

基于 Meta 分析整合网络药理学和实验验证研究策略探讨盘龙七片治疗骨折的作用特点和机制

李晓萱^{1,2}, 王佳琳¹, 李玮婕¹, 刘毓东¹, 严倩倩¹, 赵清玉¹, 张彦琼¹,
林雅², 刘春芳^{1*}, 林娜^{1*}

(1. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
2. 福建中医药大学 药学院, 福建 福州 350122)

[摘要] 该研究采用 Meta 分析结合网络药理学与实验验证的研究策略和方法, 旨在明确盘龙七片治疗骨折的临床效果和作用特点, 并初步揭示相关作用机制。首先, 检索并纳入符合标准的盘龙七片治疗骨折随机对照试验(RCTs) 13 项, 分析结果显示, 与对照组相比, 盘龙七片能明显改善患者影像学表现与运动功能, 提高总有效率, 尚能降低肿胀积分和凝血指标, 升高骨生成因子, 促进骨折愈合。收集 GEO 数据库中大鼠骨折不同阶段(骨折 7、14、28 d)差异基因集(GSE262132), 利用 TCMPSP 等数据库获取盘龙七片的药物靶标谱。通过使用 Jaccard 与余弦相似度进行“疾病不同时期-方药”对应性评价, 发现对应性最佳为 7 d(早期); 通过构建“骨折不同时期差异基因-盘龙七片候选靶标”网络进行功能富集分析, 发现各期的核心靶标均富集于调控炎症免疫、疼痛、血液循环和骨代谢的信号通路, 其中相关性最强的为磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt) 信号通路。采用大鼠胫骨横断性骨折模型对上述候选信号分子进行机制验证, 其中 Western blot 检测 PI3K、Akt、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt) 和血管内皮生长因子 A(VEGFA) 的表达水平, ELISA 检测转化生长因子- β (TGF- β)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、骨源性碱性磷酸酶(BALP)、I 型前胶原氨基端前肽(PINP) 和骨钙素(OCN) 的表达水平, 结果显示, 盘龙七片能显著提高愈合组织中 PI3K、p-Akt、Akt 和 VEGFA 的蛋白表达水平, 也能明显升高血清中 TGF- β 、BMP-2、BALP、PINP、OCN 的含量, 表明盘龙七片促进骨折愈合的机制可能与激活 PI3K-Akt 信号通路有关。研究结果有助于阐明盘龙七片的功效内涵, 指导盘龙七片临床合理用药。

[关键词] 盘龙七片; 骨折; Meta 分析; 网络药理学; 临床疗效

Action characteristics and mechanisms of Panlongqi Tablets in treating fractures based on research strategy integrating Meta-analysis, network pharmacology, and experimental verification

LI Xiao-xuan^{1,2}, WANG Jia-lin¹, LI Wei-jie¹, LIU Yu-dong¹, YAN Qian-qian¹, ZHAO Qing-yu¹,
ZHANG Yan-qiong¹, LIN Ya², LIU Chun-fang^{1*}, LIN Na^{1*}

(1. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] This study adopted a research strategy and method integrating Meta-analysis, network pharmacology, and experimental verification, aiming to clarify the clinical effect and action characteristics of Panlongqi Tablets in treating fractures and preliminarily re-

[收稿日期] 2025-12-30

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2024E003KC-05); 中国中医科学院中药研究所技术服务项目(H2024003)

[通信作者] * 林娜, 研究员, 博士生导师, 主要从事抗炎中药药理研究, E-mail: linna888@163.com; * 刘春芳, 研究员, 主要从事抗炎中药药理研究, E-mail: chunfang666@126.com

[作者简介] 李晓萱, 硕士研究生, E-mail: 1106583047@qq.com

veal the related action mechanism. Firstly, 13 randomized controlled trials (RCTs) of Panlongqi Tablets for treating fractures that met the criteria were retrieved and included. The analysis results show that compared with the control group, Panlongqi Tablets could significantly improve the imaging manifestations and motor function of patients, increase the total effective rate, reduce the swelling score and coagulation indicators, and increase the osteogenic factors, thereby promoting fracture healing. Secondly, the differential gene set of rat fractures at different stages (seven, 14, and 28 days) in the GEO database, namely GSE262132, was collected, and the drug target spectra of Panlongqi Tablets were obtained from databases such as TCMSP. Through the correspondence evaluation for the "disease at different stages and prescription" by using Jaccard and cosine similarity, it was found that the best correspondence was at seven days (early stage). Through the construction of the "differential genes at different fracture stages and candidate targets of Panlongqi Tablets" interaction network for functional enrichment analysis, it was found that the core targets in each stage were enriched in signaling pathways regulating inflammation immunity, pain, blood circulation, and bone metabolism, among which the correlation was the strongest as the phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signaling pathway. The mechanism of the above candidate signaling molecules was verified by using a rat model of tibial transverse fracture. Western blot was used to detect the expression levels of PI3K, Akt, phosphorylated protein kinase B (p-Akt), and vascular endothelial growth factor A (VEGFA), and ELISA was used to detect the expression levels of transforming growth factor β (TGF- β), bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), bone alkaline phosphatase (BALP), type I procollagen amino-terminal propeptide (PINP), and osteocalcin (OCN). The results show that Panlongqi Tablets could significantly increase the protein expression levels of PI3K, p-Akt, Akt, and VEGFA in the healing tissue and could significantly elevate the contents of TGF- β , BMP-2, BALP, PINP, and OCN in the serum, indicating that the mechanism of Panlongqi Tablets promoting fracture healing may be related to the activation of the PI3K-Akt signaling pathway. The research results are helpful to clarify the efficacy connotation of the "Qi yao" and guide the rational clinical medication of Panlongqi Tablets.

[Key words] Panlongqi Tablets; fracture; Meta-analysis; network pharmacology; clinical efficacy

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20260120.701

骨折是人类最常见的创伤性疾病,5%~10%的骨折无法正常愈合并发生骨不连^[1]。骨折属中医“痹证”范畴,《桡骨远端骨折中西医结合诊疗指南(2024年版)》^[2]主张早、中、晚分期论治,早期以活血化瘀、理气止痛为主;中期以和营生新、接骨续损为主;晚期则以补养气血、补益肝肾等为主^[3]。盘龙七片为陕西盘龙药业集团股份有限公司的独家产品,由盘龙七、老鼠七、青蛙七、羊角七、白毛七、竹根七、扣子七等共29味中药组成,是以“七药”为特色的秦药优势中成药,具有活血化瘀、祛风除湿、消肿止痛、强筋壮骨的功效,临床有效治疗骨质疏松性椎体压缩骨折、四肢骨折、创伤性骨折等不同类型骨折^[4],但其临床治疗骨折的疗效优势及作用机制均不清楚。

本研究首先通过Meta分析评价盘龙七片干预骨折的临床疗效,其次以网络药理学方法进行“方药-疾病不同时期”的对应性评价,建立药物与各期疾病靶标和生物通路之间的网络关系,明确盘龙七片治疗骨折的作用特点,探索其相关作用机制,并以大鼠横断性骨折模型,验证其促进骨折愈合的关键作用机制,为临床合理应用奠定基础。

