

天然小分子化合物调控 H 型血管治疗骨骼相关疾病及在组织工程中的应用

徐正一, 万乾炳, 陈俊宇

<https://doi.org/10.12307/2023.560>

投稿日期: 2022-09-22

采用日期: 2022-10-28

修回日期: 2022-11-25

在线日期: 2022-12-08

中图分类号:

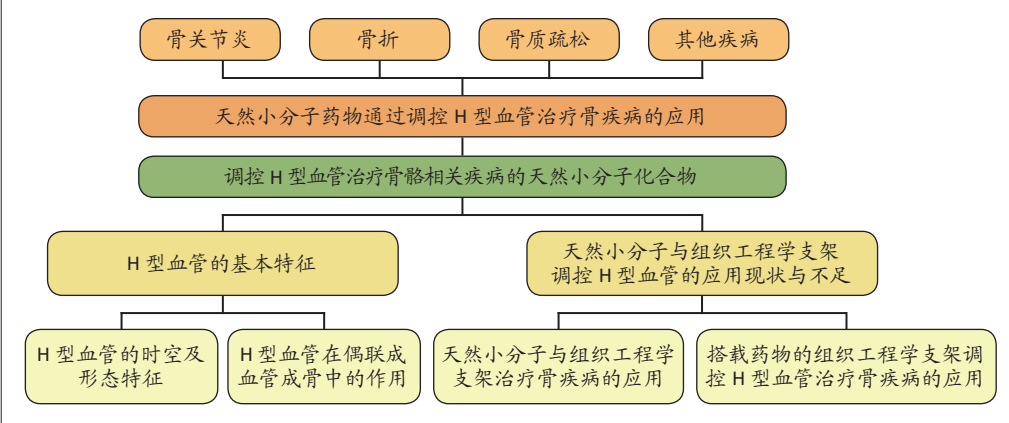
R453; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2023)34-05546-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 调控 H 型血管治疗骨骼相关疾病的天然小分子化合物



文题释义:

H型血管: H型血管是一种能高表达血小板内皮细胞黏附分子1(PECAM-1/CD31)和唾液糖蛋白内黏蛋白(Endomucin, Emcn)的特殊血管亚型, 具有独特的时空及形态特征, 在血管生成与骨生成两种生理过程的偶联中起重要作用。

天然小分子化合物: 是一种从天然产物及其活性代谢物中发现的具有生理调节功能的小分子化合物或经过化学家的结构改造最终得到具有治疗作用的药物活性先导物。

摘要

背景: H型血管是近年来新发现的一种能够偶联成血管和成骨两种生理过程的特殊血管亚型, 在骨骼系统的生理及病理过程中均扮演重要角色。天然小分子化合物具有来源广泛、毒副反应低等优点。近年来研究发现天然小分子化合物对H型血管也具有调控作用。

目的: 总结H型血管的基本特征, 并讨论几种天然小分子化合物在治疗骨相关疾病治疗中的应用现状及前景。

方法: 在Web of Science、PubMed、中国知网和万方数据库中, 以“H型血管、天然小分子化合物、天然小分子药物、中药活性成分”为中文检索词, 以“type H vessel, H-type vessel, type H microvessel, type H blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, CD31^{hi}Endomucin^{hi} blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, specific vessel subtype, natural small molecular compounds, Chinese medicine, Chinese traditional medicine, Chinese plant extracts”为英文检索词进行文献检索。检索时间范围为2014年1月至2022年6月。通过阅读文题和摘要进行初步筛选, 排除中英文文献重复性研究及内容不相关的文献, 经文献质量评价后, 最后纳入65篇文献进行综述。

结果与结论: ①H型血管是一种特殊血管亚型, 主要分布于长骨干骺端及骨内膜处, 在扁骨与不规则骨中也有分布, 且在多数部位, 有典型的柱状或栅栏状排列结构; H型血管的长度及数量在不同部位均呈现年龄相关性。②H型血管在偶联成骨-成血管两种生理过程中起到重要作用, 其可以通过血管旁分泌的作用对成骨系和破骨系细胞发挥募集与调节作用。③H型血管在骨疾病的发生发展中扮演重要角色, 多种天然小分子化合物在通过调控H型血管治疗骨关节炎、骨质疏松、骨折和去负荷性骨丢失等疾病中具有较好效果; 例如三七的提取物邻苯二甲酸二叔丁酯可以抑制异常的H型血管生成, 以缓解骨关节炎病情进展, 人参的提取物人参皂甙化合物K可以促进愈伤组织中H型血管生成, 加快骨折愈合。④鉴于组织工程支架负载药物及细胞因子调控H型血管治疗骨疾病以及天然小分子化合物在调控H型血管所体现出的较好效果, 将组织工程支架与天然小分子化合物结合调控H型血管显示出良好的前景。

关键词: H型血管; 天然小分子化合物; 骨组织工程; 血管生成; 骨代谢; 骨关节炎; 骨折; 骨质疏松

Natural small molecular compounds in the treatment of bone-related diseases by regulating type H blood vessels and its application in tissue engineering

Xu Zhengyi, Wan Qianbing, Chen Junyu

Department of Prosthodontics, State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学中心, 四川大学华西口腔医院修复科, 四川省成都市 610041

第一作者: 徐正一, 男, 1997年生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 四川大学华西口腔医学院在读硕士, 主要从事血管化组织工程学方向的研究。

通讯作者: 陈俊宇, 副教授, 硕士生导师, 口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学中心, 四川大学华西口腔医院修复科, 四川省成都市 610041

<https://orcid.org/0000-0001-5852-9167> (徐正一); <https://orcid.org/0000-0003-1717-5782> (陈俊宇)

基金资助: 国家自然科学基金项目 (81901060, 82270961), 项目负责人: 陈俊宇; 中国博士后科学基金特别资助项目 (2021T140483),

项目负责人: 陈俊宇

引用本文: 徐正一, 万乾炳, 陈俊宇. 天然小分子化合物调控 H 型血管治疗骨骼相关疾病及在组织工程中的应用 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(34):5546-5553.



Xu Zhengyi, Master candidate, Department of Prosthodontics, State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Corresponding author: Chen Junyu, Associate professor, Master's supervisor, Department of Prosthodontics, State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Type H blood vessels, a specific subtype of vessels newly discovered in recent years, have been identified to couple angiogenesis and osteogenesis. They play an important role in the physiological and pathological processes of the skeletal system. Natural small molecular compounds have the advantages of widespread sources, low toxic and side effects. In recent years, studies have found that natural small molecular compounds can regulate type H blood vessels.

OBJECTIVE: To review the basic characteristics of type H blood vessels and discuss the application status and prospect of several natural small molecular compounds in the treatment of bone-related diseases.

METHODS: The literature search was performed in Web of Science, PubMed, CNKI and WanFang databases. Relevant articles published from January 2014 to June 2022 were researched with the key words of "type H vessel, natural small molecular compounds, natural small molecule drugs, active ingredients of traditional Chinese medicine" in Chinese and "type H vessel, H-type vessel, type H microvessel, type H blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, CD31^{hi}Endomucin^{hi} blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, specific vessel subtype, natural small molecular compounds, Chinese medicine, Chinese traditional medicine, Chinese plant extracts" in English. After reading the titles and abstracts, repetitive studies, low-quality or irrelevant articles were excluded. Finally, 65 articles were included for review.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Type H vessel is a special subtype of blood vessels mainly found in the metaphysis and endosteum of long bones, and also exist in other types of bones. At most sites, type H vessels are arranged linearly with a distinctive columnar or palisade-like structure. Moreover, type H blood vessels have significant age-related changes in length and abundance of vascular buds. (2) Type H vessels play an important role in couple angiogenic and osteogenic processes via blood flow as well as the recruitment and regulation of osteoblasts lineage and osteoclast lineage. (3) Type H vessels are important in the occurrence and development of bone disease. Natural small molecular compounds show a good prospect in the study of treating bone-related diseases including osteoarthritis, osteoporosis, bone fracture, and unloading-induced bone loss via regulating type H blood vessels. For example, di-tert-butyl phthalate, the extract of *Panax notoginseng*, blunted the aberrant formation of type H vessels to prevent osteoarthritis progression. Ginsenoside compound K, the extract of *Panax ginseng*, can promote the formation of type H vessels in callus and accelerate fracture healing. (4) In view of the prospective effect of tissue engineering scaffolds loading drugs and cytokines on type H blood vessels in the treatment of bone diseases and natural small molecular compounds in regulating type H blood vessels, the combination of tissue engineering scaffolds and natural small molecular compounds to regulate type H blood vessels is a potential strategy.

