骨碎补活性成分促进骨缺损后骨重建的机制及其组织工程学应用Δ

邓志军[1*],杨文龙[2],杨智军[1],赵　斌[1],李　典[1],杨凤云[2#](1.江西中医药大学研究生院,南昌　330004;2.江西中医药大学附属医院骨科,南昌　330006)

中图分类号　R965;R318　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408(2024)08-1023-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.08.22

摘　要　骨缺损的治疗难度大、周期长,一直都是骨科临床面临的重大挑战。骨碎补是我国中医骨伤科的常用药材,其活性成分(主要为黄酮类)可促进骨髓间充质干细胞成骨分化、成骨细胞增殖、成血管-成骨耦联,抑制破骨细胞活力,从而促进骨缺损区的骨质矿化和修复重建。骨碎补活性成分是骨再生治疗药物的良好替代品,将其负载于组织工程支架材料上,可极大地提高药物的生物利用度。同时,缓释微球进一步解决了支架药物的突发性释放等问题,应用其所制备的含骨碎补活性成分的复合支架具有较好的成骨活性和骨诱导性,骨修复效果确切,可满足骨移植物的多样化性能要求,临床应用前景广阔。
关键词　骨碎补;活性成分;总黄酮;骨缺损;骨组织工程

Mechanism and application in tissue engineering of the active ingredient of Drynariae Rhizoma promoting bone defect repair

DENG Zhijun[1], YANG Wenlong[2], YANG Zhijun[1], ZHAO Bin[1], LI Dian[1], YANG Fengyun[2] (1. Graduate School, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Dept. of Orthopedics, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT　Bone defect has always been a major clinical challenge because of its great difficulty and long period of treatment. Drynariae Rhizoma is a commonly used medicine in osteology and traumatology of traditional Chinese medicine, and its active ingredients (mainly flavonoids) facilitate osteoblast differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, osteoclast proliferation, vascular-osteogenic coupling, and inhibit osteoclast activity to promote bone mineralization, and repair and reconstruction of bone defect. As a good substitute for bone regeneration drugs, the active constituents of Drynariae Rhizoma can be loaded on scaffold materials of tissue engineering, which greatly improves the bioavailability of the drug. Meanwhile, the sustained-release microspheres also solve some problems such as sudden drug release from the scaffolds, and the composite scaffolds with active ingredient of Drynariae Rhizoma prepared by them have good ossification activity and osteoinduction, with precise bone repair effects, which meet the diverse performance requirements of bone grafts and have a promising clinical application prospect.
KEYWORDS　Drynariae Rhizoma; active ingredient; total flavonoids; bone defect; bone tissue engineering

随着交通业和工业的迅速发展,创伤显现出高能、多发、复杂的特点,尤其是高能量创伤导致的急性骨丢失、复杂骨折,使得骨缺损的发生率大幅度升高[1]。我国每年大约有600万人因创伤、肿瘤切除等原因导致骨缺损[2]。其中,缺损范围超过骨周径50%或缺损长度>2 cm的大段骨缺损的修复重建具有治疗难度大、住院周期长、失败率及致残率高等特点,是骨科治疗领域的难点之一[3]。

骨碎补是水龙骨科植物槲蕨 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.的干燥根茎,始载于唐代《本草拾遗》《药性论》等医籍,味苦、性温,归肝、肾经[4],属于活血疗伤药,是中医治疗骨折筋伤的常用药。唐代中医骨伤名家蔺道人在其所著的《仙授理伤续断秘方》中就记载了大量包含骨碎补的骨伤科中药复方。此外,骨碎补也是强骨胶囊、接骨续伤散、骨质增生丸、健骨颗粒等骨伤中成药的主要原料。本文梳理了近年来骨碎补活性成分促进骨缺损后骨重建的作用机制及其在新兴组织工程技术中的改良应用,以期为骨碎补的开发应用提供参考。

1　骨碎补活性成分促进骨缺损后骨重建的机制

骨碎补具有诱导成骨分化的潜力,且没有明显的毒副作用,药用价值显著[5]。骨碎补化学成分丰富,主要包括黄酮类、三萜类、酚酸类等[6]。其中,黄酮类化合物的相关报道最多,以骨碎补总黄酮及骨碎补黄酮类活性单体化合物柚皮苷为主。骨碎补活性成分可有效促进骨损伤部位骨细胞的增殖分化、促进成血管-成骨耦联、调

Δ**基金项目**　全国名老中医药专家传承工作室建设项目(No.国中医药人教函〔2022〕75号);江西省省级科技计划项目(No.20212-BCG74004);江西省中医药管理局重点研究室、临床研究基地建设项目(No.赣中医药科教字〔2020〕6号);江西省研究生创新专项资金项目(No.YC2022-s876);江西中医药大学"大学生创新创业训练计划"项目(No.X202310412165)

