

基于 TGF- β /Smad 信号通路探讨伤科九味健骨片对骨折大鼠的影响

张远军, 熊文颖, 戴卫波*

广州中医药大学附属中山中医院, 广东 中山 528400

摘要: **目的** 观察伤科九味健骨片对骨折大鼠骨愈合的促进作用及对 TGF- β /Smad 通路的调控机制。**方法** 制备 SD 大鼠右侧胫骨闭合性骨折模型, 按随机数字表法分为模型组、伤科接骨片组和伤科九味健骨片低、高剂量组, 每组 8 只, 另取 8 只未经处理的动物作为对照组。造模后第 2 天开始, 伤科接骨片组 ig 伤科接骨片 0.39 g/kg, 伤科九味健骨片低、高剂量组分别 ig 伤科九味健骨片 0.43、0.86 g/kg, 对照组 ig 生理盐水, 1 次/d, 共 28 d。解剖观察右侧胫骨骨折愈合情况和组织形态病理学情况; 采用 ELISA 法检测血清中促炎症因子白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α); 以及骨形成因子碱性磷酸酶 (ALP)、骨钙素 (BGP) 的水平; 利用 Image J 软件进行组织形态计量学分析 Smad 1/5/9、Smad 6、转化生长因子 β (TGF- β)、骨形态发生蛋白 2 (BMP2) 蛋白的表达。**结果** 伤科九味健骨片组大鼠骨折侧胫骨愈合恢复良好, 边缘整齐, 平滑无隆起, 无明显骨折痕迹; 病理结果显示, 伤科九味健骨片组骨折侧大鼠胫骨骨密质结构紧密, 骨细胞及骨基质形态正常, 内膜平整。与模型组比较, 伤科九味健骨片能显著降低骨折大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平, 显著升高骨折大鼠血清中 ALP、BGP 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 并能显著上调胫骨组织中 BMP2、Smad 1/5/9、TGF- β 蛋白的表达, 下调 Smad 6 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 伤科九味健骨片具有促进骨折愈合的作用, 其机制可能与降低血清中炎症因子水平, 升高骨形成因子水平, 以及上调 TGF- β 、BMP2、Smad 1/5/9 蛋白表达、下调 Smad 6 蛋白的表达有关。

关键词: 伤科九味健骨片; 骨折; 转化生长因子 β ; 碱性磷酸酶; 骨钙素; 白细胞介素

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2023)02-0257-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.002

Effect of Shangke Jiuwei Jiangu Tablets on fracture rats based on TGF- β /Smad signaling pathway

ZHANG Yuan-jun, XIONG Wen-ying, DAI Wei-bo

Zhongshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan 528400, China

Abstract: **Objective** To observe the promoting effect of Shangke Jiuwei Jiangu Tablets on bone healing, and the regulatory mechanism of TGF- β /Smad pathway in fracture rats. **Methods** The model of closed fracture of the right tibia of SD rats was prepared, and the successfully constructed animals were divided into model group, Shangke Jiegu Tablets group, Shangke Jiuwei Jiangu Tablets low-dose and high-dose groups, with 8 animals in each group according to the random number table method, and 8 untreated animals were selected as control group. Starting from the second day after modeling, the Shangke Jiegu Tablets group was given 0.39 g/kg, the Shangke Jiuwei Jiangu Tablets low and the high-dose groups were given 0.43 and 0.86 g/kg Shangke Jiuwei Jiangu Tablets, respectively, and the control group was given normal saline, once daily for 28 d. The fracture union and histopathology of the right tibia were observed by anatomy. The pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α , and levels of bone forming factors ALP and BGP were detected by ELISA method. The expressions of Smad 1/5/9, Smad6, TGF- β , and BMP2 were analyzed by histomorphometric analysis using Image J software. **Results** The fracture-side tibia of the Shangke Jiuwei Jiangu Tablets group was well healed, with neat edges, smooth edges, and no obvious fracture traces. The pathological results showed that the tibial bone density structure was tight, the bone cells and bone matrix were normal and the intima was smooth in the Shangke Jiuwei Jiangu Tablets group. Compared with model group, Shangke Jiuwei Jiangu Tablets group could significantly reduce the levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in serum of fractured rats, and significantly increase the levels of ALP and BGP in serum of fractured rats ($P < 0.05$, 0.01). The expression of BMP2,

