

• 综 述 •

淫羊藿苷调控骨髓间充质干细胞相关分化
机制及应用研究进展项国梁¹ 陈跃平² 卓映宏²

淫羊藿为小檗科多种植物的总称,是一味历史悠久的植物药材,主要功效是补肾阳、强筋骨、祛风湿。《本草纲目》提到:“其可益精气,坚筋骨,补腰膝,强心力。”现代药理学研究证实,淫羊藿的主要有效成分为淫羊藿总黄酮,包括淫羊藿苷、淫羊藿次苷、去甲淫羊藿素、淫羊藿素等化合物的总称,但是最具代表性的成分为淫羊藿苷^[1]。在《中华人民共和国药典》中将其定为淫羊藿的指标控制成分。药典中明确要求,在该药材中淫羊藿苷含量不得低于 0.5%^[2]。

研究发现,淫羊藿苷能够促进骨髓间充质干细胞成骨分化,并能在一定程度上抑制破骨细胞增殖,从而帮助由于骨稳态失衡所造成的疾病快速恢复,如常见的股骨头坏死、骨不连、骨质疏松症等^[3]。但是,其相关机制并没有得到很好的阐释。笔者通过查阅并总结近年国内外相关文献资料,对淫羊藿苷调控骨髓间充质干细胞的相关机制及应用进行综述。

1 淫羊藿苷对细胞的影响

1.1 淫羊藿苷对成骨细胞的影响

骨髓间充质干细胞一种具有多种分化能力的种子细胞,在一定的条件下,它能分化成心肌细胞、神经细胞、脂肪细胞等。同时,其亦是成骨细胞的唯一来源。在正常人体中,骨组织的稳定需要维持着一定的稳态,成骨细胞与破骨细胞的分化与凋亡需要保持平衡,当这种平衡被打破,骨组织的稳定将被破坏,导致骨代谢性疾病的发生。成骨细胞能分泌出特异性活化物质,

维持骨量恒定,修复坏死骨组织^[4]。在骨形成过程中发挥着重要的作用。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)不是一种特定的酶,而是一组同工酶,是细胞成骨能力强弱的指标性蛋白,促进成骨细胞形成,参与骨的代谢,启动钙化,其在细胞中的含量代表了细胞分化的程度以及状态,是细胞外基质成熟的早期特异性标志^[5-7]。骨钙素又称为 γ -羧基谷氨酸骨蛋白,是成骨细胞晚期分化合成或分泌的一种由 49 个氨基酸构成的非胶原蛋白,其主要发现于细胞外基质矿化阶段,它同样是成骨细胞成熟的标志之一,在骨细胞形成中有着重要作用^[8]。在一定条件下骨钙素也会参与调节骨的吸收,在骨形成与吸收偶联时,其反应的是骨转换指标;而在非偶联时,其反应的是骨形成速率^[9]。ALP 与骨钙素在细胞外基质中的表达都反映了骨代谢的程度,但骨钙素却更敏感的反映出骨的代谢进程,其能反映骨的转化水平,是比 ALP 更加敏感的检测指标。

有研究证实,淫羊藿苷能够增强成骨细胞的增值能力。谢利娜等^[10]对人成骨细胞进行体外培养发现,通过在培养液中加入淫羊藿苷,可以促进细胞中 ALP 的含量,在一定程度上能为骨疾病提供良好的治疗方向。除了增强细胞的增值能力,淫羊藿苷还能促进骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞,直接加速骨损伤的愈合^[11]。许静等^[12]通过使用淫羊藿黄酮类主要成分对骨髓间充质干细胞进行干预培养发现,各给药组经过 14 天后,均能明显观察到细胞内矿化结节的形成,表明淫羊藿中黄酮类主要成分能促进骨髓间充质干细胞成骨分化。他们还通过网络药理学分析发现,淫羊藿苷等 5 种主要成分具有 33 个潜在靶点,能促进成骨细胞的增值及分化,这为中药淫羊藿“补肝肾、强筋骨”提供了一定的依据。