*　**第一作者**　硕士研究生。研究方向:中医药防治骨与关节疾病。E-mail:dengzj231@163.com

#　**通信作者**　主任中医师,教授,博士生导师。研究方向:中医药防治骨与关节疾病。E-mail:fn_or@126.com

节骨代谢、加快骨钙沉积矿化、诱导骨组织修复重建，在骨组织再生领域具有较高的研究价值。

1.1 促进骨髓间充质干细胞成骨分化

骨髓间充质干细胞（bone marrow mesenchymal stem cells，BMSCs）除具有分化成多种类型细胞（如成骨细胞和脂肪细胞）的潜能外，还可释放外泌体以促进组织修复，是再生医学和组织工程领域的重要种子细胞来源[7]。Wang等[8]发现，骨碎补活性单体柚皮苷在10～100 mg/L的质量浓度范围内可剂量依赖性地增加BMSCs中碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）活性及成骨分化相关标志物Runt相关转录因子2（Runt-related transcription factor-2，Runx-2）、成骨细胞特异性转录因子osterix（OSX）、骨钙素（osteocalcin，OCN）、Ⅰ型胶原蛋白（type Ⅰ collagen，Col1）的表达水平，其过程与激活胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）信号通路有关。王军松等[9]发现，骨碎补总黄酮可通过上调β连环素（β-catenin）、Runx-2的表达，抑制过氧化物酶体增殖物激活受体γ的表达，促进大鼠BMSCs的成骨分化。

此外，骨碎补活性成分能在不同环境下增强BMSCs的成骨分化能力。肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）是一种炎性介质，可抑制BMSCs的存活并减弱其成骨分化能力。Cao等[10]发现，在炎症微环境下，柚皮苷能拮抗TNF-α对BMSCs成骨分化的抑制作用，通过抑制核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号通路中NF-κB抑制蛋白α（inhibitory kappa B alpha，IκBα）的磷酸化和p65的核移位来抑制NF-κB信号通路的激活，从而增强ALP活性和成骨基因*Runx-2*、*OSX*的表达，显著提高BMSCs的存活和成骨分化水平。龙亚丽等[11]发现，10%低氧环境能抑制犬BMSCs钙结节形成和ALP活性，下调Runx-2、OSX的表达，降低线粒体膜电位，而骨碎补总黄酮能逆转上述指标，表明骨碎补总黄酮在低氧环境下也可促进BMSCs的成骨分化。

1.2 促进成骨细胞增殖

成骨细胞主要由内外骨膜和骨髓基质内的间充质干细胞分化而来，是骨形成的主要功能细胞，负责骨基质的合成、分泌和矿化，其能特异性地分泌多种生物活性物质，从而改善骨再生、治疗骨愈合缺陷[12]。在骨形成过程中，Runx-2和OSX被认为是成骨细胞谱系的主要调节因子，对成骨细胞的分化至关重要[13]。研究发现，骨碎补总黄酮可上调Runx-2、OSX、OCN、Col1等成骨相关标志物的表达，提高ALP活性，增加钙化结节数量，从而促进成骨细胞增殖分化[14—15]。Peng等[16]的研究表明，骨碎补提取物可通过增加Col1、OCN的表达来增强成骨细胞的活力，通过降低基质金属蛋白酶9（matrix metalloproteinase-9，MMP-9）、MMP-13的表达来抑制骨吸收。还有研究发现，柚皮苷可促进成骨细胞增殖，增强ALP活性和钙化能力，且上述作用可能是通过下调微RNA-206的表达、靶向激活缝隙连接蛋白43/ERK1信号通路来实现的[17]。

此外，骨碎补活性成分还能改善不同环境和状态下成骨细胞的活力。林春淑等[18]发现，柚皮苷可改善高糖环境下MC3T3-E1细胞的活力，可上调胰岛素样生长因1、蛋白激酶1、Runx-2的表达，增强ALP活性，从而促进骨修复和再生。张亚龙等[19]发现，模拟微重力环境下，骨碎补活性成分柚皮苷可上调T细胞诱导的成骨细胞中骨形态发生蛋白2（bone morphogenetic protein-2，BMP-2）、骨桥蛋白（osteopontin，OPN）的表达，促进成骨分化。可见，骨碎补活性成分可提高ALP及骨形成相关因子的活性，促进成骨细胞增殖，从而促进骨重建。

1.3 抑制破骨细胞活力

破骨细胞是由髓系祖细胞分化的单核巨噬细胞相互融合所形成的多核巨细胞[20]，可通过分泌降钙素受体及多种溶酶体酶（如抗酒石酸酸性磷酸酶和组织蛋白酶K）来减少矿物质沉积，分解骨基质蛋白，促进骨吸收，从而抑制骨缺损的愈合[21]。

