

# 仙灵骨葆胶囊对大鼠骨质疏松性骨折愈合过程 PDGF、TGF- $\beta$ 和 VEGF 表达的影响\*

吴继云<sup>1</sup>, 陈伟南<sup>1\*\*</sup>, 蒋春华<sup>2</sup>

(1. 中国人民解放军联勤保障部队第904医院 & 无锡市太湖医院, 江苏 无锡 214000; 2. 广西医科大学, 广西 南宁 530021)

**[摘要]** 目的: 探讨仙灵骨葆胶囊对老龄去势大鼠骨质疏松性骨折愈合过程血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )和血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响。方法: 雌性SD大鼠随机分为假手术组、去势组、仙灵骨葆胶囊高剂量组(高剂量组)和低剂量组, 每组16只, 去势组、高剂量组和低剂量组大鼠行双侧卵巢切除术, 制备骨质疏松模型, 假手术组只做手术, 不切除卵巢; 术后8周, 所有大鼠建立右侧股骨骨折模型; 骨折后第2天高剂量组和低剂量组分别给予0.6及0.3 g/kg仙灵骨葆胶囊, 假手术组和去势组给予生理盐水灌胃, 连续10周; 记录4组大鼠骨折前、骨折后2周~8周的体质量, 观察各组大鼠骨折后第2、4、8和10周时骨细胞指数、破骨细胞指数、骨折周围软组织的PDGF、TGF- $\beta$ 和VEGF表达水平。结果: 骨折10周时, 与假手术组比较, 其余3组大鼠体质量明显降低( $P < 0.05$ ); 骨折后2周时, 去势组、高剂量组和低剂量组大鼠的骨细胞指数、破骨细胞指数、骨折软组织的PDGF、TGF- $\beta$ 和VEGF均有不同程度地增高, 至4周时达峰值, 第8、10周时降低; 与假手术组比较, 其余3组大鼠骨细胞指数、破骨细胞指数均明显降低( $P < 0.05$ ), 骨折软组织的PDGF、TGF- $\beta$ 和VEGF明显增高( $P < 0.05$ ); 与去势组比较, 高剂量组和低剂量组的骨细胞指数、破骨细胞指数、骨折软组织的PDGF、TGF- $\beta$ 和VEGF均有不同程度地增高( $P < 0.05$ )。结论: 仙灵骨葆胶囊可促进老龄去势大鼠骨质疏松性骨折愈合过程, 其机制可能与仙灵骨葆胶囊提高骨折周围软组织PDGF、TGF- $\beta$ 和VEGF的水平有关。

**[关键词]** 仙灵骨葆胶囊; 去势; 骨质疏松性骨折; 血小板衍生生长因子; 转化生长因子 $\beta$ ; 血管内皮生长因子; 大鼠, Sprague-Dawley

**[中图分类号]** R285.5; R683 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)05-0541-06

**DOI:** 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.05.009

## Expression of PDGF, TGF- $\beta$ and VEGF in the Healing Process of Osteoporotic Fracture after Castration in Aged Rats Treated by Xianlinggubao Capsules

WU Jiyun<sup>1</sup>, CHEN Weinan<sup>1</sup>, JIANG Chunhua<sup>2</sup>

(1. 904 Hospital of the Joint Logistic Support Force of the Chinese People's Liberation Army (Taihu Hospital), Wuxi 214000, Jiangsu, China; 2. Guangxi medical university, Nanning 530021, Guangxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Xianlinggubao capsules on osteoporotic fracture (OPF) healing after castration in aged rats, and observe its influence on the expression of platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) and vascular endothelial growth factor (VEGF). **Methods:** Female SD rats were randomly divided into 4 groups: the sham operation group, the ovariectomized group, the high-dose group (0.6 g/kg Xianlinggubao) and the low-dose group (0.3 g/kg Xianlinggubao), with 16 rats in each group. The ovariectomized group, the high-dose group and the low-dose group were prepared as the OP fracture models. All the 4 groups were adminis-

\*[基金项目] 国家自然科学基金(81560408)

