 淫羊藿苷通过上调血管生成基因如 VEGF 的表达来促进血管修复和干预血管内皮细胞损伤^[26]。NO 是小分子血管活性气体, 具有舒张血管、增加血管通透性与促进血管新生的作用^[27]。NO 可经 VEGF 与其受体结合后产生, 也可通过 NO 合成酶催化后产生, 能促进血管内皮细胞再生和骨髓内皮祖细胞增殖, 从而促进血管新生^[28]。有研究证明 NO 参与 VEGF 促进血管内皮细胞增殖从而使血管得以修复与再生^[29]。本次研究结果发现模型组大鼠血清中 VEGF、NO 水平较对照组降低, 而淫羊藿苷干预后增加了 VEGF、NO 水平, 这可能使血管得到修复, 从而促进骨愈合。

Micro-CT 可以清晰的显示标本每个层面的骨小梁结构, 在观察骨微结构方面具有独特的优势。本次研究结果显示, 与对照组比较, 模型组 BMD、Tb.Th、BV/TV、Tb.N、BS/TV 明显降低, Tb.Sp 明显增高 ($P < 0.05$)。相比于模型组, 淫羊藿苷的 BMD、Tb.N、BV/TV、Tb.Th、BS/TV 明显增高, Tb.Sp 明显降低 ($P < 0.05$)。

PI3K/Akt 通路是 1 条与血管修复和新生密切相关的信号通路^[30-31]。PI3K 在体内发挥着多种作用, 其被激活后, 作为传导信号的桥梁激活下游 AKT 蛋白, 促进其生长增殖以及存活, 在信号传导过程中发挥极其重要的作用^[32]。Akt 既能响应上游 PI3K 的激活作用, 又能参与调节激活下游多种靶蛋白, 具有调节细胞生长、促进血管生成、修复等作用^[33]。本研究发现, 相比于对照组, 模型组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达均减少 ($P < 0.05$); 相比于模型组, 淫羊藿苷组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达均增加 ($P < 0.05$)。这可能是淫羊藿苷通过增加骨组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达来促进骨形成和愈合。

曾锁林等^[34]通过实验研究表明随着大鼠股骨头中 p-Akt 蛋白表达增加, VEGF 和 NO 的表达也

随之增加,从而刺激血管活性因子进行再生修复。Chung 等^[21]研究发现,淫羊藿苷可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路发挥保护血管内皮细胞的作用,其作用机制为干预血管内皮细胞的增殖和促进血管生成。张晓军等^[35]研究证实 VEGF 在 PI3K/Akt 通路激活后上调其表达,增加血管通透性来介导血管修复和新生。通过 PI3K/Akt 信号通路来调控缺血、缺氧因子从而促进血管内皮细胞的增殖与再生,进而修复受损血管,为治疗激素性股骨头坏死提供了新方法、新途径。