护骨因子（osteoprotegerin，OPG）/NF-κB受体激活蛋白配体（receptor activator of NF-κB ligand，RANKL）/NF-κB受体激活蛋白（receptor activator of NF-κB，RANK）信号轴是调控破骨细胞分化、成熟和骨吸收活性的重要途径之一。OPG又叫破骨细胞抑制因子，是RANKL的诱导受体，可通过与RANKL的结合来减少破骨细胞的产生，抑制骨吸收；RANK是诱导破骨细胞分化成熟的重要因子，可与RANKL结合来刺激破骨细胞分化、成熟并抑制破骨细胞凋亡[22]。Jin等[23]发现，骨碎补可增加绝经后骨质疏松大鼠股骨的骨小梁数量和骨密度，降低抗酒石酸酸性磷酸酶、RANKL、RANK蛋白表达和破骨细胞活力，抑制骨吸收。Ang等[24]发现，柚皮苷可通过抑制RANKL介导的IκBα降解来抑制RANKL诱导的NF-κB活化，干扰破骨细胞形成，减少骨吸收，有助于减少骨丢失。此外，骨碎补活性成分还可促进破骨细胞凋亡，有学者发现，2～200 μg/mL的柚皮苷可有效减少或缩小破骨细胞数量和骨磨片吸收面积，且可剂量依赖性地下调B细胞淋巴瘤2和MMP-9的表达，上调B细胞淋巴瘤2相关X蛋白和胱天蛋白酶3的表达，减弱骨吸收能力，促进破骨细胞凋亡[25]。上述研究表明，骨碎补活性成分对破骨细胞活力具有较显著的抑制作用。

1.4 促进成血管-成骨耦联

骨是一种高度血管化的组织，其发育、成熟、再生、重塑都依赖于血管供应的养分。在骨缺损愈合重建过程中，血管生成和骨形成过程之间存在着时间和空间上的密切关联[26—27]。从骨合成代谢治疗的角度来看，血管生成是骨形成的关键步骤。血管生成和骨形成之间的这种密切关系被称为成血管-成骨耦联[28]。其中，H型血管在骨再生过程中具有重要作用，可诱导骨形成，并可通过分泌骨髓骨祖细胞增殖和分化相关刺激因子来诱导骨形成[26]。Shen等[14]的骨缺损牵张成骨实验显示，骨碎补总黄酮可增加H型血管的丰度，具有较好的促血管生成和成骨作用；体外实验表明，骨碎补总黄酮可显著

增强内皮前体细胞的血管生成能力和BMSCs的成骨活性，可增加钙化点数量，促进Runx-2和OSX的表达，从而进一步增强牵张成骨过程中的成血管-成骨耦联作用，促进骨缺损区域的血管生成和骨形成。

申震等[29]研究表明，骨碎补总黄酮可提高牵张成骨手术牵张区域内血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）、血管生成素2等生长因子的表达，诱导微血管大量生成，从而促进固化期骨痂矿化和新骨生成。Li等[30]发现，骨碎补总黄酮可上调三元调节通路中关键因子（血小板衍生生长因子B等）、VEGF、高迁移率族蛋白B1的表达，促进骨缺损区域诱导膜中血管生成因子分泌、血管生成和骨组织重建。还有学者在大鼠股骨缺损实验中发现，骨碎补总黄酮联合诱导膜技术在血管形成、骨质矿化、骨质塑形、组织形态学方面的改善效果均优于空白对照和诱导膜技术单用[31]。上述研究表明，骨碎补活性成分对骨缺损区域的成骨质量和血管形成具有良好的促进作用。

2 骨碎补活性成分在骨组织工程技术中的应用

骨碎补活性成分在骨缺损再生和修复重建方面具有成骨潜力，但其水溶性较差、口服利用率和生物利用度较低，使得其临床应用受限[32]。因此，开发治疗效果更好的治疗方法和给药方式，是中医药在骨缺损治疗探索中亟待解决的问题。

骨缺损的治疗目标在于重建骨缺损，恢复骨骼长度和功能。尽管骨组织具有一定的自我修复和再生能力，但在没有手术干预的情况下，大段缺损患者很难实现自我修复和功能恢复[33]。目前，自体骨移植、Ilizarov骨搬移技术等治疗手段存在供体来源少、治疗周期长等缺点[34]。骨组织工程技术的出现为骨缺损提供了一种更具前景的替代治疗方法，其能突破人体自身骨组织不足的限制，将种子细胞和负载生长因子的生物材料支架作为填补缺陷的替代物，通过模拟细胞外基质微环境为细胞黏附、生长、分化提供三维空间微环境，使得种子细胞在生长因子的作用下不断增殖分化并矿化成骨，生成的新骨会逐渐占据原支架的位置，以实现骨组织缺损部位结构和生理的修复重建[35—36]。

