

## • 实验研究 •

## 山奈酚调节信号通路促进大鼠血管生成和骨折愈合

韦志坤<sup>1</sup> 杨芳<sup>2</sup> 邵菲<sup>1</sup> 杨金杰<sup>1</sup> 王旭东<sup>1</sup> 李树彬<sup>1</sup> 刘志翔<sup>1</sup> 刘杰<sup>1</sup> 任少海<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探究山奈酚通过调节 Notch 信号通路促进大鼠骨折愈合和血管生成。方法:随机选择 18 只大鼠作为假手术组,其余大鼠构建骨折大鼠模型,将造模成功的骨折大鼠随机平分为模型组、山奈酚组(腹腔注射 100 mg/(kg·d)山奈酚)、抑制剂组(腹腔注射 5 mg/(kg·d) Notch 信号通路抑制剂 DAPT)、山奈酚+抑制剂组(腹腔注射 100 mg/(kg·d)山奈酚和 5 mg/(kg·d) DAPT),连续治疗 8 周,每组均 18 只。微型计算机断层扫描分析骨折愈合情况;ELISA 法检测骨代谢指标;免疫荧光染色检测 CD31 表达;Western Blot 法检测骨形成标志物(BMP2、SOX9)、血管生成标志物(VEGF 和 MMP9)以及 Notch 信号通路蛋白表达。结果:X 射线图像表明,模型组骨折部位的桥连接较弱。显微 CT 重建图像进一步说明,模型组缝隙相对较宽,愈合组织较小。模型组较假手术组骨体积/组织体积(BV/TV)、愈合组织面积、BALP、BGP 含量、CD31 阳性表达率、VEGF、MMP9、Notch1、HES1、HEY1 蛋白水平均显著下降,CTX-I 含量显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );山奈酚组较模型组骨折部位的桥连接改善,缝隙相对变窄,BV/TV、愈合组织面积、BALP、BGP、CD31 阳性表达率、VEGF、MMP9、Notch1、HES1、HEY1 蛋白水平显著升高,CTX-I 含量显著下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而抑制剂组与山奈酚组以上指标结果相反;DAPT 恢复了山奈酚对骨折大鼠血管生成和骨折愈合的影响。结论:山奈酚可促进骨折大鼠血管生成和骨折愈合,其机制与 Notch 信号通路的激活相关。

**[关键词]** 山奈酚;信号通路;骨折愈合;血管生成;骨形成

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)03-0018-06

**DOI:** 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250304

## Kaempferol Promotes Angiogenesis and Fracture Healing in Rats by Regulating Notch Signal Pathway

WEI Zhikun<sup>1</sup> YANG Fang<sup>2</sup> SHAO Fei<sup>1</sup> YANG Jinjie<sup>1</sup> WANG Xudong<sup>1</sup>  
LI Shubin<sup>1</sup> LIU Zhixiang<sup>1</sup> LIU Jie<sup>1</sup> REN Shaohai<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Handan First Hospital, Handan 056000, Hebei China;

<sup>2</sup> Handan Central Hospital, Handan 056000, Hebei China.

**Abstract Objective:** To explore the effects of kaempferol on fracture healing and angiogenesis in rats by regulating Notch signal pathway. **Methods:** Eighteen rats were randomly selected and recorded as sham operation group, and the rest rats were used to construct fracture rat model. The fracture rats that were successfully modeled were randomly divided into model group, kaempferol group (intraperitoneal injection of 100 mg/(kg·d) kaempferol), inhibitor group (intraperitoneal injection of 5 mg/(kg·d) Notch signal pathway inhibitor DAPT), and kaempferol+inhibitor group (intraperitoneal injection of 100 mg/(kg·d) kaempferol and 5 mg/(kg·d) DAPT) for 8 consecutive weeks, 18 rats in each group. The fracture healing was analyzed by computerized tomography; bone metabolism was detected by ELISA; the expression of CD31 was detected by immunofluorescence staining; and Western Blot was applied to detect the expression of bone formation markers (BMP2, SOX9), angiogenesis markers (VEGF and MMP9) and Notch signal pathway proteins. **Results:** X-ray images showed that the bridge connection of fracture site in model group was weak. The micro CT reconstruction images fur-

ther showed that the gap in model group was relatively wide and the callus was smaller. Compared with Sham operation group, the bone volume/tissue volume (BV/TV), callus area, BALP, BGP contents, CD31 positive expression rate,

