

# Tatarinan O 通过 SMAD 信号通路抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的非小细胞肺癌 A549 细胞上皮间质转化的研究<sup>Δ</sup>

吴迪<sup>1\*</sup>, 陈英华<sup>2</sup>, 杨彦<sup>2#</sup> (1. 重庆市急救医疗中心药剂科, 重庆 400014; 2. 重庆市急救医疗中心肿瘤科, 重庆 400014)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2023)01-0065-05  
DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2023.01.014



**摘要** 目的:探讨石菖蒲中木脂素单体化合物 Tatarinan O(TO)对转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)诱导的非小细胞肺癌 A549 细胞上皮间质转化(EMT)及其迁移的影响。方法:通过 TGF- $\beta$ 1 诱导 A549 细胞 EMT 的发生。采用蛋白质印迹法、免疫荧光法检测 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、SMAD2 蛋白和磷酸化 SMAD2(p-SMAD2)蛋白的表达,以及 SMAD2 的核转位行为;采用划痕实验检测细胞迁移能力。结果:TO 能够在 A549 细胞上抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 SMAD2 的磷酸化,且呈剂量依赖性( $P<0.05$ ),并阻止其核转位。在 25、50  $\mu\text{mol/L}$  的 TO 作用下,Vimentin 表达明显降低,E-cadherin 表达明显升高,与 0  $\mu\text{mol/L}$  的 TO 相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),并进一步抑制 A549 细胞迁移行为。结论:TO 可通过 SMAD2 信号通路抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的非小细胞肺癌 A549 细胞的 EMT,降低其迁移能力。  
**关键词** 石菖蒲;木脂素类单体;上皮间质转化;肿瘤细胞迁移

## Tatarinan O Inhibits TGF- $\beta$ 1 Induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Non-Small Cell Lung Cancer A549 Cells via SMAD Signaling Pathway<sup>Δ</sup>

WU Di<sup>1</sup>, CHEN Yinghua<sup>2</sup>, YANG Yan<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China; 2. Dept. of Oncology, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To investigate the effect of Tatarinan O (TO), a lignans monomeric compound in *Acorus calamus*, on transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)-induced epithelial mesenchymal transition (EMT) and its migration of non-small cell lung cancer A549 cells. **METHODS:** The onset of EMT in A549 cells was induced by TGF- $\beta$ 1. The expression of E-cadherin, Vimentin, SMAD2 protein and phosphorylated SMAD2 (p-SMAD2) protein, and the nuclear translocation behavior of SMAD2 were detected by using Western blotting and immunofluorescence assay; the cell migration ability was detected by scratch assay. **RESULTS:** TO was able to inhibit TGF- $\beta$ 1-induced phosphorylation of SMAD2 on A549 cells, which presented a dose-dependent ( $P<0.05$ ) and prevented its nuclear translocation. The Vimentin expression was significantly reduced and the E-cadherin expression was significantly increased under the action of TO at 25 and 50  $\mu\text{mol/L}$ , with statistically significant differences ( $P<0.05$ ) compared with TO at 0  $\mu\text{mol/L}$ , which further inhibited the migratory behavior of A549 cells. **CONCLUSIONS:** TO can inhibit TGF- $\beta$ 1-induced EMT in non-small cell lung cancer A549 cells through SMAD2 signaling pathway, and reduce its migratory ability.  
**KEYWORDS** *Acorus calamus*; Lignans monomeric compound; Epithelial-mesenchymal transition; Cancer cell migration

肺癌是全球死亡率最高的恶性肿瘤,其中非小细胞肺癌是其恶性程度最高的一种病理类型<sup>[1]</sup>。在非小细胞肺癌晚期,转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 刺激肿瘤血管生长,降低细胞间

的黏附以及合成细胞外基质等,为肺癌的生长、转移提供微环境,使肺癌更具侵袭性<sup>[2-3]</sup>。目前,针对肿瘤治疗的 TGF- $\beta$  抑制剂的研发备受关注,已有多个项目进入临床试验<sup>[4-6]</sup>。中药及中药中分得的单体化合物对 TGF- $\beta$  信号通路的抑制作用也有较多报道,但其作用靶点并不清楚<sup>[7]</sup>。

