

## 柚皮苷促进骨折愈合的作用机制研究进展

李承潇<sup>1</sup>, 王飞<sup>2\*</sup>

1. 山东中医药大学 第一临床学院, 山东 济南 255000

2. 山东省文登整骨医院 四肢创伤科(二), 山东 威海 264200

**摘要:** 骨折是威胁人类身体健康的重要疾病之一, 骨折愈合除了与骨折本身的损伤程度有关以外, 还与骨折端血液循环、内分泌、骨吸收/骨形成平衡、雌激素等因素有关。柚皮苷是骨碎补中活性成分, 是一种二氢类黄酮化合物, 具有多种药理活性, 能够促进成骨细胞增殖和分化, 促进新生血管形成, 增强雌激素受体  $\alpha$  的活性, 促进骨保护素的分泌, 抑制核因子- $\kappa$ B 信号通路激活, 激活 Ras 信号通路, 形成复合材料, 通过多种机制或途径促进骨折愈合。综述了柚皮苷促进骨折愈合的作用机制研究进展, 希望为柚皮苷的临床使用提供参考。

**关键词:** 柚皮苷; 骨折愈合; 成骨细胞; 新生血管; 骨保护素; 核因子- $\kappa$ B 信号通路; Ras 信号通路; 复合材料

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)05-1272-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.05.042

## Research progress on mechanism of naringin in promoting fracture healing

LI Cheng-xiao<sup>1</sup>, WANG Fei<sup>2</sup>

1. The First Clinical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 255000, China

2. Second Department of Limb Trauma, Shandong Wendeng Osteopathic Hospital, Weihai 264200, China

**Abstract:** Fracture is one of the important diseases threatening human health. Fracture healing is not only related to the degree of injury of the fracture itself, but also related to blood circulation at the fracture end, endocrine, bone absorption/bone formation balance, estrogen, and other factors. Naringin is an effective component in *Drynariae Rhizoma*, and it is a dihydroflavonoid compound with a variety of pharmacological activities. Naringin can promote the proliferation and differentiation of osteoblasts, promote neovascularization, enhance the activity of estrogen receptor  $\alpha$ , promote the secretion of osteoprotegerin, inhibit the activation of NF- $\kappa$ B signaling pathway, activate Ras signaling pathway, and form composite materials to promote fracture healing through a variety of mechanisms or pathways. This article reviews the research progress on naringin in promoting fracture healing, hoping to provide reference for the clinical use of naringin.

**Key words:** naringin; fracture healing; osteoblast; neovascularization; osteoprotegerin; NF- $\kappa$ B signaling pathway; Ras signaling pathway; composite material

骨折是威胁人类身体健康的重要疾病之一, 骨折后的愈合情况直接影响骨折部位的结构和功能, 骨折愈合程度与患者的预后密切相关<sup>[1]</sup>。骨折愈合除了与骨折本身的损伤程度有关以外, 还与骨折端血液循环、内分泌、骨吸收/骨形成平衡、雌激素等因素有关<sup>[2]</sup>。柚皮苷是骨碎补中活性成分, 是一种二氢类黄酮化合物, 具有多种药理活性, 如抗炎、抗癌、抗溃疡、镇痛、抗高血压等作用, 还具有雌

激素活性, 可减少血液胆固醇, 减少血栓形成, 改善局部微循环和营养供应, 在临床中被广泛用于预防心脑血管疾病的辅助治疗<sup>[3-4]</sup>。有研究发现, 柚皮苷可通过保持钙浓度和增加抗氧化活性来影响骨骼质量<sup>[5]</sup>。药理实验研究表明, 柚皮苷具有抗骨质疏松活性, 可以抑制破骨细胞的形成<sup>[6]</sup>。柚皮苷能通过促进骨保护素(OPG)、骨桥蛋白(OPN)、碱性磷酸酶(ALP)等因子或蛋白提高成骨活性<sup>[7]</sup>。

收稿日期: 2023-03-13

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2017-429)