\*\*通信作者 E-mail: chenweinan@medmail.com.cn

网络出版时间: 2019-05-28 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190528.0228.009.html>

tered continuously with pure water, 0.3 g/kg Xianlinggubao capsule and 0.6 g/kg Xianlinggubao capsule for 10 weeks,. The body weights of the 4 groups before fracture and 2 weeks to 10 weeks after fracture were recorded. The bone marrow, bone cell index, osteoclast index, and PDGF, TGF- $\beta$ , and VEGF expression in soft tissues around the fracture were recorded or detected in 2, 4, 8 and 10 weeks after the establishment of the fracture model. **Results:** There was no statistical difference in body mass of the sham operation group before and 2 ~ 10 weeks after the fracture ( $P > 0.05$ ). Compared with the sham operation group, the body weight of the other 3 groups was significantly lower, and the difference was statistically significantly ( $P < 0.05$ ). After fracture, the model group had more fibrous epiphyseal and cartilage defects than the sham operation group, the high-dose and low-dose group. There was no significant difference in bone cell index, osteoclast index, PDGF, TGF- $\beta$  and VEGF in the soft tissues of the sham operation group 2 ~ 10 weeks after the fracture ( $P > 0.05$ ). Compared with the sham operation group, the bone model index and osteoclast index of other 3 groups significantly decreased after 2 ~ 10 weeks of fracture ( $P < 0.05$ ). The PDGF, TGF- $\beta$  and VEGF of the soft tissues of the fracture significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham operation group, the bone cell index, osteoclast index, PDGF, TGF- $\beta$  and VEG of the soft tissues of the other 3 groups increased to varying degrees, reaching a peak in 4 weeks, followed by a decrease of 8 ~ 10 weeks ( $P < 0.05$ ). 2 ~ 10 weeks after the fracture model was established, compared with the low-dose group, the bone cell index, osteoclast index, PDGF, TGF- $\beta$  and VEG of fracture soft tissues of the high- dose group increased, but the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** Xianlinggubao capsules could promote the healing process of OPF after castration in aged rats, which may be related to the improvement of the relative expression of PDGF, TGF- $\beta$  and VEGF in the soft tissues around the fracture.

[ **Key words** ] Xianlinggubao capsules; castration; osteoporotic fracture; platelet derived growth factor; transforming growth factor beta; vascular endothelial growth factor; rats, Sprague-Dawley

骨质疏松 (osteoporosis, OP) 是全身性的骨骼疾病, 临床典型表现为腰背和四肢关节疼痛, 病理学检查以骨密度降低为特征, 导致骨骼脆性和骨折危险性增高。50 岁以上人群骨质疏松发病率超过 50%, 已被公认为严重的社会公共健康问题<sup>[1-3]</sup>。近年来, 中药具有疗效确切和副作用小等特点而广泛应用于临床骨质疏松的治疗, 相关研究也日益增多。仙灵骨葆胶囊是收录于现行《国家基本药物目录》并常用于骨伤科骨质疏松症及骨质疏松症相关骨折的中成药, 具有滋补肝肾, 活血通络及强筋健骨的功效<sup>[4-5]</sup>。随着人们对骨折愈合机制研究深入, 认识到一些细胞因子, 如血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ ) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在骨折愈合中发挥了独特的作用, 骨折患者其较快的骨折愈合时间可能与血清中 PDGF、TGF- $\beta$  和 VEGF 水平升高有关<sup>[6-8]</sup>。仙灵骨葆胶囊在治疗老年骨质疏松的机理是否与上述因子相

关仍需要进一步确认, 本课题以去势后骨质疏松性骨折老龄大鼠模型为研究对象, 考察仙灵骨葆胶囊对骨折愈合过程 PDGF、TGF- $\beta$  和 VEGF 表达的影响, 为仙灵骨葆胶囊的临床应用提供参考。

## 1 材料及方法

### 1.1 受试动物

6 月雌性 SD 大鼠, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号为 SCXK(京)2006.0009, 体重 280 ~ 450 g, 随机分为假手术组、去势组、仙灵骨葆胶囊高剂量组 (高剂量组) 和仙灵骨葆胶囊低剂量组 (低剂量组), 每组 16 只。所有大鼠均自由进食饮水, 定期消毒和通风, 1 周适应性饲养后进行实验。

### 1.2 试剂与仪器

仙灵骨葆胶囊 (贵州同济堂制药有限公司, 国药准字 Z20025337, 0.5 g/粒)。PDGF、TGF- $\beta$  和

bFGF 兔抗大鼠单克隆抗体、生物素化山羊抗兔 IgG 均购自武汉博士德公司。总蛋白定量测定试剂盒(南京建成生物公司),LEICARM2235 型石蜡切片机(德国莱卡公司),BX50 生物显微镜(日本 Olympus 公司),大鼠固定板,克氏针和手术器械等。