1.2 淫羊藿苷对破骨细胞影响

有研究证明,成骨细胞所分泌的核因子 κ -B 配体受体致活剂(receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)与破骨细胞分泌的受体核因子 κ -B 受体致活剂(receptor activator of nuclear

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81760796);国家自然科学基金资助项目(No. 81960803);广西区自然科学基金(No. 2015GXNSFAAjjAA139136);广西卫生厅重点课题(No. S201419-05);2014 广西中医药大学校级培育学科-骨外科学建设项目[No. J13167(7)];2019-2021 崇左科技厅项目崇科(No. FC2019006);2019 广西中医药大学一流学科建设项目(No. 0501901826)

作者单位:1. 中国中医科学院西苑医院人事处(北京 100091);
2. 广西中医药大学附属瑞康医院创伤骨科与手外科(南宁 530011)

通讯作者:陈跃平, 0771-2188160, E-mail: chen Yueping007@126.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200726. 083

factor kappa B, RANK) 可相互结合, 进而促进破骨细胞分化, 导致骨质疏松的产生或加重^[13]。但成骨细胞同样能够分泌另一种细胞因子与 RANKL 相结合, 降低 RANK 与 RANKL 的结合率, 从而减少破骨细胞分化, 保护骨组织, 这种细胞因子便是骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)^[13]。Wnt 的拮抗剂 SFRP1 也可与 RANKL 结合抑制破骨细胞分化, 且 SFRP1 自身会通过影响 β -catenin 的稳定导致成骨细胞功能减退, 当敲出 SFRP1 基因后, 小鼠的 Wnt 信号通路表达将得到提高且其骨量也会上升^[14]。马小妮等^[15]通过原代培养大鼠颅骨成骨细胞, 分别检测 12、24、36、48h 时 OPG 与 RANKL 等细胞因子的表达, 发现在淫羊藿苷单独作用 36h 时, OPG 的基因及蛋白表达最高; 而 RANKL 的表达随时间的延长而增加, 且 OPG/RANKL 的比值与 OPG 变化趋势相似。OPG/RANKL 的比值可直接反应破骨细胞的分化进程, 比值升高则骨吸收率降低, 反之则增强。因此该实验证明, 淫羊藿苷可通过提高 OPG/RANKL 的比值抑制破骨细胞的分化及骨吸收能力。中医学认为“肾藏精、精生髓、髓养骨”, 肾精作为构成人体的基本物质, 在骨的生长发育中有着重要的作用。淫羊藿为补肾益精的中药之一, 与绝大部分补肾药材相同, 既能增强成骨细胞增值分化, 也能抑制破骨细胞的骨吸收能力, 从而改善甚至避免骨质疏松^[16]。

1.3 淫羊藿苷对脂肪细胞影响

脂肪细胞在股骨头坏死的病理过程中, 对骨的代谢平衡发挥着重要的作用。陈跃平等^[17]通过研究发现, 乙醇能导致股骨头髓内脂肪组织的增多, 骨内压增加, 加速股骨头坏死的进展。因此, 控制脂肪细胞的增值及分化将是一种改善骨代谢疾病的新方式。现代医学通过对绝经期女性研究发现, 雌激素水平大量下降是造成其骨质疏松的关键因素, 认为雌激素可通过直接加速破骨细胞凋亡以及间接通过成骨细胞和免疫细胞分泌的细胞因子抑制破骨细胞增殖来减缓并改骨代谢紊乱导致的疾病^[18]。淫羊藿苷作为一种天然的植物雌激素, 能够在促进骨髓间充质干细胞成骨分化的同时抑制脂肪细胞的形成^[19]。罗远等^[20]通过建立雌激素缺乏小鼠模型, 并予喂食淫羊藿苷, 结果发现, 小鼠骨髓细胞中成骨基因的表达上调, 而成脂通路收到了抑制。赵丹等^[21]研究还发现, 高浓度的淫羊藿苷对成脂分化的抑制作用较大, 而低浓度的作用并不显著。综上所述可以发现, 淫羊藿苷能通过增强成骨细胞增殖分化, 从而较低脂肪细胞增殖, 但具体最优浓度仍有待学者们进一步研究。