作者简介: 李承潇(1997—), 男, 山东淄博人, 医师, 硕士, 研究方向为四肢创伤。E-mail: lichengxiao02@163.com

\*通信作者: 王飞(1974—), 男, 山东威海人, 主任医师, 从事四肢创伤的中西医治疗。E-mail: wangfei8150569@163.com

柚皮苷能够促进成骨细胞增殖和分化,促进新生血管形成,增强雌激素受体  $\alpha$  的活性,促进 OPG 的分泌,抑制核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路激活,激活 Ras 信号通路,形成复合材料,通过多种机制或途径促进骨折愈合。本文综述了柚皮苷促进骨折愈合的作用机制研究进展,希望为柚皮苷的临床使用提供参考。

## 1 促进成骨细胞增殖和分化

骨质疏松性骨折是老年人常见的骨折类型,具有骨脆性高、骨密度下降、骨小梁稀疏等特点,临床治疗术后骨折愈合缓慢<sup>[8]</sup>。碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 是促毛细血管生长因子,能促进成骨细胞增殖分化,提高骨折端软骨数量,人骨成型蛋白 7 (BMP-7) 能够促进骨间充质干细胞骨分化,提高成软骨细胞的活性,促使钙盐的沉积<sup>[9]</sup>。刘小坡等<sup>[10]</sup>将柚皮苷用于双侧卵巢摘除和股骨中端截骨建立的骨质疏松性骨折老年大鼠,发现 100 mg/kg 柚皮苷可显著提高老年大鼠股骨的骨密度值,显著提高大鼠股骨的弹性模量、刚度、最大载荷水平,改善股骨生物力学性能,显著改善股骨截骨排列稀疏紊乱、结构断裂、骨小梁间隙大等股骨组织病理学改变,提高骨小梁数量,促进股骨组织中 bFGF、BMP-7 蛋白的表达,提示柚皮苷可通过促进 bFGF、BMP-7 蛋白表达以提高成骨细胞活性,提高股骨骨密度,促进骨折愈合。王庚启等<sup>[11]</sup>在柚皮苷对去势骨质疏松性股骨骨折大鼠的实验中发现,1、10、100 mg/kg 柚皮苷能显著提高股骨骨折的骨密度,促使骨折端有少量骨痂形成,以相关性促进纤维性软骨痂的形成,降低骨折组织中 I 型前胶原羧基末端前肽 (PICP)、骨特异性碱性磷酸酶 (B-ALP)、骨钙素 (BGP) 的形成,促使骨痂组织中成熟骨小梁数目的增加,提高骨折弯曲载荷水平,提示柚皮苷能选择促进骨质疏松性骨折的愈合,其机制可能与增强成骨细胞活性、促进骨形成有关,具有一定剂量相关性。

人羊水来源干细胞 (hAFSC) 是一种新型成骨细胞来源,能分化成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞以及其他胚层中的细胞类型,具有治愈骨折的高潜力<sup>[12]</sup>。骨形态发生蛋白 (BMP) 通过上调结构骨蛋白 (如胶原蛋白 I) 的表达和增强骨基质的矿化来促进成骨细胞分化,诱导 hAFSC 的成骨分化和异位骨形成,Wnt- $\beta$ -连环蛋白信号传导是成骨分化和骨形成的另一种关键途径,Runt 相关转录因子 2

(RUNX2) 可充当 BMP 和 Wnt- $\beta$ -连环蛋白信号通路之间的串扰调节器<sup>[13]</sup>。Liu 等<sup>[14]</sup>将柚皮苷用于 hAFSC 的研究发现,1~200  $\mu$ g/mL 柚皮苷能显著刺激 hAFSC 增殖,具有相关性,但浓度大于 200  $\mu$ g/mL 的柚皮苷对 hAFSC 具有细胞毒性,1、10、100、200  $\mu$ g/mL 柚皮苷能促使细胞中 ALP 的表达,质量浓度为 10~100  $\mu$ g/mL 时以剂量相关性增加钙沉积,质量浓度为 1~100  $\mu$ g/mL 时以剂量相关性增加成骨分化标志物 OPN、胶原蛋白 I 的表达,以剂量相关性显著上调 BMP、RUNX2、Wnt- $\beta$ -连环蛋白的表达,结果表明,柚皮苷通过 BMP 和 Wnt- $\beta$ -catenin 信号转导途径促进 hAFSC 的成骨分化。