Key words: type H vessel; natural small molecular compound; bone tissue engineering; angiogenesis; bone metabolism; osteoarthritis; bone fracture; osteoporosis

Funding: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81901060, 82270961 (to CJY); Special Funded Project of China Postdoctoral Science Foundation, No. 2021T140483 (to CJY)

How to cite this article: XU ZY, WAN QB, CHEN JY. Natural small molecular compounds in the treatment of bone-related diseases by regulating type H blood vessels and its application in tissue engineering. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(34):5546-5553.

0 引言 Introduction

成骨和成血管在骨形成与骨再生中是密切相关的两个生理过程。近年来,一种能高表达血小板内皮细胞黏附分子1(PECAM-1/CD31)和唾液糖蛋白内黏蛋白(Endomucin, Emcn)的特殊血管亚型即H型血管,因能偶联成骨-成血管两种生理活动而受到广泛关注^[1]。大量研究结果表明,H型血管具有调控骨生成及骨再生以及作为治疗骨骼相关疾病靶点的潜力^[2-4]。骨组织工程为骨再生提供了一种有前景的替代方案,组织工程支架有利于细胞黏附、增殖和迁移,还可以通过负载药物或生物活性因子调节血管生成和成骨^[5]。目前,研究者们已经研究了許多组织工程策略,通过各种信号通路来调控H型血管^[6-8]。

天然小分子化合物具有成本低、副反应有限、有效性及安全性已经过特定地区长时间临床实践证明等优点。此外,大量研究已经证明将天然小分子化合物与骨组织工程相结合在促进骨再生方面具有良好的前景。近年来,多种天然小分子化合物能够调节病理状态下的骨骼H型血管,进而治疗骨关节炎、骨折及骨质疏松等骨骼相关疾病^[9-11],但是关于该方面的研究尚缺乏系统性的归纳。

以往关于H型血管相关的综述,主要集中于总结H型血管调控成骨成血管过程的具体机制,以及针对H型血管在骨疾病中的潜在治疗方法的概述,并未明确涉及具体药物方面总结。文章主要总结了有关H型血管的基本特征,着重讨论了几种天然小分子化合物在骨骼相关疾病治疗中的应用现状,并简要介绍了天然小分子化合物在骨组织工程中的应用以及骨组织工程在调控H型血管的研究现状。文章目的在于阐明组织工程支架负载天然药物小分子调控H型血管是一种极具潜力的骨疾病治疗方法。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2022年6月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2014年1月至2022年6月。

1.1.3 检索数据库 Web of Science、PubMed、中国知网和万方数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词为“H型血管、天然小分子化合物、天然小分子药物、中药活性成分”,英文检索词为“type H vessel, H-type vessel, type H microvessel, type H blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, CD31^{hi}Endomucin^{hi} blood vessel, CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell, specific vessel subtype, natural small molecular compounds, Chinese medicine, Chinese traditional medicine, Chinese plant extracts”。

1.1.5 检索文献类型 符合主题的论著、综述和实验研究。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 包括英文及中文检索词、检索词的逻辑组配等,中文检索式以万方为例:主题:(H型血管)AND主题:(天然小分子化合物OR天然小分子药物OR中药活性成分)。英文检索式以PubMed数据库为例,见图1。

1.1.8 检索文献量 检索共得到中英文文献1079篇,包括中文文献7篇、英文文献1072篇。

1.2 入组标准

1.2.1 PICOS问题 该综述旨在系统地检索和分析研究天然小分子化合物调控H型血管治疗骨相关疾病的临床及基础研究。在调查过程中运用了参与者、干预、比较、结果和研究设计(PICOS)原则。具体地说,P(Paricopant):骨相关疾病的动物模型;I(Intervention):调控H型血管的天然小分子化合物;C

#1 type H vessel[Title/Abstract]
 #2 H-type vessel[Title/Abstract]
 #3 type H microvessel[Title/Abstract]
 #4 type H blood vessel[Title/Abstract]
 #5 CD31^{hi}Emcn^{hi} endothelial cell[Title/Abstract]
 #6 CD31 (hi)Emcn(hi) endothelial cell[Title/Abstract]
 #7 specific vessel subtype[Title/Abstract]
 #8 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7
 #9 natural small molecular compounds[Title/Abstract]
 #10 Chinese medicine[Title/Abstract]
 #11 Chinese traditional medicine[Title/Abstract]
 #12 Chinese plant extracts[Title/Abstract]
 #13 #10 OR #11 OR #12
 #14 #8 AND #9

图 1 | PubMed 数据库检索策略图

(Comparison): 无; O(Outcome): 骨相关疾病的治疗效果; S (Study design): 基础研究。整个 PICOS 问题为: 调节 H 型血管的天然小分子药物对骨相关疾病的治疗效果如何?

1.2.2 纳入标准 ①研究对象: H 型血管以及调控 H 型血管治疗骨相关疾病的天然小分子化合物; ②研究类型: 符合 PICOS 原则, 涉及体外实验及动物实验的基础研究。

1.2.3 排除标准 ①与主题无关、发表时间在 2014 年之前或重复性的文章; ②研究数据偏少即体外或动物实验纳入样本量 ≤ 4 的文献。

1.3 文献质量评估和数据提取 初检得到文献 1 079 篇, 通过阅读标题与摘要进行初筛, 排除与研究主题不相关、设计不合逻辑且重复性高的文章, 根据纳入和排除标准进一步筛选后, 最后纳入文献 65 篇, 见图 2。

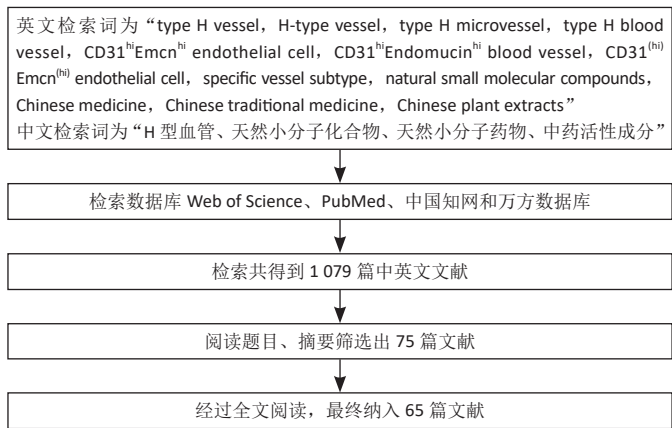


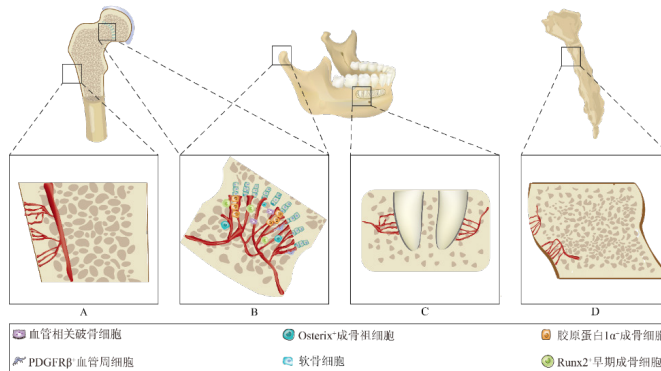
图 2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 H 型血管的基本特征

2.1.1 H 型血管的时空及形态特征 H 型血管最早被发现位于长骨生长板附近的干骺端及骨内膜处, 见图 3A, B; 此外, 在胸骨及椎骨等其他类型骨中 H 型血管也有存在, 见图 3D^[1]。最近研究表明, 于下颌骨中, 髁突头部与髁突颈部的骨内膜中存在着与小鼠胫骨中相似的 H 型血管, 见图 3B^[12]。在牙槽骨中也存在 H 型血管, 它们大多来源于牙槽骨松质板, 内衬有穿通纤维 (Sharpey's fibers), 它们主要分布在活跃的牙槽重塑区域, 如牙乳头, 见图 3C^[13]。