2.1 复合支架

骨碎补黄酮类化合物具有诱导成骨的潜力，与传统生长因子相比，其免疫反应更低，且安全无毒、成本低廉[6,37]，可充当生长因子替代品负载于组织工程支架材料中。有研究指出，含有骨碎补活性成分的复合支架克服了单一支架材料缺乏成骨活性和骨诱导性的缺陷，可满足人体骨移植物的多样化性能要求；同时，与传统口服给药方式相比，该复合支架可明显提升骨碎补活性成分的生物利用度[38]，在大段骨缺损修复领域表现出独特优势，已成为该领域新的研究热点之一。

Dong等[39]将含有京尼平/交联明胶/磷酸三钙陶瓷颗粒（genipin cross-linked gelatin and tricalcium phosphate ceramic particles，GGT）的复合材料与预定浓度的骨碎补水提物混合，制备了一种骨碎补-GGT复合支架，该支架能显著增加成骨细胞和钙化结节数量，提高ALP活性，加速骨再生，具有促进骨修复的巨大潜力。Chen等[40]制备的骨碎补-GGT支架也具有相似的生物活性。Ji等[41]通过静电纺丝技术将骨碎补活性成分柚皮苷加至聚己内酯/聚乙二醇嵌段聚己内酯[poly（ε-caprolactone）and poly（ethylene glycol）-block-poly（ε-caprolactone），PEG-b-PCL]中，所得纳米纤维支架较未载药支架降解更快，促成骨细胞黏附、增殖、分化和矿化能力均更强；同时，该支架有更好的柚皮苷控释效果，3个月后仍可持续释放。Mo等[42]将骨碎补活性成分柚皮苷加载到β环糊精介孔生物活性玻璃纳米颗粒（bioactive glass nanoparticles modified with β-cyclodextrin，CD-MBG）中，制备了柚皮苷/CD-MBG支架，该支架能促进M1型巨噬细胞向M2型极化，同时可诱导局部免疫微环境协同促进骨形成并抑制破骨细胞生成。还有学者将不同比例的纳米羟基磷灰石（nano-hydroxyapatite，nHA）和胶原混合，然后进行柚皮苷封装，制备了柚皮苷/nHA/胶原支架。体外释放实验表明，当nHA与胶原的质量比为7∶3时，所得支架具有最佳的柚皮苷释放性能；细胞实验表明，柚皮苷/nHA/胶原支架可有效促进BMSCs的成骨分化，提高ALP活性，上调OCN、BMP-2、OPN的表达，促进钙结节的形成和颅骨缺损的早期修复，在骨组织工程中具有巨大的应用潜力[43]。诸多研究结果均表明，相较于未载药支架，载骨碎补的生物活性支架具有更好的骨愈合效果，能促进缺损组织更好、更快地修复[44—46]。含骨碎补活性成分的生物材料复合支架信息见表1。

表1 含骨碎补活性成分的生物材料复合支架信息

活性成分	制备方法	支架名称	相关作用	文献
骨碎补	冷冻干燥法	骨碎补-GGT复合支架	增加成骨细胞和结节数量，提高ALP活性，加速骨再生	[39]
	盐浸法	骨碎补-GGT支架	诱导新骨形成，加速骨再生	[40]
柚皮苷	静电纺丝技术	柚皮苷/PEG-b-PCL纳米纤维支架	促进成骨细胞黏附、增殖、分化和矿化，抑制破骨细胞形成	[41]
	冷冻干燥法	柚皮苷/CD-MBG支架	促进M1型巨噬细胞向M2型极化，促进骨形成并抑制破骨细胞形成	[42]
	冷冻干燥法	柚皮苷/nHA/胶原支架	促进BMSCs成骨分化，增加ALP、OCN、BMP-2、OPN表达	[43]
	盐浸法	柚皮苷/SF/HAp支架	具有骨诱导和血管生成活性，成骨能力和血管生成能力优	[44]
	3D打印技术/冷冻干燥法	柚皮苷/HAp/海藻酸钠复合水凝胶支架	促进BMSCs生长、增殖，提高ALP活性，增加骨矿化、骨体积和组织矿物质密度	[45]
	冷冻干燥法	柚皮苷/明胶/HAp陶瓷颗粒支架	促进BMSCs分化为成骨细胞，促进骨形成，缩短愈合时间	[46]
	冷冻干燥法	柚皮苷PLGA微球/SF/nHA支架	激活Notch通路，促进BMSCs的黏附、增殖和成骨分化	[47]
	冷冻干燥法	柚皮苷/明胶微球/nHA/SF支架	促进BMSCs黏附、增殖和钙结节形成，上调BMP-2、Runx-2、OCN的表达	[48]
骨碎补总黄酮	3D打印技术/冷冻干燥法	骨碎补总黄酮缓释微球/β磷酸三钙复合支架	对比口服途径，药效更持久，骨修复效果更佳	[49]

SF：丝素蛋白（silk fibroin）；HAp：羟基磷灰石（hydroxyapatite）；PLGA：聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly（lactic-co-glycolic acid）]。