4828

1 材料

1.1 动物

72只健康SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,体重(260±20)g,购自北京维通利华实验动物有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0005。饲养于中国中医科学院中药研究所实验动物中心SPF级环境下,12只/笼进行喂养,共6笼。动物室干净明亮,通风情况良好,室温(24±1)℃,湿度55%±5%,给予固体饲料饲养,自由饮水,适应性喂养1周。本研究中的动物实验获得中国中医科学院实验动物福利伦理委员会批准,伦理审查编号2024B406。依照中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》处置实验动物。

1.2 药品与试剂

盘龙七片(陕西盘龙药业集团股份有限公司,批号20240108)、接骨七厘胶囊(湖南金沙药业有限公司,批号230302)、400万注射用青霉素钠(河北远征药业有限公司,批号20230628000040241924-0300)、4%多聚甲醛固定液(武汉塞维尔生物科技有限公司,货号GP231030115922)、苏木素-伊红(HE)染色液(北京索莱宝科技有限公司,货号G1100)、

PBS 缓冲液(武汉博士德生物工程有限公司,货号AR0030)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号 27921-1-AP)、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号 66444-1-Ig)、蛋白激酶 B(Akt)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号 10176-2-AP)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号 19003-1-AP)、骨源性碱性磷酸酶(BALP)ELISA Kit(上海酶联生物科技有限公司,货号 ml003415)、骨钙素(OCN)ELISA Kit(上海酶联生物科技有限公司,货号 ml106924)、I 型前胶原氨基端前肽(PINP)ELISA Kit(上海酶联生物科技有限公司,货号 ml038224)、转化生长因子- β (TGF- β)ELISA Kit(上海酶联生物科技有限公司,货号 ml107101)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)ELISA Kit(上海酶联生物科技有限公司,货号 ml102832)。

1.3 仪器

全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司,型号 Tanon-5200-87)、水平摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司,型号 TS-1)、台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号 H1850R)、酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司,型号 Multiskan FC)、医用电动锯钻(芜湖锐进医疗设备有限公司,型号 RJ-PS NS-2011)、电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司,型号 BSA3202S-CW)、正置显微镜(日本奥林巴斯公司,型号 BX50)。

2 方法

2.1 系统性评价

2.1.1 文献检索 中文数据库包括中国知网、万方数据库、维普数据库;英文数据库包括 PubMed、Web of Science、Cochrane Library。检索日期自建库至 2025 年 12 月。中文数据库采用题名与关键词结合的方式分别进行检索,以数据库过滤器对结果进行进一步筛选。检索词包括“盘龙七”“盘龙七片”“骨折”“临床疗效”“疗效”“临床观察”。英文库根据不同数据库采用与之对应的主题词、自由词或关键词结合的方式进行检索。检索词包括“panlongqi”“panlongqi tablet”“panlongqi pian”“fracture”“bone injury”。

2.1.2 纳入标准 研究类型为随机对照试验(RCTs);研究对象为骨折患者,骨折类型不做限定;

干预措施为采用盘龙七片治疗或盘龙七片辅助治疗;结局指标包括总有效率、血浆纤维蛋白原、血小板聚集率、OCN、不良反应发生率。

2.1.3 排除标准 重复发表的文献;未设置对照的临床研究;严重数据缺失或无法获得数据的文献;文献综述。

2.1.4 数据收集提取及质量评价 对检索到的文献进行筛选、提取和核对,经过合并后删除重复文献,审查标题和摘要,以决定是否满足检索条件。数据提取格式包括作者、发表年份、题目、关键词、骨折类型、试验组和对照组的干预方式及例数、RCTs 方式、疗程等。数据结果包括总有效率、血浆纤维蛋白原、血小板聚集率、OCN。以上操作均由 2 名研究人员分别进行,存在分歧时由第 3 名研究人员进行判断。按照 Cochrane Handbook 5.0 对所收录的文献进行抽取和规范化,从随机分配方法、分配方案隐藏、盲法、结果数据的完整性、选择性报告结果及其他偏倚 6 个方面进行风险偏倚和质量评估。

2.1.5 统计学分析 利用 Reviewer Manager 5.4,对各结局指标进行 Meta 分析。二分类变量,采用溢出比(OR)及其 95%可信区间(CI)表示;连续性变量,采用均数差(MD)及其 95% CI 或标准化均值差(SMD)及其 95% CI 表示。采用 I^2 值和 Q 检验 P 值作为评估指标,以检验各研究间的异质性。当 $I^2 < 50\%$ 且 Q 检验 $P > 0.05$ 时,说明异质性较低,可用固定效应模型进行分析;反之,则采用随机效应模型分析。

2.2 盘龙七片干预不同时期骨折的网络药理学分析

2.2.1 骨折不同时期核心靶标谱的获取 利用 GEO 数据库获取骨折大鼠骨组织转录组表达谱数据集(GSE262132)。利用该数据集骨折后第 0、7、14、28 天的组织样品进行的全转录组高通量测序结果进行分析,以 $P < 0.01$ 、 $|\log_2 \text{fold change}| > 2$ 进行筛选,并通过 UniProt 数据库进行基因名规范化。将所得靶标导入 Cytoscape 软件,计算其拓扑特征值,以大于等于所计算中位数为标准进行筛选,作为骨折早、中、晚期核心基因集。

2.2.2 盘龙七片药物靶标谱的获取 盘龙七片复方中 29 味中药的化学成分及候选靶标预测采用中医药整合药理学网络计算研究平台(TCMSP)、本草组鉴(Herbs)、PubChem 数据库分别收集,以课题组

前期所做盘龙七片体内、外成分谱^[5]为补充,合并去重后将候选靶标名称输入 UniPort 数据库进行规范化,得到盘龙七片药物靶标谱。

2.2.3 骨折不同临床分期症状及相关靶标库构建

在《桡骨远端骨折中西医结合诊疗指南(2024年版)》等指导下,收集骨折早期、中期和晚期3个临床分期的症状。利用人类表型术语集(HPO)、GeneCards 获取上述临床分期相关现代医学症状与基因集。

2.2.4 “疾病不同时期-方药”对应性评价 Jaccard 相似度用于衡量有限样本集之间的相似性与差异性,Jaccard 相似度越大,样本相似度越高;余弦相似度(Cos)可通过计算2个向量的夹角余弦值评估二者的相似性(相似度-1~1)^[6-7]。本研究分别计算盘龙七片与骨折早、中、晚期在靶标基因层面的 Jaccard 相似度、在富集通路层面的 Cos。参考文献方法^[8],本研究用 TF-IDF 编码结合 Python,采用 pandas、sklearn、numpy 函数进行计算。