收稿日期: 2023-01-10

基金项目: 广东省中医药局科研项目 (20212253)

作者简介: 张远军, 副主任医师, 主要从事中医骨伤临床应用与基础研究。E-mail: 286177657@qq.com

*通信作者: 戴卫波, 副主任药师, 主要从事中药药理研究与制剂开发。E-mail: daiweibo007@163.com

Smad1/5/9, and TGF- β in tibia tissue was significantly up-regulated, while the expression of Smad 6 protein was down-regulated ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Shangke Jiuwei Jiangu Tablets has the effect of promoting fracture healing, and its mechanism may be related to reducing the level of inflammatory factors in serum, increasing the content of bone formation factors, up-regulating the expression of TGF- β , BMP2, Smad1/5/9 protein, and down-regulating the expression of Smad6 protein.

Key words: Shangke Jiuwei Jiangu Tablets; fracture; TGF- β ; ALP; BGP; IL

骨折是常见外伤性疾病,骨折的愈合是一个复杂而连续的过程,促进骨痂的形成可加速骨折的愈合,而在开放性骨折情况下,骨折延迟愈合和骨不连具有很高的发生率,目前临床仍缺乏有效的解决方案^[1]。伤科九味健骨片是中山市中医院的院内制剂,含有三七、续断、骨碎补、煅自然铜、当归、独活、桑枝、甘草、川芎,具有接骨续伤、活血止痛的功效,是治疗跌打损伤的良药。课题前期应用伤科九味健骨片治疗长骨干骨折术后骨不连患者,表明可有效促进骨痂生长,缩短骨折愈合时间,改善患侧肢体功能,愈合率达 95.8%^[2];可缩短骨折家兔骨愈合时间、促进血管和骨组织的再生,其机制可能与血清中骨钙素浓度以及骨组织骨形态发生蛋白 2(BMP2)、碱性成纤维细胞生长因子 2(FGF2)的表达水平有关^[3]。现代研究结果表明,转化生长因子 β (TGF- β) 在软骨细胞、成骨细胞以及破骨细胞的增殖、分化和凋亡的调控密切相关,对骨折愈合的全过程均发挥重要调控作用^[4];在 TGF- β 超家族中,TGF- β 1 可对成骨细胞进行招募并促进成骨细胞分化^[5];另有文献报道 TGF- β 与创伤性骨折患者应激状态、骨折愈合的关系,认为 TGF- β 1 水平可作为骨折愈合情况的重要指标^[6];BMP 调节成骨相关基因的转录,激活 Smads 信号通路促进成骨细胞分化^[7]。因此 TGF- β /Smad 信号通路的调控对促进骨折的愈合可能发挥重要作用,本实验通过骨折大鼠模型评价伤科九味健骨片促进骨折愈合的药效及对 TGF- β /Smad 通路的调控探讨其促进骨愈合的作用机制,以期为临床应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 药物

伤科九味健骨片(由三七、续断、骨碎补、煅自然铜、当归、独活、桑枝、甘草、川芎组成,规格 0.4 g/片,每片含浸膏量不少于 88 mg),中山市中医院院内制剂,批号 21001;伤科接骨片(规格 0.33 g/片,批号 20201126)购自大连美罗中药厂有限公司。

1.2 主要试剂

碱性磷酸酶(ALP/AKP)测试盒(批号

20220226)购自南京建成生物工程研究所;大鼠 ELISA 试剂盒白细胞介素(IL)-1 β (批号 370220326)、IL-6(批号 385220326)、骨钙素(BGP,批号 458220326)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,批号 569220326)均购自天津安诺瑞康生物技术有限公司;EDTA 脱钙液(G1105)、苏木精-伊红(HE)染液套装(G1003)、环保型脱蜡透明液(G1128)、柠檬酸(PH6.0)抗原修复液(G1202)、EDTA 抗原修复液(pH 9.0)(G1203)、EDTA 抗原修复液(pH 8.0)(G1206)、PBS 缓冲液(G0002)、4%多聚甲醛(G1101)、BSA(G5001)、正常兔血清(G1209)、苏木素染液(G1004)、苏木素分化液(G1309)、苏木素返蓝液(G1340)、超净快干封片胶(G1404)、组化试剂盒 DAB 显色剂(G1211)购自武汉塞维尔生物科技有限公司;TGF- β 、p-Smad 2/3、Smad 2/3、 β -actin 抗体,购自美国 Santa Cruz 公司。