以往研究普遍认为 H 型血管成线形排列, 有独特的柱状结构, 在远端由血管弓相互连接^[1]。最近一项研究表明, 在骨再生过程中产生的 H 型血管不是柱状排列的, 骨折间隙中 H 型血



图注: 图 A 为长骨的骨内膜处血管分布; B 为长骨干骺端及髁突处血管及细胞分布; C 为牙槽骨处血管分布; D 为扁骨骨内膜处血管分布; PDGFR β 为血小板衍生生长因子受体 β

图 3 | 不同类型骨骼中 H 型血管分布示意图

管的组织结构显得更加杂乱无章, 这提示柱状分布这一特征可能不是 H 型血管所固有的^[14], 这项研究与先前的发现相符。柱状结构由远端血管弓出芽生成, 血管芽带有短的丝状足, 并与软骨细胞基质相连^[15]。在干骺端软骨细胞高度有序, 柱状排列, 它们的结构可能在血管芽长入软骨基质时被强加在这些区域的新生 H 型血管上。

H 型血管具有显著的年龄相关性。H 型血管在发育中的年轻动物中最为常见, 在老年小鼠及人体内数量急剧减少。出生后 H 型血管的长度和血管芽的丰度随骨骼生长过程而增加。在成年小鼠的长骨中, 血管弓仍显著存在, 但血管芽的丰度明显减少; 老年小鼠的血管弓稀疏, 跨度增长, 血管芽几乎完全消失, 并且 CD31^{hi}EMCN^{hi} 内皮细胞数量迅速减少, 几乎检测不到^[1, 15]。但在牙槽骨中, 虽然 H 型血管的数量也随年龄的增长而降低, 但不同于在胫骨等长骨中, 牙槽骨中的 H 型血管能维持在一个相对恒定的水平, 这与牙槽骨的长期重建潜能有关^[13]。

这些关于 H 型血管形态、分布及增龄性变化的研究, 有助于更加精准方便地确定出不同年龄段以及不同部位的 H 型血管。H 型血管的时空及形态特征的揭示虽然停留在形态学层面, 但是针对不同时空及部位的 H 型血管, 系统性探究其与不同标志物的共定位及与不同血管周细胞的交互作用, 对后续有关 H 型血管的成血管-成骨偶联相关分子机制的研究具有重要意义。

2.1.2 H 型血管在偶联成血管成骨中的作用 H 型血管在血管生成与成骨两种生理过程的偶联中起重要作用。相比于 H 型血管, 长骨骨干内的实状血管在骨干的骨髓腔内形成致密的、高度分支的毛细血管网络, CD31 和 Ecmn 低表达, 称为 L 型 (CD31^{lo}EMCN^{lo}) 血管。富氧血液从动脉和远端小动脉流入, 直接与 H 型血管相连。然后, 血液继续进入干骺端和干骺端交界处的 L 型血管, 最终流入中央静脉。由于与小动脉直接相连, H 型血管具有较高的氧气浓度与血液流速^[15]。

尽管 H 型内皮细胞仅占骨骼中全部内皮细胞的 1.77% 和骨髓内皮细胞总数的 0.015%, Osterix⁺ 成骨祖细胞、胶原蛋白 1 α ⁺ 成骨细胞、大鼠侏儒相关转录因子 2⁺ (RUNX family transcription factor 2, Runx²⁺) 早期成骨细胞以及 PDGFR β ⁺ 血管周细胞选择性地位于 H 型血管周围, 这些细胞在成骨过程中具有重要的调节作用, 见图 3B。成骨细胞与 H 型血管空间上的紧密联系, 也使其更容易获得氧气及其他营养成分^[1]。破骨细胞在干骺端近端主要分布在骨/软骨界面, 在远端主要分布在骨小梁表面。近端的破骨细胞直径较小 (15–20 μ m) 只含有一两个细胞核, 被定义为血管相关破骨细胞 (vessel-associated osteoclasts, VAO)。血管相关破骨细胞对于生长板的吸收必不可少, 它通过调节 H 型

远端血管弓的吻合,起到维持骨/软骨界面边界的作用,见图3B。肿瘤坏死因子配体超家族成员11 α 基因(tnfsf11 α),在H型血管内皮细胞中高度表达,参与了H型血管和血管相关破骨细胞之间的RANKL-RANK信号转导。H型血管通过血管相关破骨细胞参与软骨基质的吸收介导骨的定向伸长^[16]。

这些关于H型血管调控成骨成血管的机制研究,为以H型血管为靶点治疗骨相关疾病的研究奠定了基础。

2.2 天然小分子化合物通过调控H型血管治疗骨疾病的应用 多种骨骼相关疾病中都可发现H型血管的改变。H型血管已被证明是骨关节炎、骨折及骨质疏松等疾病治疗的潜在治疗位点。通过天然小分子化合物上调或下调H型血管以调控骨生成及骨再生,进而治疗骨骼相关疾病,是一类具有潜力的治疗方法。表1总结了天然小分子化合物调控H型血管,治疗骨疾病相关研究中所建立的动物模型^[17-28]。

2.2.1 骨关节炎 骨关节炎是世界范围内最常见的多因素退行性关节疾病之一^[29-30],目前的干预措施只能暂时缓解临床症状,直到疾病晚期需要关节置换时,才能有效地治疗骨关节炎,因此,迫切需要更多的治疗手段^[31-33]。近年来研究表明H型血管在骨关节炎的进展中起着至关重要的作用。来自H型血管的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)可能消化软骨基质且H型血管异常生成受基质金属蛋白酶调控;破骨前细胞异常分泌的血小板衍生生长因子BB(PDGF-BB)通过诱导病理性软骨下骨的形成,促进骨关节炎的发展;转化生长因子 β 也能促进H型血管的形成^[2]。因此,通过天然小分子药物降低H型血

管的异常生成,改善关节软骨退化及软骨下骨硬化,进而延缓骨关节炎的发生,是一种有前景的治疗方式。

多数药物以调控MMP生成为主,马钱素(Loganin)是从山茱萸(Corni Fructus, CF)中提取的一种环烯醚萜苷类化合物,具有抗炎镇痛、保护神经、抗骨质疏松等多种药理活性^[34]。研究表明,马钱素可增加软骨中II型胶原(COL2)的表达,降低基质金属蛋白酶3、基质金属蛋白酶13、X型胶原(COL10)、低温蛋白和半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(Caspase-1)的表达;核转录因子 κ B信号通路参与了基质金属蛋白酶和X型胶原的调节^[9],基质金属蛋白酶等因子的表达降低,可能与H型血管生成遭到抑制有关。马钱素抑制软骨下骨中H型血管的生成并通过增加透明软骨厚度,减少钙化软骨厚度,并减少骨赘形成,还能减轻软骨基质的分解代谢和关节软骨松弛的发生,从而达到保护软骨的作用。

草本植物的根茎是常用的药物来源,异甘草素(Isiquiritigenin, ISL)与常山酮(Halofuginone, HF)都是从植物的根中提取出的具有抗血管生成作用的药物活性成分。在骨性关节炎早期的异甘草素用药,对前交叉韧带切除小鼠有相当的疗效。异甘草素通过使血管内皮生长因子受体2和基质金属蛋白酶2的过表达恢复正常,间接抑制转化生长因子 β 信号通路,抑制软骨下骨中H型血管的形成^[20]。常山酮通过间接抑制依赖于基质金属蛋白酶2的血管网络的形成来抑制H型血管生成,减少软骨下的异常充血并延缓前交叉韧带切除大鼠关节软骨退变和软骨下骨硬化,从而延缓骨关节炎的进展^[21]。