天南星科的多年生草本植物石菖蒲 (*Acorus tatarinowii* Schott) 是一味常用中药,具有化湿开胃、开窍豁痰和醒神益智

<sup>Δ</sup> 项目基金:重庆市渝中区科技局课题(No. 20200137)  
\* 主管药师。研究方向:医院药学。E-mail:23497067@qq.com  
# 通信作者:主治医师。研究方向:肿瘤内科治疗。E-mail:37531891@qq.com

的功效<sup>[8]</sup>。研究发现,石菖蒲中的木脂素类单体活性组分具有一定的神经保护作用、抗氧化和抗炎活性<sup>[9-11]</sup>。Tatarinin O (TO)是石菖蒲根茎中以细辛脑为母核的木脂素类单体组分,具有较强的抗炎活性,且细胞毒性极低<sup>[12]</sup>。细辛脑作为活性天然产物被广泛研究,曾有报道β-细辛脑能够抑制人神经胶质瘤 U251 细胞上皮间质转化(EMT)的发生<sup>[13]</sup>。但对于 TO 相关的报道很少。本研究利用 TGF-β1 诱导构建非小细胞肺癌 A549 细胞 EMT 以及迁移模型,并探讨了 TO 对其的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 细胞株

人肺癌 A549 细胞株购于中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库。细胞株用含 10% 胎牛血清 RPMI-1640 培养液,在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 饱和湿度的环境下常规培养,取对数生长期的细胞进行实验。

1.2 仪器

SpectraMax® iD5 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);DMi1 型倒置显微镜、TCS SP8 型激光共聚焦显微镜(德国 Leica 公司);LI-COR Odessey® DLx 型双色红外激光成像仪(美国 LI-COR Biosciences 公司)。

1.3 药品与试剂

TO(分子量:624.77,纯度>99%)由重庆康桥制药股份有限公司提取并分离纯化。RPMI 1640 培养液(批号:11875119)和胎牛血清(批号:10100147C)购自美国 Gibco 公司;甲基偶氮唑蓝(MTT,批号:475989)、TGF-β1 冻干粉(批号:475989)、4',6-二脒基-2 苯基吡啶(DAPI,批号:D9542)以及 TGF-β1 抑制剂 SB431542(批号:116150)购自美国 Sigma 公司;SMAD2(批号:5339S)、磷酸化 SMAD2(p-SMAD2)(Ser465/Ser467)(批号:18338S)、波形蛋白(Vimentin,批号:5741S)兔抗人及 E-钙黏蛋白(E-cadherin)鼠抗人单克隆抗体(批号:14472S)购自美国 CST 公司;山羊抗兔及山羊抗鼠 IgG(IRDye 800CW)(批号:C50331-05/C50113-06)近红外二抗购自美国 LI-COR 公司。

1.4 增殖抑制实验

取生长状态良好的非小细胞肺癌 A549 细胞,按 8 000 个/孔接种至 96 孔板。待细胞贴壁后,加入不同浓度的 TO 作用于细胞 24 h,每个浓度设置 3 个复孔。孵育结束后,弃去上清液,并加入 PBS 润洗细胞 2 次。加入含 MTT 的 1640 培养基(0.5 mg/mL MTT),100 μL/孔。将 96 孔板置于培养箱孵育 4 h,小心弃去上清液,每孔加入 100 μL 的 DMSO 并避光振荡 5 min 至紫色结晶完全溶解。采用多功能酶标仪测量 490 nm 波长处吸光度(A),计算出各浓度 TO 对细胞的增殖抑制率,抑制率=(1-A<sub>药物组</sub>/A<sub>对照组</sub>)×100%。使用 Prism Graphpad 5.0 软件拟合 TO 对不同细胞的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

1.5 细胞形态学分析

取生长状态良好的非小细胞肺癌 A549 细胞接种至 6 孔板,待细胞贴壁后,加入 TO(5 μmol/L)预先干预 2 h,然后使用 TGF-β1(10 ng/mL)刺激 48 h 以诱导细胞发生 EMT。采用倒置光学显微镜拍摄细胞照片。