1.3 仪器

T2000 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);Nikon Eclipse E100 正置光学显微镜(尼康株式会社);Nikon DS-U3 成像系统(尼康株式会社);JK-CTL-450L 低速离心机(上海精学科学仪器有限公司);RM2016 病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);NGPN-50 隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械有限公司);GFL-230 烤箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司);ZHPW-250 恒温摇床(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司);JB-P5 包埋机(武汉俊杰电子有限公司);JB-L5 冻台(武汉俊杰电子有限公司);G6004 载玻片(武汉塞维尔生物科技有限公司);WG1066-1 组化笔(武汉塞维尔生物科技有限公司);KD-P 组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);Donatello 脱水机(意大利 DIAPATH 迪佩斯);Giotto 染色机(意大利 DIAPATH)。

1.4 实验动物

SPF 级 SD 大鼠,雄性,180~200 g,购自珠海百试通生物科技有限公司,动物质量合格证号 44822700005728。饲养于中山市中医院中药药理实验室屏障级动物房(实验动物使用许可证号 SYXK

(粤) 2020-0109), 饲养条件为温度 (22 ℃) 和湿度 (50%), 12 h 光暗循环。本研究经广东省中山市中医院实验动物伦理委员会批准 (AEWC-2022045), 实验程序严格按照国际伦理准则和国家卫生研究院关于实验动物关爱和使用的指南进行。

2 方法

2.1 大鼠胫骨骨折模型的建立^[8-9]

大鼠经适应性喂养 3 d 后, ip 戊巴比妥钠进行麻醉。待翻正反应消失后, 对大鼠的右膝关节处进行局部脱毛, 局部消毒。将克氏针定位于髌韧带远端止点内侧, 垂直胫骨平台并沿胫骨骨髓腔纵轴插入针头, 在骨髓腔内下行约 1/2 胫骨总长度时, 停止进针并拔除针头, 于胫骨中段处徒手折断股骨, 注意避免骨折移位, 然后将克氏针从原穿针点插到断骨远端, 剪断克氏针外露部分。缝合大鼠腿部破损皮肤, 用 75% 酒精进行局部消毒后归笼, 苏醒后正常饮食。

2.2 分组与给药

将造模成功的动物按随机数字表法分为模型组、伤科接骨片组及伤科九味健骨片低、高剂量组, 每组 8 只。另取 8 只未经处理的动物作为对照组。造模后第 2 天开始, 伤科接骨片组 ig 伤科接骨片 0.39 g/kg (临床等效剂量), 伤科九味健骨片低、高剂量组分别 ig 伤科九味健骨片 0.43 g/kg (临床等效剂量) 和 0.86 g/kg (临床等效 2 倍剂量), 对照组 ig 生理盐水, 1 次/d, 共 28 d。

2.3 胫骨愈合检测

给药 28 d 后, 观察各组大鼠大鼠胫骨愈合情况并拍照记录。

2.4 血清炎症因子和骨形成因子水平检测

末次给药 1 h 后使用戊巴比妥钠进行麻醉, 用真空采血管收集腹主动脉血, 分离血清, 采用 ELISA 法检测血清中促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及骨形成因子 ALP、BGP 的水平。

2.5 胫骨组织病理学检测

处死大鼠后取右侧胫骨, 剔除分离软组织, 拔除骨折大鼠的髓内克氏针, 骨头拍照。取胫骨中段放入标好序号的包埋盒中, 投入组织固定液固定 24 h 以上。用 EDTA 脱钙液进行脱钙, 然后用梯度乙醇进行脱水, 用醇苯 (1:1)、二甲苯进行透明, 65 ℃ 融化石蜡浸泡。浸好蜡后进行包埋, 并修整蜡块, 然后用石蜡切片机切出厚 4 μ m 的薄片。摊片机 40 ℃ 温水上将组织展平, 载玻片捞起, 60 ℃ 烘