表1 | 天然小分子化合物调控H型血管,治疗骨疾病相关研究中所建立的动物模型汇总表

研究者 / 发表年份	药物	动物类型	疾病模型	干预时间	主要结论
骨关节炎					
FANG等 ^[17] , 2020	邻苯二甲酸二叔丁酯	C57BL/6J小鼠(8周龄, 雄性)	前交叉韧带切断所致骨关节炎模型	2, 4, 8周	邻苯二甲酸二叔丁酯可减轻前交叉韧带切断小鼠关节软骨退化
HU等 ^[9] , 2020	马钱素	C57BL/6小鼠(8周龄, 雄性)	内侧半月板失稳所致骨性关节炎模型	8, 12周	马钱素可以减轻骨质疏松模型软骨降解, 抑制软骨下重建
LI等 ^[19] , 2019	青蒿琥酯	C57BL/6J小鼠(3月龄, 雄性)	前交叉韧带切断所致骨关节炎模型	2, 4, 8周	青蒿琥酯可以缓解小鼠关节软骨退化, 显著减弱早期骨关节炎的软骨下骨重塑
Ji等 ^[20] , 2018	异甘草素	C57BL/6J小鼠(3月龄, 雄性)	前交叉韧带切断所致骨关节炎模型	1, 2, 4, 8周	异甘草素可以保护小鼠关节软骨, 使异常的软骨下骨重塑正常化
CUI等 ^[21] , 2016	常山酮	C57BL/6J小鼠(3月龄, 雄性); Lewis大鼠	前交叉韧带切断所致骨关节炎模型	4, 8周	常山酮可以调节软骨下骨重塑, 延缓骨关节炎的进展
骨折					
DING等 ^[22] , 2022	人参皂苷化合物K	SD大鼠(8周龄, 雄性)	股骨开放性骨折内固定模型	4周	人参皂苷K可以提高骨折处骨痂部位骨密度, 提高骨折处生物力学性能, 并增加愈合组织中H型血管
WANG等 ^[23] , 2021	黄芪甲苷IV	SD大鼠(成年, 雄性)	胫骨牵张成骨模型	2, 4, 6周	黄芪甲苷IV可以在牵张成骨过程中促进血管化骨再生
SHEN等 ^[10] , 2020	骨碎补总黄酮	SD大鼠(12周龄, 雄性)	胫骨牵张成骨模型; 胫骨骨折模型	17, 31, 45 d	骨碎补总黄酮灌胃促进牵张成骨和骨折大鼠骨和血管形成, 促进愈合
YANG等 ^[24] , 2020	麦冬皂苷D	C57BL/6J小鼠(雄性, 3月龄; 12月龄)	骨再生模型	1周	麦冬皂苷D可以促进年轻及老龄鼠骨缺损部位H型血管生成及骨再生
骨质疏松					
LIN等 ^[25] , 2022	金合欢素	C57BL/6小鼠(8周龄, 雌性)	卵巢切除所致骨质疏松模型	8周	金合欢素可以缓解卵巢切除小鼠的骨丢失
SONG等 ^[26] , 2020	荷叶碱	Balb/c小鼠(5周龄, 雌性)	卵巢切除所致骨质疏松模型	8周	荷叶碱可以增加增加了卵巢切除小鼠中H型血管的数量, 缓解卵巢切除造成的骨结构破坏
LI等 ^[11] , 2020	骨疏康	C57BL小鼠	衰老模型	12周	骨疏康给药组小鼠, 骨量及骨密度均高于对照组, 且存在剂量依赖性
HUANG等 ^[27] , 2018	骆驼蓬碱	C57BL/6小鼠(12周龄, 雌性)	卵巢切除所致骨质疏松模型	8周	骆驼蓬碱给药可以预防卵巢切除所导致的骨丧失
其他疾病					
LIANG等 ^[28] , 2020	西洋参总皂苷	C57BL/6N小鼠(10周龄, 雄性)	后肢去负荷模型	4周	西洋参总皂苷给药组骨量增加和骨结构增加, 其中45 mg/kg的药物浓度效果最为显著
GAO等 ^[29] , 2018	川芎嗪	C57BL/6J(4月龄; 20月龄)	衰老模型	8周	川芎嗪可以增强骨小梁微结构, 改善骨髓微环境

此外,天然小分子药物还能通过其他途径减少H型血管的异常生成。三七(Panax notoginseng, PN)长期以来一直用于治疗骨质疏松症、骨折和骨关节炎等骨病^[35-37]。有研究采用了二维/骨髓单核细胞/细胞膜色谱/飞行时间质谱技术筛选出三七中的活性成分邻苯二甲酸二叔丁酯(diterbutyl phthalate, DP)。在具有前交叉韧带切除(anterior cruciate ligament transection, ACLT)的骨关节炎小鼠模型中,邻苯二甲酸二叔丁酯给药阻碍了软骨下骨中过度活化的破骨细胞生成并改善了关节软骨的退化,减弱了软骨下骨髓中异常H型血管的形成,并通过抑制软骨下骨中破骨细胞介导的感觉神经支配来减轻关节疼痛相关行为。体外实验表明,邻苯二甲酸二叔丁酯(20 μmol/L)通过抑制核转录因子κB受体活化因子配基(receptor activator of nuclear factor-κB ligand, RANKL)介导的细胞外调节蛋白激酶/原癌基因c-fos/活化T细胞核转录因子1蛋白(ERK/c-fos/NFATc1)通路,降低破骨细胞融合的两个关键调节剂树突状细胞-特异性跨膜蛋白(DC-STAMP)和囊泡ATP水解酶V0区d2亚基(Atp6v0d2)来抑制破骨细胞融合来延缓破骨细胞生成^[17]。

青蒿琥酯是青蒿素的半合成衍生物之一,近年来,青蒿琥酯除了作为抗疟疾药物外,还因其成骨及抗血管作用而受到越来越多的关注^[38-39]。Li等^[19]向前交叉韧带切除小鼠每日腹腔注射青蒿琥酯,结果表明青蒿琥酯通过使前交叉韧带切除小鼠体内高水平的血管内皮生长因子A和血管生成素1(ANG-1)恢复正常,并激活血管内皮生长因子β抑制软骨下骨H型血管生成,改善了关节软骨退变和软骨下骨硬化。

2.2.2 骨折 骨折愈合是一个多阶段的复杂修复过程,该修复过程由即刻炎症反应启动,间充质干细胞募集,随后分化为软骨细胞,产生软骨和成骨细胞,软骨基质产生后,矿化的软骨转化为骨^[40]。H型血管在软骨基质替换为骨的过程中充当重要角色。已有研究表明,提高骨折小鼠H型血管丰度,可以有效促进骨折愈合^[41]。

人参皂甙化合物K(Ginsenoside Compound K, CK)是人参皂甙Rb1, Rb2和Rc通过体内肠道细菌代谢产生的代谢产物,已被证明具有促进成骨细胞分化等多种药理作用^[42-43]。在大鼠开放式股骨骨折模型中,人参皂甙化合物K可以促进愈合组织中H型血管生成,加速大鼠骨折愈合。体外实验表明,人参皂甙化合物K可以激活大鼠骨髓间充质干细胞中无翼集成蛋白/β-连环蛋白(Wnt/β-catenin)信号通路,增强大鼠骨髓间充质干细胞中成骨标志物mRNA的表达。此外当人脐静脉内皮细胞和骨髓间充质干细胞共培养时,人参皂甙化合物K增加了血管的形成^[22]。麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OP-D)是一种潜在的抗氧化剂,可被用于治疗骨质疏松^[44]。最近研究表明,麦冬皂苷D也可以增加H型血管丰度,促进骨愈合。体外实验证明麦冬皂苷D可以影响Krüppel样因子3(KLF3)和JUNB启动子的结合,促进H型血管的形成^[45]。进一步研究发现,在手术切除松质骨诱导的小鼠骨再生模型中,给予麦冬皂苷D可以增加H型血管数量,促进骨损伤后的骨再生,这为加速骨骼愈合提供了一种潜在的新策略^[24]。

牵张成骨是临床上一种独特有效的骨再生技术。骨碎补(Drynaria)的根茎常被用于治疗骨质疏松症和骨折^[46]。对骨碎补有效成分的研究主要集中在骨碎补总黄酮(total flavonoids of Rhizoma Drynariae, TFRD)上^[47]。骨碎补总黄酮可以通过血小板衍生生长因子BB/血小板衍生生长因子受体β(PDGF-BB/PDGFR-β)通路促进H型血管形成,从而增强牵张成骨过程中成骨-成血管偶联。此外,在大鼠牵张成骨模型中H型血管多于骨折模型,这提示规则的拉应力可以刺激H型血管的生成^[10]。黄芪甲

苷(Astragaloside IV, AS-IV)通过在RANKL诱导下保留破骨前细胞来增加血小板衍生生长因子的产生进而促进H型血管的生成,这种作用归因于蛋白激酶B/激酶3/β-连环蛋白(AKT/GSK-3β/β-catenin)通路的激活。体内实验表明黄芪甲苷在牵引成骨过程中加速骨巩固,在牵张区通过促进H型血管生成增强血管化骨再生^[23]。

