

异槲皮苷对骨质疏松大鼠骨折愈合的影响

徐梅玲¹ 张育珠² 苏成龙²

[摘要] **目的:**探究异槲皮苷(IQ)调节 Wnt 家族成员 3a(Wnt3a)/低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(Lrp5)信号通路对骨质疏松症(OP)大鼠骨折愈合的影响。**方法:**采用双侧卵巢切除术及右侧股骨干骨折髓内固定诱导建立骨质疏松症大鼠骨折模型。将骨质疏松症模型建立成功的大鼠随机分为模型组、L-IQ 组、M-IQ 组、H-IQ 组(分别灌胃 12.5, 25, 50 mg/kg 的异槲皮苷)、DKK1 组(灌胃 50 mg/kg 的异槲皮苷+腹腔注射 100 mg/kg 的 Wnt3a/Lrp5 信号通路抑制剂 DKK1), 每组各 10 只。另外取 10 只正常大鼠为对照组(其余步骤与造模组相同)。摄 X 线片检查大鼠股骨干并观察骨折愈合情况;用骨密度(BMD)扫描仪检测大鼠股骨骨折端的骨密度;ELISA 检测大鼠血清中骨钙素(OCN)、骨源性碱性磷酸酶(BALP)、I 型前胶原羧基端肽(PICP)的表达水平;HE 染色观察股骨骨折处的病理学变化;用三点弯曲试验和压缩试验对大鼠股骨骨生物学进行检测;Western Blot 法检测大鼠骨折部位 Wnt3a、Lrp5 蛋白的表达水平。**结果:**与对照组相比,模型组大鼠的股骨存在清晰的骨折线,未完全愈合,骨小梁细、结构疏松紊乱,骨折愈合评分、股骨骨密度、最大位移、最大应力、最大负荷,血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I 型前胶原羧基端肽以及 Wnt3a、Lrp5 表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,L-IQ 组、M-IQ 组、H-IQ 组大鼠骨折愈合较好、骨折线模糊、骨小梁变粗、结构整齐致密,骨折愈合评分、股骨骨密度、最大位移、最大应力、最大负荷,血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I 型前胶原羧基端肽以及 Wnt3a、Lrp5 表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 H-IQ 组相比,DKK1 组大鼠骨折愈合较差、骨折线清晰、骨小梁结构变细、结构疏松紊乱,骨折愈合评分、股骨骨密度、最大位移、最大应力、最大负荷,血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I 型前胶原羧基端肽以及 Wnt3a、Lrp5 表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**异槲皮苷可能通过激活 Wnt3a/Lrp5 信号通路,改善骨小梁病理改变,有利于骨质疏松症大鼠骨折的愈合。

[关键词] 异槲皮苷;Wnt 家族成员 3a/低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(Wnt3a/Lrp5);骨质疏松;骨折愈合

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2026)02-0035-07

DOI: 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.260205

The Effect of Isoquercitrin on Fracture Healing Inosteoporotic Rats

XU Meiling¹ ZHANG Yuzhu² SU Chenglong²

¹The Fifth People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810006, China;

²Xining First People's Hospital, Xining 810002, China.

Abstract Objective: To investigate the effect of isoquercitrin (IQ) on fracture healing in osteoporotic (OP) rats by adjusting Wnt family member 3a (Wnt3a)/low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (Lrp5) signaling pathway. **Methods:** In the study, the OP rat fracture model was established through bilateral oophorectomy and intramedullary fixation of the right femoral shaft fracture. The OP model rats were divided into model group, L-IQ group, M-IQ group, H-IQ group (administered 12.5, 25, and 50 mg/kg IQ by gavage), and DKK1 group (administered 50 mg/kg IQ by gavage combined with intraperitoneal injection of 100 mg/kg Wnt3a/Lrp5 signaling pathway inhibitor DKK1), with 10 rats in each group. In addition, 10 normal rats were designated as control group (the rest of the steps were the same as the model group). The

control group and the model group were given an equal amount of physiological saline, once a day for 4 consecutive weeks. X-ray imaging was used to examine femoral shaft

¹ 青海省第五人民医院(西宁, 810006)