2.2.5 盘龙七片干预早、中、晚期骨折的网络分析

将盘龙七片药物靶标分别与疾病各期靶标合并,导入 STRING 数据库进行网络相互作用分析,再利用“betweenness centrality”“closeness centrality”“degree”的中位数值进行筛选,获得盘龙七片干预各期骨折的核心靶标。导入 DAVID 数据库进行通路富集分析。

2.3 盘龙七片干预骨折的潜在机制验证

2.3.1 骨折模型构建 参照文献方法,以气麻机麻醉大鼠(异氟烷),进行大鼠右下肢备皮及消毒,充分暴露胫骨干,用电锯切割致其完全断裂,造成大鼠右下肢胫骨横断性胫骨骨折加肌肉钝性分离后,采用直径1.0 mm 克氏针固定。术毕用0.9%氯化钠溶液清洁并缝合包扎并连续3 d 肌注 8×10^5 U · mL⁻¹ 青霉素钠溶液预防感染^[9]。

2.3.2 分组给药与样本收集 72 只大鼠随机分为6组,每组12只,分别为假手术组,模型组,盘龙七片低($0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中($0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、高($0.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)剂量组(分别相当于临床等效剂量0.5、1、2倍),接骨七厘胶囊组($0.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,相当于临床1倍等效剂量)。于造模成功后次日开始灌胃给药,假手术组及模型组按体质量给予蒸馏水灌胃,每日1次,持续给药1周。采用过量麻醉法(2%戊巴比妥钠)结合腹主动脉取血方式处死动物,取右下肢胫

骨剔除附近肌肉组织与克氏针。每组随机选取6只在4%多聚甲醛固定液进行固定,48 h 后进行10% EDTA 脱钙等步骤,制成以骨折断端为中心、厚4 μm 的纵向石蜡切片,余下6只于-80℃冰箱保存。

2.3.3 HE 染色 将组织石蜡切片脱蜡复水,苏木素染色5 min,分化返蓝2 min,伊红染色2 min,脱水透明,最后用中性树脂封片,显微镜镜检。采用 CaseViewer 软件任意采集3个视野,ImageJ 软件统计至少3个视野阳性表达区域面积。

2.3.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测细胞相关蛋白表达 取处理好的骨缺损组织部位上清液,采用 BCA 法测定蛋白浓度,经电泳后转移至 PVDF 膜,随后封闭,完成后加入相应一抗,4℃孵育过夜。次日洗去一抗液后,室温二抗摇床孵育2 h。采用化学发光成像仪进行曝光,ImageJ 软件统计灰度。

2.3.5 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测骨折大鼠血清骨生成因子的表达 将收集的全血在室温下静置2 h, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,收集上清液,用 ELISA 法检测大鼠血清中 TGF-β、BMP-2、BALP、PINP、OCN 水平。

3 结果

3.1 盘龙七片干预骨折临床疗效的 Meta 分析

3.1.1 文献检索结果以及纳入文献基本特征 初始检索到中外文文献共73篇,包括 CNKI 28 篇、万方23篇、维普22篇,其他英文数据库0篇。通过 NoteExpress 软件排除重复文献,阅读剩下文献的题名与摘要,共排除56篇。剩下17篇下载全文进行阅读,排除4篇文献,最终纳入 Meta 分析共13篇,筛选流程图见中国知网本文增强出版附加材料。

共纳入13项 RCTs,总样本量为1 121 例^[10-22],对照组495例,试验组626例患者,最小样本量30例^[21],最大样本量101例^[22]。各 RCTs 中试验组的干预措施均为盘龙七片单用(8项)或其他疗法联用(5项),最短用药时间为1周^[10,17,22],最长用药时间为4周或至骨折愈合^[16,19-21],治疗前纳入研究的病例基本情况差异无统计学意义,具有可比性。具体文献特征见中国知网本文增强出版附加材料。

3.1.2 方法学质量评价 纳入的13篇 RCTs 均为随机分配,但均未提及具体的随机分配方法,评价为不确定。13篇文献均未描述分配隐藏方法,评价为不确定。共有2篇研究^[17-18]使用的盲法为单盲,评价为低风险;其余研究均未提及盲法,评价为不确

定。随访偏倚中,纳入文献均无脱落、失访或退出等情况,且均附有完整的结果报告,评价为低风险。所有文献均报道了预设的结局指标,均未说明其他偏倚情况,故报告偏倚方面评价为低风险。纳入的RCTs 风险偏倚情况见图1。

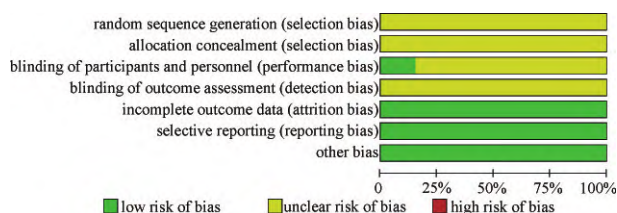


图1 纳入文献质量评价

Fig. 1 Quality evaluation of included literature

3.1.3 总有效率的 Meta 分析 总有效率参考《中

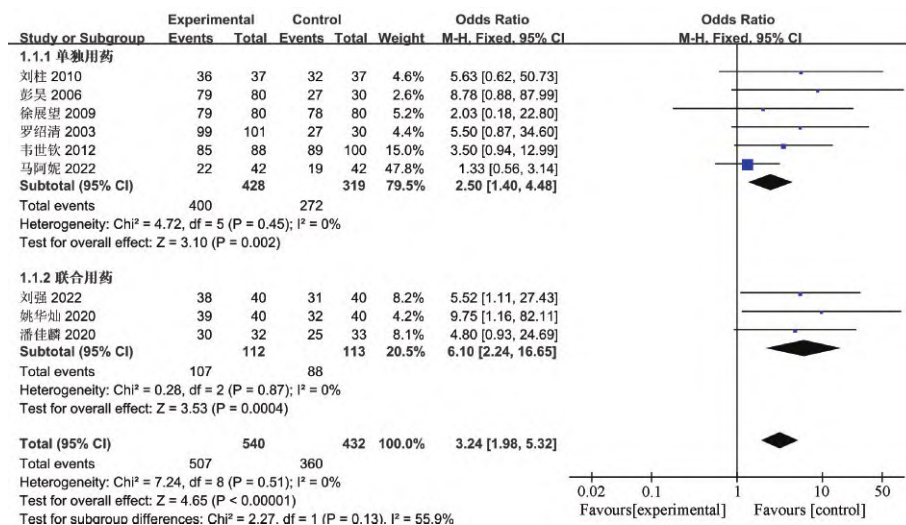


图2 2组临床总有效率比较

Fig. 2 Comparison of total clinical effective rates of two groups

总有效率绘制漏斗图见图3,对总有效率进行发表偏倚评估,可见大部分研究分布在漏斗图中上部,且向中间集中,但左右2边散点呈不对称分布,表明研究存在一定发表偏倚。

3.1.4 其他指标的 Meta 分析 2项研究^[13-14]报道了肿胀积分,将其进行异质性检验,异质性检验结果显示, $I^2 = 0\%$, Q 检验 $P = 0.90$,异质性较低,故采用固定效应模型。结果显示,试验组的肿胀积分低于对照组 [$MD = -1.22$, $95\% CI (-1.30, -1.14)$, $P < 0.001$]。2项研究^[19-20]报道了血浆纤维蛋白原,将其进行异质性检验,异质性检验结果