1.6 细胞划痕实验

取生长状态良好的非小细胞肺癌 A549 细胞接种至 6 孔板,待细胞贴壁生长密度达到 80%,采用无血清培养基饥饿培养 24 h。使用无菌 200 μL 枪头垂直六孔板均匀划线,用 PBS 洗去脱落细胞,加入含有不同浓度 TO 的低血清培养基预先作用 2 h,然后加入 TGF-β1(10 ng/mL)刺激细胞 48 h。实验结束后在倒置光学显微镜下拍摄照片,测量划痕区域面积变化。

1.7 蛋白质印迹法

取生长状态良好的非小细胞肺癌 A549 细胞按 2×10<sup>6</sup> 个/孔接种至 6 孔板。待细胞贴壁后更换低血清培养基饥饿 12 h。加入不同浓度 TO(10、25 和 50 μmol/L)预先处理细胞 2 h,然后使用 TGF-β1(5 ng/mL)诱导 1 h。诱导结束后收集细胞提取细胞总蛋白,蛋白变性后保存至-80℃冰箱。蛋白按 20 μg 上样并进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。电泳结束后,采用湿转法将蛋白质至硝酸纤维素膜,5% BSA 室温(25℃)封闭 1 h,采用 p-SMAD2、SMAD2、Vimentin、E-cadherin 以及 β-actin 一抗 4℃过夜孵育,采用相应的 IRDye® 800CW 近红外标记二抗,室温避光孵育 1 h。目标蛋白条带采用 LI-COR Odessey® DL 成像系统检测,以蛋白灰度值/β-actin 灰度值表示蛋白相对表达量。

1.8 免疫荧光实验

取生长状态良好的非小细胞肺癌 A549 接种至覆有盖玻片的 6 孔板,制备细胞爬片。待细胞贴壁后更换低血清培养基饥饿 12 h。加入 TO(10、25 和 50 μmol/L)预先处理细胞 2 h,然后使用 TGF-β1(10 ng/mL)进行诱导。诱导结束后 PBS 清晰爬片,在 4℃条件下,采用 4%多聚甲醛固定细胞 30 min,0.1% TritonX-100 室温穿膜 10 min,5% BSA 室温封闭 1 h,SMAD2、Vimentin 以及 E-cadherin 一抗 4℃过夜孵育,次日选用相应的 Alexa Fluor Plus 594 二抗室温避光孵育 1 h,DAPI(0.5 μg/mL)复染细胞核,最后采用抗荧光猝灭剂封片于显微镜载玻片。采用激光扫描共聚焦显微镜采集图像并拍照记录。

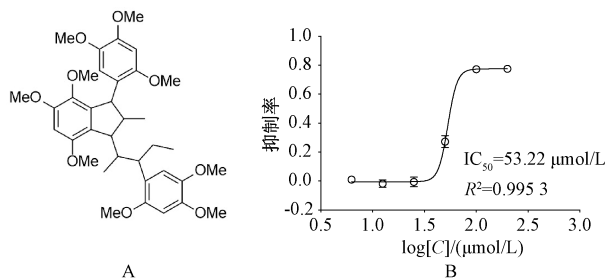
1.9 统计学方法

采用 Prism Graphpad 5.0 软件处理数据,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。多组数据比较采用 Oneway-ANOVA 分析,并选择 Dunnett 方法进行假设检验分析,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TO 抑制 TGF-β1 诱导非小细胞肺癌 A549 细胞 EMT

TO 的化学结构式及剂量抑制曲线见图 1。TGF-β1(10 ng/mL)诱导细胞 48 h 后,非小细胞肺癌细胞出现较为明显的形态学改变,大部分细胞失去了圆形及长触角形态,表现为长梭形或者纺锤形;同时,细胞间距增大且连续松散,呈明显间质形态,见图 2(A)。然而,预先 2 h 给予 25 μmol/L 的 TO[无毒剂量,见图 1(B)]进行干预则能够在 A549 细胞形态学上逆转 TGF-β1 诱导的 EMT,见图 2(A)。TO 能够下调非小细胞肺癌 A549 细胞中 TGF-β 诱导的蛋白 Vimentin 的表达,上调蛋白 E-cadherin 的表达,在 25、50 μmol/L 的 TO 作用下,Vimentin、E-cadherin 表达水平与 0 μmol/L 的 TO 相比,差异有统计学意义(P<0.05),见图 2(B)。免疫荧光实验也得到了