² 西宁市第一人民医院

fractures in rats and evaluate fracture healing. The bone mineral density (BMD) scanner was used to detect the BMD of the fractured end of the femur in rats. ELISA was used to measure osteocalcin (OCN), bone alkaline phosphatase (BALP), and type I procollagen carboxy-terminal peptide (PICP) in serum. HE staining was used to observe the pathological changes at the site of femoral fractures. Three-point bending experiment and the compression experiment were used to detect the biology of rat femur bone. Western Blot was used to detect Wnt3a and Lrp5 proteins at the fracture site of rats. **Results:** Compared with the control group, the model group had clear fracture lines in the femurs of rats, incomplete healing, thinner bone trabeculae, reduced numbers, increased gaps, and a loose and disordered structure. The fracture healing score, femur BMD, maximum displacement, maximum stress, maximum load, serum OCN, BALP, PICP, and Wnt3a, Lrp5 reduced ($P < 0.05$). For the model group, the L-IQ group, M-IQ group, and H-IQ group showed better fracture healing, blurred fracture lines, thickened bone trabeculae, raised quantity, reduced gaps, and neat, dense structures in rats. The fracture healing score, femoral BMD, maximum displacement, maximum stress, maximum load, serum OCN, BALP, PICP, and Wnt3a, Lrp5 were greatly increased ($P < 0.05$). For H-IQ group, the DKK1 group had poorer fracture healing, clearer fracture lines, thinner bone trabeculae, reduced numbers, smaller gaps, and looser, disordered structures in rats. The fracture healing score, femoral BMD, maximum displacement, maximum stress, maximum load, serum OCN, BALP, PICP, Wnt3a, and Lrp5 were all reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** IQ may promote fracture healing in osteoporotic rats by activating the Wnt3a/Lrp5 signaling pathway.

Keywords: isoquercitrin; Wnt family member 3a/low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (Wnt3a/Lrp5); osteoporosis; fracture healing

骨质疏松症(OP)是一种以骨量减少、缺乏骨骼完整性、骨折易感性增加为特征且无法治愈的慢性疾病^[1]。其中骨质疏松性骨折已成为威胁老年人群健康与生命质量的重大公共卫生问题,特别是髌部骨折,导致患者活动能力的严重下降,具有较高的致残率^[2]。骨质疏松骨折(OPF)是由于骨骼的骨密度(BMD)降低,骨微结构破坏严重,导致骨折愈合时间延长,合并一些并发症的概率也升高,严重影响老年人的身心健康^[3],所以研发新型药物治疗骨质疏松骨折,加速骨折愈合、减少并发症至关重要。异槲皮苷(IQ)是植物中存在最普遍的黄酮类之一,具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗细胞凋亡及神经保护等生物学作用^[4-5]。已有研究表明,异槲皮苷通过促进骨髓间充质干细胞迁移及成骨分化,进而加速大鼠骨折愈合^[6]。推测异槲皮苷可能对骨质疏松骨折大鼠骨折愈合具有显著疗效,但目前关于异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠骨折愈合的影响及其发挥作用的机制仍不明确。Wnt家族成员3a(Wnt3a)是骨代谢的主要调节因子,而低密度脂蛋白受体相关蛋白5(Lrp5)是骨量的关键调节因子,属于Wnt3a配体的辅助受体^[7]。Wnt3a/Lrp5信号通路主要参与成骨细胞的增殖、分化、迁移等过程。已有研究发现,Wnt3a/Lrp5信号通路被激活,能够显著提升骨髓间充质干细胞成骨分化能力,抑制骨吸收,促进骨形成,恢复骨代谢平衡^[8]。薛青等^[9]研究发现,Wnt3a、Lrp5表达上调,激活Wnt信号通路,促进成骨细胞分化,增加骨量,进而改善骨质疏松。因此,本研究拟在骨质疏松症大鼠骨折模型中,深入探究不同剂量的异槲皮苷是否能够通过调节Wnt3a/Lrp5信号通路,进

而影响骨质疏松骨折的愈合,为异槲皮苷的进一步应用提供理论依据,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

无特定病原体(SPF)级雌性SD大鼠(体重为300~350g),4个月龄,购自上海南方模式生物科技股份有限公司,动物生产许可证号为SCXK(沪)2024-0007。大鼠均饲养于(25±2)℃、相对湿度约为50%、光照和黑暗循环交替12h的实验动物房,给予充足的饮水和食物。本研究所有的动物实验均经本院伦理委员会批准(伦理批号为202311006)。

1.2 主要实验试剂

异槲皮苷、Wnt3a/Lrp5信号通路抑制剂DKK1(货号分别为HY-N1445、HY-P7154)购自美国Med-Chemexpress生物科技公司;大鼠骨钙素(OCN)、I型前胶原羧基端肽(PICP)、骨源性碱性磷酸酶(BALP)ELISA试剂盒(货号分别为CB10404-Ra、CB10102-Ra、CB10405-Ra)购自上海科艾博生物科技有限公司;HE染液、BCA蛋白定量检测试剂盒、RIPA裂解液、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、普通ECL化学发光试剂盒(货号分别为G1005、G2026、G2002、G2003、G2014)购自塞维尔生物科技有限公司;抗体Wnt3a、Lrp5、山羊抗兔-IgG(HRP)(货号分别为ab219412、ab223203、ab205718)购自英国Abcam公司;GAPDH(货号为2118)购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.3 实验仪器