1.3 骨质疏松及骨折模型的制备

全身麻醉后,去势组和高、低剂量组大鼠,切开双侧腰背部,暴露腹腔,行双侧卵巢切除术。假手术组切开双侧腰背侧,切除腹腔少许脂肪即可。术后 8 周,所有动物全身麻醉,暴露右侧股骨,经髌韧带行克氏针髓腔逆行并内固定,将股骨中段切断,制成骨折模型。术后所有大鼠独笼饲养,自由进食进水。

1.4 给药

骨折造模术后第 2 天高剂量组和低剂量组分别给予 0.6 及 0.3 g/kg 仙灵骨葆胶囊,假手术组和去势组给予生理盐水灌胃,连续 10 周。

1.5 指标检测

1.5.1 体质量 检测 4 组大鼠骨折前、骨折后 2 周~8 周的体质量。

1.5.2 骨痂、骨细胞指数与破骨细胞指数 骨折模型建立后 2、4、8 和 10 周,每组随机选取 4 只大鼠,安乐处死,截取右股骨中段骨痂组织,以 10% 中性甲醛固定,脱钙 6 周,正中剖开,阶梯浓度乙醇脱水,石蜡包埋,连续切片,染色,镜下观察骨折后

不同时期骨痂的组织学改变,每张切片随机取 5 个视野,计数成骨细胞指数与破骨细胞指数。

1.5.3 骨折周围的软组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 表达 骨折造模 10 周后,收集骨折周围的软组织,包括肌肉及纤维组织等,采用 western blot 法检测骨折周围的软组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 表达。

1.6 统计学处理

所有实验数据在实验结束后均准确地录入到 SPSS 19.0 软件,计量资料使用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间采用最小显著性差异法(LSD)检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体质量

双侧卵巢切除术术后 6 周,大鼠无明显动情周期,表明去势大鼠模型制作成功,同时术后 6 周随机选取每组大鼠 3 只连续 7 d 行阴道细胞学涂片,镜下观察显示涂片的白细胞及炎性细胞增多,上皮细胞以底层细胞为主,无角化细胞,则进一步证实去势大鼠制作成功。各组大鼠骨折前、骨折后 2~8 周的体质量差异无统计意义( $P > 0.05$ );骨折 10 周,与假手术组比,其余 3 组大鼠体质量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 各组大鼠骨折前及骨折后 2、4、8 和 10 周的体质量( $\bar{x} \pm s, g$ )  
Tab. 1 Body mass of rats in each group before and 2, 4, 8 and 10 weeks after fracture

组别	骨折前	骨折后			
		2 周	4 周	8 周	10 周
假手术组	315.6 ± 24.1	321.5 ± 24.9	334.2 ± 25.1	341.6 ± 26.7	375.4 ± 27.8
去势组	321.2 ± 22.9	306.5 ± 21.8	309.8 ± 22.4	312.1 ± 23.4	319.9 ± 24.2 <sup>(1)</sup>
低剂量组	316.2 ± 24.6	300.9 ± 21.6	310.6 ± 22.9	320.7 ± 24.1	327.8 ± 25.3 <sup>(1)</sup>
高剂量组	320.8 ± 21.8	304.7 ± 22.9	316.1 ± 23.4	329.8 ± 24.6	338.7 ± 25.1 <sup>(1)</sup>
F	0.256	2.507	2.814	2.089	14.665
P	0.856	0.067	0.050	0.124	0.000

<sup>(1)</sup>与假手术组比较,  $P < 0.05$

2.2 骨痂、骨细胞指数与破骨细胞指数

骨折后,去势组纤维性骨痂和软骨骨痂明显多于假手术组、高剂量组和低剂量组。假手术组骨折后各时点骨细胞指数及破骨细胞指数差异无统计学意义( $P > 0.05$ );骨折后 2 周时,除假手术组,其余组的骨细胞指数与破骨细胞指数均有不同程度地增高,至 4 周时达峰值,第 8、10 周时降低;但与

假手术组比较,其余 3 组骨折后的骨细胞指数与破骨细胞指数均明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与去势组比较,低剂量组和高剂量组骨细胞指数与破骨细胞指数均有不同程度地增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与低剂量组比较,高剂量组骨细胞指数与破骨细胞指数均有不同程度地增高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组大鼠骨折后 2、4、8 和 10 周时骨细胞指数与破骨细胞指数( $\bar{x} \pm s$ , 个/ $\mu\text{m}^2$ ,  $n=4$ )