2 淫羊藿苷对相关骨髓间充质干细胞相关因子的影响

2.1 淫羊藿苷对 Wnt 通路的影响

骨髓间充质干细胞作为成骨细胞的唯一来源, 在骨的生成过程中扮演着重要的角色, 现已发现多条信号通路可调控其成骨分化能力, 其中包括 Wnt/ β -catenin 信号通路、MAPK 信号通路、Smad 信号通路等^[22]。Wnt/ β -catenin 信号通路由于其在骨生成及吸收过程中发挥着关键的作用, 受到广大研究人员的青睐^[23]。

Wnt1 首先在 1982 年老鼠乳房肿瘤中被发现^[24], 其编码的是一种分泌旺盛的含氨蛋白。此后, 研究人员将小鼠 Wnt1 信使 RNA 注入早期的青蛙胚胎中, 发现其可导致不同脊椎动物体内体轴的重复, 从而为脊椎动物 Wnt 通路的研究提供了一种新方法^[25]。Wnt 蛋白家族高度保守, 目前已知可翻译转录成 Wnt 蛋白的人类基因共有 19 种, 在形成 Wnt 蛋白后, 根据其在胞膜外的作用将其分为两大类: 一类在细胞膜上通过与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 供受体家族成员—细胞膜上供受体 (lipoprotein receptor-related protein5/6, LRP5/6) 以及 F-跨膜卷曲蛋白受体 (frizzled, FzD) 结合, 促进糖原合成激酶 -3 β (glycogen synthesis kinase3 β , GSK-3 β) 磷酸化, 抑制 β -catenin 退化, 进而激活 Wnt/ β -catenin 通路, 使 β -catenin 蛋白因子大量聚集并移向核内, 与核内转录因子结合, 激活成骨细胞核内下游靶基因 cyclin D1 与 c-myc 使细胞增值加速, 这类蛋白通路也叫经典 Wnt 信号通路, 其中包括 Wnt1、Wnt2、Wnt3、Wnt3a、Wnt8、Wnt8b 和 Wnt10 等; 另一类蛋白通路叫非经典通路, 其通过与膜受体卷曲蛋白 (frizzled, Fz) 结合, 激活异三聚体 G 蛋白, 通过蛋白激酶 C 依赖机制增加细胞内钙离子来调节间充质干细胞分化^[26]。

β -catenin 是一种细胞因子, 其不断积累能够上调 Wnt 通路的蛋白表达, 增强骨化结节活性, 提别的对于 ALP, 进而加速骨细胞分化^[25]。随着对淫羊藿苷的深入研究, 发现其能够使 Wnt 通路中 β -catenin 的表达上调, 激活下游靶基因 cyclin D1 与 c-myc 等, 促进成骨细胞的分化^[27]。王冉^[28]在体外细胞培养中分别将空白组、含 1 μ g/mL 淫羊藿苷组、Wnt 通路抑制组 (即含 0.1 μ g/mL DKK1 组) 以及 1 μ g/mL 淫羊藿苷联合 0.1 μ g/mL DKK1 组进行对比研究, 通过 RT-PCR 检测 Wnt 通路标志基因发现, 与空白组比较, 1 μ g/mL 淫羊藿苷组中 β -catenin、ALP 以及 cyc-

lin D1 等细胞因子的表达显著上调;在此之前已有实验证明 DKK1 作为 Wnt 通路的抑制剂能够通过与受体 LRP 结合抑制信号传导,从而影响成骨细胞分化^[29],将王冉实验中含 1 $\mu\text{g/mL}$ 淫羊藿苷组与 DKK1 联合组比较发现,联合组中相关细胞因子明显降低。因此说明,淫羊藿苷参与 Wnt/ β -catenin 信号通路对成骨细胞增值分化的调控,且 1 $\mu\text{g/mL}$ 淫羊藿苷可显著上调 Wnt 通路中关键因子,促进成骨细胞增值分化。