箱内烤片。水烤干、蜡烤化后取出常温保存备用。

石蜡切片脱蜡至水, 然后进行 HE 染色。染色后, 切片用无水乙醇脱水、二甲苯透明, 最后中性树胶封片。显微镜镜检, 图像采集分析。

2.6 免疫组化分析

石蜡切片脱蜡至水, 于微波炉内用柠檬酸抗原修复缓冲液 (pH 6.0) 进行抗原修复, 自然冷却后用 PBS (pH 7.4) 洗涤脱色。3% 双氧水溶液, 室温避光孵育 25 min, 阻断内源性过氧化物酶, PBS 洗涤脱色。在组化圈内滴加 3% BSA 均匀覆盖组织, 室温封闭。加一抗 (Smad 1/5/9、Smad 6、TGF- β 、BMP2) 4 ℃ 孵育过夜, PBS 洗涤, 稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗 (HRP 标记) 覆盖组织, 室温孵育 50 min。

玻片用 PBS 洗涤 3 次后, 切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的 DAB 显色液, 显微镜下控制显色时间, 阳性为棕黄色, 自来水冲洗切片终止显色。苏木素复染细胞核, 分化液分化数秒, 自来水冲洗, 苏木素返蓝液返蓝, 流水冲洗。梯度乙醇、正丁醇、二甲苯中脱水透明, 将切片从二甲苯中取出稍晾干, 封片胶封片。

显微镜镜检, 图像采集分析。利用 Image J 软件进行组织形态计量学分析 Smad 1/5/9、Smad 6、TGF- β 、BMP-2 蛋白的表达。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。

3 结果

3.1 伤科九味健骨片对骨折大鼠胫骨愈合的影响

给药 28 d 后, 模型组大鼠胫骨断处有骨痂生成, 有明显的骨损伤痕迹, 边缘不整齐, 隆起; 伤科接骨片组大鼠胫骨愈合恢复良好, 边缘整齐, 平滑无隆起, 无明显骨折痕迹; 伤科九味健骨片 0.43 g/kg 组断处可见骨痂生成, 略隆起, 有骨折痕迹。伤科九味健骨片 0.86 g/kg 组胫骨愈合恢复良好, 断处骨痂生成填满缺损, 边缘整齐, 平滑无隆起, 无明显骨折痕迹, 见图 1。

3.2 伤科九味健骨片对骨折大鼠血清中炎症因子水平的影响

与对照组相比, 模型组血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 伤科九味健骨片 0.43、0.86 g/kg 组以及伤科接骨片组均

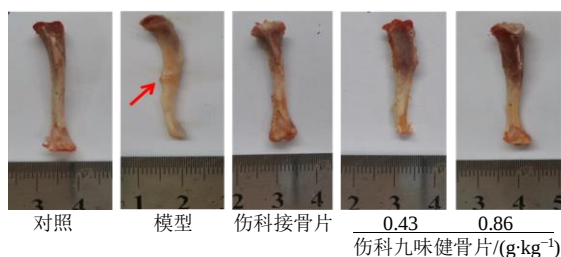


图 1 各组骨折大鼠胫骨照片

Fig. 1 Photos of fractured tibia in each group

表 1 各组大鼠血清中炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 1 Comparison of serum inflammatory factors level in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	74.86 ± 7.09	19.09 ± 5.67	23.92 ± 6.42
模型	—	132.91 ± 5.28**	31.90 ± 4.23**	48.66 ± 7.36**
伤科接骨片	0.39	102.22 ± 13.77 ^{##}	21.34 ± 3.24 ^{##}	35.42 ± 7.14 [#]
伤科九味健骨片	0.43	113.25 ± 12.07 [#]	21.03 ± 4.23 ^{##}	33.58 ± 7.28 ^{##}
	0.86	109.90 ± 11.59 [#]	21.24 ± 3.24 ^{##}	30.40 ± 2.54 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

表 2 各组大鼠血清中骨形成因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 2 Comparison of serum levels of bone formation factor in each groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ALP/(金氏单位·100 mL ⁻¹)	BGP/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	36.56 ± 7.93	154.20 ± 4.36
模型	—	22.08 ± 1.87**	139.30 ± 9.11*
伤科接骨片	0.39	37.63 ± 4.96 ^{##}	158.42 ± 4.68 ^{##}
伤科九味健骨片	0.43	32.72 ± 3.14 ^{##}	157.16 ± 9.27 [#]
	0.86	31.19 ± 0.67 ^{##}	159.65 ± 6.86 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