基金项目:河北省科学技术成果(20200628)

<sup>1</sup> 邯郸市第一医院(河北 邯郸,056000)

<sup>2</sup> 邯郸市中心医院

VEGF, MMP9, Notch1, HES1, and HEY1 protein levels in model group decreased obviously, the CTX-I content increased obviously ( $P < 0.05$ ); compared with model group, the bridge connection of fracture site in kaempferol group was improved, and the gap was relatively narrow, the BV/TV, callus area, BALP, BGP, CD31 positive expression rate, VEGF, MMP9, Notch1, HES1, HEY1 protein levels increased obviously, the CTX-I content decreased obviously ( $P < 0.05$ ), the results of the above indexes in DAPT group and kaempferol group were opposite; DAPT restored the effects of kaempferol on angiogenesis and fracture healing in fracture rats. **Conclusion:** kaempferol can promote angiogenesis and fracture healing and angiogenesis in fracture rats, and its mechanism is related to the activation of Notch signal pathway.

**Keywords:** kaempferol; Notch signal pathway; fracture healing; angiogenesis; bone formation

骨折修复包括炎症、血管生成、干细胞分化、成骨和软骨形成,是一个再生的过程<sup>[1]</sup>。大约 5%~10% 的骨折患者会导致延迟愈合或不愈合<sup>[2]</sup>,这两种情况都需要反复治疗,严重影响患者生活质量。一些替代疗法可以促进骨折愈合,以防止延迟愈合或不愈合,例如中草药<sup>[3]</sup>。山奈酚是一种膳食生物类黄酮,常存在于用作传统药物的植物中,如银杏叶、辣木和蜂胶,具有广泛的药用特性。Wong 等<sup>[4]</sup>通过体内体外研究发现,山奈酚对骨骼表现出有益的作用,对预防和治疗骨质疏松症(OP)具有潜在的有效作用。Adhikary 等<sup>[5]</sup>也发现山奈酚通过促进成骨细胞存活来抑制糖皮质激素(GC)诱导的骨质流失,增强骨折部位的骨再生。众所周知,血管生成是骨折愈合的关键步骤,激活软骨生成和血管生成途径可以促进骨折愈合及骨质疏松症性骨折愈合<sup>[6-7]</sup>。Notch 可以通过激活下游基因 HEY1 和 HES1 的转录调节骨髓间充质干细胞中血管生成因子的分泌,促进血管生成,促进骨折愈合<sup>[8-9]</sup>。山奈酚通过促进 Notch 通路减轻心肌细胞缺氧复氧损伤及肝纤维化<sup>[10-11]</sup>。本研究探讨山奈酚是否可以通过调控 Notch 信号通路促进血管生成进而改善骨折愈合,现报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠,体重为  $(220 \pm 20)$  g, SPF 级,购自河北省实验动物中心(SCXK(冀)2022-001)。大鼠饲养在无菌笼中,自由饲喂食物和水。在  $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ , 40%~65% 湿度, 12 h 明暗循环条件下饲养。本研究实验方案经石药集团巨石生物制药有限公司动物伦理委员会批准。

### 1.2 主要试剂

山奈酚( $\geq 97.0\%$ )购自 MERCK 公司; Notch 信号通路抑制剂 DAPT(货号为 HY-13027)购自 MedChemExpress LLC; 骨碱性磷酸酶(BALP)ELISA 试剂盒(货号为 FY-A014591)、I 型胶原交联 C 末端肽(CTX-I)ELISA 试剂盒(货号为 FY-A014888)、骨钙素(BGP)ELISA 试剂盒(货号为 FY-A014702), 购自上海富雨生物公司; CD31、SOX9、BMP2、