Tab.2 Osteocyte index and osteoclast index at 2, 4, 8 and 10 weeks after fracture in rats of each group

组别	骨折后			
	2 周	4 周	8 周	10 周
假手术组				
骨细胞指数	74.2 ± 8.1	76.2 ± 8.9	75.6 ± 8.4	75.1 ± 8.9
破骨细胞指数	4.4 ± 1.6	4.5 ± 1.5	4.0 ± 1.6	4.2 ± 1.4
去势组				
骨细胞指数	32.3 ± 6.4 <sup>(1)</sup>	39.2 ± 6.6 <sup>(1)</sup>	34.4 ± 6.9 <sup>(1)</sup>	33.4 ± 6.2 <sup>(1)</sup>
破骨细胞指数	16.5 ± 3.4 <sup>(1)</sup>	21.3 ± 2.9 <sup>(1)</sup>	20.1 ± 2.4 <sup>(1)</sup>	19.6 ± 2.1 <sup>(1)</sup>
低剂量组				
骨细胞指数	38.2 ± 6.9 <sup>(1)</sup>	58.6 ± 6.7 <sup>(1)</sup>	50.6 ± 6.1 <sup>(1)(2)</sup>	49.8 ± 6.2 <sup>(1)(2)</sup>
破骨细胞指数	12.4 ± 3.1 <sup>(1)</sup>	29.4 ± 3.4 <sup>(1)(2)</sup>	28.1 ± 3.1 <sup>(1)(2)</sup>	27.1 ± 2.8 <sup>(1)(2)</sup>
高剂量组				
骨细胞指数	39.4 ± 6.2	61.9 ± 6.9 <sup>(1)(2)</sup>	57.9 ± 6.7 <sup>(1)(2)</sup>	50.9 ± 6.1 <sup>(1)(2)</sup>
破骨细胞指数	10.5 ± 2.7 <sup>(1)(2)</sup>	30.5 ± 3.9 <sup>(1)(2)</sup>	29.3 ± 3.4 <sup>(1)(2)</sup>	28.2 ± 2.7 <sup>(1)(2)</sup>
$F_1$	28.121	17.255	23.327	24.425
$P_1$	0.000	0.000	0.000	0.000
$F_2$	13.069	61.616	73.706	91.100
$P_2$	0.000	0.000	0.000	0.000

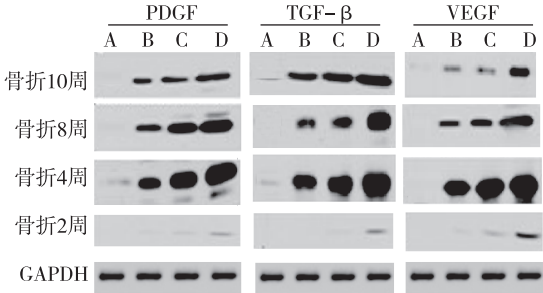
注: <sup>(1)</sup>与假手术组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>(2)</sup>与去势组比较,  $P < 0.05$ ;  $F_1$  和  $P_1$  为 4 组的骨细胞指数统计值,  $F_2$  和  $P_2$  为 4 组的破骨细胞指数统计值

2.3 骨折周围软组织 PDGF、TGF-β 和 VEGF 水平

假手术组骨折 2、4、8、10 周时骨折周围软组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。骨折后 2 周时,除假手术组,其余 3 组的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 均有不同程度增高 ( $P < 0.05$ ),至 4 周时达峰值,第 8~10 周降低;与去势组比较,低剂量组和高剂量组的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 均有不同程度地增高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与低剂量组比较,高剂量组的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 均有不同程度地增高,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 1 和表 3。

3 讨论

骨质疏松症是多种原因引起的以骨量降低、骨组织微观结构退化为主要病理特征的疾病,可导致骨脆性增高,骨折危险性增加。流行病学统计显示,绝经后骨质疏松症是最常见的原发性骨质疏松症,绝经后女性的患病率接近 50%,与同龄非骨质疏松者比,骨质疏松症导致骨折风险增加至少 20%<sup>[9]</sup>。如何改善骨质疏松,降低骨质疏松症导致的骨折发生率及加速骨质疏松骨折的愈合是骨科的研究热点。本研究制备老龄大鼠去势后骨质疏松性骨折模型,给予高、低剂量仙灵骨葆胶囊,结果显示,仙灵骨葆胶囊可能通过调节骨折周围软组