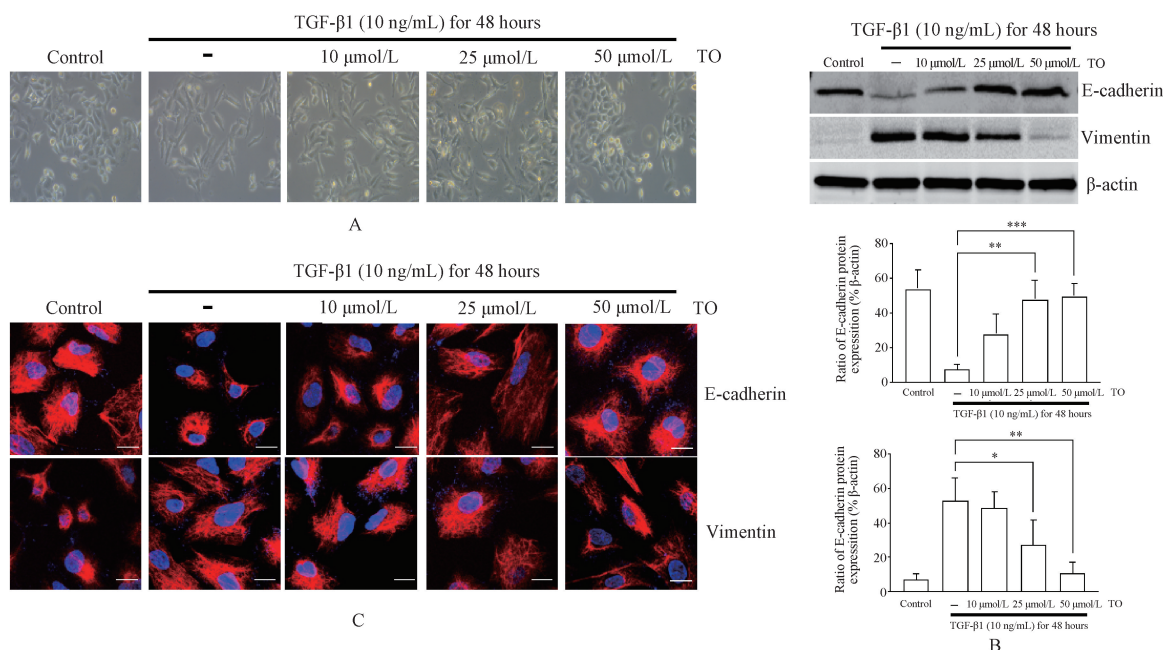


A. TO 的化学结构式; B. TO 作用非小细胞肺癌 A549 细胞的剂量抑制曲线

A. chemical structural formula of TO; B. the 48h-dose inhibition curve of TO act on non-small cell lung cancer A459

图 1 TO 的化学结构式及剂量抑制曲线

Fig 1 Chemical structural formula and dose inhibition curve of TO



A. TO 抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 A549 细胞形态学的变化; B. 蛋白质印迹法验证 TO 干预后 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 的变化; C. 激光共聚焦显微镜观察 E-cadherin 和 Vimentin 表达的改变 [上半部分为 E-cadherin (红色) 和细胞核 (蓝色), 下半部分为 Vimentin (红色) 和细胞核 (蓝色)]; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

A. TO inhibits morphological changes of A549 cells induced by TGF- $\beta$ 1; B. western blotting to verify the changes of EMT markers E-cadherin and Vimentin after TO intervention; C. laser confocal microscope to observe the changes of E-cadherin and Vimentin expression [the upper half is E-cadherin (red) and nucleus (blue), the lower half is Vimentin (red) and nucleus (blue)]; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

图 2 TO 干预对 A549 细胞形态学及 EMT 标志物的影响

Fig 2 Effects of TO intervention on the morphology of A549 cell and the EMT markers

抑制 TGF- $\beta$  诱导的非小细胞肺癌细胞迁移, 见图 3(C); 单独给予 TGF- $\beta$ 1 刺激组划痕区域面积缩小, 而给予 TO 干预后 (25, 50  $\mu\text{mol/L}$  组) 能够抑制细胞迁移, 有效阻止细胞进入划痕区域。