医病证诊断疗效标准(骨伤科)》或其他临床诊断标准、影像学等来评估临床患者治疗疗效。其主要以骨折对位是否成功、骨折线是否模糊、功能是否恢复为评判标准。9篇RCTs^[11-15,17,19-20]报道了临床总有效率,对其进行异质性检验,因统计学异质性较小 [$I^2 = 0\%$, Q 检验 $P = 0.51$],临床异质性可以接受采用固定效应模型进行分析。结果显示,合并后样本量为972例,合并效应具有统计学意义 [$OR = 3.24$, $95\% CI (1.98, 5.32)$, $Z = 4.65$, $P < 0.001$],Meta分析结果显示,试验组的总有效率明显高于对照组。根据试验组盘龙七片单用或联用情况进行亚组分析,结果显示,单用盘龙七片治疗骨折组 [$OR = 2.50$, $95\% CI (1.40, 4.48)$, $Z = 3.10$, $P < 0.005$]或联用治疗骨折组 [$OR = 6.10$, $95\% CI (2.24, 16.65)$, $Z = 3.53$, $P < 0.001$]的总有效率均优于对照组,见图2。

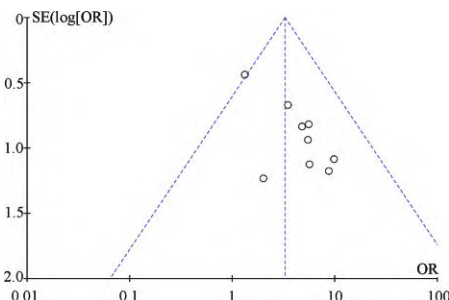


图3 总有效率的发表偏倚

Fig. 3 Publication bias of total effective rates

显示, $I^2 = 48\%$, Q 检验 $P = 0.16$,异质性较低,故采

用固定效应模型。结果显示,试验组的血浆纤维蛋白原低于对照组[MD = -0.75, 95% CI (-0.83, -0.67), $P < 0.001$]。2项研究^[19-20]报道了血小板聚集率,将其进行异质性检验,异质性检验结果显示, $I^2 = 0\%$, Q 检验 $P = 0.73$, 异质性较低,故采用固定效应模型。结果显示,试验组的血小板聚集率明显低于对照组[MD = -6.99, 95% CI (-10.19, -3.79), $P < 0.001$]。2项研究^[13-14]报道了骨钙素,将其进行异质性检验,异质性检验结果显示, $I^2 = 0$, Q 检验 $P = 0.51$, 异质性较低,故采用固定效应模型。结果显示,试验组的骨钙素高于对照组[MD = 3.17, 95% CI (2.82, 3.52), $P < 0.001$], 见表1, 相关森林图见中国知网本文增强出版附加材料。

表1 各指标 Meta 分析结果汇总

Table 1 Summary of Meta-analysis results for each indicator

指标	异质性 / %	均数差 (MD)	置信区间
肿胀积分	0	-1.22	(-1.30, -1.14)
血浆纤维蛋白原	48	-0.75	(-0.83, -0.67)
血小板聚集率	0	-6.99	(-10.19, -3.79)
骨钙素	0	3.17	(2.82, 3.52)

注:均为固定效应模型。 P 均 <0.001 。

3.1.5 不良反应发生情况 2项研究^[13-14]报道了不良反应,其中1项观察组有3名患者,治疗期间各出现暖气、腹胀、恶心,对照组有2名患者,治疗期间各出现暖气、恶心;另一项对照组有9名患者出现不良反应,其中4例患肢缩短、2例股骨头坏死、3例延迟愈合,治疗组2名患者出现不良反应,其中1例患肢缩短、1例股骨头坏死。

3.2 盘龙七片干预骨折的关联网络分析

3.2.1 骨折不同分期靶标谱的获取 利用 GEO 数据库获取基于骨折大鼠骨组织相关的基因表达谱数据集(GSE262132),并通过 UniProt 数据库进行基因名规范化,获得差异表达基因早期(骨折7 d)2 160个、中期(骨折14 d)1 337个、晚期(骨折28 d)1 087个。再利用 Cytoscape 软件计算拓扑特征值“betweenness centrality”“closeness centrality”“degree”的中位数进行筛选,得到早期核心靶标 375个,中期核心靶标 261个,晚期核心靶标 204个。

4832

3.2.2 盘龙七片药物核心靶标谱的获取 通过 TCMSp、Herbs、PubChem 数据库收集盘龙七片药物靶点,以课题组前期所鉴定的盘龙七片成分^[5]对应靶点为补充靶点,将所有候选靶标名称输入 UniPort 数据库进行规范化后合并去重,共收集到盘龙七片复方相关靶标 329个。

3.2.3 骨折早、中、晚期临床症状及相关靶标收集

基于 GeneCards、HPO 数据库收集到骨折早、中、晚期临床症状与相关靶标(其中早期临床症状包括局部疼痛、持续性疼痛、刺痛、血肿、局部功能活动障碍、头晕目沉、夜间疼痛、四肢乏力、畸形等;中期包括中度肿胀、活动功能障碍、中度至轻微疼痛、关节畸形、酸痛、疲劳等;晚期包括机化、肌肉萎缩、软组织挛缩、关节强直、局部发冷、气短、口干等)。

3.2.4 骨折早期可能为盘龙七片干预骨折的临床优势分期 从盘龙七片与骨折的3个不同临床分期在“药物与疾病基因相似度”“富集通路相似度”2个层面进行“病-方”的对应性计算。结果显示,盘龙七片与骨折早期在2个层面具有最高相似度,分别为0.058 6、0.960 8,其次是中期(相似度0.053 5、0.960 4),最后是晚期(相似度0.030 9、0.955 9),见中国知网本文增强出版附加材料。依据“相似性越高的‘病-方’对应性越好”原理,得出盘龙七片干预骨折早期的对应性最佳,中期次之,晚期最后。

3.2.5 盘龙七片通过调节机体免疫炎症、血液循环与骨代谢促进骨折愈合 构建“骨折不同时期差异基因-盘龙七片候选靶标”网络,分别导入 DAVID 数据库进行通路富集分析,经 $P < 0.001$ 、FDR < 0.001 的筛选,得到早、中、晚期的通路富集结果。分别计算各期筛选后通路 P 的平均值,取其最小的前30条通路,作为盘龙七片干预骨折的共同通路环节。

功能挖掘结果表明,其主要参与机体“免疫-炎症”平衡[PI3K-Akt、Th17 细胞分化、T 细胞受体(TCR)、白细胞介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子(TNF)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Ras、cAMP 等信号通路]、血液循环系统[补体与凝血级联反应、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路、松弛素(relaxin)信号通路、流体剪切力与动脉粥样硬化]、愈伤组织重塑[细胞衰老、凋亡、破骨细胞分化、肿瘤抑制因子(p53)、聚焦黏附、FoxO 等信号通路],此外,还参与疼痛信号传导与氧化应激调节等。提取网络核心靶