2.2 淫羊藿苷对 Runx2 的影响

Runx2 是一种在骨分化早期表达的关键转录因子^[30],其能够激活骨髓间充质干细胞分化,促进成骨细胞向成熟成骨细胞转变,并提高分化过程中骨钙素、I 型胶原、骨桥蛋白与胶原酶 3 的基因表达^[31]。但有研究表明,超表达的 Runx2 会抑制成骨细胞的形成,因此其在骨组织成熟时它的表达将会下调,进而促进骨组织成熟^[32]。

有学者在成骨分化的多条启动子序列中均发现了 Runx2 的结合位点,认为 Runx2 是整合各种信号的交汇点^[33],其中也包括 Wnt/ β -catenin 信号通路,淫羊藿苷可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路下游的骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 信号途径激活 Runx2,从而使 β -catenin 在细胞内聚集并转入核内,促进成骨分化^[34]。鲍远等^[35] 用淫羊藿苷干预骨髓间充质干细胞,通过 RT-PCR 检测可发现淫羊藿苷能上调 Runx2 的表达,且随时间延长表达量增多。傅淑平等^[36] 研究证明,淫羊藿苷能有效上调 Runx2 的表达,但起效时间晚于化学诱导剂。大量实验已经证明,淫羊藿苷能上调 Runx2 的表达,促进成骨细胞增值分化能力,但其这种效果却并不与浓度的增高成正比,高浓度的淫羊藿苷甚至对成骨具有一定的毒性^[37]。

2.3 淫羊藿苷对 Notch 通路的影响

除了经典 Wnt 通路,Notch 通路也对骨的代谢发挥着重要作用,它参与骨钙素、RANK 及 RANKL 的调控,维持骨组织的稳定^[38]。经典 Wnt 通路中,成骨细胞能够通过分泌 RANKL 增强破骨细胞的活性,进而导致骨分解加速^[13]。而 Notch 通路中的 Notch1 却能抑制 RANKL 的分泌,提升细胞中矿物质沉积,直接降低破骨细胞的增殖速度^[39-41]。孙杰等^[42] 通过对骨质疏松及骨折模型大鼠使用淫羊藿提取物,发现淫羊藿提取物能有效提高大鼠体内 ALP 含量,加速骨折及骨质疏松的愈合。与此同时,在骨质疏松大鼠中淫羊藿增加了骨钙素、Notch1 及 RANKL 的表达,抑制了

破骨细胞活性。也有研究人员对骨质疏松大鼠使用淫羊藿苷治疗后认为,淫羊藿苷能提高 Notch 蛋白及骨钙素,这可能与相关因子竞争性结合 RANK 有关^[43]。

随着研究的不断深入,除了经典 Wnt 通路、Notch 通路、Smad 通路、Mapk 通路等,部分学者通过网络药理学等方法使更多的与淫羊藿相关的成骨通路被人们发现并加入研究,但是,其具体机制仍只围绕在成骨细胞、破骨细胞及成脂方向,是否能发现一条更高效的信号通路成为现在需要解决的问题。

3 不同条件下淫羊藿苷的应用效果

3.1 不同重力环境下淫羊藿苷成骨作用

除了人体自身因素,外部环境也对细胞的生长有着不可忽视的作用,正如不同重力条件下对成骨细胞的分化也不尽相同。在微重力模型下,间充质干细胞的黏附面积降低,形状也变为更接近圆形,这将导致干细胞向脂肪细胞分化,进而减少成骨分化^[44]。杜静静等^[45] 研究发现,在模拟微重力的环境中,骨髓间充质干细胞的微丝排列紊乱,黏附性降低,通过进一步研究证实,这与 mTOR 通路在微重力下的下调以及调节蛋白 RhoA 蛋白的降低有关。