动物X线成像仪(型号为XP/PERT/PARAMET-

TER)购自博卓生物科技(上海)公司;双能 X 射线骨密度仪(型号为 KDX8000)购自南京科进实业有限公司;多功能酶标仪(型号为 FlexStation 3)购自美谷分子仪器(上海)有限公司;凝胶成像系统(货号为 Tanon 3500)购自苏州阿尔法生物实验器材有限公司。

1.4 方法

1.4.1 大鼠骨质疏松骨折模型构建 根据黄振峰等^[10]的方法,采用双侧卵巢切除术与股骨干骨折髓内固定术构建大鼠骨质疏松骨折模型。首先,大鼠取俯卧位,通过腹腔注射 40 mg/kg 的 2%戊巴比妥钠麻醉,腹背中线行纵行切口,结扎输卵管,切除双侧卵巢,然后缝合。1 周后,各组随机选取 3 只大鼠,利用骨密度扫描仪检测大鼠股骨骨密度。若发现实验组大鼠股骨骨密度低于对照组,表明骨质疏松症大鼠模型成功构建。然后,行股骨干骨折髓内固定术,分离股骨,外力导致股骨骨折,克氏针复位、缝合,术后进行常规预防感染处理。最后,通过 X 线检查大鼠右侧股骨存在骨折线,验证模型构建成功。

1.4.2 动物分组处理 将造模成功的大鼠分为模型组、L-IQ 组、M-IQ 组、H-IQ 组(分别灌胃 12.5, 25, 50 mg/kg 的异槲皮苷^[11])、DKK1 组(灌胃 50 mg/kg 的异槲皮苷+腹腔注射 100 mg/kg 的 Wnt3a/Lrp5 信号通路抑制剂 DKK1^[12]),每组各 10 只,另外取 10 只正常大鼠为对照组,对照组仅开腹切除卵巢周围部分脂肪,不切除双侧卵巢。对照组和模型组灌胃及腹腔注射等量生理盐水,1 次/d,连续 4 周。

1.4.3 X 线检查大鼠右侧股骨干骨折情况 末次给药结束后,使用动物 X 线成像仪对不同分组的大鼠右侧股骨干骨折处检测,观察骨折愈合情况。

1.4.4 骨密度扫描仪检测大鼠股骨骨折端的骨密度并进行骨折愈合评分 取出不同组大鼠的右侧股骨骨痂,利用双能 X 射线骨密度仪扫描检测离体股骨骨痂,记录扫描值。然后根据王琰等^[6]的骨折愈合评分标准进行评分(总分为 6 分),计算各组大鼠的骨折愈合评分。

1.4.5 ELISA 检测大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I 型前胶原羧基端肽的表达水平 所有大鼠均经过腹腔注射麻醉剂量 3 倍的 2%戊巴比妥钠实施安乐死,并进行下腔静脉取血,在 4 °C 下静置 4 h,然后离心分离出血清。将试剂盒标准品和每组大鼠血清样本稀释后,按每孔 100 μ L 加入到 96 孔板,并多做 2 个复孔,在 37 °C 下孵育 2 h。孵育完成后,用 PBS 洗 96 孔板 3 次;然后每孔加入稀释好的酶标二抗 100 μ L,室温孵育 1 h;随后,加入 100 μ L 酶底物溶液,孵育 30 min;最后,加入 100 μ L 终止液,停止底物显色反应。用多功能酶标仪检测 450 nm 处的吸光度,然后绘制标准

曲线,将测得的吸光度对应到相应的标准曲线上,计算出不同组大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I 型前胶原羧基端肽的浓度。

1.4.6 大鼠股骨生物力学指标的检测 利用陆飞等^[13]提出的方法,对每组大鼠股骨进行三点弯曲试验和压缩试验。对股骨进行挤压,直到股骨部位发生断裂,停止挤压,记录各组大鼠股骨最大负荷、最大应力、最大位移。

1.4.7 HE 染色观察大鼠股骨骨折处的病理改变 取大鼠的股骨骨折处,然后进行固定、脱水、包埋、切片。将制成的切片通过二甲苯进行脱蜡、透明,乙醇水化处理,用苏木精染色 4 min,自来水冲洗 10 min,盐酸乙醇分化,继续用伊红染色 1 min,清洗完成后用乙醇脱水、二甲苯透化,最后进行封片处理。在显微镜下观察股骨骨折处的病理改变。