### 3 讨论

TGF- $\beta$ /SMADs 信号转导通路是 TGF- $\beta$  受体激活后一条重要通路。TGF- $\beta$  受体激活后, 形成异源二聚体 (TGF- $\beta$  RI/RII), TGF- $\beta$  RII 使得 TGF- $\beta$  RI 磷酸化, 然后招募受体特异性的 R-SMADs (主要是 SMAD2 和 SMAD3) 并使其磷酸化。活化的

相似的结果, 见图 2(C)。

### 2.2 TO 抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 SMAD2 蛋白磷酸化并阻断其核转位

TGF- $\beta$ 1 (5 ng/mL) 诱导 A549 细胞中 SMAD2 蛋白磷酸化, 预先 2 h 给予 TO 或者阳性对照 SB431541 (2  $\mu\text{mol/L}$ ) 进行干预能够剂量依赖地抑制 SMAD2 蛋白磷酸化, 而 SMAD2 蛋白的表达量未受到影响, 见图 3(A)。SMAD2 以及 SMAD3 的磷酸化能够帮助其富集胞质中 SMAD4 蛋白并形成复合物, SMADs 复合物进入细胞核并促进其下游基因的表达。免疫荧光实验结果表明, TO (25  $\mu\text{mol/L}$ ) 能够抑制 SMAD 蛋白复合物的核转位, 从而阻断其下游基因转录的激活, 见图 3(B)。

### 2.3 TO 能够抑制非小细胞肺癌细胞迁移

上皮细胞间质化直接促进了肿瘤细胞的转移<sup>[6]</sup>。细胞划痕实验结果表明, 预先 2 h 给予 TO 进行干预能够剂量依赖地

SMAD2/3 与普通 SMAD4 形成复合物 SMAD2/3/4, SMADs 复合物进一步入核并与 DNA 中的 SMAD 结合元件结合调控其下游基因的表达。本研究结果发现, TO 能够剂量依赖地抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导 SMAD2 的磷酸化, 并阻止 SMAD2 的入核行为。

TGF- $\beta$  的众多生物活性中, 其诱导的 EMT 在肿瘤和纤维化疾病中发挥了重要作用<sup>[14]</sup>。由图 2(A) 可见, TGF- $\beta$  诱导上皮细胞发生 EMT 后, 细胞形态变得细长, 细胞间间隙增大, 细胞间连结变得松散。同时, 细胞运动功能增加, 对凋亡抵抗增加, 侵袭和迁移能力增强。上皮细胞标志分子包括 E-cadherin、