综上所述,淫羊藿苷对激素性股骨头坏死模型大鼠具有保护作用,能够促进骨坏死的修复与再生,其作用机制可能是调节血清中 VEGF、NO 水平和增加骨组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达,从而诱导血管修复,重新构建股骨头血液供应和循环,促进骨坏死的愈合和新骨的生成,有望成为抑制激素性股骨头坏死有效的药物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南(2020) [J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(20): 1365-1376.
- [2] Xue X H, Feng Z H, Li Z X, *et al.* Salidroside inhibits steroid-induced avascular necrosis of the femoral head via the PI3K/Akt signaling pathway: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 3751-3757.
- [3] Chang C, Greenspan A, Gershwin M E. The pathogenesis, diagnosis and clinical manifestations of steroid-induced osteonecrosis [J]. *J Autoimmun*, 2020, 110(11): 102460.
- [4] Bae W Y, Kim H Y, Choi K S, *et al.* Investigation of *Brassica juncea*, *Forsythia suspensa*, and *Inula britannica*: Phytochemical properties, antiviral effects, and safety [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 253.
- [5] 包伟东, 胡静, 孙永强. 早中期成人股骨头坏死中医药保髋治疗进展 [J]. 风湿病与关节炎, 2019, 8(4): 73-76.
- [6] El-Shitany N A, Eid B G. Icariin modulates carrageenan-induced acute inflammation through HO-1/Nrf2 and NF- κ B signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109567.
- [7] 刘亚林, 黄觅, 冯晶, 等. 基于 Micro-CT 技术分析淫羊藿苷和朝藿定 C 对糖皮质激素性骨质疏松症小鼠骨组织微结构的影响 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(9): 1733-1739.
- [8] Qian W, Su Y, Zhang Y, *et al.* Secretome analysis of rat osteoblasts during icariin treatment induced osteogenesis [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 6515-6525.
- [9] 乔韬, 许栋, 陈映冰, 等. 基于文献计量的淫羊藿苷研究热点和未来趋势分析 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7293-7301.
- [10] Huang Z F, Cheng C, Cao B B, *et al.* Icariin protects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(2): 694-706.
- [11] 宋世雷, 陈跃平, 章晓云. PI3K/AKT 信号通路调控股骨头坏死的相关机制 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(3): 408-415.
- [12] 刘孟初, 曹林忠, 蒋玮, 等. PI3K/AKT/mTOR 信号通路在糖皮质激素性股骨头坏死中的表达与作用 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2021, 14(1): 87-93.
- [13] 潘晔, 殷佳, 蔡雪朦, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨中医药治疗冠心病的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 4100-4104.
- [14] Wu J Z, Liu P C, Liu R. Icariin restores bone structure and strength in a rat model of chronic high-dose alcohol-induced osteopenia [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1727-1736.
- [15] Jing X, Yin W, Tian H, *et al.* Icariin doped bioactive glasses seeded with rat adipose-derived stem cells to promote bone repair via enhanced osteogenic and angiogenic activities [J]. *Life Sci*, 2018, 202: 52-60.
- [16] 吴承亮, 毛强, 刘慧, 等. 大鼠激素性股骨头坏死的基因组学研究 [J]. 中华外科杂志, 2011, 49(10): 927-933.
- [17] 黄季红, 朱波, 李学家, 等. 补肾活血汤对激素性股骨头坏死模型大鼠神经肽 Y 系统的影响 [J]. 中医杂志, 2021, 62(14): 1247-1252.
- [18] Li Z, Wei J, Xiao H, *et al.* Bone-strengthening supplement (BSP) promotes bone and cartilage repair, for the treatment of osteonecrosis of femoral head: An MRI-based study [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(12): 7449-7455.
- [19] Zhang G, Qin L, Shi Y. Epimedium-derived phytoestrogen flavonoids exert beneficial effect on preventing bone loss in late postmenopausal women: A 24-month randomized, double-blind and placebo-controlled trial [J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(7): 1072-1079.
- [20] Wang Y K, Huang Z Q. Protective effects of icariin on human umbilical vein endothelial cell injury induced by H₂O₂ *in vitro* [J]. *Pharmacol Res*, 2005, 52(2): 174-182.
- [21] Chung B H, Kim J D, Kim C K, *et al.* Icariin stimulates angiogenesis by activating the MEK/ERK and PI3K/Akt/eNOS-dependent signal pathways in human endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 376(2): 404-408.
- [22] Yu H, Liu P, Zuo W, *et al.* Decreased angiogenic and

- increased apoptotic activities of bone microvascular endothelial cells in patients with glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1): 277.
- [23] Ichiseki T, Ueda S, Ueda Y, *et al.* Involvement of necroptosis, a newly recognized cell death type, in steroid-induced osteonecrosis in a rabbit model [J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(2): 110-114.
- [24] Hu Y, Li H, Liu K, *et al.* Protective effects of icariin on human vascular endothelial cells induced by oxidized low-density lipoprotein via modulating caspase-3 and Bcl-2 [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 6835-6839.
- [25] 阚金庆, 司端涛, 高忠礼, 等. 坏死股骨头、股骨粗隆间及正常骨组织中 VEGF 表达比较 [J]. *山东医药*, 2016, 56(16): 62-63.
- [26] Tecchio C, Cassatella M A. Neutrophil-derived cytokines involved in physiological and pathological angiogenesis [J]. *Chem Immunol Allergy*, 2014, 99: 123-137.
- [27] 罗素新, 但素平, 夏勇. 诱导型一氧化氮合酶在心肌梗死进程中的研究进展 [J]. *西部医学*, 2014, 26(3): 265-268.
- [28] 上官文姬, 李展春, 程光齐, 等. 骨碎补总黄酮对血管内皮细胞功能和去卵巢大鼠血管形成的影响 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(1): 5-8.
- [29] 史传道, 王晓玲, 杨晓航, 等. 仙花活骨丹颗粒对实验性股骨头缺血性坏死大鼠血清 ET-1、NO 和 VEGF 的影响 [J]. *河南中医*, 2011, 31(2): 135-137.
- [30] Agas D, Hanna R, Benedicenti S, *et al.* Photobiomodulation by near-infrared 980-nm wavelengths regulates pre-osteoblast proliferation and viability through the PI3K/Akt/Bcl-2 pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7586.
- [31] Li H, Prever L, Hirsch E, *et al.* Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in breast cancer [J]. *Cancers*, 2021, 13(14): 3517.
- [32] 卢非凡, 张启栋, 王卫国, 等. 激素性股骨头坏死信号通路的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26(11): 1017-1021.
- [33] Yu H, Yue J, Wang W, *et al.* Icariin promotes angiogenesis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral heads: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7320-7330.
- [34] 曾锁林, 施能兵, 刘异. 葛根素对激素性股骨头坏死大鼠骨组织及 PI3K/Akt 信号转导通路的影响 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2019, 44(11): 1441-1444.
- [35] 张晓军, 刘健, 万磊, 等. 佐剂关节炎大鼠滑膜血管新生与 PTEN/PI3K/AKT 信号传导通路的关系 [J]. *中国骨伤*, 2015, 28(1): 71-74.

[责任编辑 高源]