虽然在微重力环境中骨髓间充质干细胞的成骨分化增殖能力不太乐观,但在多倍重力的环境下,成骨细胞的分化效率却可以见到明显的改善。宋立成等^[46] 将成骨细胞分为对照组、10 g 重力组、40 g 重力组进行体外培养,并将这 3 组细胞再细分为加载组及淫羊藿苷组,研究发现在一定的多倍重力环境中,成骨细胞的生长能力获得提升,但是这并不是线性的,当重力增大到 40 g 时,成骨细胞细胞的生长将会受到抑制。但是,淫羊藿苷的加入对加载后受到抑制的细胞有着一定的修复作用,当具体机制及最优重力条件并未进行深入探讨。

尽管不同重力条件下淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞及成骨细胞生长分化的影响研究机制并没有得到诠释,但是这对拓展淫羊藿苷的应用提供了新的思路。

3.2 高糖环境下淫羊藿苷的应用

随着我国社会人口逐渐老龄化,糖尿病对健康人群的危害也渐渐凸显出来。糖尿病患者由于胰岛素代谢紊乱导致血糖含量的升高,这将使骨的代谢发生异常,同时也给患有糖尿病合并骨折的患者带来更高的风险^[47]。那么,在高糖环境下如何更有效的改善骨折患者预后成为了当前急需解决的问题。淫羊藿苷已被证实能够诱导骨髓间充质干细胞的成骨分化,同时也能促进骨细胞的增殖^[3]。基于此点,陈花英等^[47] 将大鼠细胞分为 4 组,分别进行了高糖、低糖组及淫羊藿苷

复合组的比较,研究发现在高糖的环境中,骨髓间充质干细胞的成骨分化受到了抑制,细胞凋亡率也大幅提升,这证实了高糖对成骨细胞负面效应。同时,还发现,淫羊藿苷在高糖状态下对促进骨髓间充质干细胞分化及成骨细胞生长有着积极作用,细胞内骨钙素、骨桥蛋白、I 型胶原蛋白均明显提升,这可能与淫羊藿苷抑制细胞凋亡的相关机制有关。除了直接干预骨髓间充质干细胞与成骨细胞,淫羊藿苷还能够通过调节腺嘌呤核糖核苷酸依赖的蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]磷酸化的影响,改善细胞胰岛素抵抗情况,间接降低血糖并促进成骨细胞生长^[48]。

3.3 淫羊藿苷联合载药系统促进成骨分化

近年来,组织工程及细胞科学的发展为一些难治性骨科疾病的治疗带来了新的方向^[49]。骨缺损一直是骨科常见的并发症,它的发病原因主要是由于各种因素导致的成骨细胞分化能力下降,从而影响骨的愈合。传统的治疗方式有骨移植、Ilizarow 技术等,随着组织工程的发展,3D 打印结合药物技术逐渐走入了人们的视野,淫羊藿苷是已被证实具有一定的促骨生长能力的物质,研究人员将其与 3D 打印支架结合用于治疗骨缺损收到了良好的疗效^[50]。通过与聚磷酸钙支架结合,石永新等^[50]发现,聚磷酸钙/淫羊藿苷复合骨支架能够促进缺损处骨的愈合,同时提高该处神经因子的表达。当前,对于生物支架材料的使用也逐渐增多,除了聚磷酸钙,还出现了海藻酸钠、聚乳酸/纳米羟基磷灰石、明胶海藻酸钠凝胶等^[51,52],研究人员能通过不同熔断工艺,将其与淫羊藿苷结合,致力于发现最适合成骨细胞分化及生物活性最优的支架材料,为骨缺损等并发症的治疗开辟了新方向。

4 淫羊藿苷应用安全性

尽管部分研究认为,淫羊藿苷没有明显的长期毒性,在人体最大口服剂量的 1 440 倍时才达到小鼠的最大耐受剂量,但人们通过更加深入的研究也认识到,由于品种的不同它也具有一定的潜在药物毒性^[53,54]。张林等^[55]通过对 SD 大鼠采用均匀设计方法,结合多元回归分析发现,与箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿相比,朝鲜淫羊藿与巫山淫羊藿因为提取工艺、给药剂量及用药疗程的原因表现出更明显的潜在肝毒性。除了肝毒性,淫羊藿苷对心血管系统、神经系统也会造成一定的影响,这与谷氨酸代谢、组氨酸代谢通路等密切相关^[56]。与此同时,研究还发现淫羊藿苷还存在一定的长期毒性、遗传毒性及特殊毒性,但是均可通过特殊炮制及配伍等方式对毒性进行降低^[57]。因此,深入展开