MMP9、VEGF、HES1、Notch1、HEY1 抗体,购自英国 Abcam 公司。

### 1.3 模型制备及药物干预

参考文献[12]将大鼠麻醉后仰卧在操作台上,用剪刀将右侧大腿外侧纵行切开一切口,将皮肤及皮下组织逐层剥离,然后沿着肌肉间隙使肌肉分开,充分暴露右侧股骨干,随后将股骨干中段截断,用克氏针从断端插入向近端推进,之后从近端经过断端向远端推进至股骨髁间位置。最后剪断多余的克氏针,逐层缝合,皮肤消毒。随机选 18 只大鼠仅进行切口及缝合手术作为假手术组。将骨折大鼠随机分为模型组、山奈酚组(腹腔注射  $100 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  山奈酚)<sup>[13]</sup>、抑制剂组(腹腔注射  $5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  Notch 信号通路抑制剂 DAPT<sup>[14]</sup>)、山奈酚 + 抑制剂组(腹腔注射  $100 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  山奈酚和  $5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  DAPT),各 18 只,造模后连续治疗 8 周。假手术组和模型组腹腔注射等量生理盐水。

### 1.4 微型计算机断层扫描分析骨折愈合情况

在治疗结束后,随机取 6 只大鼠的股骨,用 Faxitron Bioptics X 射线系统拍摄大鼠股骨骨折部位。参考文献[15](阈值  $\sigma = 1.2$ , 支持度 = 2),高分辨率显微 CT 用于三维重建。新形成的愈伤组织的低矿物质密度和高矿物质密度由不同的阈值(低 110, 高 158)确定。记录骨体积/组织体积(BV/TV)及愈伤组织面积。

### 1.5 ELISA 法测定骨代谢指标

末次给药 24 h 后,取腹主动脉血 3 mL,离心取上清,用 ELISA 试剂盒测定血清 BGP、BALP、CTX-I 含量。

### 1.6 免疫荧光染色测定 CD31 表达

随机选择 6 只大鼠,分离股骨组织,将骨折区用 4% 多聚甲醛固定 24 h,在 10% EDTA 中处理 21 d 以脱钙,然后制成纵向骨石蜡切片,厚  $5 \mu\text{m}$ 。切片脱蜡至水,与 CD31 一抗  $4^{\circ}\text{C}$  过夜孵育。PBS 洗涤,与 HRP 标记的二抗  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h,并用 DAPI 对核染色。封片后在显微镜下观察染色情况并用 Image J 软件分析 CD31 阳性表达率。

1.7 Western Blot 法检测骨形成标志物 (BMP2、SOX9)、血管生成标志物 (VEGF 和 MMP9) 及 Notch 信号通路蛋白表达

取每组剩余 6 只大鼠的股骨骨折区域组织,研磨后加入 RIPA 裂解液获取总蛋白,然后将可溶性蛋白质与 5×样品上样缓冲液混合并煮沸,蛋白样品经 SDS-PAGE 分离,并在 4℃下转至 PVDF 膜,在 5%脱脂牛奶中封闭膜,加入一抗 BMP2(1:2 000)、SOX9(1:1 000)、VEGF(1:1 000)、MMP9(1:2 000)、Notch1(1:2 000)、HEY1(1:2 000)、HES1(1:2 000)和 GAPDH(1:1 000)一抗,4℃过夜,加入二抗,室温下孵育 2 h,加 ECL 显色,用凝胶成像系统拍照,Image J 软件定量分析蛋白灰度值。

1.8 统计学方法

统计分析采用 SPSS 25.00 软件,符合正态分布和方差齐的数据以  $\bar{x}\pm s$  形式表示,多组间差异比较采用单因素方差分析和 SNK-*q* 检验, $P<0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 X 射线图像及显微 CT 分析

X 射线图像表明,模型组骨折部位的桥连接较弱,而山奈酚治疗可以改善连接,抑制剂组连接减弱。显微 CT 重建图像进一步说明,模型组缝隙相对较宽,愈伤组织较小,山奈酚组与模型组相比,缝隙相对变窄,愈伤组织变大,而抑制剂组趋势相反;山奈酚+抑制剂组较山奈酚组缝隙相对较宽,见图 1 和图 2。