2.2.3 骨质疏松 骨质疏松是世界上最复杂、最普遍的骨骼疾病之一,主要由雌激素缺乏和衰老引起^[48-49]。在去卵巢小鼠及老龄小鼠模型中,H型血管显著数量减少,同样在骨质疏松患者骨组织中也发现了类似的结果^[1, 4, 50]。骨质疏松小鼠模型中,H型血管减少主要由血小板衍生生长因子BB的减少导致,可通过抑制组织蛋白酶K增加前破骨细胞的数量,刺激血小板衍生生长因子BB水平升高,从而刺激去卵巢小鼠H型血管生成^[51]。

目前多种天然小分子化合物可以通过保护前破骨细胞,抑制多核破骨细胞的成熟,从而促进H型血管生成与骨再生。金合欢素(acacetin)是一种天然黄酮类化合物,先前研究表明它在体外可促进成骨细胞分化、抑制破骨细胞形成^[52-53]。金合欢素可以减少多核破骨细胞的数量,并增加血小板衍生生长因子BB⁺/抗酒石酸酸性磷酸酶(PDGF-BB⁺/TRAP⁺)前破骨细胞的数量,从而刺激去卵巢小鼠的H型血管生成和骨形成。机制层面,金合欢素不仅抑制RANKL诱导的破骨细胞形成过程中主要转录因子活化T-细胞核转录因子1(NFATc1)和核转录因子κB的表达,而且抑制RANKL诱导的蛋白激酶B(Akt)、糖原合成酶激酶3β(GSK3β)、核转录因子κB抑制因子α(IκBα)和核转录因子κB p65亚基的磷酸化,以此减弱了破骨细胞生成^[25]。荷叶碱(Nuciferine, NCF)与骆驼蓬碱(Harmine)也被证明可以通过抑制多核破骨细胞的成熟与活性并促进H型血管生成。荷叶碱通过抑制丝裂原活化蛋白激酶/核转录因子κB/原癌基因c-fos/活化T细胞核转录因子1蛋白(MAPK/NF-κB/c-Fos/NFATc1)信号通路上调血小板衍生生长因子BB,抑制破骨细胞成熟^[26-27]。而骆驼蓬碱上调PDGF-BB的机制仍待进一步研究。

骨疏康是一种传统的复方中药,常用于治疗骨质疏松^[54]。体内实验结果证明,骨疏康处理后的小鼠H型血管更多;蛋白质印迹分析以及实时荧光定量-聚合酶链式反应(qRT-PCR)都表明,治疗组的缺氧诱导因子1α同样高于对照组。提示骨疏康可能通过增强缺氧诱导因子1α的表达而诱导H型血管的生成与骨生成^[11]。

2.2.4 其他疾病 除上述几种常见骨疾病外,天然药物小分子在治疗衰老所引起的退行性骨丧失、治疗失重性骨丢失中也受到了研究者的关注。

H型血管在衰老的小鼠和人类长骨中的丰度大幅下降^[1, 13]。而衰老是导致人类骨骼退行性疾病和功能缺陷的主要病理因素之一。因此能否通过促进H型血管生成,改善衰老条件下骨疾病的发生与预后引起了研究者的关注。川芎嗪(Tetramethylpyrazine, TMP)是从川芎根茎中提取纯化的主要活性成分^[55-56]。局部注射川芎嗪可以诱导CD31^{hi}Emcn^{hi}内皮细胞生成,显著提高小鼠体内血管内皮生长因子和血小板衍生生长因子BB水平。进一步研究证实,川芎嗪通过单磷酸腺苷依赖的蛋白激酶哺乳动物雷帕霉素靶蛋白-缺氧诱导因子1α-血管内皮生长因子(AMPK-mTOR-HIF1α-VEGF)途径诱导CD31^{hi}Emcn^{hi}内皮细胞形成管状结构及血管芽,进而生成H型血管,改善衰老骨髓的微环境^[29]。

失重性骨丢失是一种由长期卧床或太空飞行所导致的骨生成与骨吸收失衡,最后可能导致骨质疏松性骨折,是宇航员所面临的主要健康问题之一。尽管在国际空间站上配备有跑步机、高级阻力锻炼装置等器械供宇航员日常使用,但这种刺激并不

能有效减少宇航员的骨萎缩^[57-58]。鉴于H型血管在血管成骨及血管生成中的耦合作用，H型血管也可能成为治疗失重性骨丢失的潜在靶点。西洋参皂苷是从西洋参茎叶中提取的一种主要成分，已被证明具有促进心血管生成等功能^[59]。体内实验证明，后肢去负荷小鼠的骨形成与H型血管同时减少，而西洋参皂苷可以增加通过上调血管内皮生长因子和头蛋白(Noggin)的分泌促进H型血管生成，提升成骨细胞功能，进而促进后肢去负荷小鼠的骨生成^[28]。

综上所述，天然小分子化合物可以通过多种信号通路调控H型血管，其主要调控对象包括核转录因子κB、β-连环蛋白和血小板衍生生长因子BB等。在体外实验中可以有效地促进人脐静脉内皮细胞和骨髓间充质干细胞增殖与分化，在体内实验部分关于天然小分子药物促进或者抑制H型血管的结果和程度具有差异性，而且不同研究中的对于H型血管的免疫荧光的结果呈现和定性分析存在质量的差异性，此部分值得研究者进一步进行高质量的H型血管免疫荧光检测。此外，H型血管在神经、免疫调节也被证实发挥作用^[14, 60]，许多天然小分子都具有安神及抗炎的功效，能否通过其调控神经免疫系统，调节H型血管生成，进而治疗骨疾病，也需要进一步研究。

2.3 天然小分子与组织工程支架调控H型血管的应用现状与不足 目前，有关应用组织工程支架负载天然小分子化合物调控H型血管治疗骨疾病的研究较少，但应用组织工程支架负载天然小分子化合物治疗骨疾病亦或是搭载其他药物通过调控H型血管治疗骨疾病已经取得较好效果。这些研究为后续组织工程支架与天然小分子药物协同调控H型血管奠定了基础。

2.3.1 天然小分子与组织工程支架治疗骨疾病的应用 天然小分子在治疗骨质疏松等疾病中具有优势，但传统给药方式包括口服给药、局部给药与全身给药，均存在不同程度缺陷。组织工程学可以提高局部药物浓度、维持药物释放等，天然小分子药物也可以调节支架降解速度，改善其力学性能等，故将二者结合在一起提供了一种较好的替代方案。

在不同疾病模型中天然小分子与组织工程支架相结合，可以显著促进缺损处的血管形成与骨再生。大鼠股骨缺损模型证实，在建模后12周的时间里，负载较高浓度天麻素(Gastrodin)的支架可以有效促进大鼠股骨缺损模型中血管组织的再生^[61]。ZHAO等^[62]分别将含有与不含有柚皮苷(Naringin)的复合丝素蛋白/羟基磷灰石支架应用于大白兔股骨缺损模型，术后4周，非载药组持续存在骨缺损，而载药组出现骨组织充填及矿化；术后8周载药组骨缺损处可见新生骨，而对照组的骨缺损处仅见少量再生骨。在骨质疏松这种复杂的病理环境中，将续断负载于3D打印支架中，可以加速骨质疏松免中临界骨缺损处的骨再生^[63]。

以上研究证明了将组织工程支架负载天然小分子化合物，对于治疗不同类型骨疾病具有良好的效果。

2.3.2 搭载药物的组织工程支架调控H型血管治疗骨疾病的应用 组织工程在血管化骨再生方面具有巨大的潜力。由于H型血管在偶联成骨和成血管方面的功能特性，研究者们设计了多种支架负载药物或细胞因子通过调控H型血管治疗骨相关疾病。缺氧诱导因子1α是调控成血管-成骨两生理过程的重要刺激因子。负载去铁铵3D打印的聚己内酯支架通过缺氧诱导因子1α信号通路促进血管内皮生长因子的表达，促进H型血管生成且具有类似于天然松质骨的力学性能，体内实验也证明了该支架可促进大鼠骨缺损模型中血管的生长并促进缺损区的骨再生^[64]。