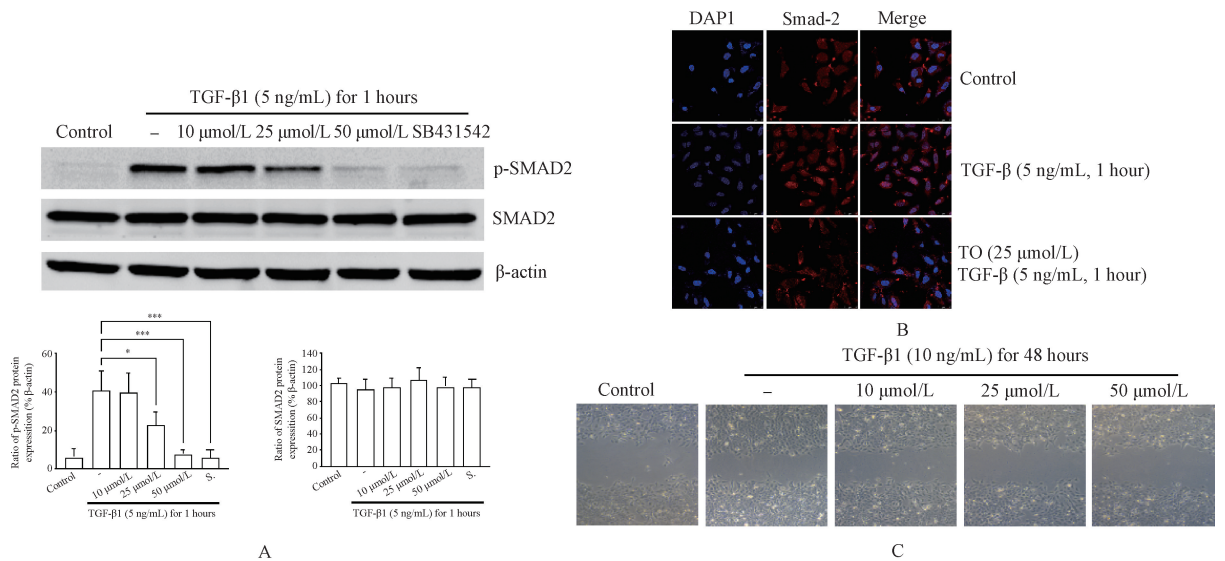


**图3 TO对SMAD2蛋白磷酸化、核转位及对细胞迁移的影响**

A. 蛋白质印迹法验证TO对SMAD2蛋白磷酸化的影响; B. 激光共聚焦显微镜观察TO对SMAD2蛋白核转位的影响[SMAD2蛋白(红色)和细胞核(蓝色)]; C. 细胞划痕实验; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$

A. Western blotting to verify the effects of TO on the phosphorylation of SMAD2 protein; B. laser confocal microscope to observe the effects of TO on the nuclear translocation of SMAD2 protein [SMAD2 protein (red) and nuclear (blue)]; C. cell scratch assay; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$

**Fig 3 Effects of TO on the phosphorylation, nuclear translocation and cell migration of SMAD2 protein**

闭锁连接蛋白和Ⅳ型胶原等表达降低<sup>[15-17]</sup>;相反,间质细胞标志分子如Vimentin、成纤维细胞特异性蛋白1、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白、N-钙黏蛋白及Ⅰ、Ⅲ型胶原等表达增加<sup>[18-22]</sup>。EMT是引起肿瘤细胞侵袭和转移的重要因素之一,还可改变肿瘤细胞外基质的组成并造成细胞间质液压力升高而阻碍抗肿瘤药的进入,还可使肿瘤细胞获得“类干细胞”的特性<sup>[23]</sup>。本研究结果发现,TO能够抑制Vimentin的表达以及E-cadherin的降低;同时,划痕试验结果也表明,TO能够抑制肿瘤细胞迁移。然而,TO逆转这些变化的上游机制仍需继续探索。

综上所述,TO能够有效抑制TGF- $\beta$ 诱导的非小细胞肺癌细胞EMT及其侵袭与转移的发生,或可为TO在非小细胞肺癌分子靶向治疗的应用提供新的理论依据。

## 参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] ZHANG M D, ZHANG Y Y, CHEN Y Z, et al. TGF- $\beta$  signaling and resistance to cancer therapy[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 786728.
- [3] TSCHERNIA N P, GULLEY J L. Tumor in the crossfire: inhibiting TGF- $\beta$  to enhance cancer immunotherapy[J]. BioDrugs, 2022, 36(2): 153-180.
- [4] CIARDIELLO D, ELEZ E, TABERNERO J, et al. Clinical development of therapies targeting TGF $\beta$ : current knowledge and future perspectives[J]. Ann Oncol, 2020, 31(10): 1336-1349.
- [5] LIU S J, REN J, TEN DIJKE P. Targeting TGF $\beta$  signal transduction for cancer therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 8.
- [6] TAURIELLO D V F, SANCHO E, BATLLE E. Overcoming TGF $\beta$ -mediated immune evasion in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2022, 22(1): 25-44.
- [7] 肖青雯, 陆金健, 陈修平. 靶向上皮间质转化: 中药抗肿瘤转移和器官纤维化新策略[J]. 医药导报, 2018, 37(4): 401-409.
- [8] 石坚宏, 姬丽婷, 骆启晗, 等. 石菖蒲化学成分、药理作用及质量标志物预测分析研究进展[J]. 中成药, 2021, 43(5): 1286-1290.
- [9] ZHANG Y X, WANG Z, XIE X N, et al. Tatarinan N inhibits osteoclast differentiation through attenuating NF- $\kappa$ B, MAPKs and Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 65: 199-211.
- [10] ZHANG Y X, WANG Z, XIE X N, et al. Tatarinan T, an  $\alpha$ -asarone-derived lignin, attenuates osteoclastogenesis induced by RANKL via the inhibition of NFATc1/c-Fos expression[J]. Cell Biol Int, 2019, 43(12): 1471-1482.
- [11] LEE Y C, KAO S T, CHENG C Y. Acorus tatarinowii Schott extract reduces cerebral edema caused by ischemia-reperfusion injury in rats: involvement in regulation of astrocytic NKCC1/AQP4 and JNK/iNOS-mediated signaling[J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 374.
- [12] XU X H, LIU N, WANG Y J, et al. Tatarinan O, a lignin-like compound from the roots of Acorus tatarinowii Schott inhibits osteoclast differentiation through suppressing the expression of c-Fos and NFATc1[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 34: 212-219.
- [13] LI L, WU M X, WANG C Q, et al.  $\beta$ -Asarone inhibits invasion and EMT in human glioma U251 cells by suppressing splicing factor HnRNP A2/B1[J]. Molecules, 2018, 23(3): 671.
- [14] SU J, MORGANI S M, DAVID C J, et al. TGF- $\beta$  orchestrates fibrogenic and developmental EMTs via the RAS effector RREB1[J]. Nature, 2020, 577(7791): 566-571.
- [15] 王迎宾, 李丹丹, 鱼学农. 前列腺癌组织中TGF- $\beta$ 1和E-cadherin