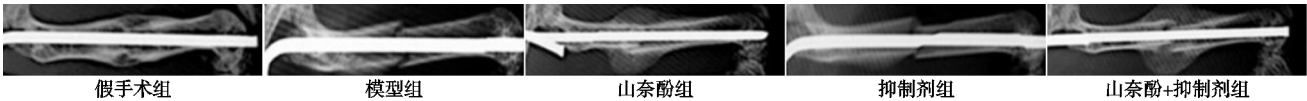


图 1 各组大鼠骨折股骨 X 线图

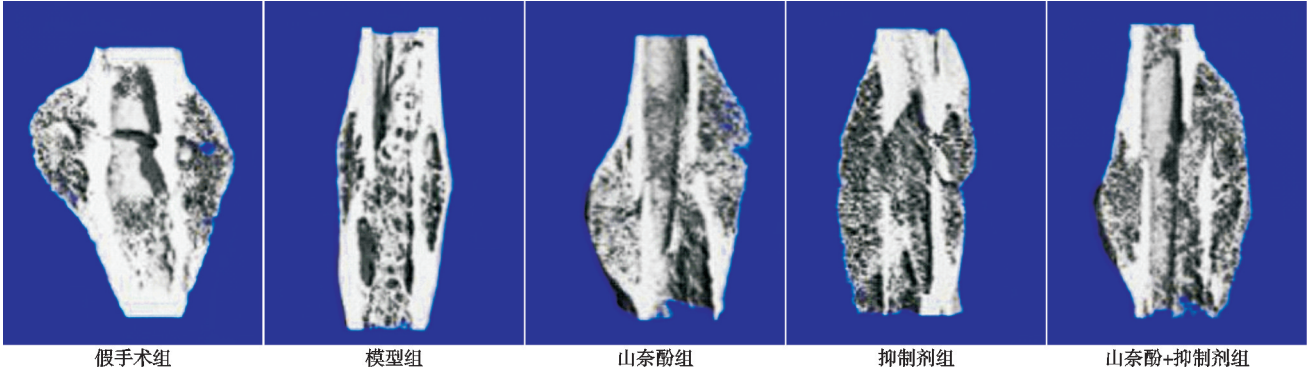


图 2 各组大鼠新形成的愈伤组织三维重建图像

模型组较假手术组 BV/TV、愈伤组织面积均显著下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚组较模型组 BV/TV、愈伤组织面积均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而抑制剂组较模型组 BV/TV、愈伤组织面积均显著下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚+抑制剂组较山奈酚组 BV/TV、愈伤组织面积均显著下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

2.2 各组大鼠骨代谢指标比较

各组大鼠骨代谢指标比较见表 2,模型组与假手术组比较,BALP 及 BGP 含量下降,CTX-I 含量升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚组与模型组比较,BALP及BGP含量升高,CTX-I 含量降低,差异

表 1 各组大鼠 BV/TV 及愈伤组织面积比较( $n=6,\bar{x}\pm s$ )

组别	(BV/TV)/%	愈伤组织面积/mm <sup>2</sup>
假手术组	0.28±0.04	2.49±0.28
模型组	0.14±0.02 <sup>1)</sup>	1.35±0.14 <sup>1)</sup>
山奈酚组	0.21±0.03 <sup>2)</sup>	2.34±0.26 <sup>2)</sup>
抑制剂组	0.08±0.01 <sup>2)</sup>	0.73±0.05 <sup>2)</sup>
山奈酚+抑制剂组	0.16±0.03 <sup>3)</sup>	1.46±0.14 <sup>3)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$ ;2)与模型组比较, $P<0.05$ ;3)与山奈酚组比较, $P<0.05$ 。

有统计学意义( $P<0.05$ ),抑制剂组与之相反,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚+抑制剂组与山奈酚组比较,BALP 及 BGP 含量下降,CTX-I 含量升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表 2 山奈酚对血清骨代谢指标的影响( $n=18,\bar{x}\pm s,\text{ng/mL}$ )

组别	BALP	BGP	CTX-I
假手术组	8.78±0.91	15.35±1.82	0.54±0.04
模型组	5.35±0.63 <sup>1)</sup>	9.58±0.97 <sup>1)</sup>	1.32±0.13 <sup>1)</sup>
山奈酚组	7.45±0.75 <sup>2)</sup>	14.57±1.57 <sup>2)</sup>	0.64±0.07 <sup>2)</sup>
抑制剂组	3.21±0.26 <sup>2)</sup>	6.46±0.64 <sup>2)</sup>	1.97±0.24 <sup>2)</sup>
山奈酚+抑制剂组	5.67±0.62 <sup>3)</sup>	10.21±1.13 <sup>3)</sup>	1.26±0.11 <sup>3)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$ ;2)与模型组比较, $P<0.05$ ;3)与山奈酚组比较, $P<0.05$ 。