2.2 缓释复合微球/纳米颗粒

虽然骨碎补黄酮类化合物具有免疫反应小、生产成本低等优点，但单独应用于骨缺损存在突发性释放的可

能，这不仅不利于成骨，而且可能引发毒性反应[44]。有研究发现，柚皮苷/SF/HAp支架在20 min内可突发性释放超过70%的柚皮苷，进而引发全身毒性反应[47]。因此，越来越多的学者对装载药物的复合支架进行了改良，制备了具有良好药物缓释性能的复合微球，以实现对缺损部位的可控缓释靶向给药，提高药物的生物利用度及安全性[38]。例如，Meng等[50]通过薄膜水合法制备柚皮苷脂质体，利用超速离心技术制备柚皮苷脂质体/乙酸异丁酸蔗糖酯（sucrose acetate isobutyrate，SAIB）储库。体外实验表明，该储库可产生带负电的纳米级（136.9 nm）颗粒，包封率约为76.3%；体内实验表明，经该储库干预8周后，骨缺损模型大鼠的新骨形成率为57%，远高于对照组的25.18%。PLGA微球是一种生物可降解的聚合物，可作为药物和生长因子的缓释载体，Zhao等[47]采用乳液溶剂蒸发法制备了包载柚皮苷的PLGA微球，并将其与SF/HAp支架结合。体外实验表明，该复合体可持续30 d释放柚皮苷，通过激活Notch信号通路来促进BMSCs黏附、增殖和成骨分化。此外，还有学者为解决柚皮苷亲脂性高、药物溶解度低、不能有效进入细胞膜和细胞核的问题，制备了由反式转录激活因子（trans-activator of transcription，TAT）和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽（arginine-glycin-aspartic acid，RGD）修饰的负载柚皮苷脂质体的纳米颗粒；代谢组学研究结果显示，该纳米颗粒中的柚皮苷可上调磷脂酶A2（phospholipase A2，PLA2）同工酶PLA2G3、PLA2G1B的表达，从而促进人牙髓干细胞的成骨分化[51]。其他研究也证实，相较于普通支架，载有缓释复合微球的支架的作用时间更长，安全性较高，促进成骨的效果也更佳[48—49]。含骨碎补活性成分的缓释复合微球/纳米颗粒信息见表2。

表2　含骨碎补活性成分的缓释复合微球/纳米颗粒信息

活性成分	制备方法	复合微球/纳米颗粒名称	释放效果	文献
柚皮苷	乳液溶剂蒸发法	柚皮苷PLGA微球/SF/HAp支架	药物从微球中持续释放可持续30 d	[47]
	乳液溶剂蒸发法	柚皮苷/明胶微球	6 h时释放35%，12 h时释放低于50%，可持续释放144 h	[48]
	薄膜水合法/超速离心技术	柚皮苷脂质体/SAIB储库	包封率约76.3%，突发释放量从74.4%降低到23.7%	[50]
	薄膜水合法	TAT+RGD/柚皮苷脂质体负载纳米颗粒	12 h时药物释放量为（38.1±1.8）%，36 h时为（63.9±2.2）%	[51]
骨碎补总黄酮	超声乳化溶剂透析法	骨碎补总黄酮缓释微球	较灌胃组药效更持久	[49]

3　结语

骨缺损的治疗难度大、住院周期长、致残率高，给患者及社会带来了极大的负担。传统中药常被认为是骨再生药物的良好替代品，具有安全稳定、价格低廉等优势。大量研究证实，骨碎补活性成分对骨缺损区域的成骨分化和血管形成具有良好的促进作用，可促进成骨细胞增殖，抑制破骨细胞活性，促进成血管-成骨耦联，从而促进骨缺损区骨质矿化和修复重建。将骨碎补活性成分负载于骨组织工程支架或（和）封装于复合微球中，能克服药物的首过效应，提高生物利用度，也解决了药物突发性释放的问题，表现出良好的诱导缺损骨组织生成重塑的潜力，在骨组织工程领域具有广阔的应用前景。但骨缺损修复重建是一个涉及多种细胞及细胞因子参与，多通路、多靶点协同作用的复杂生理过程，骨碎补生物支架与口服给药的促成骨机制是否一致，还有待后续研究进一步证实。

参考文献

[1] 汤胜尧，胡珉华，周若愚，等. 木犀草素对骨缺损成骨修复的作用及机制研究[J]. 中国药房，2023，34（7）：807-813.
TANG S Y，HU M H，ZHOU R Y，et al. Study on the effects and mechanism of luteolin on osteogenic repair of bone defects[J]. China Pharm，2023，34（7）：807-813.

[2] GARCÍA-GARETA E，COATHUP M J，BLUNN G W. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration[J]. Bone，2015，81：112-121.

[3] NORRIS B L，VANDERKARR M，SPARKS C，et al. Treatments，cost and healthcare utilization of patients with segmental bone defects[J]. Injury，2021，52（10）：2935-2940.