标进一步发现,盘龙七片中槲皮素(querletin)、丹参酮Ⅱ_A(tanshinone Ⅱ_A)、 β -谷甾醇(β -sitosterol)、芹菜素(apigenin)、汉黄芩素(wogonin)、刺芒柄花素(formononetin)、隐丹参酮(cryptotanshinone)、 β -胡萝卜素(β -carotene)、桃叶珊瑚苷(aucubin)等改善骨折进展过程中的肿胀、持续性疼痛、刺痛、酸痛、肌肉萎缩、肢体麻木、活动受限、血肿、发热、气短等临床症状,这些成分归属于杜仲、丹参、秦艽、红花、没药、牛膝、当归、伸筋草等,见中国知网本文增强出版附加材料。

3.2.6 盘龙七片干预骨折各期的作用特点及机制

将盘龙七片药物靶标与骨折早期核心靶标合并,导入 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析。构建盘龙七片-骨折早期“化学成分-靶标基因-生物效应-症状表型”多维网络,见中国知网本文增强出版附加材料,包括丹参新醌乙、山柰素、表奎宁定、二氢丹参内酯、汉黄芩素等主要成分,PIK3CG、ADRB2、BCL2、TNF、CAMK2D、IL-4 等关键靶点。其核心效应靶标通过调节机体“免疫-炎症”失衡(PI3K-Akt 信号通路、B 细胞受体信号通路)、血液循环系统[血管舒张(oxytocin 信号通路)、凝血调节(补体及凝血级联反应)、血管生成(间隙连接)]、愈伤组织重塑[激素调节(甲状旁腺激素、甲状腺激素与生长激素的合成、分泌及作用)、破骨细胞的生成与迁移(磷脂酶 D 信号通路)、能量代谢(脂肪分解途径、精氨酸和脯氨酸代谢途径)]、疼痛信号转导(炎症介质对 TRP 通道的调节)等来改善骨折早期的持续性疼痛、刺痛、血肿、皮肤炎症异常、反复出血、畸形等表型症状。

将盘龙七片药物靶标与骨折中期核心靶标合并,进行通路富集分析,构建盘龙七片-骨折中期“化学成分-靶标基因-生物效应-症状表型”多维网络,见中国知网本文增强出版附加材料,包括槲皮素、芹菜素、刺芒柄花素、山柰素、隐丹参酮、汉黄芩素等主要成分,CCND3、FGFR4、MYC、IGF1R 等关键靶点。其核心靶标通过调节机体“免疫-炎症”(PI3K-Akt 信号通路、趋化因子信号通路)、血液循环系统[凝血调节(血小板激活)]、愈伤组织重塑[干细胞分化(造血细胞谱系、调节干细胞多能性)、细胞功能进程调节(Hippo 信号通路、细胞周期、细胞因子-细胞因子受体相互作用)、骨髓脂肪代谢(脂肪细胞因子信号通路、胰岛素信号通路)、物质代谢(碳水化合物的消化与吸收、细胞色素 P450 对外源性药物的

代谢作用)]、神经系统调节(神经退行性病变途径)来改善骨折中期的运动障碍、酸痛、易疲劳、机化、发热等表型症状。

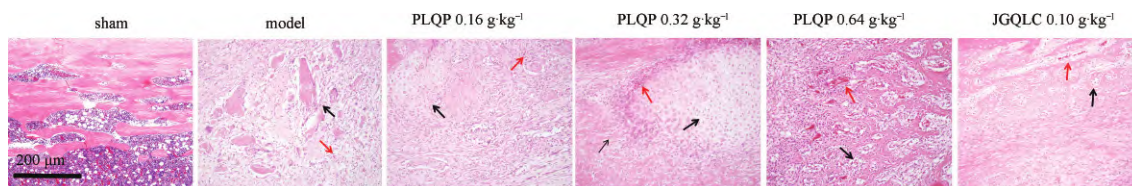
将盘龙七片药物靶标与骨折晚期核心靶标合并,进行通路富集分析,构建盘龙七片-骨折晚期“化学成分-靶标基因-生物效应-症状表型”多维网络,见中国知网本文增强出版附加材料,包括丹参酮Ⅱ_A、 β -谷甾醇、 β -胡萝卜素、丹参新醌乙、槲皮素等主要成分,VEGFA、MMP2、EDN1、MMP9、VEGFC、ITGB3 等关键靶点。其核心效应靶标通过调节机体“免疫-炎症”(PI3K-Akt 信号通路)、血液循环系统[血管舒张(松弛素信号通路)、血管生成(趋化因子信号通路)]、愈伤组织重塑[骨生成(类固醇激素生物合成)、软骨代谢(ECM 受体相互作用)、细胞功能进程调节(细胞周期、细胞因子-细胞因子受体相互作用)、骨髓脂肪细胞代谢(脂肪细胞因子信号通路、胰岛素信号通路)、物质代谢(花生四烯酸代谢、半乳糖代谢、碳水化合物的消化与吸收)]等来改善骨折晚期的软组织挛缩、机化、气短、关节强直、腰痛、局部发冷、易疲劳等症状。

3.3 盘龙七片通过 PI3K-Akt 信号通路促进骨折愈合

网络分析结果提示,盘龙七片总体干预骨折相关性最强的通路为 PI3K-Akt,表明其可能主要通过 PI3K-Akt 信号通路发挥药效。研究表明,该通路可激活下游的 VEGF,加速骨折区域血管重建,改善血流速度与骨折早期的缺氧微环境^[23-24]。鉴于此,本研究进一步采用胫骨横断性骨折早期大鼠模型,考察其作用和机制。

HE 染色结果显示,假手术组骨组织结构完整,未见明显异常改变。模型组骨折线清晰可见,周围骨组织坏死、充血水肿,有较多炎性细胞浸润,大量纤维肉芽组织增生,骨皮质附近有少量软骨细胞形成的骨痂。盘龙七片低剂量组、中剂量组和接骨七厘胶囊组大鼠骨折线周围可见较多纤维组织增生,同时骨皮质处有较多软骨组织和血管,盘龙七片高剂量组大鼠骨折线周围可见大量软骨组织和血管及少量纤维组织,见图 4。

Western blot 结果显示,与假手术组比较,模型组 PI3K、Akt、p-Akt、VEGF 表达量显著升高;与模型组比较,盘龙七片各给药组及接骨七厘胶囊组 PI3K、Akt、p-Akt、VEGF 表达均显著增多,其中效果