2.3 各组大鼠 CD31 阳性表达率及 VEGF、MMP9 水平比较

模型组较假手术组 CD31 阳性表达率、VEGF、MMP9 蛋白表达下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚组与模型组比较,VEGF、MMP9 蛋白表达及

CD31 阳性表达率升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而抑制剂组与之相反,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚+抑制剂组 VEGF、MMP9 蛋白水平及 CD31 阳性表达率均低于山奈酚组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3、图 3 和图 4。

表 3 山奈酚对大鼠 CD31 阳性表达率及 VEGF、MMP9 蛋白水平的影响( $n=6,\bar{x}\pm s$ )

组别	CD31 阳性表达率/%	VEGF/GAPDH	MMP9/GAPDH
假手术组	6.23±0.64	2.16±0.23	1.57±0.18
模型组	4.14±0.42 <sup>1)</sup>	1.37±0.14 <sup>1)</sup>	1.08±0.12 <sup>1)</sup>
山奈酚组	6.07±0.63 <sup>2)</sup>	2.04±0.26 <sup>2)</sup>	1.44±0.16 <sup>2)</sup>
抑制剂组	2.48±0.26 <sup>2)</sup>	0.76±0.08 <sup>2)</sup>	0.61±0.07 <sup>2)</sup>
山奈酚+抑制剂组	4.57±0.43 <sup>3)</sup>	1.43±0.15 <sup>3)</sup>	1.17±0.12 <sup>3)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$ ;2)与模型组比较, $P<0.05$ ;3)与山奈酚组比较, $P<0.05$ 。

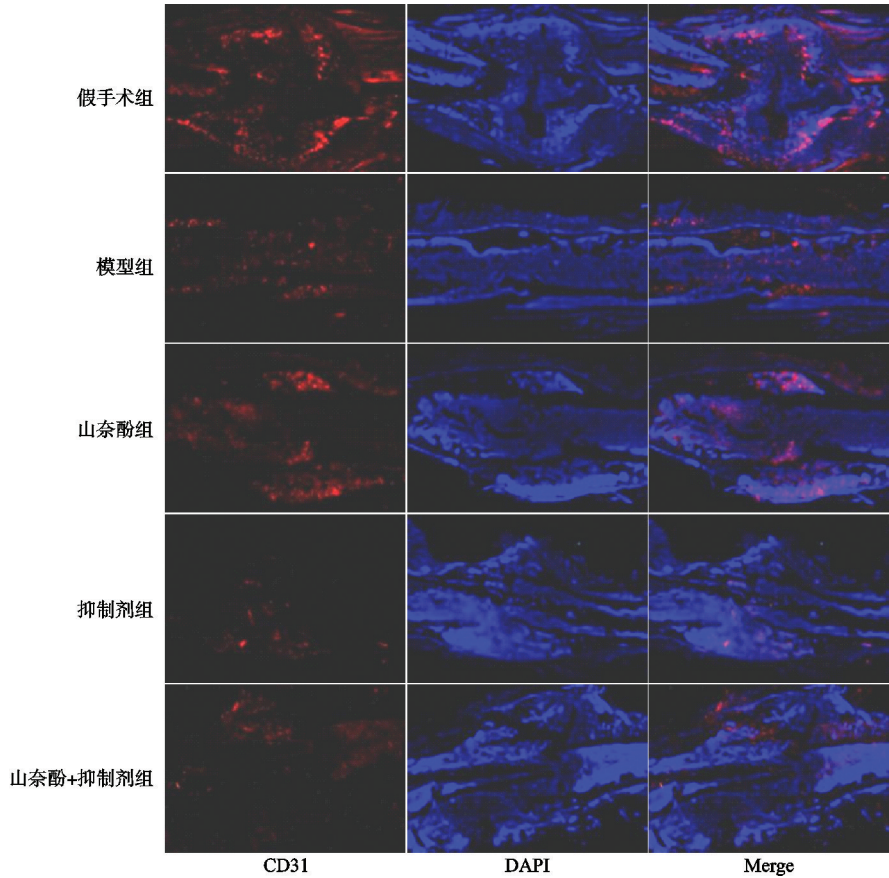
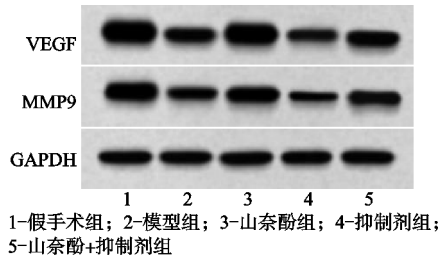