注: A 为假手术组, B 为去势组, C 为低剂量组, D 为高剂量组

图 1 各组大鼠骨折后 2、4、8 和 10 周骨折周围软组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 表达量

Fig.1 Expressions of PDGF, TGF-beta and VEGF in soft tissues around fracture at 2, 4, 8 and 10 weeks after fracture in rats of each group

织 PDGF、TGF-β 和 VEGF 的相对表达量而达到促进骨折愈合的效果。

骨愈合为骨结构强度的重新获得及骨连续性恢复。组织方面,骨折愈合包括血肿炎症机化期、原始骨痂反应期及骨形成改建期。在骨折愈合过程较为复杂,许多因子参与其中,研究较多且较典型的因子有 PDGF、TGF-β 和 VEGF,健康志愿者体内上述因子多为低表达,但在应激条件,上述因子

表3 各组大鼠骨折后 2、4、8 和 10 周骨折软组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 表达水平( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Tab.3 Expression levels of PDGF, TGF-beta and VEGF in soft tissues around fracture at 2, 4, 8 and 10 weeks after fracture in rats of each group

组别	骨折后			
	2 周	4 周	8 周	10 周
假手术组				
PDGF	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
TGF-β	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
VEGF	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
去势组				
PDGF	0.2 ± 0.1 <sup>(1)</sup>	1.5 ± 0.3 <sup>(1)</sup>	1.3 ± 0.3 <sup>(1)</sup>	0.9 ± 0.3 <sup>(1)</sup>
TGF-β	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.4 <sup>(1)</sup>	1.2 ± 0.3 <sup>(1)</sup>	1.1 ± 0.4 <sup>(1)</sup>
VEGF	0.2 ± 0.1	1.6 ± 0.5 <sup>(1)</sup>	0.9 ± 0.2 <sup>(1)</sup>	0.6 ± 0.2 <sup>(1)</sup>
低剂量组				
PDGF	0.3 ± 0.1 <sup>(1)</sup>	1.9 ± 0.5 <sup>(1)</sup>	1.6 ± 0.5 <sup>(1)</sup>	1.2 ± 0.4 <sup>(1)</sup>
TGF-β	0.2 ± 0.1	2.1 ± 0.5 <sup>(1)</sup>	1.5 ± 0.4 <sup>(1)</sup>	1.3 ± 0.4 <sup>(1)</sup>
VEGF	0.3 ± 0.1	2.2 ± 0.6 <sup>(1)</sup>	1.3 ± 0.4 <sup>(1)</sup>	0.9 ± 0.3 <sup>(1)</sup>
高剂量组				
PDGF	0.4 ± 0.1 <sup>(1)(2)</sup>	3.2 ± 0.9 <sup>(1)(2)</sup>	2.8 ± 0.7 <sup>(1)(2)</sup>	1.9 ± 0.5 <sup>(1)(2)</sup>
TGF-β	0.3 ± 0.1 <sup>(1)</sup>	3.6 ± 0.8 <sup>(1)(2)</sup>	3.0 ± 0.6 <sup>(1)(2)</sup>	1.9 ± 0.4 <sup>(1)(2)</sup>
VEGF	0.5 ± 0.1 <sup>(1)(2)</sup>	3.9 ± 0.7 <sup>(1)(2)</sup>	2.7 ± 0.5 <sup>(1)(2)</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>(1)(2)</sup>
$F_1$	6.667	21.057	21.762	15.582
$P_1$	0.007	0.000	0.000	0.000
$F_2$	2.667	30.428	36.903	16.190
$P_2$	0.095	0.000	0.000	0.000
$F_3$	11.667	32.192	38.580	13.630
$P_3$	0.001	0.000	0.000	0.000

注: <sup>(1)</sup>假手术组比较,  $P<0.05$ ; <sup>(2)</sup>与去势组比较,  $P<0.05$ ;  $F_1$  和  $P_1$  为 4 组的 PDGF 统计值,  $F_2$  和  $P_2$  为 4 组的 TGF-β 统计值,  $F_3$  和  $P_3$  为 4 组的 VEGF 统计值