1.4.8 Western Blot 法检测大鼠股骨骨折部位中 Wnt3a、Lrp5 蛋白的表达水平 取大鼠的股骨骨折处部分组织,加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解液。离心后收集上清液,在 100 °C 金属浴中加热变性。利用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量分析,用 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒制胶,各组蛋白上样后,电泳分离蛋白、转膜、封闭,然后将蛋白条带与一抗 Wnt3a (1:1 000)、Lrp5 (1:1 000)、GAPDH (1:3 000)孵育过夜(4 °C 下)。清洗蛋白条带后,放入相应的种属二抗 (1:5 000)室温下孵育 2 h,通过凝胶成像系统显色曝光,用 ImagJ 软件分析蛋白条带,计算不同蛋白的表达水平。

1.5 统计学方法

利用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析。通过 Shapiro-Wilk 检验和 *F* 检验,对所有数据进行正态性分布和方差齐性检验,将符合正态分布和方差齐性的数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。多组间差异比较采用单因素方差分析。对于方差分析中发现显著性差异的数据,进一步采用 SNK-*q* 检验进行两组间的比较, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠股骨骨折愈合及骨密度的影响

与对照组相比,模型组大鼠股骨存在清晰的骨折线,未完全愈合,骨折愈合评分、股骨骨密度降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,L-IQ 组、M-IQ 组、H-IQ 组大鼠骨折愈合较好、骨折线模糊,骨折愈合评分、股骨骨密度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 H-IQ 组相比,DKK1 组大鼠骨折愈合较差、骨折线较清晰,骨折愈合评分、股骨骨密度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1 及表 1。

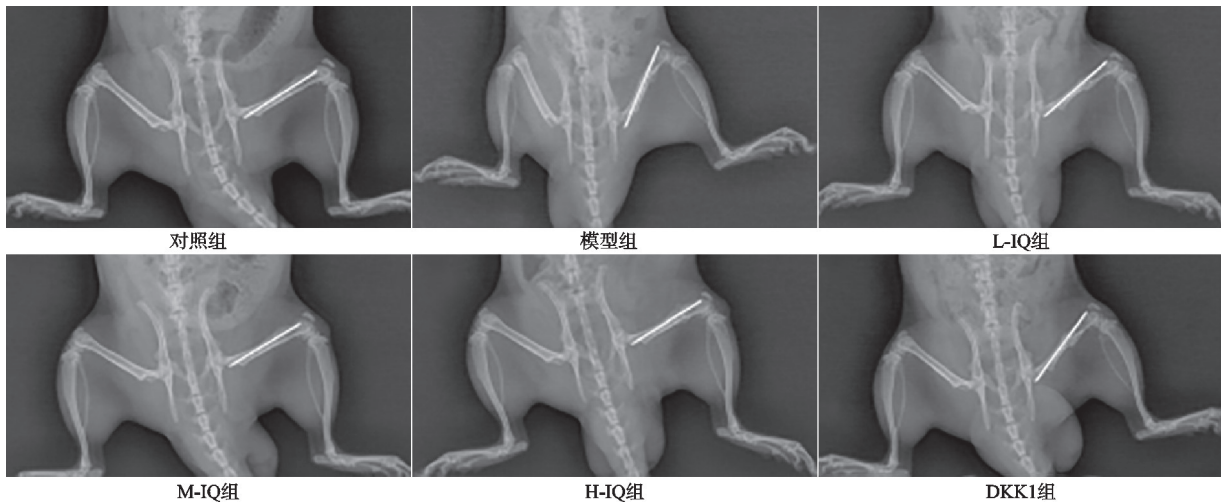


图1 X线成像仪对各组大鼠股骨骨折处的检测结果

表1 各组大鼠骨折愈合评分及骨密度比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	骨折愈合评分/分	骨密度/($g \cdot cm^{-2}$)
对照组	5.23 ± 0.58	0.85 ± 0.12
模型组	2.35 ± 0.31 ¹⁾	0.38 ± 0.06 ¹⁾
L-IQ组	2.89 ± 0.34 ²⁾	0.52 ± 0.03 ²⁾
M-IQ组	3.58 ± 0.45 ²⁾³⁾	0.65 ± 0.05 ²⁾³⁾
H-IQ组	4.71 ± 0.55 ²⁾³⁾⁴⁾	0.74 ± 0.08 ²⁾³⁾⁴⁾
DKK1组	2.53 ± 0.37 ⁵⁾	0.41 ± 0.04 ⁵⁾
<i>F</i>	71.44	71.46
<i>P</i>	<0.01	<0.01

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$;2)与模型组相比, $P < 0.05$;3)与L-IQ组相比, $P < 0.05$;4)与M-IQ组相比, $P < 0.05$;5)与H-IQ组相比, $P < 0.05$ 。