[4] 尹子丽，谭文红，冯德强，等. 骨碎补的本草考证及炮制、药用历史沿革[J]. 中国药房，2019，30（12）：1725-1728.
YIN Z L，TAN W H，FENG D Q，et al. Textual research of Drynariae Rhizoma in materia medica and historical evolution of its processing and medicinal use[J]. China Pharm，2019，30（12）：1725-1728.

[5] 谌顺清，梁伟，张雪妹，等. 骨碎补化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志，2021，46（11）：2737-2745.
CHEN S Q，LIANG W，ZHANG X M，et al. Research progress on chemical compositions and pharmacological action of Drynariae Rhizoma[J]. China J Chin Mater Med，2021，46（11）：2737-2745.

[6] 周群，曾弦，黄丹，等. 骨碎补化学成分和生物活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2021，23（8）：2727-2741.
ZHOU Q，ZENG X，HUANG D，et al. Research progress on the chemical composition and biological activity of Drynariae Rhizoma[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol，2021，23（8）：2727-2741.

[7] ZHANG X Z，WANG G K，WANG W D，et al. Bone marrow mesenchymal stem cells paracrine TGF-β_1 to mediate the biological activity of osteoblasts in bone repair[J]. Cytokine，2023，164：156139.

[8] WANG H C，LI C B，LI J M，et al. Naringin enhances osteogenic differentiation through the activation of ERK signaling in human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Iran J Basic Med Sci，2017，20（4）：408-414.

[9] 王军松，李佳，刘桂奇. 骨碎补总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞倍增反应和分化的作用机制实验[J]. 解放军医学院学报，2021，42（2）：202-206.
WANG J S，LI J，LIU G Q. Mechanism of total flavonoids of Drynariae Rhizoma in multiplication response and differentiation of BMSCs in rats[J]. Acad J Chin PLA Med Sch，2021，42（2）：202-206.

[10] CAO X，LIN W L，LIANG C W，et al. Naringin rescued the TNF-α-induced inhibition of osteogenesis of bone

marrow-derived mesenchymal stem cells by depressing the activation of NF-κB signaling pathway[J]. Immunol Res,2015,62(3):357-367.

[11] 龙亚丽,田启会.骨碎补总黄酮对缺氧环境中犬骨髓间充质干细胞成骨分化潜能的影响[J].畜牧兽医学报,2022,53(4):1280-1288.
LONG Y L, TIAN Q H. Effects of total flavonoids of Drynariae Rhizoma on osteogenic differentiation potential of canine bone marrow mesenchymal stem cells in hypoxic environment[J]. Acta Vet Zootech Sin,2022,53(4):1280-1288.

[12] 董航,黄嘉华,麦喆钘,等.载骨碎补总黄酮磷酸钙骨水泥对骨缺损模型大鼠诱导膜中成骨细胞分化的影响及其机制研究[J].中国药房,2019,30(10):1321-1327.
DONG H, HUANG J H, MAI Z X, et al. Study on the effects and its mechanism of calcium phosphate bone cement loading total flavonoids of Davallia mariesii on osteoblast differentiation in induced membrane of bone defect model rats[J]. China Pharm,2019,30(10):1321-1327.

[13] VELASCO-ORTEGA E, FOS-PARRA I, CABANILLAS-BALSERA D, et al. Osteoblastic cell behavior and gene expression related to bone metabolism on different titanium surfaces[J]. Int J Mol Sci,2023,24(4):3523.

[14] SHEN Z, CHEN Z H, LI Z G, et al. Total flavonoids of Rhizoma Drynariae enhances angiogenic-osteogenic coupling during distraction osteogenesis by promoting type H vessel formation through PDGF-BB/PDGFR-β instead of HIF-1α/VEGF axis[J]. Front Pharmacol,2020,11:503524.

[15] 李晋玉.骨碎补总黄酮联合纳米骨材料对成骨细胞增殖分化及血管新生的影响[D].北京:北京中医药大学,2018.
LI J Y. Effects of total flavonoids of Drynariae Rhizoma combined with nano-bone materials on proliferation, differentiation and angiogenesis of osteoblasts[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine,2018.

[16] PENG C H, LIN W Y, LI C Y, et al. Gu Sui Bu(*Drynaria fortunei* J. Sm.)antagonizes glucocorticoid-induced mineralization reduction in zebrafish larvae by modulating the activity of osteoblasts and osteoclasts[J]. J Ethnopharmacol,2022,297:115565.

[17] 吴晶晶,林海雄,孙伟鹏,等.柚皮苷调控成骨细胞成骨分化的机制[J].中国组织工程研究,2023,27(11):1722-1727.
WU J J, LIN H X, SUN W P, et al. Mechanism by which naringin regulates osteogenic differentiation in osteoblasts [J]. Chin J Tissue Eng Res,2023,27(11):1722-1727.