图 3 免疫荧光染色检测各组大鼠 CD31 表达



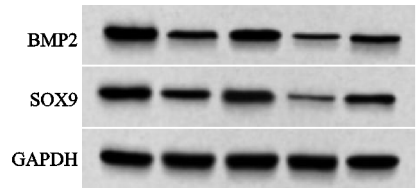
1-假手术组; 2-模型组; 3-山奈酚组; 4-抑制剂组; 5-山奈酚+抑制剂组

图 4 Western Blot 法检测股骨组织 VEGF 及 MMP9 蛋白表达

2.4 各组大鼠 BMP2 及 SOX9 蛋白水平比较

各组大鼠 BMP2 及 SOX9 蛋白水平比较见图 5 和表 4,模型组较假手术组 BMP2、SOX9 水平降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚组与模型组比较,

BMP2 及 SOX9 水平升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而抑制剂组下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚+抑制剂组 BMP2、SOX9 水平低于山奈酚组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。



1-假手术组; 2-模型组; 3-山奈酚组; 4-抑制剂组; 5-山奈酚+抑制剂组

图 5 各组大鼠股骨组织 SOX9 及 BMP2 蛋白条带图

表 4 山奈酚对股骨组织 BMP2 及 SOX9 蛋白水平的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	BMP2/GAPDH	SOX9/GAPDH
假手术组	0.95±0.05	0.89±0.10
模型组	0.44±0.04 <sup>1)</sup>	0.51±0.05 <sup>1)</sup>
山奈酚组	0.89±0.10 <sup>2)</sup>	0.81±0.09 <sup>2)</sup>
抑制剂组	0.26±0.02 <sup>2)</sup>	0.18±0.02 <sup>2)</sup>
山奈酚+抑制剂组	0.46±0.05 <sup>3)</sup>	0.58±0.06 <sup>3)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$ ;2)与模型组比较, $P<0.05$ ;3)与山奈酚组比较, $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠 Notch 通路蛋白比较

各组大鼠 Notch 通路蛋白比较见图 6 和表 5,模型组较假手术组 Notch1、HES1、HEY1 水平下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚组与模型组比

表 5 山奈酚对股骨组织 Notch1、HES1、HEY1 蛋白水平的影响( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	Notch1/GAPDH	HES1/GAPDH	HEY1/GAPDH
假手术组	1.69±0.19	1.22±0.14	1.47±0.15
模型组	0.91±0.10 <sup>1)</sup>	0.68±0.07 <sup>1)</sup>	0.86±0.09 <sup>1)</sup>
山奈酚组	1.52±0.13 <sup>2)</sup>	1.13±0.11 <sup>2)</sup>	1.37±0.13 <sup>2)</sup>
抑制剂组	0.60±0.06 <sup>2)</sup>	0.33±0.03 <sup>2)</sup>	0.39±0.04 <sup>2)</sup>
山奈酚+抑制剂组	0.97±0.09 <sup>3)</sup>	0.75±0.07 <sup>3)</sup>	0.90±0.09 <sup>3)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$ ;2)与模型组比较, $P<0.05$ ;3)与山奈酚组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

骨折部位充足的血液供应、新生血管形成和成骨对于新骨的形成和避免骨折不愈合至关重要<sup>[16]</sup>。山奈酚是一种在水果和蔬菜中发现的膳食类黄酮,据报道可以逆转卵巢切除大鼠的骨质减少状况<sup>[17]</sup>。研究发现山奈酚具有成骨活性,通过促进成骨细胞存活来减少骨质流失,进而促进骨折部位愈合<sup>[5]</sup>。因此本研究的目的是确定山奈酚是否对骨折大鼠骨折愈合起到改善作用。本研究参考文献[12]构建骨折大鼠模型,X 射线图像结果表明模型组骨折部位的桥连接较弱。显微 CT 重建图像进一步说明模型组缝隙相对较宽,愈伤组织较小,BV/TV 及愈伤组织面积显著下降。而山奈酚治疗骨折部位的桥连接改善,缝隙相对变窄,愈伤组织变大,BV/TV 及愈伤组织面积显著升高,提示山奈酚可以对骨折大鼠骨折愈合起到促进作用。