表2 各分组大鼠血清中OCN、BALP、PICP的变化($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	OCN/($ng \cdot mL^{-1}$)	BALP/($U \cdot mL^{-1}$)	PICP/($ng \cdot mL^{-1}$)
对照组	20.12 ± 2.51	80.68 ± 8.86	21.54 ± 3.26
模型组	10.57 ± 1.45 ¹⁾	55.43 ± 6.21 ¹⁾	8.69 ± 0.95 ¹⁾
L-IQ组	13.69 ± 1.62 ²⁾	65.96 ± 6.68 ²⁾	11.66 ± 1.52 ²⁾
M-IQ组	16.58 ± 1.69 ²⁾³⁾	76.69 ± 8.23 ²⁾³⁾	15.23 ± 1.75 ²⁾³⁾
H-IQ组	19.49 ± 2.17 ²⁾³⁾⁴⁾	87.28 ± 9.52 ²⁾³⁾⁴⁾	20.15 ± 2.26 ²⁾³⁾⁴⁾
DKK1组	11.68 ± 1.25 ⁵⁾	59.68 ± 6.56 ⁵⁾	9.15 ± 1.29 ⁵⁾
<i>F</i>	47.92	26.01	77.25
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:1)与对照组相比, $P < 0.05$;2)与模型组相比, $P < 0.05$;3)与L-IQ组相比, $P < 0.05$;4)与M-IQ组相比, $P < 0.05$;5)与H-IQ组相比, $P < 0.05$ 。

与对照组相比,模型组大鼠股骨的最大负荷、最大应力、最大位移均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,L-IQ组、M-IQ组、H-IQ组大鼠股骨的最大位移、最大应力、最大负荷均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与H-IQ组相比,DKK1组大鼠股骨的最大位移、最大应力、最大负荷均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

2.4 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠股骨骨折处组织病理学的影响

与对照组相比,模型组大鼠股骨骨小梁细、结构疏

2.2 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I型前胶原羧基端肽的影响

与对照组相比,模型组大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I型前胶原羧基端肽的表达水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,L-IQ组、M-IQ组、H-IQ组大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I型前胶原羧基端肽的表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与H-IQ组相比,DKK1组大鼠血清中骨钙素、碱性磷酸酶、I型前胶原羧基端肽的表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

2.3 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠股骨生物力学指标的影响

与对照组相比,模型组大鼠股骨骨小梁变细且结构疏松紊乱;与模型组相比,L-IQ组、M-IQ组、H-IQ组大鼠股骨骨小梁变粗且结构排列有序致密;与H-IQ组相比,DKK1组大鼠股骨骨小梁结构变细且结构疏松紊乱,见图2。

2.5 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠股骨骨折处Wnt3a/Lrp5信号通路蛋白的影响

与对照组相比,模型组大鼠股骨骨折处Wnt3a、Lrp5表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,L-IQ组、M-IQ组、H-IQ组大鼠股骨骨折处Wnt3a、Lrp5表达水平显著升高,差异有统计

表 3 各组大鼠股骨生物力学指标比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	最大负荷/N	最大应力/MPa	最大位移/mm
对照组	150.68±16.23	198.73±20.55	0.98±0.12
模型组	90.56±10.57 ¹⁾	126.58±13.62 ¹⁾	0.43±0.05 ¹⁾
L-IQ 组	110.96±12.42 ²⁾	146.92±15.49 ²⁾	0.53±0.06 ²⁾
M-IQ 组	128.87±13.65 ²⁾³⁾	170.29±17.53 ²⁾³⁾	0.65±0.08 ²⁾³⁾
H-IQ 组	145.26±15.26 ²⁾³⁾⁴⁾	190.37±19.62 ²⁾³⁾⁴⁾	0.86±0.09 ²⁾³⁾⁴⁾
DKK1 组	105.85±11.29 ⁵⁾	130.52±14.48 ⁵⁾	0.48±0.06 ⁵⁾
<i>F</i>	31.02	32.12	76.03
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与模型组相比, $P<0.05$;3)与 L-IQ 组相比, $P<0.05$;4)与 M-IQ 组相比, $P<0.05$;5)与 H-IQ 组相比, $P<0.05$ 。