明显增加。PDGF 在人体的平滑肌细胞、巨噬细胞及成纤维细胞等均有表达,具有强大的促有丝分裂原的作用,另外,PDGF 的趋化作用强,作用在骨折区域的间充质细胞,促进间质细胞的增殖,促进成骨细胞分化,合成 I 型胶原,促进骨折周围软骨细胞增生<sup>[10-11]</sup>。VEGF 与血管新生有明显的相关性,具有促进新生血管形成,改善机体局部供给氧气与营养,当骨折发生时,骨和骨周边软组织遭到破坏,血管断裂,机体反馈性大量分泌 VEGF,已发挥 VEGF 的促血管生成效果。动物研究显示,局部应用 bFGF 及重组 PDGF 有助于加速骨折愈合<sup>[12]</sup>。TGF-β 是机体内重要的细胞因子,具有多方面的作用,主要体现在促进创伤愈合、改善瘢痕和纤维化。TGF-β 可由成骨细胞、破骨细胞及软骨细胞分泌生成,骨组织中,TGF-β 一般以无活性的方式存在于骨基质,当骨环境被破坏,如破骨细胞破坏骨基质,TGF-β 被激活,立即参与抑制破骨细胞活性,同时诱导成骨细胞的活性,促进骨的修复和愈合,促进

TGF-β 分泌,即可促进骨折愈合<sup>[13-14]</sup>。  
仙灵骨葆胶囊是依据苗族民间的经验方研制而制得的现代制剂,以淫羊藿为主药,淫羊藿味甘,性温,归肝肾经,为补肾壮阳、祛风除湿、强筋健骨之要药<sup>[15]</sup>,配以续断,补骨脂为臣药,知母,丹参,地黄等为佐使药,全方共奏滋补肝肾、活血通络和强筋壮骨等功效,临床主要用于预防和治疗骨质疏松症<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,给予老龄大鼠去势后骨质疏松性骨折大鼠连续灌胃仙灵骨葆胶囊 10 周,可明显增加骨细胞指数、破骨细胞指数,上调骨折周围组织的 PDGF、TGF-β 和 VEGF 的相对表达,提示仙灵骨葆胶囊有助于促进老龄大鼠去势后骨质疏松性骨折愈合,可能与仙灵骨葆胶囊中的有效成分相关。李菲等<sup>[17]</sup>研究认为淫羊藿苷对慢性脑低灌注时血管新生具有积极的促进作用,该作用与上调受损大脑皮层 VEGF 信号通路有关;李功营等<sup>[18]</sup>对大鼠围绝经期给予淫羊藿总黄酮,结果显示淫羊藿总黄酮能升高 VEGF 水平,从而延缓大鼠

围绝经期进程;成魁等<sup>[19]</sup>认为,与去势组比,淫羊藿苷组大鼠全身与股骨骨密度、股骨生物力学性能差异有统计学意义,提示淫羊藿苷能通过抑制骨吸收而防治骨丢失;宁涛等<sup>[20]</sup>观察家兔骨折愈合的促进机制,结果显示含有续断的复方续断三七提取物可通过上调家兔外周血的 TGF- $\beta$  水平达到促进骨折愈合的目的;张波等<sup>[21]</sup>推测续断对骨折的治疗可能是通过调控 TGF- $\beta$  基因在骨愈合不同阶段的表达量促进骨骼生长;魏合伟等<sup>[22]</sup>研究显示,运用含补骨脂提取物的血清培养的成骨细胞进行移植,可明显增强骨痂中 PDGF 的表达,促进实验性骨质疏松性骨折的愈合。

综上所述,仙灵骨葆胶囊可促进老龄大鼠去势后骨质疏松性骨折愈合过程,可能与仙灵骨葆胶囊提高骨折周围软组织 PDGF、TGF- $\beta$  和 VEGF 的相对表达有关。