## 2 促进新生血管形成

血管生成是骨缺损成骨的先决条件,不仅是骨组织营养和代谢的桥梁,也是骨再生微环境的提供者,PIWI 蛋白相互作用 RNA (piRNA) 具有调节蛋白质合成、调节染色质和基因组结构、稳定 mRNA 等功能,通过调控 NF- $\kappa$ B、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号等多种途径介导血管生成<sup>[15]</sup>。Pi 等<sup>[16]</sup>将柚皮苷用于人脐静脉内皮细胞和颅骨骨折的大鼠,发现 100、500、1 000  $\mu$ mol/L 柚皮苷能显著浓度相关性提高颅骨缺损部位的新生血管网络、毛细血管数,促使形成大量毛细血管和新骨,显著提高骨质周围组织血管内皮细胞生长因子 A (VEGFA) 和 CD31 的表达,显著提高人脐静脉内皮细胞的增殖和生产能力,促使人脐静脉内皮细胞中 VEGFA、缺氧诱导因子- $\alpha$  (HIF- $\alpha$ )、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、血管生成素 2 (Ang2)、血管性血友病性因子 (vWF) 等血管生成相关基因的表达,促进人脐静脉内皮细胞的浸润和迁移,增加管腔数、管状节点数和管腔总长度,调节人脐静脉内皮细胞 NF- $\kappa$ B、TNF、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等血管生成相关信号通路的表达。结果证实,柚皮苷可以增强人脐静脉内皮细胞的 piRNA 基因的表达,以促使血管生成和骨缺损愈合。

血管内皮生长因子 (VEGF) 是促血管生成的核心细胞因子,与相关受体结合后能显著促进血管内皮细胞增殖和分化,促使内皮细胞黏附和聚集,刺激成纤维细胞分泌细胞外基质,促进新生血管的形成,进一步改变血管通透性,促使骨祖细胞转移到底骨折端,促进骨折愈合<sup>[17]</sup>。VEGF 的水平在卵巢切除大鼠的骨骼中会明显降低,VEGF/血管内皮生长因子受体-2 (VEGFR-2) 信号通路对血管生成和

骨折愈合具有重要意义,通过可溶性 VEGFR、VEGF 拮抗剂可抑制 VEGF 活性,导致小鼠股骨骨折和皮质骨缺损的愈合受损,而局部给予 VEGF 可改善促使骨折修复<sup>[18]</sup>。赵志虎等<sup>[19]</sup>将柚皮苷用于右侧胫骨骨折去势大鼠,发现 300 mg/kg 柚皮苷能显著提高骨折骨痂处的骨密度值,显著提高骨折端更多的血管密集程度,显著提高血管体积/总体积、血管数量、血管厚度、血管面积,增强骨痂力学强度,显著提高骨痂组织中 VEGF 的表达,提示柚皮苷能通过增强 VEGF 的表达以促进对去势大鼠骨折骨痂部位血管发生,以促使骨折愈合。Song 等<sup>[20]</sup>将柚皮苷用于卵巢切除后的骨折大鼠,发现 40、100、300 mg/kg 柚皮苷能增加骨折周围的血管数、血管体积、血管厚度、血管面积,显著提高骨折组织 VEGF 和 VEGFR-2 相对基因表达,结果表明柚皮苷可通过促进 VEGF/VEGFR-2 信号通路的表达来促进骨折中愈合组织的血管形成。卢育南等<sup>[21]</sup>将柚皮苷、壳聚糖、羟基磷灰石混合制作复合支架,并用于颅骨缺损大鼠的填充,发现复合支架能显著促进骨折新生骨的形成、骨缺损部位的修复良好,提高成骨细胞成簇和骨小梁数量,进一步提高 VEGF、骨形态发生蛋白 2 的水平,并且柚皮苷-壳聚糖/羟基磷灰石具有良好的组织相容性,结果表明,柚皮苷能通过促进 VEGF 和骨形态发生蛋白 2 的形成促进新生骨组织的形成,可见柚皮苷-壳聚糖/羟基磷灰石复合支架可用于骨缺损的修复。