能显著降低血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平 ($P < 0.05$ 、0.01), 见表 1。

3.3 伤科九味健骨片对骨折大鼠血清中骨形成因子水平的影响

与对照组相比, 模型组血清中骨形成因子 ALP、BGP 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 与模型组相比, 伤科九味健骨片 0.43、0.86 g/kg 组以及伤科接骨片组血清 ALP、BGP 水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 见表 2。

3.4 胫骨组织的组织形态病理学观察

结果显示, 模型组骨密质局部不连续, 呈小梁样 (黑色箭头), 并见较多胞浆丰富的细胞增生, 考虑为成骨细胞 (红色箭头), 伴少量结缔组织增生 (黄色箭头), 局部还见骨密质明显断裂; 伤科接骨片组两侧骨密质结构紧密, 可见骨细胞及骨基质, 形态正常, 内膜平整, 未见明显异常; 伤科九味健骨片 0.43 g/kg 组骨密质结构紧密, 较多哈弗氏管及骨内膜可见较多胞浆丰富的细胞, 考虑为成骨细胞 (黑色箭头), 骨密质内可见少量钙化软骨基质 (红色箭头); 伤科九味健骨片 0.86 g/kg 组两侧骨密质结构紧密, 可见骨细胞及骨基质, 形态正常, 内膜平整, 未见明显异常, 见图 2。

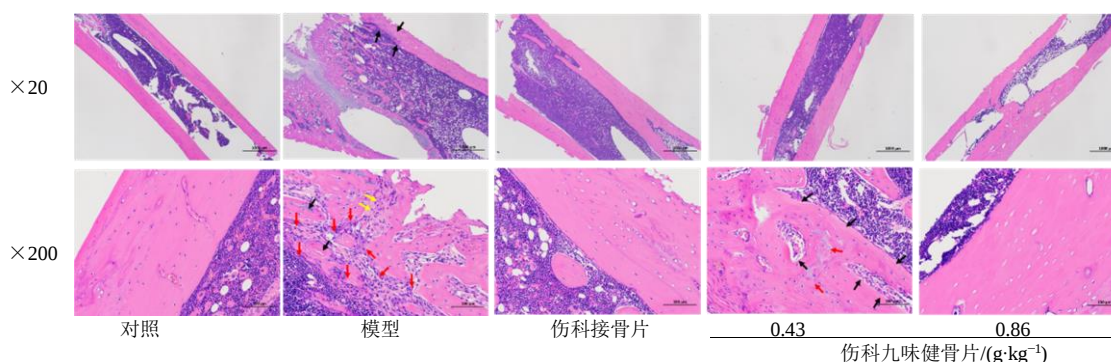


图 2 各组大鼠胫骨组织的组织病理学观察 (HE 染色)

Fig. 2 Histopathological observation of tibia tissue of rats in each group (HE staining)

3.5 伤科九味健骨片对骨折大鼠 TGF- β /Smad 信号通路的影响

与对照组相比,模型组中 BMP2、Smad 1/5/9、TGF- β 蛋白表达含量显著下调,Smad 6 蛋白表达显

著上调 ($P < 0.01$);与模型组相比,伤科接骨片和伤科九味健骨片 0.43、0.86 g/kg 组胫骨组织中 BMP2、Smad 1/5/9、TGF- β 蛋白表达显著增加,Smad 6 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01),见图 3、4。