有研究通过将负载伐他汀的β-环糊精接枝到壳聚糖和明胶上，在纯钛表面构建了具有成骨和血管生成功能的多层膜。

体外实验表明，局部应用匹伐他汀可显著增强间充质干细胞的成骨能力和内皮细胞的血管生成能力。大鼠股骨圆柱形缺损模型证明，经过表面改性的载药种植体可以将内源性干细胞以及血管内皮细胞动员到种植体-骨界面进而促进H型血管生成及骨再生，最终促进种植体周围骨整合^[7]。

以上研究证明了组织工程支架在调控H型血管治疗骨疾病的应用具有良好前景。上文中所提及的人参皂苷化合物K、黄芪甲苷、骨碎补总黄酮和麦冬皂苷D均可以通过调控H型血管促进骨折处血管生成与骨再生；金合欢素、荷叶碱、骨疏康及骆驼蓬碱对骨质疏松都具有较好的调节作用。将这些药物负载于组织工程支架上，用以调控H型血管，治疗特定情境下的骨缺损等骨疾病，将成为一种具有良好前景的新方法。

文章总结了有关H型血管、天然小分子药物调控H型血管治疗骨疾病以及组织工程学支架载药调控H型血管的相关研究进展时间线，见图4。

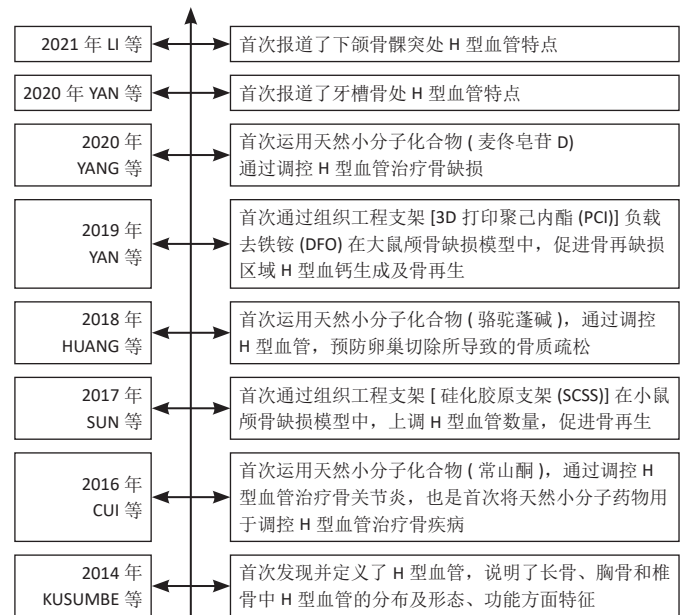


图4 | 天然小分子化合物调控H型血管治疗骨疾病及相关基础研究时间轴

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 H型血管是一种特殊的骨组织毛细血管亚型，在成骨成血管过程中起到了桥梁的作用。研究中发现，许多天然小分子化合物都可以通过缺氧诱导因子1α信号通路、血小板衍生生长因子BB信号通路等调控H型血管，进而治疗骨相关疾病^[11, 26]。国内外研究者也运用多种组织工程手段，如3D打印支架载药、纯钛种植体表面改性等，调控H型血管的生成，进而调节骨的生长^[7, 64]。然而将天然药物小分子，负载到组织工程支架上，进而调节H型血管的研究，国内外鲜有报道。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 近年来H型血管因其在成骨成血管两个重要生理过程中独特的桥梁作用，已经引起越来越多国内外学者的关注。但国内外综述大多从其调控成骨成血管的机制层面、调控骨血管微环境的作用方面，以及对于各类骨疾病调控的途径层面进行总结^[41, 65]。文章在回顾了既往关于H型血管主要特征的基础上，从时空及形态方面总结了关于H型血管最新的研究进展。①在空间分布上，近期研究表明H型血管不仅分布在长骨干骺端及骨膜处，还分布于下颌髁突及

牙槽骨中。该发现为颌骨缺损的基础及临床研究提供了新思路。

②在时间方面，即年龄相关性上，最近研究表明在牙槽骨中H型血管随年龄数量有所降低，但相对稳定。③在形态方面，先前普遍认为的柱状结构可能是由于干骺端柱状排列的软骨细胞有关，在骨再生过程中的H型血管排列，显得杂乱无章。此外，文章检索并总结了近年来天然药物小分子对于H型血管的调控机制，以及其对于骨骼相关疾病的影响，填补了天然小分子化合物调控H型血管方面综述的空白。此外也对利用组织工程支架负载天然小分子药物，调控H型血管治疗骨疾病相关的研究及应用前景进行深入分析，具有重要延展意义。

3.3 综述的局限性 文章简述了天然小分子化合物在组织工程血中的应用，以及组织工程支架调控H型血管治疗骨疾病相关应用现状，并着重总结了天然小分子化合物在调控H型血管治疗骨骼相关疾病的作用及机制。然而现阶段研究中将天然小分子化合物应用于组织工程中的研究较少，故于此方面的综述较为局限。

3.4 综述的重要意义 H型血管是一种能偶联成血管成骨两过程的特殊血管亚型，在骨疾病的发生进展中起到了不可忽视的作用。文章对15种以H型血管为靶点，治疗骨相关疾病的天然小分子化合物进行综述，各药物所涉及主要通路及作用见表2。

马钱素、异甘草素及常山酮可以通过调节骨关节炎时异常升高的基质金属蛋白酶，来减少H型血管的异常增生，进而减缓关节病变。邻苯二甲酸二叔丁酯与青蒿琥酯可以通过其他通路达到相同效果。在骨折以及牵张成骨的骨愈合过程中，人皂甙化合物K与黄芪甲苷可以通过调节β-连环蛋白，促进H型血管生成。骨碎补总黄酮及黄芪甲苷均通过上调血小板衍生生长因子BB，促进H型血管生成。金合欢素、荷叶碱、骆驼蓬碱和骨疏康均可通过不同通路促进H型血管生成，改善骨质疏松。金合欢素与荷叶碱均可抑制多核破骨细胞的成熟和分化，进而减缓骨丧失。此外，在治疗由于衰老以及失重所造成的骨

丧失过程中，川穹嗪与西洋参总皂苷，主要通过上调血管内皮生长因子，进而促进H型血管形成与骨再生。在调控H型血管以治疗骨骼相关疾病的研究中，天然小分子化合物显示出良好的前景。搭载天然小分子化合物的组织工程支架在治疗骨相关疾病中，已经得到广泛应用，并且组织工程支架在调控H型血管治疗骨疾病中，也得到了越来越多的关注。所以，将天然小分子化合物与组织工程支架结合到一起，对于调控H型血管治疗骨疾病，是一种具有潜力的新策略。

3.5 课题专家组对未来的建议 H型血管是一种能偶联成血管-成骨生理过程的关键性血管亚型，目前关于天然小分子化合物调控H型血管的相关研究主要集中于生物学与机制探究方面。目前，通过组织工程支架载药调控H型血管已经引起越来越多研究者的重视，天然小分子化合物在调控H型血管治疗骨疾病也获得了良好的效果。将二者结合，有望解决天然小分子药物通过传统给药方式，治疗效果不理想，副反应较多的缺点；同时也可以为H型血管特异性调控，提供新思路和新方法。