### 3 增强雌激素受体 $\alpha$ 的活性

雌激素-雌激素受体轴在调节成骨相关基因表达和骨稳态中起着关键作用,激活雌激素受体  $\alpha$  能调节成骨和破骨 ALP、骨钙素、RUNX2、OPN、核因子- $\kappa$ B 配体 (RANKL)、巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 等多种相关基因的表达,ALP 是成骨细胞的代表性生物标志物,去活化能促进成骨细胞的生成和分化,进一步提高成骨细胞矿化、骨愈合和骨量<sup>[22]</sup>。Wu 等<sup>[23]</sup>将柚皮苷用于人 U-2 OS 成骨细胞样细胞和小鼠 MC3T3-E1 细胞,发现 10、100  $\mu$ mol/L 柚皮苷能显著促进人成骨细胞的增殖,提高细胞活力,增强雌激素受体  $\alpha$  的易位和反激活活性,诱导人成骨细胞中的 ALP mRNA 表达,同时还能触发小鼠 MC3T3-E1 细胞的雌激素受体  $\alpha$  反式活化、ALP mRNA 表达、细胞活化和细胞矿化,能提高小鼠左股骨缺陷部位的雌激素受体  $\alpha$  和 ALP 水平,显著增加小梁骨数量和缺陷部位骨体积/总体积比

例,结果表明,柚皮苷通过调节雌激素受体  $\alpha$  依赖性 ALP 基因表达改善成骨细胞矿化和骨愈合强度。

### 4 促进 OPG 的分泌

OPG 主要是由骨髓基质细胞和成骨细胞产生的体内骨吸收的负调节因子,可通过与 RANKL 结合来特异性阻断破骨细胞前体的融合和分化,抑制骨吸收进程,促进骨形成<sup>[24]</sup>。Xu 等<sup>[25]</sup>将柚皮苷用于小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 细胞,发现 1、10、100 mg/L 柚皮苷能以时间和剂量相关性显著诱导成骨细胞中 OPG 的表达,并且以时间和浓度相关性抑制破骨细胞的产生,还能显著提高培养物中 OPG 和溶解钙的水平,结果表明,柚皮苷通过诱导骨保护蛋白 OPG 分泌和抑制破骨细胞形成,防治骨质流失和促进骨形成。李风波等<sup>[26]</sup>将柚皮苷用于骨质疏松性胫骨骨折去势大鼠,发现 100 mg/kg 柚皮苷能促进骨折端骨痂的形成,骨折线较模糊,效果与雌激素作用效果相似,还能显著提高胫骨骨折部位的骨密度,提高骨折端平均骨小梁厚度、相对骨体积比、骨体积,增强骨折部位最大载荷,显著提高血清 OPG 水平,降低鼠 I 型胶原 C 端肽 (CTX-1) 水平,增强骨折的力学强度,结果表明,柚皮苷可通过提高 OPG 的水平促进骨质疏松性胫骨骨折愈合,其作用优于雌激素。袁毅等<sup>[27]</sup>将柚皮苷用于股骨骨折大鼠,发现 100 mg/kg 柚皮苷能显著促进大鼠骨折端有大量连续性骨痂形成,骨折线趋于消失,显著提高骨折端骨矿物质含量和骨体积,组织学结果显示,柚皮苷能显著促进成骨细胞增殖和分化,加快骨折愈合,可上调骨折组织中 OPG mRNA 的表达,抑制 RANKL mRNA 的表达,结果表明,柚皮苷能通过激活 OPG/RANKL/RANK 信号通路促进骨折愈合。