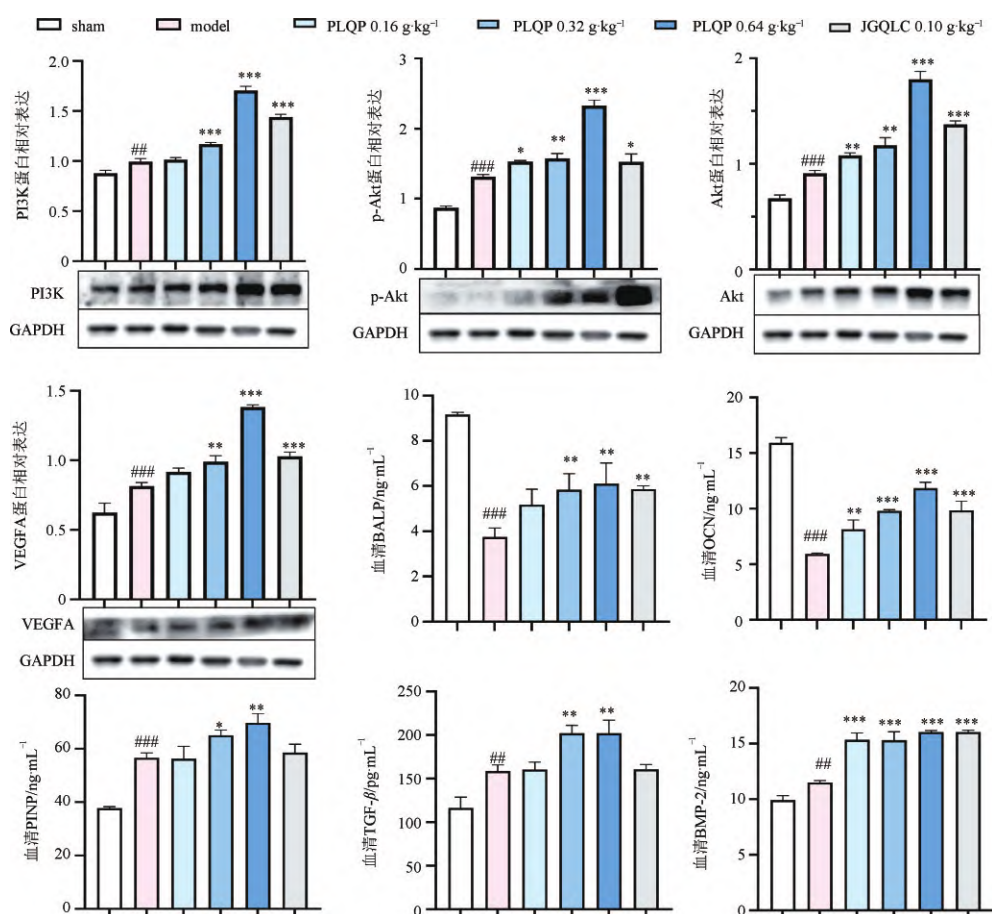
sham. 假手术组; model. 模型组; PLQP. 盘龙七片组; JGQLC. 接骨七厘胶囊组(图5同)。黑色箭头指示软骨, 红色箭头指示血管。

图4 盘龙七片对早期骨折大鼠愈合组织组织病理学改变的影响(HE染色)

Fig. 4 Effect of Panlongqi Tablets on histopathological changes of healing tissue in rats with early-stage fracture(HE staining)

最好的为盘龙七片高剂量组; ELISA 结果显示, 与假手术组相比, 模型组大鼠血清 BALP、OCN 均显著降低, BMP-2、PINP、TGF- β 均显著升高; 与模型组相比,

盘龙七片各剂量组及接骨七厘胶囊组给药后 OCN、BMP-2 不同程度显著升高, 盘龙七片中、高剂量组的 BALP、PINP、TGF- β 显著升高, 见图5。



与假手术组相比^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$; 与模型组相比^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ 。

图5 盘龙七片对骨折早期大鼠 PI3K、p-Akt、Akt、VEGFA 及骨生成因子表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effects of Panlongqi Tablets on expression of PI3K, p-Akt, Akt, VEGFA, and osteogenic factors in rats with early-stage fracture($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

骨折愈合是一个复杂的过程, 涉及多种细胞之

间的信号转导和生物效应。盘龙七片由 16 味活血化瘀药、9 味祛风湿药、4 味补肝肾强筋骨药共同

组成,具有镇痛、抗炎、改善凝血异常、促进微循环等作用,可促进骨折部位血管生成因子的表达,加速 HUVEC 小管形成和提高其侵袭能力^[25],激活 Wnt/ β -catenin 通路促进软骨分化^[26],抑制骨折机体炎症反应,从而促进骨折的愈合^[27]。然而,其干预骨折的临床疗效、优势特点及潜在机制尚不明确。本研究首先通过收集历年盘龙七片干预骨折的 RCTs 进行 Meta 分析;再通过网络药理学技术评价“病-方”对应性,并构建关联网络,揭示方药干预骨折的优势分期及特点和作用机制;最后通过动物实验验证其核心机制。

Meta 分析结果显示,与对照组相比,盘龙七片单用或联用均可提高骨折愈合的总有效率,还能降低骨折患者肿胀积分、血液流变学指标,升高骨钙素,提示盘龙七片能够有效治疗骨折,且可能具有消肿、改善血液循环和促进成骨的功效。当然,本研究尚存在不足:首先,纳入 RCTs 均为中文文献,缺乏多样性,且文献整体质量较低,随机方法、分配隐藏报告不清,存在发表偏倚;其次,结局指标以肿胀积分、血液流变学指标等为主,包含炎症因子、疼痛等指标的 RCTs 少,数据可靠性不佳,故未对其进行相关分析;第三,本次纳入的 RCTs 中,盘龙七片的治疗疗程有 1 周至愈合等不同时间,而关于骨折患者接受盘龙七片治疗时的病程,仅有 4 篇提及患者病程为 3 d 以内,其余均未提及骨折时间,提示盘龙七片可能在骨折早、中、晚期均有应用,但无法明确其临床应用的优势分期。因此,未来有待更多高质量、大样本的临床随机对照试验进一步明确其干预骨折的疗效特点。

接着,本文开展网络药理学研究分析盘龙七片促进骨折愈合的可能优势分期及作用机制。首先,以数据库和前期课题组所鉴定成分为依据得到药物靶标谱,通过 GEO 数据库获取疾病差异基因,借鉴国内外权威计算方法^[6-8]从相似性角度进行“病-方”对应性评价,结果显示骨折早期在靶标基因层面 Jaccard 和富集通路层面 Cos 的相似度均最大,中期次之,晚期最后,提示盘龙七片干预骨折早期可能更具优势。“骨折不同时期(7、14、28 d)差异基因-盘龙七片候选靶标”的关联网络分析结果显示,盘龙七片干预骨折的核心效应靶标共同富集于矫正骨折各期机体的“炎症-免疫”失衡、调节骨代谢、愈伤组织重塑与骨保护;调节血