蛋白的表达及临床意义[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(9): 1141-1143, 1149.

[16] 矫健, 张罗. 转化生长因子- $\beta$ 1 对慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉上皮紧密连接屏障功能的影响[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(1): 45-50.

[17] QI M Y, WANG X T, XU H L, et al. Protective effect of ferulic acid on STZ-induced diabetic nephropathy in rats[J]. Food Funct, 2020, 11(4): 3706-3718.

[18] 徐安健, 李艳萌, 乌姗娜, 等. PHP14 通过与 Vimentin 相互作用影响 TGF- $\beta$  诱导的肝细胞 AML-12 上皮-间质转化[J]. 中国生物工程杂志, 2021, 41(2): 1-6.

[19] 白志勋, 陆静, 杨亦彬. TGF- $\beta$ 1/ILK/FSP1 信号通路在环孢素诱导肾小管上皮细胞转分化中的作用[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(7): 804-809.

[20] 汪国敏, 李丽燕, 吴小燕, 等. 清化固肾排毒颗粒对单侧输尿管

管梗阻大鼠肾组织 TGF- $\beta$ 1 和  $\alpha$ -SMA 表达的影响[J]. 新中医, 2018, 50(1): 1-6.

[21] YANG Y Y, LIU W J, WEI J Y, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1-induced N-cadherin drives cell-cell communication through connexin43 in osteoblast lineage[J]. Int J Oral Sci, 2021, 13(1): 15.

[22] MAHMOUD A M, HOZAYEN W G, HASAN I H, et al. Umbelliferone ameliorates CCl<sub>4</sub>-Induced liver fibrosis in rats by upregulating PPAR $\gamma$  and attenuating oxidative stress, inflammation, and TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling[J]. Inflammation, 2019, 42(3): 1103-1116.

[23] MENG X M, NIKOLIC-PATERSON D J, LAN H Y. TGF- $\beta$ : the master regulator of fibrosis[J]. Nat Rev Nephrol, 2016, 12(6): 325-338.

(收稿日期:2022-03-01 修回日期:2022-09-01)

(上接第 64 页)

疗后的血清 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 水平高于对照组,表明龟甲健骨胶囊能调节老年 IFOF 内固定术患者血清 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 水平,这可能是龟甲健骨胶囊促进骨折愈合的机制之一,通过增加患者血液中 HIF-1 $\alpha$  的表达,促使 VEGF 合成及表达增加,从而促进术后骨折断端新生血管的形成,改善局部血液循环。对比两组患者术后并发症发生率发现,观察组患者低于对照组,提示龟甲健骨胶囊能降低并发症发生风险。

综上所述,龟甲健骨胶囊能缩短老年 IFOF 内固定术患者患肢消肿时间,促进骨折愈合及髋关节功能恢复,调节血清 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 水平,减少术后并发症,具有良好的临床疗效。

### 参考文献

[1] 孙宣, 鲍自立, 傅强, 等. 苏中地区 3 所中医院老年股骨颈与股骨粗隆间骨折的流行病学分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2018, 33(2): 161-162.