### 5 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路激活

肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 是炎症的中枢介质, TNF- $\alpha$  水平升高可促进破骨细胞分化,激活并增强 NF- $\kappa$ B 信号通路,抑制成骨细胞存活,有利于骨吸收,骨折周围组织存在大量的 TNF- $\alpha$ , 可进一步诱导 NF- $\kappa$ B 的激活,加快骨损伤,有助于骨折愈合<sup>[28]</sup>。Cao 等<sup>[29]</sup>将柚皮苷用于小鼠骨髓间充质干细胞,发现 0.001、0.01、0.1  $\mu$ mol/L 柚皮苷能挽救 TNF- $\alpha$  诱导的间充质干细胞细胞凋亡,提高细胞的存活率, TNF- $\alpha$  处理以剂量相关性诱导 ALP 染色和活性降低和 Runx01、Osx mRNA 的水平降低,可完全挽救 TNF- $\alpha$  诱导的间充质干细胞上述变化, TNF- $\alpha$  可提

高细胞核 p65、总 p-I $\kappa$ B $\alpha$  水平和降低总 I $\kappa$ B $\alpha$  表达, 促使 NF- $\kappa$ B 激活, 因此柚皮苷可直接抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 结果表明, 柚皮苷通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活挽救 TNF- $\alpha$  诱导的骨髓间充质干细胞成骨的抑制作用。

## 6 激活 Ras 信号通路

间充质干细胞定向迁移和分化在局部骨折愈合起着至关重要的作用, 通过自分泌和旁分泌功能分泌许多细胞因子、生长因子、趋化因子、参与细胞功能的其他调节因子, 改变骨折中间充质干细胞的微环境、改善其他相关细胞类型的性状和功能可影响骨折愈合<sup>[30]</sup>。Ras 信号通路是一种常见分子细胞中信号转导途径, 激活 Ras 信号通路能促进间充质干细胞定向迁移, 以促进骨折愈合<sup>[31]</sup>。Lin 等<sup>[32]</sup>将柚皮苷用于间充质干细胞的体外细胞培养, 发现 10  $\mu$ mol/L 柚皮苷能显著增加间充质干细胞的数量, 还能促进间充质干细胞迁移, 促进细胞内 C-X-C 的细胞因子合成 (相对水平, >1.5 倍变化)、基序趋化因子 (CXCL) 6、C-C 基序趋化因子 (CCL)、M-CSF、胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBP) -1、IGFBP-4 和 CXCL5 的水平, 降低 CCL28 的水平, 表明柚皮苷通过 Ras 信号通路增强间充质基质细胞迁移, 有助于促进骨折愈合和骨成熟。

## 7 形成复合材料

骨质疏松导致的骨折会使骨体积/密度降低、骨完整性受损, 显著增加了促进骨再生和抑制破骨细胞生成的难度, 利用金属有机骨架纳米晶体在钛表面进行多功能矿化胶原涂层, 同时结合骨结合壳聚糖和明胶, 采用逐层技术可形成稳定的双层膜结构, 柚皮苷可被多层加载, 从微结构钛表面持续释放, 有效提高了柚皮苷的生物利用率<sup>[33]</sup>。Shen 等<sup>[34]</sup>将柚皮苷插入壳聚糖明胶双层膜中并覆盖微钛, 制作成 LBL(NA)涂层钛, 以控制柚皮苷在微结构钛上的缓释, 将成骨细胞 ME3T3-E1 和巨噬细胞 RAW 264.7 分别培养于未处理和处理的钛表面, LBL(NA)涂层钛上生长的成骨细胞显示出更高的 ALP 和矿化, 成骨细胞基因包括 *Runx2*、*ALP*、I 型胶原 (*Col 1*)、*OCN*、*OPN* 和 *OPG* 在 LBL(NA)涂层钛上呈高表达, 抗酸性酒石酸磷酸酶活性以及破骨分化相关基因组织蛋白酶 K (CTSK)、活化 T 细胞核因子 (NFAT)、抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 和 v-atp 酶 (VATP) 的表达显著降低, 结果表明, 柚皮苷能通过抑制 RANKL 诱导的 NF- $\kappa$ B 和 ERK 活化而抑制