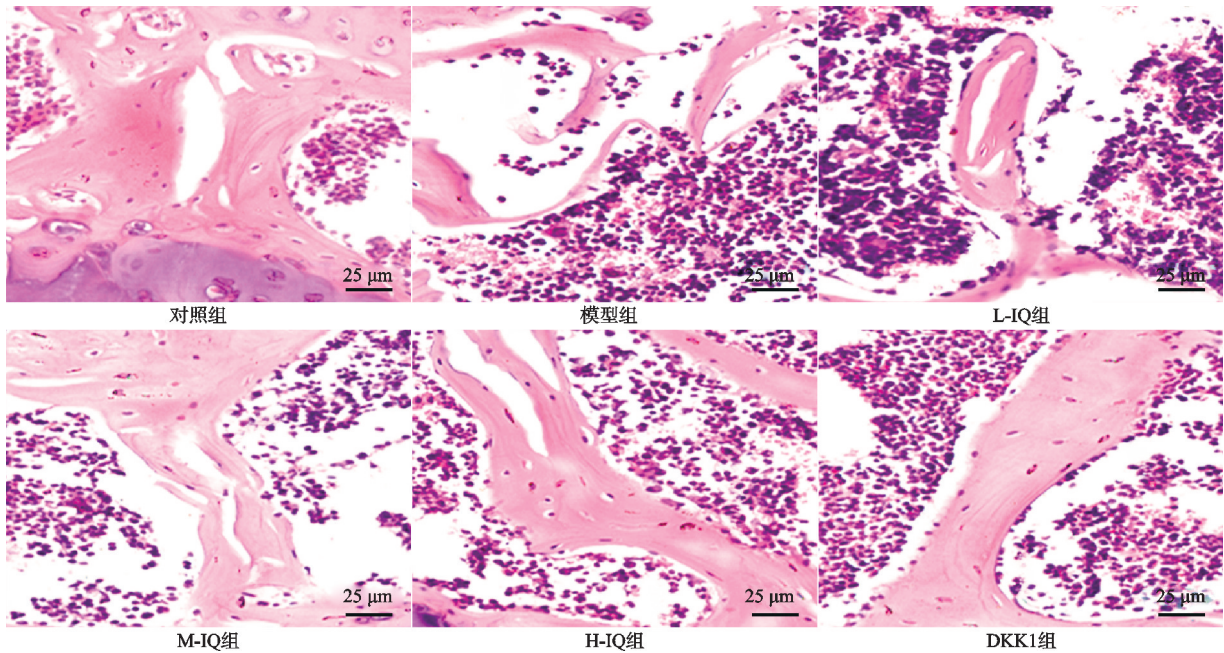


图 2 HE 染色观察各组大鼠股骨骨折处组织病理变化($\times 400$)

学意义($P<0.05$);与 H-IQ 组相比,DKK1 组大鼠股骨骨折处 Wnt3a、Lrp5 表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3 及表 4。

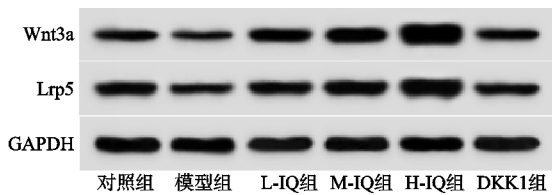


图 3 Western Blot 法检测 Wnt3a 及 Lrp5 蛋白表达量

3 讨论

骨质疏松症患者矿化骨量减少,骨微结构破坏,骨小梁变细、数量减少,髓质间隙扩大,导致骨密度降低,从而容易发生骨折^[12]。在现代骨科医学领域,随着内固定技术的不断进步,即使最复杂的骨折也能获得满意的治疗效果。然而,在骨折愈合过程中仍然会发生一系列并发症,导致骨折愈合较慢,严重影响患者的身心健康^[14]。临床治疗骨质疏松症主要是通过保守治疗、抗骨质疏松治疗、补充钙和维生素 D 等^[15]方法。

表 4 异槲皮苷对骨质疏松骨折大鼠股骨骨折处骨组织中 Wnt3a 及 Lrp5 蛋白表达的影响($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	Wnt3a	Lrp5
对照组	0.56±0.06	0.68±0.08
模型组	0.35±0.05 ¹⁾	0.32±0.04 ¹⁾
L-IQ 组	0.68±0.07 ²⁾	0.57±0.07 ²⁾
M-IQ 组	1.28±0.15 ²⁾³⁾	0.93±0.13 ²⁾³⁾
H-IQ 组	1.82±0.21 ²⁾³⁾⁴⁾	1.45±0.16 ²⁾³⁾⁴⁾
DKK1 组	0.53±0.08 ⁵⁾	0.48±0.06 ⁵⁾
<i>F</i>	113.49	83.05
<i>P</i>	<0.01	<0.01

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与模型组相比, $P<0.05$;3)与 L-IQ 组相比, $P<0.05$;4)与 M-IQ 组相比, $P<0.05$;5)与 H-IQ 组相比, $P<0.05$ 。

本研究利用手术摘除大鼠的双侧卵巢及股骨干骨折内固定术构建骨质疏松骨折大鼠模型,发现去卵巢大鼠的骨小梁变细、数量减少、间隙增大且结构疏松紊乱,骨密度降低,这与王东等^[16]研究结果一致。因此,对于骨质疏松骨折的治疗和预防并发症,仍然需要不断