作者贡献: 文章设计和资料收集者为全体作者。通讯作者进行审校。

利益冲突: 文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

表2 | 天然小分子化合物在治疗骨骼相关疾病中的药物、分子通路及作用效果相关研究汇总

药物	分子及通路	作用效果
骨关节炎		
邻苯二甲酸二叔丁酯	ERK/c-fos/NFATc1 通路	抑制异常H型血管生成，抑制破骨细胞成熟，抑制神经生成 ^[17]
马钱素	NF-κB	减轻软骨基质分解代谢，和关节软骨细胞凋亡 ^[9]
青蒿琥酯	VEGF, ANG-1	抑制H型血管形成，延缓软骨区钙化 ^[19]
异甘草素	VEGFR2 MMP-2 与 TGF-β 通路	抑制软骨下骨的骨吸收和血管生成 ^[20]
常山酮	TGF-β 通路	抑制软骨下骨异常H型血管生成，减弱软骨下骨重建 ^[21]
骨折		
人皂甙化合物K	Wnt/β-catenin 通路	促进骨折骨痂中H型血管生成，促进大鼠骨髓间充质干细胞向成骨方向分化，增强人脐静脉内皮细胞成血管能力 ^[22]
黄芪甲苷IV	AKT/GSK-3β/β-catenin 通路	促进成骨和破骨前细胞诱导的血管生成来加速牵张成骨过程中的骨再生 ^[23]
骨碎补总黄酮	PDGF-BB/PDGFR-β 通路	促进内皮祖细胞的血管生成活性，增强骨髓间充质干细胞的成骨活性 ^[10]
麦冬皂苷D	KLF3	增加H型血管丰度，加速骨愈合 ^[24, 45]
骨质疏松		
金合欢素	RANKL/ NFATc1 NF-κB 通路	抑制破骨细胞功能，促进H型血管形成，从而预防去卵巢小鼠的骨丢失 ^[25]
荷叶碱	MAPK/NF-κB/c-Fos/NFATc1 通路	促进破骨前细胞生成 PDGF-BB 诱导H型血管生成 ^[26]
骨疏康	HIF-1α	促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化，并诱导H型血管生成 ^[11]
骆驼蓬碱	PDGF-BB	抑制破骨细胞的形成，促进破骨前细胞 PDGF-BB 诱导的H型血管生成 ^[27]
其他疾病		
西洋参总皂苷	VEGF, Noggin	增加后肢去负荷小鼠的骨量、成骨细胞功能和H型血管数目 ^[28]
川穹嗪	AMPK-mTOR-HIF1α-VEGF 通路	增加代谢和抗炎反应、诱导H型血管形成和维持造血干细胞生态位来维持骨稳态 ^[29]

表注: ERK/c-fos/NFATc1 通路为细胞外调节蛋白激酶 / 原癌基因 c-fos/ 活化 T 细胞核转录因子 1 蛋白通路; NF-κB 为核转录因子 κB; VEGF 为血管内皮生长因子; ANG 为血管生成素 1; VEGFR2 为血管内皮细胞生长因子受体 2; MMP-2 为基质金属蛋白酶 2; TGF-β 为转化生长因子 β; Wnt/β-catenin 通路为无翼集成蛋白 /β- 连环蛋白通路; AKT/GSK-3β/β-catenin 通路为蛋白激酶 B/ 糖原合成酶激酶 3β- 连环蛋白通路; PDGF-BB/PDGFR-β 通路为血小板衍生生长因子 BB/ 血小板衍生生长因子受体 β 通路; KLF3 为 Krüppel 样因子 3; RANKL/ NFATc1 NF-κB 通路为核转录因子 κB 受体活化因子配基 / 活化 T 细胞核转录因子 1 蛋白核转录因子 κB 通路; MAPK/NF-κB/c-Fos/NFATc1 通路为丝裂原活化蛋白激酶 / 核转录因子 κB/ 原癌基因 c-fos/ 活化 T 细胞核转录因子 1 蛋白通路; HIF-1α 为缺氧诱导因子 1α; Noggin 为头蛋白; AMPK-mTOR-HIF1α-VEGF 通路为单磷酸腺苷依赖的蛋白激酶哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 - 缺氧诱导因子 1α- 血管内皮生长因子通路