[18] 林春淑,舒晓春,肖菲娜,等.柚皮苷对高糖作用下MC3T3-E1细胞活力和Akt通路相关因子表达的影响[J/OL].中华细胞与干细胞杂志(电子版),2020,10(6):321-327[2023-06-20]. https://kns.cnki.net/knavi/journals/ZXGA/detail? uniplatform=NZKPT. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2020.06.001.
LIN C S, SHU X C, XIAO F N, et al. Effect of naringin on MC3T3-E1 cell viability and expression of Akt pathway-related factors in high glucose environment[J/OL]. Chin J Cell Stem Cell Electron Ed, 2020, 10(6): 321-327[2023-06-20]. https://kns.cnki.net/knavi/journals/ZXGA/detail? uniplatform=NZKPT. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2020.06.001.

[19] 张亚龙,尹文哲,孙奇峰,等.模拟微重力下骨碎补柚皮苷对T细胞干预的成骨细胞BMP-2及OPN蛋白表达的影响[J].中医药学报,2022,50(11):25-30.
ZHANG Y L, YIN W Z, SUN Q F, et al. Effects of *Drynaria fortunei* naringin on protein expressions of BMP-2 and OPN in osteoblasts mediated by T cells under simulated microgravity[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022,50(11):25-30.

[20] UDAGAWA N, KOIDE M, NAKAMURA M, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways[J]. J Bone Miner Metab,2021,39(1):19-26.

[21] ANDREEV D, LIU M D, WEIDNER D, et al. Osteocyte necrosis triggers osteoclast-mediated bone loss through macrophage-inducible C-type lectin[J]. J Clin Invest, 2020,130(9):4811-4830.

[22] KOVÁCS B, VAJDA E, NAGY E E. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-cartilage interface in osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci,2019,20(18):4653.

[23] JIN H, JIANG N N, XU W S, et al. Effect of flavonoids from Rhizoma Drynariae on osteoporosis rats and osteocytes[J]. Biomedecine Pharmacother,2022,153:113379.

[24] ANG E S, YANG X H, CHEN H H, et al. Naringin abrogates osteoclastogenesis and bone resorption via the inhibition of RANKL-induced NF-κB and ERK activation[J]. FEBS Lett,2011,585(17):2755-2762.

[25] 李风波,孙晓雷,马剑雄,等.柚皮苷对破骨细胞凋亡的影响[J].中国矫形外科杂志,2021,29(5):450-454.
LI F B, SUN X L, MA J X, et al. Effect of naringin on apoptosis of osteoclasts *in vitro*[J]. Orthop J China, 2021, 29(5):450-454.

[26] PENG Y, WU S, LI Y S, et al. Type H blood vessels in bone modeling and remodeling[J]. Theranostics, 2020, 10(1):426-436.

[27] 李明,李君,付昆.骨碎补总黄酮对膝骨关节炎模型兔HIF-1α和VEGF表达的影响[J].中国药房,2018,29(18):2484-2488.
LI M, LI J, FU K. Effects of total flavonoids of Drynariae Rhizoma on the expression of HIF-1α and VEGF in knee osteoarthritis model rabbits[J]. China Pharm, 2018, 29(18):2484-2488.

[28] ZHENG Z W, CHEN Y H, WU D Y, et al. Development of an accurate and proactive immunomodulatory strategy to improve bone substitute material-mediated osteogenesis and angiogenesis[J]. Theranostics,2018,8(19):5482-5500.

[29] 申震,陈泽华,郭英,等.骨碎补总黄酮对牵张成骨模型大鼠中H血管及成血管-成骨耦联的作用[J].中华中医药杂志,2022,37(3):1352-1356.
SHEN Z, CHEN Z H, GUO Y, et al. Effects of total flavones of Drynariae Rhizoma on the type of H vessels and angiogenic-osteogenic coupling in rat models of distrac-

tion osteogenesis[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2022,37(3):1352-1356.

[30] LI D, ZHAO D, ZENG Z K, et al. Ternary regulation mechanism of Drynariae Rhizoma total flavonoids on induced membrane formation and bone remodeling in Masquelet technique[J]. PLoS One,2022,17(12):e0278688.

[31] 李定,李悦,黄枫,等.骨碎补总黄酮在诱导膜技术中对骨缺损区域血管形成和成骨质量的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(11):5086-5089.
LI D,LI Y,HUANG F,et al. Effects of total flavonoids of Drynariae Rhizoma on blood vessel and bone quality in bone defect area by Masquelet technique[J]. China J Tradit Chin Med Pharm,2019,34(11):5086-5089.

[32] MOHANTY S,KONKIMALLA V B,PAL A,et al. Naringin as sustained delivery nanoparticles ameliorates the anti-inflammatory activity in a Freund's complete adjuvant-induced arthritis model[J]. ACS Omega,2021,6(43):28630-28641.

[33] SUN H, XU J, WANG Y, et al. Bone microenvironment regulative hydrogels with ROS scavenging and prolonged oxygen-generating for enhancing bone repair[J]. Bioact Mater,2023,24:477-496.