地研究和探索。

异槲皮苷是一种来源于植物的天然类黄酮化合物,对氧化应激反应、过敏反应、癌症、心血管疾病及炎症反应具有广泛的抑制作用^[17]。Liu等^[18]研究发现,异槲皮苷能够激活 Nrf2 信号通路,抑制活性氧的生成和 NF- κ B 的表达,从而抑制破骨细胞生成和骨质流失,进而延缓类风湿关节炎的发展。Wu等^[19]研究表明,异槲皮苷改善了卵巢切除术后骨质疏松症小鼠的微生物群落和肠道屏障功能,通过抑制 NF- κ B 信号通路,显著改善了骨质的流失和炎症反应,对骨质疏松的治疗产生了积极影响。王琰等^[6]研究显示,异槲皮苷通过促进大鼠的骨髓间充质干细胞的增殖、迁移、钙沉积、碱性磷酸酶活性和成骨的分化,进一步促进大鼠骨折的愈合。以上研究均表明,异槲皮苷能够显著改善骨质疏松症状,促进成骨细胞生成,有利于骨折愈合。本研究结果发现,与模型组相比,异槲皮苷促进相关成骨因子(OCN、BALP、PICP)的表达,增加股骨骨密度和骨折愈合评分,改善股骨的病理变化,加速骨质疏松骨折的愈合过程,这与 Wu等^[19]的研究结果一致。这些结果提示异槲皮苷具有改善骨折愈合的潜在疗效。然而,关于异槲皮苷与骨折愈合之间分子机制的潜在关联性仍需进一步实验验证。

在探索异槲皮苷对骨质疏松骨折调控作用的分子机制时,发现 Wnt3a/Lrp5 在骨骼发育和代谢调控中发挥关键作用。Wnt3a 是一种分泌蛋白,参与经典的 Wnt 信号通路,调节多种细胞信号功能,例如自我更新、增殖、分化等^[20]。Lrp5 是一种蛋白质编码基因,属于 Wnt3a 的辅助受体。张永占等^[21]研究发现,散瘀止痛续骨方激活 Wnt3a/Lrp5 信号通路,增加各段肱骨骨密度、肱骨强度,改善肱骨的组织病理形态,促进肱骨骨折大鼠的骨愈合。Chen等^[22]研究表明,肾素原受体的敲除,降低 Wnt/ β -catenin 通路蛋白(如 LRP5/6 和 β -catenin)的表达水平。Wnt3a 处理诱导 Lrp5 表达,抑制破骨细胞的形成。罗洁等^[23]研究显示,益肾健骨颗粒通过激活 Wnt 信号通路,升高 Wnt3a、Lrp5、 β -catenin 的蛋白表达量,促进去卵巢大鼠成骨细胞的增殖,从而进一步改善绝经后骨质疏松。以上研究均表明,Wnt3a/Lrp5 信号通路在改善肱骨强度、抑制破骨细胞形成及改善骨质疏松方面发挥重要作用。本研究发现,与对照组大鼠相比,骨质疏松骨折大鼠 Wnt3a、Lrp5 蛋白表达下降,提示 Wnt3a/Lrp5 信号通路的抑制可能是导致骨质疏松骨折愈合不良的重要靶点。本研究采用不同剂量的异槲皮苷处理,可以剂量依赖性上调 Wnt3a、Lrp5 蛋白表达,激活 Wnt3a/Lrp5 信号通路,增加股骨最大位移、最大应

力、最大负荷,提高股骨强度,促进骨质疏松骨折大鼠骨折的愈合,与张永占等^[21]的研究结果一致。然而,当使用 Wnt3a/Lrp5 信号通路抑制剂 DKK1 时,异槲皮苷对骨折愈合的促进作用被削弱,这提示异槲皮苷具有通过调节 Wnt3a/Lrp5 信号通路改善骨折愈合的功。本研究也存在一定的局限性,仅验证异槲皮苷通过 Wnt3a/Lrp5 信号通路对股骨病理变化及生物力学特性的调控作用,分析其对骨结构、骨密度及生物力学性能的影响,然而骨代谢通常涉及成骨细胞与破骨细胞的协同作用,本研究尚未明确异槲皮苷是否能够调节这两种细胞的分化和功能。因此,这可能是后续研究的方向。

综上所述,异槲皮苷可能通过激活 Wnt3a/Lrp5 信号通路,改善骨小梁病理变化,有利于骨质疏松骨折大鼠骨折愈合。本研究发现异槲皮苷有治疗骨质疏松骨折的优势,可为骨质疏松骨折的治疗提供更多可能性。然而,由于骨质疏松骨折机制的复杂性,需借助更先进和精细的技术手段,继续深入研究异槲皮苷治疗骨质疏松骨折的分子机制,为后续临床应用提供更加全面的理论参考依据。