液循环系统、促进血管生成、改善血液流速;调节疼痛信号通路。其中,PI3K-Akt 通路为各期干预骨折相关通路之首。多项研究表明,PI3K-Akt、TCR、Th17 等信号通路与巨噬细胞极化、骨髓间充质干细胞(BMSC)成骨分化、碱性磷酸酶活性有关^[28-30];聚焦黏附、细胞凋亡、Rap1 等信号通路与 BMSC 的迁移分化、骨折愈伤组织重塑有关^[31-34];HIF-1、Relaxin 信号通路中与耦合血管生成、骨骼重塑相关^[35-36]。钙离子信号通路、神经活性配体-受体相互作用等信号通路疼痛信号传导、缓解炎症性疼痛有关^[37-38]。总之,盘龙七片可能通过上述通路矫正机体的“免疫-炎症”失衡、发挥成骨分化、血管生成以及镇痛作用。

除上述共有作用环节外,盘龙七片对骨折各期的干预特点又各有侧重,在骨折早期最为明显。结果显示,在早期,盘龙七片干预环节最多,尤其参与免疫炎症、凝血反应与伤害性刺激转导的调节。研究表明,创伤诱导的补体与凝血级联系统和相互作用的蛋白酶的快速激活不仅导致早期的凝血反应(控制失血),而且还导致早期炎症反应以控制细胞创伤和消除潜在侵袭性微生物^[39]。另外,骨折当下的强烈伤害信号传导导致脊髓内神经肽释放,脊髓神经肽信号与炎症介质表达扩增^[40],感觉神经元中央末端的 TRP 通路能够放大和调节脊髓中神经递质的释放^[41],从而引起疼痛。而在骨折中期,盘龙七片参与凝血、骨代谢、激素、疼痛信号传导的调节。研究表明,Hippo 信号通路在骨折愈合中有促软骨形成的功能^[42]。另有研究证明 NO 在大鼠和人类的骨折愈合过程中均表达,补充 NO 可逆转 NOS 抑制剂产生的愈合抑制^[43]。在骨折晚期,盘龙七片参与血管生成与舒张、骨代谢、激素及物质代谢作用的调节。有研究表明,H 型血管生成和成骨过程成为骨再生过程中的关键机制^[44]。松弛素具有抗纤维化特性,可促进基质金属蛋白酶(MMPs)的表达和活性,促进胶原积累的降解^[45]。而类固醇类激素浓度,尤其是雌激素,对骨骼重塑有重大影响^[46]。以上表明,盘龙七片在骨折早期主要发挥活血化瘀、消肿止痛的作用;在骨折中期承前启后,可同时发挥活血化瘀、消肿止痛、接骨续筋的作用;在骨折晚期富集的生物功能大多与骨重塑相关,表明其在晚期可能侧重发挥接骨续筋的作用。

已知 VEGF 是 PI3K-Akt 信号通路的下游因子之一, 可被 PI3K-Akt 激活, 促进血管生成。同时, PI3K-Akt 通路的激活还可影响骨质疏松大鼠骨生成因子 BALP、BMP、PINP、OCN 的水平^[47-49]。进一步, 为了验证网络预测结果, 聚焦盘龙七片干预骨折各期核心靶标总体相关性第一的 PI3K-Akt 通路, 并结合预测盘龙七片干预骨折早期疗效可能最优的结果, 采用胫骨骨折早期(7 d)大鼠组织进行实验验证。结果显示, 盘龙七片可促进愈伤组织中软骨组织和血管的生成, 显著升高骨折愈伤组织中 PI3K、Akt、p-Akt、VEGF 蛋白及或血清中 BALP、OCN、BMP-2、PINP、TGF- β 的蛋白水平。表明盘龙七片可能通过激活 PI3K-Akt 通路, 促进软骨、血管及骨生成, 进而促进骨折愈合。

本研究 Meta 分析结果显示, 盘龙七片临床有效治疗骨折, 并能消肿、改善血液流变异常、促进成骨。“病-方”关联网络分析表明, 盘龙七片对骨折早期疗效可能更具优势, 而各期共同通过调节免疫炎症、疼痛信号转导、血液循环及骨代谢等环节而发挥活血化瘀、消肿止痛、强筋壮骨的功效, 且总体以 PI3K-Akt 信号通路相关性最强。最后通过动物实验证明, 盘龙七片可促进 PI3K-Akt 信号通路关键蛋白 PI3K、Akt、p-Akt 的表达, 亦促进其下游 VEGFA、TGF- β 、BMP-2、BALP、PINP、OCN 的表达。以上表明盘龙七片促进骨折愈合, 且可能对骨折早期的疗效最优, 其机制与激活 PI3K-Akt 信号通路, 促进细胞增殖、血管生成有关。相关研究有助于指导盘龙七片临床合理用药, 阐明“七药”的功效内涵。

[参考文献]

- [1] JAMAL M S, HURLEY E T, ASAD H, et al. The role of platelet rich plasma and other orthobiologics in bone healing and fracture management: a systematic review[J]. J Clin Orthop Trauma, 2022, 25: 101759.
- [2] 中华中医药学会. 桡骨远端骨折中西医结合诊疗指南(2024年版)[J]. 中医正骨, 2025, 37(1): 1.
- [3] 张玮, 苑珍珍. 内固定联合中药与单纯内固定治疗股骨颈骨折术后疗效及并发症的 Meta 分析[J]. 湖南中医杂志, 2024, 40(8): 135.
- [4] 龚庆凤. 盘龙七片的药理作用和临床用途[J]. 中外医疗, 2009, 28(21): 167.
- [5] 李晓萱, 王佳琳, 严倩倩, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的盘龙七片体内成分分析[J]. 中国中药杂志, 2026, 51(17): 4838.