破骨细胞生成和骨吸收, 柚皮苷嵌入多层膜的微结构钛增强了成骨细胞的分化, 为骨质疏松患者的骨折修复提供了一种改进钛基植入物。

骨组织工程在使用纳米羟基磷灰石 (nHA) 或胶原蛋白 (COL) 的骨缺损修复和骨重建方面取得了巨大成功, 多种含柚皮苷的生物材料, 包括负载 NG 的静电纺 PLGA/PLLA/PDLLA 混合纤维、电喷雾柚皮苷负载微球/SAIB 杂化物、柚皮苷镶嵌丝素蛋白/羟基磷灰石支架、含柚皮苷的多孔明胶复合材料已被证明可诱导细胞外基质的形成, 证实了柚皮苷的成骨特性, 因此柚皮苷具有制作成其他骨骼疾病的支架材料的巨大前景<sup>[35]</sup>。Zuo 等<sup>[36]</sup>将 nHA 或 COL 与柚皮苷制作成 NG/nHA/COL 支架, 将 NG/nHA/COL 支架研制成粉末置于培养基, 并加入大鼠原代骨髓间充质干细胞, 结果显示, 质量比为 7:3 的 nHA/COL, 柚皮苷的释放率最低, 且持续缓慢增加, 具有较高的载药效率, 柚皮苷和 nHA/COL 的基本化学结构在合成后保存良好, NG/nHA/COL 支架能显著促进骨髓间充质干细胞增殖和骨分化, 显著提高 ALP 的活性, 提高骨头缺损的骨密度, 效果均优于 nHA/COL。结果表明, NG/nHA/COL 支架作为骨移植的替代品修复骨缺损具有巨大潜力。Xiang 等<sup>[37]</sup>制备载柚皮苷微球颗粒 (NG/GMs)、丝素蛋白支架 (SF)、羟基磷灰石/丝素蛋白复合支架 (HA/SF)、颗粒柚皮苷/羟基磷灰石/丝素蛋白复合支架 (NG/HA/SF) 和载颗粒柚皮苷微球/羟基磷灰石/丝素蛋白复合支架 (NG/GMs/HA/SF), 支架均具有良好的生物相容性和药物缓释率, NG/GMs/HA/SF 具有更好的促骨髓间充质干细胞骨分化和矿化作用, 能上调 OCN、BMP-2、骨钙蛋白的 mRNA 和蛋白表达, 可用于骨质疏松性椎体骨折的治疗, NG/GMs/HA/SF 的愈合效果更好, 可进一步上调血清成骨指标、分子生物学、成骨、血管生成, 降低炎症标志物 IK-6、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的 mRNA 和蛋白表达, 因此 NG/GMs/HA/SF 复合支架可能通过调节“成骨分化-血管生成-炎症”稳态来治疗大鼠骨质疏松性椎体骨折。

## 8 结语

柚皮苷可通过促进成骨细胞增殖和分化, 促进新生血管形成, 增强雌激素受体  $\alpha$  的活性, 促进 OPG 的分泌, 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路激活, 激活 Ras 信号通路, 形成复合材料, 多种机制或途径促进骨折愈合, 对临床治疗骨折, 尤其是骨质疏松性骨折具有

重大意义。柚皮苷是从天然药物中提取的活性成分, 获得较为方便, 不良反应较低, 具有广阔的临床应用前景。随着生物材料学的不断进步, 将柚皮苷制作成新型复合材料, 协同促进骨折愈合, 可为临床骨折的治疗提供新的思路。然而柚皮苷促进骨折愈合的研究多停留于细胞和动物研究阶段, 在人体的疗效和作用机制需后续的研究确认。柚皮苷的药效浓度和毒性浓度尚未可知, 还需进一步研究确认。临床还应充分利用组织工程技术, 进一步研究柚皮苷复合材料的作用机制, 因此本文为更好地研发出新型、高效的促进骨折愈合药物提供参考, 以拓宽中药的临床运用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