[34] 毛克亚,刘建恒,崔翔.骨组织工程材料在大段骨缺损修复中的应用进展[J].武警医学,2020,31(4):277-280,283.
MAO K Y, LIU J H, CUI X. Application of bone tissue engineering materials in the repair of large bone defects [J]. Med J Chin People's Armed Police Force, 2020, 31(4):277-280,283.

[35] WANG H C, TIAN J J, JIANG Y X, et al. A 3D biomimetic optoelectronic scaffold repairs cranial defects[J]. Sci Adv,2023,9(7):eabq7750.

[36] DU X Y, WEI D X, HUANG L, et al. 3D printing of mesoporous bioactive glass/silk fibroin composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,2019,103:109731.

[37] 张敏,张晓明,刘童斌.柚皮苷在骨组织再生领域的应用潜力[J].中国组织工程研究,2023,27(5):787-792.
ZHANG M, ZHANG X M, LIU T B. Application potential of naringin in bone tissue regeneration[J]. Chin J Tissue Eng Res,2023,27(5):787-792.

[38] 熊伟,袁灵梅,钱国文,等."补肾壮骨"中药应用于骨组织工程支架修复节段性骨缺损[J].中国组织工程研究,2023,27(21):3438-3444.
XIONG W, YUAN L M, QIAN G W, et al. Application of Chinese medicines of tonifying kidney and strengthening bones in the repair of segmental bone defects using bone tissue engineering scaffolds[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2023,27(21):3438-3444.

[39] DONG G C, CHEN H M, YAO C H. A novel bone substitute composite composed of tricalcium phosphate, gelatin and *Drynaria fortunei* herbal extract[J]. J Biomedical Materials Res,2008,84A(1):167-177.

[40] CHEN K Y, DONG G C, HSU C Y, et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous gelatin scaffolds containing *Drynaria fortunei* extract for bone repair[J]. J Biomed Mater Res A,2013,101(4):954-962.

[41] JI Y, WANG L, WATTS D C, et al. Controlled-release naringin nanoscaffold for osteoporotic bone healing[J]. Dent Mater,2014,30(11):1263-1273.

[42] MO Y F, ZHAO F J, LIN Z F, et al. Local delivery of naringin in beta-cyclodextrin modified mesoporous bioactive glass promotes bone regeneration: from anti-inflammatory to synergistic osteogenesis and osteoclastogenesis[J]. Biomater Sci,2022,10(7):1697-1712.

[43] 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.

[44] ZHAO Z H, MA X L, ZHAO B, et al. Naringin-inlaid silk fibroin/hydroxyapatite scaffold enhances human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-based bone regeneration[J]. Cell Prolif,2021,54(7):e13043.

[45] LIANG T T, WU J W, LI F Y, et al. Drug-loading three-dimensional scaffolds based on hydroxyapatite-sodium alginate for bone regeneration[J]. J Biomed Mater Res A, 2021,109(2):219-231.

[46] DONG G C, MA T Y, LI C H, et al. A study of *Drynaria fortunei* in modulation of BMP-2 signalling by bone tissue engineering[J]. Turk J Med Sci,2020,50(5):1444-1453.

[47] ZHAO Z H, MA X L, MA J X, et al. Sustained release of naringin from silk-fibroin-nanohydroxyapatite scaffold for the enhancement of bone regeneration[J]. Mater Today Bio,2022,13:100206.

[48] YU X, SHEN G Y, SHANG Q, et al. A Naringin-loaded gelatin-microsphere/nano-hydroxyapatite/silk fibroin composite scaffold promoted healing of critical-size vertebral defects in ovariectomised rat[J]. Int J Biol Macromol, 2021,193(Pt A):510-518.

[49] 申震,郭英,姜自伟,等.基于骨组织工程技术比较骨碎补总黄酮两种给药方式修复大鼠大段骨缺损模型的效果[J].中国组织工程研究,2022,26(27):4346-4352.
SHEN Z, GUO Y, JIANG Z W, et al. Comparison of the effects between two routes of total flavones of Drynariae Rhizoma administration on large segmental bone defects in rats based on bone tissue engineering technique[J]. Chin J Tissue Eng Res,2022,26(27):4346-4352.

[50] MENG D, SONG J L, YI Y, et al. Controlled released naringin-loaded liposome/sucrose acetate isobutyrate hybrid depot for osteogenesis *in vitro* and *in vivo*[J]. Front Bioeng Biotechnol,2022,10:1097178.

[51] ZHENG C Y, CHU X Y, GAO C Y, et al. TAT&RGD peptide-modified naringin-loaded lipid nanoparticles promote the osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells[J]. Int J Nanomedicine,2022,17:3269-3286.

（收稿日期:2023-10-09　修回日期:2024-03-19）
（编辑:孙　冰）