淫羊藿的毒性研究,提高人们用药的安全意识,同时熟练掌握淫羊藿种类及配伍将是未来的主要趋势。

5 总结与展望

淫羊藿作为重要的补肾中药之一,它的主要成分淫羊藿苷不但能够通过促进间充质干细胞向成骨细胞分化,同时,它也能直接促进成骨细胞分裂,进而促进骨量的增加。这主要与淫羊藿苷能够通过上调成骨通路、抑制破骨细胞生长有关。在对于股骨头坏死等疾病中,它还可抑制成脂,改善股骨头血供环境。随着研究的深入还发现,在不同的条件下,淫羊藿苷依旧保持着促进成骨作用,具有稳定的性质,同时,他也能与组织工程新材料结合,为骨缺损等难治疾病带来新的希望^[51]。尽管淫羊藿需要达到较高的浓度才对人体有明显的毒副作用,但是仍不可忽视其长期毒性、遗传毒性及特殊毒性等安全问题。在今后的研究中,如何控制淫羊藿苷的使用浓度,如何将药物通过靶向技术精准控制于目标位置将是主要的方向。

参 考 文 献

- [1] Li C, Li Q, Mei Q, et al. Pharmacology effects and pharmacokinetics properties of icariin, the major bioactive component in herba epimedii [J]. Life Sci, 2015, 126: 57-68.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 328.
- [3] 万亚宁, 李双蕾, 蒋云霞, 等. 淫羊藿及其复方制剂治疗糖皮质激素性骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(5): 713-716.
- [4] Hsieh TP, Sheu SY, Sun JS, et al. Icariin isolated from epimedium pubescens regulates osteoblasts anabolism through BMP-2, SMAD4, and Cbfa1 expression[J]. Phytomedicine, 2010, 17(6): 414-423.
- [5] Nguyen H, Jing JQ, Bhatnagar RS, et al. Enhanced cell attachment and osteoblastic activity by P-15 peptide-coated matrix in hydrogels [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 311(1): 179-186.
- [6] Alborzi A, Mac K, Glackin CA, et al. Endochondral and intramembranous fetal bone development: osteoblastic cell proliferation, and expression of alkaline phosphatase, m-twist, and histone H4 [J]. J Craniofac Genet Dev Biol, 1996, 16(2): 94-106.
- [7] 李霞, 徐文滢, 简洪, 等. 成纤维细胞生长因子 1 型受体-显性负性作用对骨髓基质干细胞成骨诱导培养后碱性磷酸酶活性的影响[J]. 中华创伤骨科杂志, 2016, 18(6): 526-531.