- [1] Malhotra N, Kundabala M, Acharaya S R. A review of root fractures: Diagnosis, treatment and prognosis [J]. *Dental Update*, 2011, 38(9): 615-628.
- [2] Mirhadi S, Ashwood N, Karagkevrekis B. Factors influencing fracture healing [J]. *Trauma*, 2013, 15(2): 140-155.
- [3] 于宏伟, 谷维娜, 李娜, 等. 柚皮苷的提取方法及其应用研究进展 [J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(8): 1516-1518.
- [4] 杨新荣, 窦霞, 李国峰, 等. 柚皮苷药理作用及机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(10): 3226-3240.
- [5] Li F, Sun X, Ma J, *et al.* Naringin prevents ovariectomy-induced osteoporosis and promotes osteoclasts apoptosis through the mitochondria-mediated apoptosis pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(3): 629- 635.
- [6] Wang W, Mao J, Chen Y, *et al.* Naringin promotes osteogenesis and ameliorates osteoporosis development by targeting JAK2/STAT3 signalling [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2022, 49(1): 113-121.
- [7] Guo L H, Cao Y, Zhuang R T, *et al.* Effects of naringin on the proliferation, migration and osteogenesis of two human osteoblast-like cell lines [J]. *J Biomater Tiss Eng*, 2018, 8(6): 871-879.
- [8] Cummings S R, Melton L J. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures [J]. *Lancet*, 2002, 359(9319): 1761-1767.
- [9] Kanakaris N K, Petsatodis G, Tagil M, *et al.* Is there a role for bone morphogenetic proteins in osteoporotic fractures? [J]. *Injury*, 2009, 40: S21-S26.
- [10] 刘小坡, 冯云波, 曹国龙, 等. 柚皮苷对老年大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(9): 1117-1120.
- [11] 王庚启, 王黎明, 谢林, 等. 柚皮苷对去势大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2016, 30(4): 73-79.
- [12] Gatti M, Beretti F, Zavatti M, *et al.* Amniotic fluid stem cell-derived extracellular vesicles counteract steroid-induced osteoporosis *in vitro* [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 38.
- [13] Kloen P, Di Paola M, Borens O, *et al.* BMP signaling components are expressed in human fracture callus [J]. *Bone*, 2003, 33(3): 362-371.
- [14] Liu M M, Li Y, Yang S T. Effects of naringin on the proliferation and osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem cells [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(1): 276-284.
- [15] Chen G, Wang S, Long C, *et al.* PiRNA-63049 inhibits bone formation through Wnt/β-catenin signaling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(15): 4409.
- [16] Pi Y X, Liang Z T, Jiang G Z, *et al.* The role of PIWI-interacting RNA in naringin pro-angiogenesis by targeting HUVECs [J]. *Chem-Biol Interact*, 2023: 110344.
- [17] Bouletreau P J, Warren S M, Spector J A, *et al.* Hypoxia and VEGF up-regulate BMP-2 mRNA and protein expression in microvascular endothelial cells: implications for fracture healing [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2002, 109(7): 2384-2397.
- [18] Mesquita-Britto M H R, Mendonça M C P, Soares E S, *et al.* VEGF/VEGFR-2 system exerts neuroprotection against *Phoneutria nigriventer* spider envenomation through PI3K-AKT-dependent pathway [J]. *Toxicon*, 2020, 185: 76-90.
- [19] 赵志虎, 孟新民, 孙晓雷, 等. 柚皮苷对去势大鼠骨折骨痂血管发生的影响及其机制 [J]. *中华骨科杂志*, 2016, 36(3): 177-183.
- [20] Song N, Zhao Z H, Ma X L, *et al.* Naringin promotes fracture healing through stimulation of angiogenesis by regulating the VEGF/VEGFR-2 signaling pathway in osteoporotic rats [J]. *Chem-Biol Interact*, 2017, 261: 11-17.
- [21] 卢育南, 张信照, 林斌斌, 等. 柚皮苷-壳聚糖/羟基磷灰石复合支架修复大鼠颅骨缺损 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(28): 4441-4445.
- [22] Ioannidis J P A, Stavrou I, Trikalinos T A, *et al.* Association of polymorphisms of the estrogen receptor α gene with bone mineral density and fracture risk in women: A meta-analysis [J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(11): 2048-2060.
- [23] Wu G J, Chen K Y, Yang J D, *et al.* Naringin improves osteoblast mineralization and bone healing and strength through regulating estrogen receptor alpha-dependent alkaline phosphatase gene expression [J]. *J Agr Food*