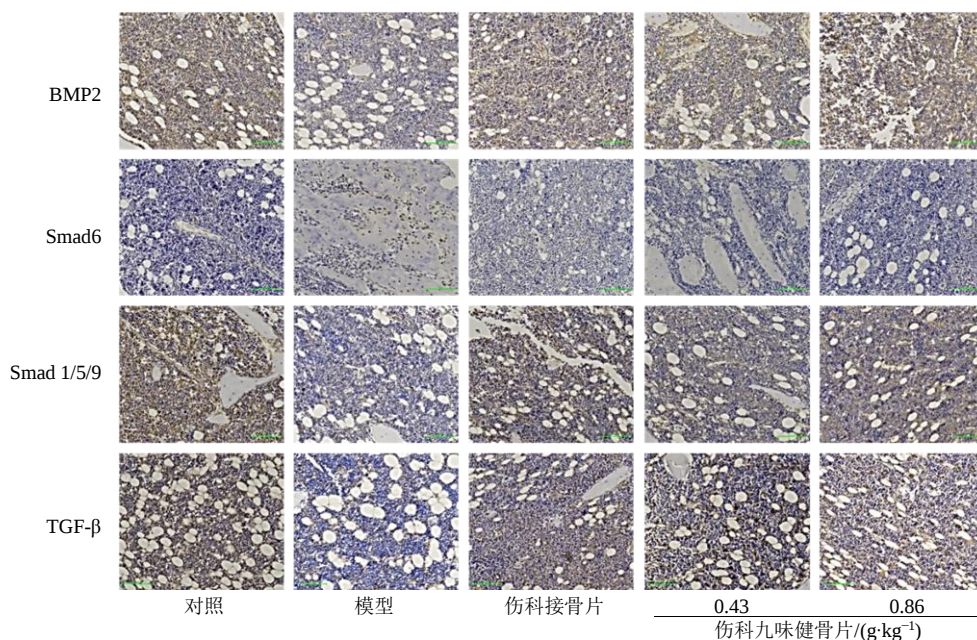
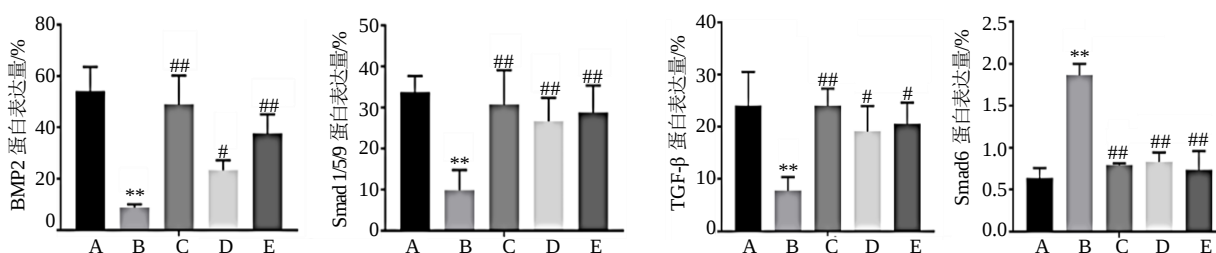


图 3 各组大鼠胫骨组织的免疫组化结果 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 3 Immunohistochemical results of tibial tissue of rats in each group (immunohistochemical, $\times 400$)



A-对照 B-模型 C-伤科接骨片 D-伤科九味健骨片 0.43 g·kg⁻¹ E-伤科九味健骨片 0.86 g·kg⁻¹

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

A-control group B-model group C-Shangke Jiegu Tablets D-Shangke Jiuwei Jiangu Tablets 0.43 g·kg⁻¹ E-Shangke Jiuwei Jiangu Tablets 0.86 g·kg⁻¹

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图 4 各组大鼠胫骨组织的免疫组化蛋白定量结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 4 Quantitative results of immunohistochemical proteins in tibial tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

4 结论

4.1 伤科九味健骨片促进骨折大鼠胫骨的愈合

伤科九味健骨片具有补益肝肾、接骨续断、活血止痛的功效,临床用于创伤骨折后期的治疗。现代研究表明,伤科九味健骨片中三七所含皂苷类成分具体很好的活血作用^[10],骨碎补总黄酮和续断总皂苷均能促进骨折愈合,促进成骨细胞的增殖^[11]。

临床应用方面,应用伤科九味健骨片联合冲击波治疗长骨干骨折术后骨不连 25 例,结果显示联用可以促进骨痂生长,缩短骨折愈合时间,改善患侧肢体功能恢复,提高临床疗效^[2]。本研究也得到验证,伤科九味健骨片治疗骨折大鼠 28 d,骨折胫骨愈合恢复良好,边缘整齐,平滑无隆起,无明显骨折痕迹;病理结果也显示,伤科九味健骨片治疗后骨折