- [8] Cosman F, Shen V, Morgan D, et al. Biochemical responses of bone metabolism to 1, 25-dihydroxyvitamin D administration in black and white women[J]. *Osteoporos Int*, 2000, 11(3): 271-277.
- [9] 张萌萌. 中国老年学学会骨质疏松委员会骨代谢生化指标临床应用专家共识[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(11): 1263-1272.
- [10] 谢利娜, 刘艳辉, 景向东. 淫羊藿苷促进体外培养成骨细胞增殖动态观察[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(7): 54-57.
- [11] 吴曦, 彭锐. 不同浓度淫羊藿苷对人骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(5): 669-674.
- [12] 许静, 张晶晶, 郭非非, 等. 淫羊藿黄酮类主要成分促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞增殖分化作用及机制的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(14): 113-120.
- [13] Takegami N, Akeda K, Yamada J, et al. RANK/RANKL/OPG system in the intervertebral disc[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 121.
- [14] Heider U, Hofbauer LC, Zavrski I, et al. Novel aspects of osteoclast activation and osteoblast inhibition in myeloma bone disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(2): 687-693.
- [15] 马小妮, 葛宝丰, 陈克明, 等. 淫羊藿苷调节成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收的机制[J]. *中国医学科学院学报*, 2013, 35(4): 432-438.
- [16] 沈蓝, 韩雨杉, 赵宏斌, 等. 中药治疗骨质疏松性骨折中 Wnt/ β -catenin 通路的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(7): 2434-2436.
- [17] 陈跃平, 高辉, 陈亮, 等. 乙醇对股骨头髓内脂肪细胞的作用[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(35): 6221-6227.
- [18] Pederson L, Ming R, Westendorf JJ, et al. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(52): 20764.
- [19] Zhang S, Feng P, Mo G, et al. Icariin influences adipogenic differentiation of stem cells affected by osteoblast-osteoclast co-culture and clinical research adipogenic[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 436-442.
- [20] 罗远, 於丽明, 孔雅华, 等. 淫羊藿苷对小鼠骨髓腔中成骨和成脂分化作用的研究[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2018, 28(4): 198-203.
- [21] 赵丹, 王艳艳, 梁雄杰, 等. 淫羊藿苷对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖及分化的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(22): 11-13, 17.
- [22] Heo SY, Ko SC, Nam SY, et al. Fish bone peptide promotes osteogenic differentiation of MC3T3-E1 pre-osteoblasts through upregulation of MAPKs and Smad pathways activated BMP-2 receptor[J]. *Cell Biochem Funct*, 2018, 36(3): 137-146.
- [23] Yang H, Zhang X, Du K, et al. Inhibition of β -catenin signaling in chondrocytes induces delayed fracture healing in mice[J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(4): 304-310.
- [24] Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome[J]. *Cell*, 1982, 31(1): 99-109.
- [25] McMahon AP, Moon RT. Ectopic expression of the proto-oncogene int-1 in *Xenopus* embryos leads to duplication of the embryonic axis[J]. *Cell*, 1989, 58(6): 1075.
- [26] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999.
- [27] 周先进, 张延芳. 淫羊藿苷对成骨细胞中 β -catenin、ALP 和 RUNX2 表达的影响[J]. *中国医药导报*, 2017, 14(36): 57-59.
- [28] 王冉. Wnt/ β -catenin 在淫羊藿苷促成骨细胞增殖分化中的作用[D]. 北京: 首都医科大学, 2014.
- [29] Wo D, Peng JH, Ren DN, et al. Opposing roles of Wnt inhibitors IGFBP-4 and Dkk1 in cardiac ischemia by differential targeting of LRP5/6 and β -catenin[J]. *Circulation*, 2016, 134(24): 1991-2007.
- [30] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation[J]. *Cell*, 1997, 89(5): 747-754.
- [31] Gersbach CA, Byers BA, Pavlath GK, et al. Runx2/Cbfa1 stimulates transdifferentiation of primary skeletal myoblasts into a mineralizing osteoblastic phenotype[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 300(2): 406-417.
- [32] Komori T. Regulation of bone development and extracellular matrix protein genes by RUNX2[J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 339(1): 189-195.
- [33] Otto F, Lübbert M, Stock M. Upstream and downstream targets of RUNX proteins. [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 89(1): 9-18.
- [34] Zhao J, Ohba S, Shinkai M, et al. Icariin induces osteogenic differentiation *in vitro* in a BMP- and Runx2-dependent manner[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369(2): 444-448.
- [35] 鲍远, 黄俊明, 靖兴志, 等. 淫羊藿苷促进骨髓间充质