- [6] 李玮婕, 张彦琼, 周书繁, 等. 基于“病-方”互作网络探索疔痹片干预膝关节炎临床优势分期与潜在作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(14): 3924.
- [7] LIU Y, XU J, YU Z, et al. Ontology characterization, enrichment analysis, and similarity calculation-based evaluation of disease-syndrome-formula associations by applying SoFDA[J]. Imeta, 2023, 2(2): e80.
- [8] FUXMAN BASS J I, DIALLO A, NELSON J, et al. Using networks to measure similarity between genes: association index selection[J]. Nat Methods, 2013, 10(12): 1169.
- [9] SUN Z, JIN H, ZHOU H, et al. Guhong Injection promotes fracture healing by activating Wnt/beta-catenin signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120: 109436.
- [10] 邵香敏. 艾瑞昔布片联合盘龙七片在骨质疏松性椎体压缩骨折患者经皮椎体成形术后的应用效果[J]. 临床医学, 2021, 41(7): 121.
- [11] 马阿妮, 李娟妮, 董博. 针刀配合盘龙七片治疗经皮椎体成形术后腰痛临床研究[J]. 现代中医药, 2022, 42(6): 127.
- [12] 姚华灿, 李康, 何志, 等. 盘龙七片联合中药外敷治疗创伤性骨折的临床效果[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(9): 10.
- [13] 潘佳麟, 沈计荣. 盘龙七片联合骨瓜提取物注射液治疗股骨颈骨折恢复期的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(8): 1675.
- [14] 刘强, 高勇, 汪逸博. 盘龙七片对老年粗隆间骨折患者股骨近端防旋髓内钉术后骨代谢及髋关节功能的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2022, 15(33): 155.
- [15] 刘柱, 赵国涛, 田玉玲, 等. 盘龙七片治疗鼻及鼻窦外伤的临床观察[J]. 内蒙古医学杂志, 2010, 42(S3): 6.
- [16] 龙智铨, 汤梅玲. 盘龙七片在柯雷氏骨折中的应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2000, 9(20): 2042.
- [17] 徐展望. 盘龙七片治疗 Colles 骨折复位后肿胀的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(8): 58.
- [18] 戴成柏, 李剑, 邵礼武, 等. 手法复位石膏外固定联合盘龙七片治疗 A3 型桡骨远端骨折的早期疗效[J]. 中国临床研究, 2021, 34(2): 190.
- [19] 韦世钦, 甘干达. 盘龙七片治疗外伤性四肢骨折疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(34): 3802.
- [20] 彭昊, 汪喆, 方洪松. 盘龙七片治疗骨折的临床疗效观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2006, 14(S2): 154.
- [21] 罗绍清, 刘远峰, 陈永平, 等. 盘龙七片治疗外伤性骨折临床观察[J]. 中国骨伤, 2004, 17(6): 12.
- [22] 李中华, 张涛, 庞永峰. 盘龙七片治疗小腿骨折术后肿胀疼痛的临床观察[J]. 中国伤残医学, 2019, 27(4): 77.
- [23] 罗勋, 雷亮. 桃红四物汤对四肢开放性骨折模型骨愈合能力及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J/OL]. 中医学报[2026-01-14]. <https://link.cnki.net/urlid/41.1411.R.20250226.1604.017>.
- [24] 刘超, 王晓菲, 付琳, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨伤科止痛方治疗踝关节骨折术前肿痛机制[J]. 光明中医, 2025, 40

- (12):2455.
- [25] 刘哲,阿良,张勇,等. 盘龙七片对小鼠骨折愈合过程中血管生成的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2023, 31(1): 13.
- [26] 吴泽荣,王明潮,林荣坤,等. 盘龙七片通过调节 Wnt/ β -catenin 通路对 BMSCs 成骨分化的影响[J]. 南昌大学学报(医学版), 2022, 62(2):38.
- [27] 黄晓文,左强,刘久翔,等. 盘龙七片调节 Wnt/ β -catenin 通路对大鼠胫骨骨折愈合的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(8): 1104.
- [28] WANG Y, LIN Q, ZHANG H, et al. M2 macrophage-derived exosomes promote diabetic fracture healing by acting as an immunomodulator[J]. Bioact Mater, 2023, 28:273.
- [29] CROES M, ÖNER F C, VAN NEERVEN D, et al. Proinflammatory T cells and IL differentiation[J]. Bone, 2016, 17: 262.
- [30] NAM D, MAU E, WANG Y, et al. T-lymphocytes enable osteoblast maturation via IL-17F during the early phase of fracture repair[J]. PLoS One, 2012, 7(6):e40044.
- [31] XU J K, CHEN H J, LI X D, et al. Optimal intensity shock wave promotes the adhesion and migration of rat osteoblasts via integrin β 1-mediated expression of phosphorylated focal adhesion kinase[J]. J Biol Chem, 2012, 287(31):26200.
- [32] ALARBI M A, GRAVES D T. FOXO1 deletion in chondrocytes rescues diabetes-impaired fracture healing by restoring angiogenesis and reducing apoptosis[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14:1136117.
- [33] WANG X, GE Q, ZENG Q, et al. Dnmt3b ablation affects fracture repair process by regulating apoptosis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2024, 25(1):180.
- [34] HU L, XIE X, XUE H, et al. MiR-1224-5p modulates osteogenesis by coordinating osteoblast/osteoclast differentiation via the Rap1 signaling target ADCY2[J]. Exp Mol Med, 2022, 54(7):961.
- [35] CHEN W, WU P, YU F, et al. HIF-1 α regulates bone homeostasis and angiogenesis, participating in the occurrence of bone metabolic diseases[J]. Cells, 2022, 11(22):3552.
- [36] MILLS E G, YANG L, NIELSEN M F, et al. The relationship between bone and reproductive hormones beyond estrogens and androgens[J]. Endocr Rev, 2021, 42(6):691.
- [37] ZHOU J, JIN Y, MA R, et al. Electroacupuncture alleviates experimental chronic inflammatory pain by inhibiting calcium voltage-gated channel-mediated inflammation[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020:7061972.
- [38] BOURINET E, ALTIER C, HILDEBRAND M E, et al. Calcium-permeable ion channels in pain signaling[J]. Physiol Rev, 2014, 94(1):81.
- [39] HUBER M, KOVTUN A, IGNATIUS A. The role of complement in trauma and fracture healing[J]. Semin Immunol, 2013, 25(1):73.
- [40] NAZZAL M K, MORRIS A J, PARKER R S, et al. Do not lose your nerve, be callus: insights into neural regulation of fracture healing[J]. Curr Osteoporos Rep, 2024, 22(1):182.
- [41] KOIVISTO A P, BELVISI M G, GAUDET R, et al. Advances in TRP channel drug discovery: from target validation to clinical studies[J]. Nat Rev Drug Discov, 2022, 21(1):41.
- [42] ZHONG F, HAO W, CHAO H, et al. Tenascin-C promotes endochondral ossification and fracture healing through Hedgehog and Hippo signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2024, 703:149634.
- [43] DIWAN A D, WANG M X, JANG D, et al. Nitric oxide modulates fracture healing[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(2):342.
- [44] LI X, FANG S, WANG S, et al. Hypoxia preconditioning of adipose stem cell-derived exosomes loaded in gelatin methacryloyl (GelMA) promote type H angiogenesis and osteoporotic fracture repair[J]. J Nanobiotechnol, 2024, 22(1):112.
- [45] NG H H, SHEN M, SAMUEL C S, et al. Relaxin and extracellular matrix remodeling: mechanisms and signaling pathways[J]. Mol Cell Endocrinol, 2019, 487:59.
- [46] SFEIR J G, DRAKE M T, KHOSLA S, et al. Skeletal aging[J]. Mayo Clin Proc, 2022, 97(6):1194.
- [47] WU P, CHEN W, HUANG H, et al. *Morinda officinalis* polysaccharide regulates rat bone mesenchymal stem cell osteogenic-adipogenic differentiation in osteoporosis by upregulating miR-21 and activating the PI3K/AKT pathway[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38(7):675.
- [48] LIN J, KUANG H, RONG K, et al. Effectiveness of desertliving cistanche in managing hyperlipidemic osteoporosis in ovariectomized rats through the PI3K/AKT signaling pathway[J]. J Orthop Surg Res, 2024, 19(1):393.
- [49] HUANG G, YIN W, ZHAO X, et al. Osteoking inhibits apoptosis of BMSCs in osteoporotic rats via PI3K/AKT signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2025, 340:118961.

[责任编辑 陈玲]