- Chem*, 2021, 69(44): 13020-13033.
- [24] Jørgensen H L, Kusk P, Madsen B, *et al.* Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the OPG promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios [J]. *J Bone Miner Metab*, 2004, 22: 132-138.
- [25] Xu T, Wang L, Tao Y, *et al.* The function of naringin in inducing secretion of osteoprotegerin and inhibiting formation of osteoclasts [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2016, 1: 8981650.
- [26] 李风波, 孙晓雷, 马剑雄, 等. 柚皮苷对去势大鼠骨质疏松性骨折愈合的作用 [J]. *中华创伤杂志*, 2015, 31(4): 370-375.
- [27] 袁毅, 傅裕, 许东, 等. 柚皮苷联合脉冲电磁场对大鼠股骨骨折愈合的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26(6): 543-547.
- [28] Gerstenfeld L C, Cho T J, Kon T, *et al.* Impaired fracture healing in the absence of TNF -  $\alpha$  signaling: The role of TNF -  $\alpha$  in endochondral cartilage resorption [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(9): 1584-1592.
- [29] Cao S H, Lin W L, Liang C W, *et al.* Naringin rescued the TNF- $\alpha$ -induced inhibition of osteogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by depressing the activation of NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Immunol Res*, 2015, 62: 357-367.
- [30] Wang X, Wang Y, Gou W, *et al.* Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: A review [J]. *Int Orthop*, 2013, 37: 2491-2498.
- [31] Sharma R, Wu X, Rhodes S D, *et al.* Hyperactive Ras/ MAPK signaling is critical for tibial nonunion fracture in neurofibromin-deficient mice [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(23): 4818-4828.
- [32] Lin F, Zhu Y, Hu G. Naringin promotes cellular chemokine synthesis and potentiates mesenchymal stromal cell migration via the Ras signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(4): 3504-3510.
- [33] Li J, Yan J F, Wan Q Q, *et al.* Matrix stiffening by self-mineralizable guided bone regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2021, 125: 112-125.
- [34] Shen K, Zhang XJ, Tang Q, *et al.* Microstructured titanium functionalized by naringin inserted multilayers for promoting osteogenesis and inhibiting osteoclastogenesis [J]. *J Biomat Sci-Polym Ed*, 2021, 32(14): 1865-1881.
- [35] Guo Z, Wu S, Li H, *et al.* *In vitro* evaluation of electrospun PLGA/PLLA/PDLLA blend fibers loaded with naringin for guided bone regeneration [J]. *Dent Mater J*, 2018, 37(2): 317-324.
- [36] Zuo Y P, Li Q W, Xiong Q C, *et al.* Naringin release from a nano-hydroxyapatite/collagen scaffold promotes osteogenesis and bone tissue reconstruction [J]. *Polymers*, 2022, 14(16): 3260.
- [37] Xiang Y, Ren H, Shen G Y, *et al.* Treatment of osteoporotic vertebral fractures/defect in rats by naringin/hydroxyapatite/ silk fibroin composite scaffolds in regulation of osteogenic differentiation, angiogenesis and inflammation [J]. *Spine J*, 2019, 19(9): S166-S167.

[责任编辑 解学星]