- 干细胞成骨分化[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(24): 3501-3507.
- [36] 傅淑平, 杨丽, 洪浩, 等. 淫羊藿苷促 SD 大鼠骨髓间充质干细胞骨向分化作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(7): 839-846.
- [37] 李玲慧, 丁道芳, 杜国庆, 等. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞增殖及碱性磷酸酶、Runx2 蛋白表达的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(21): 2195-2199.
- [38] Liu H, Xiong Y, Zhu X, et al. Icariin improves osteoporosis, inhibits the expression of PPAR γ , C/EBP α , FABP4 mRNA, N1ICD and jagged1 proteins, and increases Notch2 mRNA in ovariectomized rats[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(4): 1360-1368.
- [39] Muguruma Y, Hozumi K, Warita H, et al. Maintenance of bone homeostasis by DLL1-mediated notch signaling[J]. J Cell Physiol, 2016, 232(9): 2569-2580.
- [40] Luo J, Yang Z, Ma Y, et al. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption[J]. Nature Medicine, 2016, 22(5): 539-546.
- [41] Xu S, Zhang Y, Liu B, et al. Activation of mTORC1 in B lymphocytes promotes osteoclast formation via regulation of β -catenin and RANKL/OPG[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(7): 1320-1333.
- [42] 孙杰, 宋鑫, 王健. 淫羊藿提取物对骨质疏松骨折大鼠愈合过程 Notch 信号通路的影响[J]. 中国中医急症, 2019, 28(4): 53-56.
- [43] 李永贤, 袁凯, 罗培杰, 等. 淫羊藿苷对老龄大鼠去势后骨质疏松骨折的治疗作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(8): 3574-3579.
- [44] Rowena MB, Dana MP, Celeste MC, et al. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment[J]. Dev Cell, 2004, 6(4): 483-495.
- [45] 杜静静, 谭信. 模拟微重力下骨髓间充质干细胞成骨分化潜能及分子机理研究[J]. 生命科学仪器, 2018, 16(1): 38-42, 47.
- [46] 宋立成, 张华峰, 程威等. 淫羊藿苷对高重力环境下成骨细胞黏附和细胞骨架的影响[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(6): 362-371.
- [47] 陈花英, 周娟, 吴焕成, 等. 淫羊藿苷对高糖环境下骨髓间充质干细胞凋亡及成骨分化的影响[J]. 兰州大学学报: 医学版, 2019, 45(4): 37-42.
- [48] 付学东, 刘巍, 何秉燕, 等. 淫羊藿苷减轻高糖诱导的 C2C12 肌管细胞胰岛素抵抗[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(5): 134-139.
- [49] Holzapfel BM, Rudert M, Hutmacher DW. Scaffold-based bone tissue engineering[J]. Orthopade, 2017, 46(8): 701-710.
- [50] 石永新, 逢增金, 羊明智, 等. 3D 打印技术制备聚磷酸钙/淫羊藿苷骨支架诱导骨髓间充质干细胞成骨分化治疗骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(21): 3309-3315.
- [51] 管明强, 朱志霞, 周观明. 淫羊藿苷对聚乳酸/纳米羟基磷灰石支架上成骨细胞增殖与分化的影响[J]. 包头医学院学报, 2018, 34(1): 92-94.
- [52] 于海悦, 麻丹丹, 吴补领. 3D 打印明胶海藻酸钠凝胶支架对人牙髓细胞的黏附增殖作用[J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(5): 668-672.
- [53] Tan Y, Li J, Liu X, et al. Deciphering the differential toxic responses of Radix aconiti lateralis praeparata in healthy and hydrocortisone-pretreated rats based on serum metabolic profiles[J]. J Proteome Res, 2013, 12(1): 513-524.
- [54] 宋捷, 钟荣玲, 夏智, 等. 中药肝毒性研究方法技术的新进展及其应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 41-48.
- [55] 张林, 张晶璇, 范琼尹, 等. 均匀设计结合多元回归分析用于淫羊藿对大鼠肝毒性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 189-197.
- [56] 杨晓旭, 郭艳霞, 王宇, 等. 基于代谢组学方法研究淫羊藿 95% 乙醇洗脱部位对大鼠尿液潜在生物标志物的干预作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(8): 40-47.
- [57] 王丹, 贾德贤, 李真真, 等. 淫羊藿的安全性评价与风险控制措施探讨[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1715-1723.
- (收稿: 2020-06-01 在线: 2020-08-06)
责任编辑: 汤 静