## 4 参考文献

- [1] SCHOUSBOE J T, TIEN V, TAYLOR B C, et al. Prediction of incident major osteoporotic and hip fractures by trabecular bone score (TBS) and prevalent radiographic vertebral fracture in older men[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(3): 690-697.
- [2] YOO J H, MOON S H, HA Y C, et al. Osteoporotic fracture: 2015 position statement of the Korean society for bone and mineral research[J]. J Bone Metab, 2015, 22(4): 175-181.
- [3] KIM H Y, HA Y C, KIM T Y, et al. Healthcare costs of osteoporotic fracture in Korea: information from the national health insurance claims database, 2008-2011[J]. J Bone Metab, 2017, 24(2): 125-133.
- [4] 陈鑫,朱雄白,林文军,等. 仙灵骨葆胶囊治疗绝经后骨质疏松的疗效及其机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(10): 827-829.
- [5] 钱雪丰,曹平,刘拴,等. 仙灵骨葆辅助外科治疗老年妇女 Colles 骨折的愈合时间、钙磷含量及骨代谢的评估[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(2): 281-284.
- [6] YOKOTA J, CHOSA N, SAWADA S, et al. PDGF-induced PI3K-mediated signaling enhances the TGF- $\beta$ -induced osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in a TGF- $\beta$ -activated MEK-dependent manner[J]. Int J Mol Med, 2014, 33(3): 534-542.
- [7] POUNTOS I, GEORGOULI T, HENSHAW K, et al. Release of growth factors and the effect of age, sex, and severity of injury after long bone fracture: A preliminary report[J]. Acta Orthop, 2013, 84(1): 65-70.
- [8] HU K, OLSEN B R. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration[J]. Published in Final Edited Form as: Bone, 2016, 91(10): 30-38.
- [9] 王昌兴,刘琦,董黎强,等. 浓缩自体骨髓移植结合金葡液局部注射对骨质疏松性骨折愈合过程中 BMP-2 和 VEGF 表达的调控[J]. 浙江中医药大学学报, 2014, (2): 188-195.
- [10] 高伟,陈游,谭丽,等. 合并脑外伤肢体骨折患者血清中血管内皮生长因子、血小板衍生生长因子的含量分析[J]. 实用骨科杂志, 2013, 19(2): 136-138;192.
- [11] 王占义,胡东旭,杨晓琳,等. IGF-1 与 VEGF 促兔下颌骨骨折愈合作用的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(12): 2147-2149.
- [12] 赵萍. 消肿止痛合剂对大鼠骨折愈合中 VEGF 表达的影响[J]. 西部中医药, 2013, (11): 16-18.
- [13] 李鹏,冉祥根,尉继伟,等. 丹参注射液对模型兔骨折围手术期细胞因子 TGF- $\beta$ 、TNF 影响的实验研究[J]. 中国中医急症, 2018, 27(10): 1765-1767;1770.
- [14] 胡岚翔,余化龙,刘亚东,等. 中药熏洗联合 CPM 机能锻炼改善胫骨骨折手术患者关节功能和疼痛的效果及对血清 BMP-7、TGF- $\beta$ 1 及 bFGF 水平的影响[J]. 四川中医, 2018, 36(9): 142-144.
- [15] 覃裕,邱冰,朱思刚,等. 仙灵骨葆胶囊治疗骨质疏松症的疗效及其对骨代谢及骨转换指标的影响分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(9): 1056-1060.
- [16] 朱晓波. 仙灵骨葆胶囊联合透明质酸对膝骨性关节炎患者血清炎症因子水平的影响及疗效观察[J]. 新中医, 2016, 48(3): 104-106.
- [17] 李菲,张洋洋,蔡锐,等. 淫羊藿苷通过上调 VEGF 信号通路促进脑低灌注大鼠的血管发生[J]. 遵义医学院学报, 2018, 41(5): 533-538.
- [18] 李功营,宋金带,王剑. 淫羊藿总黄酮和薯蓣皂苷元联合用药对自然围绝经期大鼠影响的实验研究[J]. 新中医, 2017, 49(1): 9-11.
- [19] 成魁,陈克明,葛宝丰,等. 淫羊藿苷与金雀异黄酮通过血管再生和抗炎反应途径抑制卵巢切除大鼠骨丢失的比较研究[J]. 中药材, 2014, 37(4): 627-631.
- [20] 宁涛,胡勇. 复方续断三七提取物对家兔骨折愈合的促进作用及其机制[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2016, 37(6): 886-891.
- [21] 张波,徐博,吴昊,等. 续断对兔骨折愈合过程中相关基因表达和血钙、磷含量的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(2): 54-57.
- [22] 魏合伟,林一峰,曲崇正,等. 中药骨康含药血清对骨质疏松性骨折愈合过程中血小板衍生生长因子表达的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(37): 7290-7293.

(2019-02-13 收稿,2019-04-18 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:丁廷森