[2] 苏启旭, 巴黎, 王松, 等. PFNA 治疗老年股骨粗隆间骨折的效果及影响因素[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(6): 1234-1236.

[3] 周钰卓, 齐宇新, 马腾洋, 等. 老年股骨粗隆间骨折 PFNA 失败的危险因素分析[J]. 中国矫形外科杂志, 2020, 28(4): 292-296.

[4] 牛国庆, 吴峰, 彭智浩, 等. 股骨粗隆间骨折 PFNA 内固定失效手术因素分析[J]. 中国临床解剖学杂志, 2020, 38(6): 728-734.

[5] 陈武林, 阮成群, 孙群周, 等. 骨前康颗粒与加味补中益气汤辅助防旋股骨近端髓内钉治疗老年股骨粗隆间骨折临床研究[J]. 陕西中医, 2020, 41(5): 636-638.

[6] 胥少汀, 葛宝丰, 徐印坎. 实用骨科学[M]. 4 版. 北京: 人民军医出版社, 2012: 873-874.

[7] 姚乃礼. 中医证候鉴别诊断学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 51-54.

[8] HARRIS W H. Traumatic arthritis of the hip after dislocation and acetabular fractures: treatment by mold arthroplasty. An end-result study using a new method of result evaluation[J]. J Bone Joint Surg Am, 1969, 51(4): 737-755.

[9] 陈孝平, 汪建平. 外科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 680.

[10] 任政, 王再彭, 欧福念, 等. 强筋补骨汤联合 C 臂辅助下 PFNA 术式对股骨粗隆间骨折 PLT、D-D、IL-13 水平的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(3): 481-485.

[11] 蔡绍明, 李层. 复元活血汤加减联合常规功能康复锻炼治疗老年股骨粗隆间骨折疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(25): 2765-2767, 2771.

[12] 王昱林, 初海滨, 殷泽刚, 等. 八珍汤加味联合股骨近端防旋髓内钉内固定术治疗老年股骨粗隆间骨折的疗效观察[J]. 河北中医, 2019, 41(7): 1021-1024.

[13] 李晶峰, 闫伟, 金平, 等. 龟甲的强骨活性研究进展[J]. 吉林中医药, 2017, 37(12): 1242-1244.

[14] 杨帆, 刘红梅, 吉红玉. 鹿角胶临床应用及其用量探究[J]. 长春中医药大学学报, 2021, 37(3): 512-515.

[15] 干贤亮, 何冰冰. 续骨逐瘀汤在骨质疏松性股骨粗隆间骨折 PFNA 术后的应用[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(4): 652-654.

[16] 李建国, 王帅. 本院制剂龟甲健骨胶囊联合手术治疗在治疗胫骨骨折内固定术后骨不连的临床疗效分析[J]. 医药前沿, 2018, 8(35): 340-341.

[17] 李孟军, 陆沛华, 王骏, 等. 加味龟鹿二仙汤治疗老年外伤后血虚证[J]. 中医临床研究, 2021, 13(7): 66-68.

[18] 孙勃, 刘士波, 王培, 等. 微型锁定接骨板组合经皮螺钉内固定对跟骨 Sanders II ~ III 型闭合骨折的疗效及机制[J]. 贵州医科大学学报, 2019, 44(10): 1205-1209, 1214.

[19] 李宏元, 杨柳, 靳宪辉. 缺氧诱导因子与骨稳态失衡类疾病的相关性[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(33): 5393-5399.

[20] 金培程, 程正江. 闭合复位髓内钉固定治疗股骨干骨折对 VEGF、HIF-1 $\alpha$  表达的影响[J]. 现代医学, 2020, 48(2): 201-206.

[21] 乔军杰, 周萌, 黄江, 等. 低氧诱导因子-1 $\alpha$  促进骨折愈合机制的研究进展[J]. 北京医学, 2018, 40(2): 141-143.

(收稿日期:2022-05-31 修回日期:2022-10-20)