骨折愈合过程复杂,其中血管生成起着重要作用。新生成的血管为骨骼提供必要的营养物质、氧气和生长因子,并调节骨形成,对骨折愈合至关重要<sup>[18]</sup>。BGP、BALP、SOX9、BMP2 在骨形成方面意义重大,可促进骨形成;CTX-I 与骨吸收相关,文献报道促进骨形成和抑制骨吸收可改善骨密度,并逆转骨质疏松症,进而改善骨折<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示,模型组较假手术组 BALP、BGP、BMP2、SOX9 水平显著下降,CTX-I 含量显著升高,而山奈酚治疗后 BALP、BGP、BMP2、SOX9 水平显著升高,CTX-I 含量显著下降,

较,Notch1、HES1、HEY1 水平升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而抑制剂组下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );山奈酚+抑制剂组 Notch1、HES1、HEY1 水平低于山奈酚组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

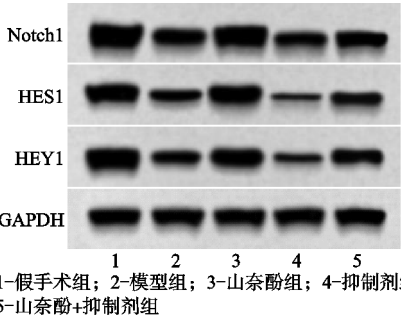


图 6 各组股骨组织 Notch1、HES1、HEY1 蛋白条带图

提示山奈酚可能通过促进骨形成抑制骨吸收、促进骨折愈合。CD31 由血小板内皮细胞黏附分子基因编码,是内皮细胞的特异性标志物,用于评估血管生成<sup>[21]</sup>。VEGF 及 MMP9 在血管生成中起到重要作用,上调 VEGF 及 MMP9 可以促进血管生成<sup>[22]</sup>。本研究发现模型组较假手术组 CD31 阳性表达率、VEGF、MMP9 蛋白水平显著下调,而山奈酚治疗后 CD31 阳性表达率、VEGF、MMP9 蛋白水平显著上调,表明山奈酚可促进血管形成,加速骨折愈合。以上发现可能拓宽山奈酚的潜在临床应用,并为治疗骨折提供新的治疗策略。

Notch 信号通路是促进血管生成、促进骨折修复的关键通路<sup>[23]</sup>。Notch 参与血管生成和成骨的耦合<sup>[24]</sup>,上调 Notch 可以激活其下游基因 HES1 和 HEY1 的转录进而促进血管生成,改善骨折愈合情况<sup>[8]</sup>。本研究显示模型组 Notch1、HES1、HEY1 蛋白表达下降,山奈酚处理则上调 Notch1、HES1、HEY1 蛋白表达,提示 Notch 信号通路可能介导山奈酚促进血管生成和骨折愈合过程。为证实这一推测,本研究用 Notch 信号通路抑制剂 DAPT 干预骨折大鼠,发现 DAPT 能够降低 Notch1、HES1、HEY1 蛋白水平,说明 DAPT 可抑制 Notch 信号通路;进一步用山奈酚和 DAPT 联合干预骨折大鼠,发现山奈酚促进血管生成和骨折愈合的作用被 DAPT 逆转。