参考文献

- [1] RAMCHAND S K, LEDER B Z. Sequential therapy for the long-term treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2024, 109(2):303-311.
- [2] HARRIS K, ZAGAR C A, LAWRENCE K V. Osteoporosis: common questions and answers[J]. *American Family Physician*, 2023, 107(3):238-246.
- [3] CHIAVARINI M, NALDINI G, FABIANI R. The role of diet in osteoporotic fracture healing: a systematic review[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2020, 18(3):138-147.
- [4] LUO X G, GONG Y Q, JIANG Q S, et al. Isoquercitrin promotes ferroptosis and oxidative stress in nasopharyngeal carcinoma via the AMPK/NF- κ B pathway[J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2024, 38(1):e23542.
- [5] WANG L, MA J L, CHEN C, et al. Isoquercitrin alleviates pirarubicin-induced cardiotoxicity in vivo and in vitro by inhibiting apoptosis through Phlpp1/AKT/Bcl-2 signaling pathway[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, 15:1315001.
- [6] 王琰, 易翹翔, 邱勋永, 等. 异槲皮苷联合大鼠骨髓间充质干细胞促进大鼠骨折愈合[J]. *西部医学*, 2021, 33(4):498-505.
- [7] REN Q, CHEN J C, LIU Y H. LRP5 and LRP6 in Wnt signaling: similarity and divergence[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9:670960.
- [8] 姚长风, 刘自兵, 唐巍, 等. 艾灸对去卵巢骨质疏松症大鼠骨髓间充质干细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J].

- 安徽中医药大学学报,2020,39(2):54-58.
- [9] 薛青,王玲玲,钟奕. 培哌普利抗绝经后骨质疏松的作用与 Wnt 信号通路的关系[J]. 中国老年学杂志,2019,39(13):3238-3242.
- [10] 黄振峰,王建,陈梦妮,等. 仙灵骨葆胶囊对骨质疏松性骨折大鼠骨生长因子及骨折愈合的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2021,27(12):1833-1837.
- [11] 王艺蓓,林欣,戴友平,等. 异槲皮苷调控线粒体动力学逆转造影剂所致大鼠急性肾损伤[J]. 生物加工过程,2023,21(2):229-236.
- [12] 郭中华,史栋梁,曹玉举,等. 柴胡桂枝汤加减通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路对骨质疏松大鼠的改善作用及机制研究[J]. 中国比较医学杂志,2023,33(10):15-22.
- [13] 陆飞,周静,金涛. 山姜素调节 cAMP/PKA/CREB 信号通路促进骨质疏松性骨折大鼠骨折愈合[J]. 中国组织工程研究,2025,29(12):2438-2443.
- [14] SIVERINO C, METSEMAKERS W J, SUTTER R, et al. Clinical management and innovation in fracture non-union[J]. Expert Opinion on Biological Therapy, 2024, 24(9): 973-991.
- [15] SRIVASTAVA M, DEAL C. Osteoporosis in elderly: prevention and treatment[J]. Clinics in Geriatric Medicine, 2002, 18(3): 529-555.
- [16] 王东,丁海,常文举,等. 丹酚酸 B 干预去卵巢骨质疏松模型大鼠的生物学变化及机制[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(12): 1927-1930.
- [17] MA J, LI M R, YANG T T, et al. Isoquercitrin attenuates steatohepatitis by inhibition of the activated NLRP3 inflammasome through HSP90[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(10): 8795.
- [18] LIU Y, LI T Q, BAI J, et al. Isoquercitrin attenuates the osteoclast-mediated bone loss in rheumatoid arthritis via the Nrf2/ROS/NF- κ B pathway [J]. Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease, 2024, 1870(2): 166977.
- [19] WU M J, CHEN C, LEI H H, et al. Dietary isoquercetin ameliorates bone loss via restoration of the gut microbiota and lipopolysaccharide-triggered inflammatory status in ovariectomy mice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(43): 15981-15990.
- [20] JANDA C Y, DANG L T, YOU C J, et al. Surrogate Wnt agonists that phenocopy canonical Wnt and β -catenin signalling[J]. Nature, 2017, 545(7653): 234-237.
- [21] 张永占,张宁,尚红涛,等. 散瘀止痛续骨方通过 Wnt3a/Lrp5 信号通路促进肱骨骨折大鼠骨愈合[J]. 广州中医药大学学报,2022,39(11):2622-2626.
- [22] CHEN L, XIONG L, GUO H H, et al. Osteoclastic ATP6AP2 maintains β -catenin levels to prevent hyper-osteoclastic activation and trabecular bone-loss[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2024, 39(12): 1821-1834.
- [23] 罗洁,许辉,张信成. 益肾健骨颗粒对绝经后骨质疏松大鼠骨组织 Wnt/ β -catenin 通路的影响[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(7): 166-169.

(收稿日期:2025-06-19)