4 参考文献 References

- [1] KUSUMBE AP, RAMASAMY SK, ADAMS RH. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. *Nature*. 2014;507(7492):323-328.
- [2] CHEN JY, HENDRIKS M, CHATZIS A, et al. Bone vasculature and bone marrow vascular niches in health and disease. *J Bone Miner Res*. 2020;35(11):2103-2120.
- [3] WANG J, GAO Y, CHENG P, et al. CD31hiEmcni vessels support new trabecular bone formation at the frontier growth area in the bone defect repair process. *Sci Rep*. 2017;7(1):4990.
- [4] YIN H, HUANG J, CAO X, et al. Inhibition of src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2 facilitates CD31hiEndomucinhi blood vessel and bone formation in ovariectomized mice. *Cell Physiol Biochem*. 2018;50(3):1068-1083.
- [5] YIN S, ZHANG W, ZHANG Z, et al. Recent advances in scaffold design and material for vascularized tissue-engineered bone regeneration. *Adv Healthc Mater*. 2019; 8(10):e1801433.
- [6] DAI K, SHEN T, YU Y, et al. Generation of rhBMP-2-induced juvenile ossicles in aged mice. *Biomaterials*. 2020;258:120284.
- [7] CHEN W, XIE G, LU Y, et al. An improved osseointegration of metal implants by pitavastatin loaded multilayer films with osteogenic and angiogenic properties. *Biomaterials*. 2022;280:121260.
- [8] SUN J, JIAO K, NIU L, et al. Intrafibrillar silicified collagen scaffold modulates monocyte to promote cell homing, angiogenesis and bone regeneration. *Biomaterials*. 2017;113:203-216.
- [9] HU J, ZHOU J, WU J, et al. Loganim ameliorates cartilage degeneration and osteoarthritis development in an osteoarthritis mouse model through inhibition of NF- κ B activity and pyroptosis in chondrocytes. *J Ethnopharmacol*. 2020;247:112261.
- [10] SHEN Z, CHEN Z, LI Z, 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-1 α /VEGF axis. *Front Pharmacol*. 2020;11:503524.
- [11] LI W, ZHOU X, JIANG T, et al. Positive effect of gushukang on type-H vessel and bone formation. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:265.
- [12] LI H, LIAO L, HU Y, et al. Identification of type H vessels in mice mandibular condyle. *J Dent Res*. 2021;100(9):983-992.
- [13] YAN Z, WANG X, ZHOU Y, et al. H-type blood vessels participate in alveolar bone remodeling during murine tooth extraction healing. *Oral Dis*. 2020;26(5):998-1009.
- [14] STEFANOWSKI J, LANG A, RAUCH A, et al. Spatial distribution of macrophages during callus formation and maturation reveals close crosstalk between macrophages and newly forming vessels. *Front Immunol*. 2019;10(2588):2588-2588.
- [15] RAMASAMY SK, KUSUMBE AP, SCHILLER M, et al. Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. *Nat Commun*. 2016;7:13601-13601.
- [16] ROMEO S, ALAWI K, RODRIGUES J, et al. Endothelial proteolytic activity and interaction with non-resorbing osteoclasts mediate bone elongation. *Nat Cell Biol*. 2019;21(4):430-441.
- [17] PENG Y, WU S, LI Y, et al. Type H blood vessels in bone modeling and remodeling. *Theranostics*. 2020;10(1):426-436.
- [18] FANG C, GUO JW, WANG YJ, et al. Di-tert-butyl phthalate attenuates osteoarthritis in ACLT mice via suppressing ERK/c-fos/NFATc1 pathway, and subsequently inhibiting subchondral osteoclast fusion. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2022;43(5):1299-1310.
- [19] LI Y, MU W, XU B, et al. Artesunate, an anti-malaria agent, attenuates experimental osteoarthritis by inhibiting bone resorption and CD31hiEmcni vessel formation in subchondral bone. *Front Pharmacol*. 2019;10:685.
- [20] JI B, ZHANG Z, GUO W, et al. Isoliquiritigenin blunts osteoarthritis by inhibition of bone resorption and angiogenesis in subchondral bone. *Sci Rep*. 2018;8(1):1721.
- [21] CUI Z, CRANE J, XIE H, et al. Halofuginone attenuates osteoarthritis by inhibition of TGF- β activity and H-type vessel formation in subchondral bone. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(9):1714-1721.
- [22] DING L, GU S, ZHOU B, et al. Ginsenoside compound K enhances fracture healing via promoting osteogenesis and angiogenesis. *Front Pharmacol*. 2022;13: 855393-855393.
- [23] WANG F, QIAN H, KONG L, et al. Accelerated bone regeneration by astragaloside iv through stimulating the coupling of osteogenesis and angiogenesis. *Int J Biol Sci*. 2021;17(7):1821-1836.
- [24] YANG M, LI C, XIAO Y, et al. Ophiopogonin D promotes bone regeneration by stimulating CD31 EMCN vessel formation. *Cell Prolif*. 2020;53(3):e12784.
- [25] LIN X, XU F, ZHANG KW, et al. Acacetin prevents bone loss by disrupting osteoclast formation and promoting type H vessel formation in ovariectomy-induced osteoporosis. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:796227.
- [26] SONG C, CAO J, LEI Y, et al. Nuciferine prevents bone loss by disrupting multinucleated osteoclast formation and promoting type H vessel formation. *FASEB J*. 2020;34(3):4798-4811.
- [27] HUANG J, YIN H, RAO S, et al. Harmine enhances type H vessel formation and prevents bone loss in ovariectomized mice. *Theranostics*. 2018;8(9):2435-2446.
- [28] LIANG S, LING S, DU R, et al. The coupling of reduced type H vessels with unloading-induced bone loss and the protection role of Panax quinquefolium saponin in the male mice. *Bone*. 2021;143:115712.
- [29] GAO B, LIN X, JING H, et al. Local delivery of tetramethylpyrazine eliminates the senescent phenotype of bone marrow mesenchymal stromal cells and creates an anti-inflammatory and angiogenic environment in aging mice. *Aging cell*. 2018; 17(3):e12741.
- [30] HOOTMAN J, HELMICK C. Projections of US prevalence of arthritis and associated activity limitations. *Arthritis Rheum*. 2006;54(1):226-229.
- [31] LAWRENCE R, FELSON D, HELMICK C, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26-35.
- [32] LE GRAVERAND-GASTINEAU M. Disease modifying osteoarthritis drugs: facing development challenges and choosing molecular targets. *Current drug targets*. 2010;11(5):528-535.
- [33] HAWKER G, MIAN S, BEDNIS K, et al. Osteoarthritis year 2010 in review: non-pharmacologic therapy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011;19(4):366-374.
- [34] BERENBAUM F. Osteoarthritis year 2010 in review: non-pharmacological therapies. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011;19(4):361-365.
- [35] HUANG J, ZHANG Y, DONG L, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. *J Ethnopharmacol*. 2018;213: 280-301.
- [36] WEI CC, YUE LF, YOU FT, et al. Panax notoginseng saponins alleviate osteoporosis and joint destruction in rabbits with antigen-induced arthritis. *Exp Ther Med*. 2021;22(5):1302.
- [37] 李世杰, 马立琼, 熊贤梅, 等. 三七总皂对富血小板血浆促进兔骨缺损愈合的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2022,26(14):2155-2160.
- [38] ZHANG Y, CAI W, HAN G, et al. Panax notoginseng saponins prevent senescence and inhibit apoptosis by regulating the PI3K-AKT-mTOR pathway in osteoarthritic chondrocytes. *Int J Mol Med*. 2020;45(4):1225-1236.
- [39] VERMA S, DAS P, KUMAR V L. Chemoprevention by artesunate in a preclinical model of colorectal cancer involves down regulation of β -catenin, suppression of angiogenesis, cellular proliferation and induction of apoptosis. *Chem Biol Interact*. 2017;278:84-91.
- [40] ZHAO C, LIU Q, WANG K. Artesunate attenuates ACLT-induced osteoarthritis by suppressing osteoclastogenesis and aberrant angiogenesis. *Biomed Pharmacother*. 2017;96:410-416.
- [41] FAZZALARI NL. Bone fracture and bone fracture repair. *Osteoporos Int*. 2011; 22(6):2003-2006.
- [42] YANG XD, YANG YY, OUYANG DS, et al. A review of biotransformation and pharmacology of ginsenoside compound K. *Fitoterapia*. 2015;100:208-220.
- [43] YANG N, LIU D, ZHANG X, et al. Effects of ginsenosides on bone remodelling for novel drug applications: a review. *Chin Med*. 2020;15(1):42.
- [44] HUANG Q, GAO B, WANG L, et al. Ophiopogonin D: a new herbal agent against osteoporosis. *Bone*. 2015;74:18-28.
- [45] YANG M, GUO Q, PENG H, et al. Kruppel-like factor 3 inhibition by mutated lncRNA Reg1cp results in human high bone mass syndrome. *J Exp Med*. 2019; 216(8):1944-1964.
- [46] FANG Y, QINGNA L, ZHIHONG T, et al. Effect of total flavonoids from *Drynaria rhizome* on bone loss in ovariectomized rats. *Trop J Pharm Res*. 2019;18(6): 1285-1289.
- [47] ZHANG Y, JIANG J, SHEN H, et al. Total flavonoids from *Rhizoma Drynariae* (Gusubul) for treating osteoporotic fractures: implication in clinical practice. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:1881-1890.
- [48] MAO L, XIA L, CHANG J, et al. The synergistic effects of Sr and Si bioactive ions on osteogenesis, osteoclastogenesis and angiogenesis for osteoporotic bone regeneration. *Acta Biomater*. 2017;61:217-232.
- [49] SUN X, GUO Q, WEI W, et al. Current progress on microRNA-based gene delivery in the treatment of osteoporosis and osteoporotic fracture. *Int J Endocrinol*. 2019;2019:6782653.
- [50] DING W, XU C, ZHANG Y, et al. Advances in the understanding of the role of type-H vessels in the pathogenesis of osteoporosis. *Arch Osteoporos*. 2020;15(1):5.
- [51] XIE H, CUI Z, WANG L, et al. PDGF-BB secreted by preosteoclasts induces angiogenesis during coupling with osteogenesis. *Nat Med*. 2014;20(11):1270-1278.
- [52] LI J, LIN X, ZHANG Y, et al. Preparative purification of bioactive compounds from *flos chrysanthemum* and evaluation of its antiosteoporosis effect. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016;2016:2587201.
- [53] KIM SI, KIM YH, KANG BG, et al. Linarin and its aglycone acacetin abrogate actin ring formation and focal contact to bone matrix of bone-resorbing osteoclasts through inhibition of α v β 3 integrin and core-linked CD44. *Phytomedicine*. 2020; 79:153351.
- [54] CHAI S, WAN L, WANG JL, et al. Gushukang inhibits osteocyte apoptosis and enhances BMP-2/Smads signaling pathway in ovariectomized rats. *Phytomedicine*. 2019;64:153063.
- [55] GONG P, ZHANG Z, ZOU Y, et al. Tetramethylpyrazine attenuates blood-brain barrier disruption in ischemia/reperfusion injury through the JAK/STAT signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 2019;854:289-297.
- [56] ZHANG X, DONG H, LIU Y, et al. Tetramethylpyrazine partially relieves hypoxia-caused damage of cardiomyocytes H9c2 by downregulation of miR-449a. *J Cell Physiol*. 2019. doi: 10.1002/jcp.28151.
- [57] GABEL L, LIPHARDT A, HULME P, et al. Pre-flight exercise and bone metabolism predict unloading-induced bone loss due to spaceflight. *Br J Sports Med*. 2021; 56(4):196-203.
- [58] WANG K, WANG Y, HU Z, et al. Bone-targeted lncRNA OGRU alleviates unloading-induced bone loss via miR-320-3p/Hoxa10 axis. *Cell Death Dis*. 2020;11(5):382.
- [59] LI D, LIU M, TAO T Q, et al. Panax quinquefolium saponin attenuates cardiomyocyte apoptosis and opening of the mitochondrial permeability transition pore in a rat model of ischemia/reperfusion. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(4):1413-1426.
- [60] CHEN H, HU B, LV X, et al. Prostaglandin E2 mediates sensory nerve regulation of bone homeostasis. *N Nat Commun*. 2019;10(1):181.
- [61] LI L, LI Q, GUI L, et al. Sequential gastrin release PU/n-HA composite scaffolds reprogram macrophages for improved osteogenesis and angiogenesis. *Bioact Mater*. 2022;19:24-37.
- [62] ZHAO ZH, MA XL, ZHAO B, et al. Naringin-inlaid silk fibroin/hydroxyapatite scaffold enhances human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-based bone regeneration. *Cell Prolif*. 2021; 54(7):e13043.
- [63] KAO CT, CHIU YC, LEE AK, et al. The synergistic effects of Xu Duan combined Sr-contained calcium silicate/poly- ϵ -caprolactone scaffolds for the promotion of osteogenesis marker expression and the induction of bone regeneration in osteoporosis. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021;119:111629.
- [64] YAN Y, CHEN H, ZHANG H, et al. Vascularized 3D printed scaffolds for promoting bone regeneration. *Biomaterials*. 2019;190-191:97-110.
- [65] 李高志, 石菲, 张舒, 等. 血管新生与骨形成耦联、骨骼疾病发生及治疗中 H 型血管的作用机制研究进展 [J]. *山东医药*, 2021,61(3):91-94.

(责任编辑: WJ, ZN, ZJP)