综上所述,山奈酚可促进骨折大鼠血管生成和骨

折愈合,其机制与激活 Notch 信号通路相关。但山奈酚是否存在剂量相关性,以及是否有其他通路参与山奈酚促进骨折愈合过程,还需进一步探究。

### 参考文献

- [1] ZHANG L, JIAO G, REN S, et al. Exosomes from bone-marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):38-64.
- [2] HO-SHUI-LING A, BOLANDER J, RUSTOM L E, et al. Bone regeneration strategies:engineered scaffolds, bio-active molecules and stem cells current stage and future perspectives[J]. *Biomaterials*, 2018, 180:143-162.
- [3] DING L, GU S, ZHOU B, et al. Ginsenoside compound K enhances fracture healing via promoting osteogenesis and angiogenesis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:855393.
- [4] WONG S K, CHIN K Y, IMA-NIRWANA S. The osteo-protective effects of kaempferol:the evidence from in vivo and in vitro studies[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:3497-3514.
- [5] ADHIKARY S, CHOUDHARY D, AHMAD N, et al. Dietary flavonoid kaempferol inhibits glucocorticoid-induced bone loss by promoting osteoblast survival[J]. *Nutrition*, 2018, 53:64-76.
- [6] KAN T, HE Z, DU J, et al. Irisin promotes fracture healing by improving osteogenesis and angiogenesis[J]. *J Orthop Translat*, 2022, 37:37-45.
- [7] YANG Z, FENG L, WANG M, et al. Sesamin promotes osteoporotic fracture healing by activating chondrogenesis and angiogenesis pathways[J]. *Nutrients*, 2022, 14(10):2106-2112.
- [8] LI L, TANG P, ZHOU Z, et al. GIT1 regulates angiogenic factor secretion in bone marrow mesenchymal stem cells via NF- $\kappa$ B/Notch signalling to promote angiogenesis[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(6):e12689-e126105.
- [9] 唐晓旭, 张志乾, 李福琴, 等. ADAM10 在骨髓间充质干细胞成骨分化及胫骨骨折愈合中的作用及可能机制[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(10):23-31.
- [10] HUANG J, QI Z. MiR-21 mediates the protection of kaempferol against hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury via promoting Notch1/PTEN/AKT signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2020, 15(11):e0241007.
- [11] ZHOU G, LI C, ZHANG R, et al. Kaempferol inhibits hepatic stellate cell activation by regulating miR-26b-5p/Jag1 axis and Notch pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:881855.
- [12] 李汪洋, 熊辉. 桃红四物汤早期干预对大鼠骨折愈合中间充质干细胞归巢的影响[J]. *中国骨伤*, 2022, 35(4):367-374.
- [13] ZHAO J, WU J, XU B, et al. Kaempferol promotes bone formation in part via the mTOR signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(6):5197-5207.
- [14] 李静, 尉娜, 刘亚美, 等.  $\gamma$ -分泌酶抑制剂 DAPT 阻断 Notch 通路并纠正脑卒中后抑郁大鼠 Th17/Treg 失衡[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(3):393-399.
- [15] FENG L, ZHANG J F, SHI L, et al. MicroRNA-378 suppressed osteogenesis of MSCs and impaired bone formation via inactivating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 21:1017-1028.
- [16] KAMENAGA T, KURODA Y, NAGAI K, et al. Cryopreserved human adipose-derived stromal vascular fraction maintains fracture healing potential via angiogenesis and osteogenesis in an immunodeficient rat model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):110-123.
- [17] MARTINIAKOVA M, BABIKOVA M, MONDOCKOVA V, et al. The role of macronutrients, micronutrients and flavonoid polyphenols in the prevention and treatment of osteoporosis[J]. *Nutrients*, 2022, 14(3):523-552.
- [18] SANTINONI C S, NEVES APC, ALMEIDA B F M, et al. Bone marrow coagulated and low-level laser therapy accelerate bone healing by enhancing angiogenesis, cell proliferation, osteoblast differentiation, and mineralization[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2021, 109(6):849-858.
- [19] YANG L, YANG J, PAN T, et al. Liraglutide increases bone formation and inhibits bone resorption in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. *J Endocrinol Invest*, 2019, 42(9):1125-1131.
- [20] COMPSTON J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update[J]. *Endocrine*, 2018, 61(1):7-16.
- [21] MA L, ZHAO X, LIU Y, et al. Dihydroartemisinin attenuates osteoarthritis by inhibiting abnormal bone remodeling and angiogenesis in subchondral bone[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(3):04855.
- [22] DING Z, YU F, SUN Y, et al. ORM DL3 promotes angiogenesis in chronic asthma through the ERK1/2/VEGF/MMP9 pathway[J]. *Front Pediatr*, 2022, 9:708555.
- [23] CHEN P, ZHANG G, JIANG S, et al. Mechanosensitive Piezo1 in endothelial cells promotes angiogenesis to support bone fracture repair[J]. *Cell Calcium*, 2021, 97:102431.
- [24] PENG Y, WU S, LI Y, et al. Type H blood vessels in bone modeling and remodeling[J]. *Theranostics*, 2020, 10(1):426-436.

(收稿日期:2024-08-14)