大鼠胫骨骨密质结构紧密,骨细胞及骨基质形态正常,内膜平整,表明伤科九味健骨片可显著促进骨折的愈合,加速骨痂形成。

4.2 伤科九味健骨片可降低骨折大鼠血清中炎症因子水平

血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 都是骨折后常见促炎症因子,这些炎症因子的升高,严重影响骨折的愈合及预后。本研究结果显示,伤科九味健骨片能显著降低骨折大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 炎症因子水平,表明伤科九味健骨片能显著降低骨折大鼠血清中炎症因子水平,促进骨折愈合。

4.3 伤科九味健骨片可升高骨折大鼠血清中骨形成因子水平

研究表明,碱性磷酸酶 ALP 和血清 BGP 可以反映骨折愈合情况,ALP 活性越高,成骨细胞越活跃;BGP 在调控骨生长代谢中起着关键的作用,BGP 升高代表骨形成的速率加快^[12]。本研究结果显示,伤科九味健骨片可显著升高骨折大鼠血清中 ALP、BGP 水平,表明伤科九味健骨片能显著提高骨折大鼠血清骨形成因子的水平,促进骨愈合。

4.4 伤科九味健骨片可通过调控 TGF- β /Smad 信号通路发挥促进大鼠骨愈合

研究表明,骨形态发生蛋白 BMP2 可以诱导间充质干细胞分化成软骨细胞和成骨细胞;转化生长因子 TGF- β 可以促进成骨细胞生长,抑制 TNF- α 的生成,刺激间充质起源细胞;Smad 1/5/9 是 TGF- β 家族信号传导中所需要的介质,Smad6 则对 TGF- β 家族的信号转导起到抑制调节作用^[13]。由此表明,伤科九味健骨片可通过促进骨组织中骨形态发生蛋白 BMP2 的表达,加速软骨细胞和成骨细胞分化;升高 Smad 1/5/9 蛋白和抑制 Smad6 蛋白的表达,提升 TGF- β 蛋白的表达,从而促进成骨细胞生长,发挥促进骨愈合作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GBD 2019 Fracture Collaborators. Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990–2019: A systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Healthy Longev*, 2(9): 580-592.
- [2] 周德健. 伤科九味健骨片联合冲击波治疗长骨干骨折术后骨不连的临床观察 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [3] 位春巍, 陈嘉怡, 郑臣校. 伤科九味健骨片对家兔骨短缩延长后血清骨钙素及骨组织的影响 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2022, 30(2): 1-7.
- [4] Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF- β -induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation [J]. *Nat Med*, 2009, 15(7): 757-765.
- [5] 姜壮, 王华松, 丰瑞兵, 等. 生长因子在骨折愈合过程中的作用及其机制的研究进展 [J]. *华南国防医学杂志*, 2020, 34(11): 823-827.
- [6] 周伟, 罗亮, 向勇, 等. CGRP、EGF 及 TGF- β 1 与创伤性骨折患者应激状态及骨折愈合的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(7): 1059-1062.
- [7] Rosen V. BMP2 signaling in bone development and repair [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009, 20(5-6): 475-480.
- [8] 佟媛旭, 刘晨, 魏雅丽, 等. 塞来西布通过骨形态发生蛋白/Smad 信号通路对胫骨骨折大鼠骨折愈合影响的实验研究 [J]. *北京医学*, 2021, 43(12): 1175-1180.
- [9] 张妙红, 姜德建, 孙美珍, 等. 千金骨康散对大鼠胫骨骨折模型的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(3): 151-154.
- [10] 丁永胜, 李秋雨, 边丽华, 等. 三七活血功效的谱效关系研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(18): 4736-4743.
- [11] 陈玄, 陈娟, 谢丽华, 等. 骨碎补-续断药对对成骨/破骨代谢的双向调控作用及其对 Hif1 α 基因的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(1): 64-69.
- [12] 李建明, 张英. 血清碱性磷酸酶与骨折愈合的相关性分析 [J]. *新疆医学*, 2014, 44(8): 8-10.
- [13] 赵旭. 续筋接骨片对骨折大鼠 TGF- β 超家族信号通路调控作用的实验研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2019.

[责任编辑 高源]