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*

罗勋，雷亮✉

宝鸡市中医医院，陕西 宝鸡 721001

摘要：目的：探究桃红四物汤对大鼠四肢开放性骨折愈合能力及磷脂酰肌醇－3－激酶（phosphoinositide－3－kinase，PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B，AKT）信号通路的影响。方法：将 40 只雄性大鼠随机分为空白组（BL 组）、模型组（MO 组）、桃红四物汤低剂量组（LDE 组，5 mL·kg^{-1}·d^{-1}）和桃红四物汤高剂量组（HDE 组，10 mL·kg^{-1}·d^{-1}），每组 10 只。除 BL 组外，其余大鼠采用股骨干中段短斜形截断＋克氏针髓内固定法制备四肢开放性骨折模型。造模成功后，LDE 组和 HDE 组大鼠以相应剂量灌胃桃红四物汤，BL 组和 MO 组灌胃生理盐水，连续 28 d。采用电子拉力检测仪检测大鼠股骨最大承受力与骨韧性；HE 染色法观察骨痂形成；Western blot 检测股骨组织 PI3K、p－PI3K、AKT、p－AKT 及血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）蛋白表达水平；GBHA 法测定血钙含量；磷钼酸法测定血磷含量；ELISA 测定血清骨碱性磷酸酶（bone alkaline phosphatase，BALP）、骨钙素（bone gla protein，BGP）、肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）、白细胞介素－1β（interleukin－1β，IL－1β）、IL－6、IL－8 水平；免疫组化法检测股骨组织 VEGF 表达水平。结果：与 BL 组比较，MO 组大鼠股骨最大承受力与骨韧性显著降低（$P<0.05$），HE 染色显示透明软骨组织明显增加，PI3K、p－PI3K、AKT、p－AKT、VEGF 蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$），血清钙、磷、BALP、BGP 水平显著降低（$P<0.05$），血清 TNF－α、IL－6、IL－8 水平显著升高（$P<0.05$）。与 MO 组比较，LDE 组和 HDE 组大鼠股骨最大承受力与骨韧性显著升高（$P<0.05$），HE 染色显示新骨形成增加，PI3K、p－PI3K、AKT、p－AKT、VEGF 蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$），血清钙、磷、BALP、BGP 水平显著升高（$P<0.05$），上述炎症因子水平显著降低（$P<0.05$），且 HDE 上述效应均较 LDE 组更为显著（$P<0.05$）。结论：桃红四物汤可能通过激活 PI3K/AKT 信号通路，从而促进四肢开放性骨折大鼠新骨形成和骨愈合。

关键词：桃红四物汤；四肢开放性骨折；骨愈合能力；PI3K/AKT 通路；骨矿化；炎症反应；大鼠
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.09.308
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2026)09－2022－07

Effects of Taohong Siwu Decoction on Bone Healing Ability and PI3K/AKT Signaling Pathway in Open Limb Fracture Models

LUO Xun，LEI Liang

Traditional Chinese Medicine Hospital of Baoji，Baoji Shaanxi China 721001

Abstract：Objective：To explore the effects of Taohong Siwu Decoction on the bone healing ability and the phosphoinositide－3－kinase（PI3K）/protein kinase B（AKT）signaling pathway in rats with open limb fractures. Methods：Forty male rats were randomly divided into a blank group（BL group），model group（MO group），low－dose Taohong Siwu Decoction group（LDE group，5 mL·kg^{-1}·d^{-1}），and high－dose Taohong Siwu Decoction group（HDE group，10 mL·kg^{-1}·d^{-1}），with 10 rats in each group. Except for the BL group，the remaining rats were used to create open limb fracture models using mid－shaft femur oblique osteotomy fixed with Kirschner

＊**基金项目**：中医药科技创新提质扩能计划项目（TZKN－CXRC－22）
作者简介：罗勋（1984－），男，陕西宝鸡人，医学学士，副主任医师，研究方向：骨创伤。
✉**通信作者**：雷亮，医学硕士，副主任医师，研究方向：骨创伤。E－mail：leiliang106@126.com

wires. After the model was successfully established, rats in the LDE and HDE groups were gavaged with the corresponding doses of Taohong Siwu Decoction, while the BL and MO groups were gavaged with saline, continuously for 28 days. The maximum load and bone toughness of the rats' femurs were tested using an electronic tension testing machine; bone callus formation was observed by HE staining; Western blot was used to detect protein expression levels of PI3K, p - PI3K, AKT, p - AKT, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in femoral tissue; blood calcium content was measured by the GBHA method; blood phosphorus content was measured by the phosphomolybdate method; serum levels of bone alkaline phosphatase (BALP), bone gla protein (BGP), tumor necrosis factor - α (TNF - α), interleukin - 1β (IL - 1β), interleukin - 6 (IL - 6), and interleukin - 8 (IL - 8) were measured by ELISA; immunohistochemistry was used to detect VEGF expression in femoral tissue. Results: Compared with the BL group, rats in the MO group had significantly reduced maximum femoral load and bone toughness ($P<0.05$). HE staining showed a marked increase in transparent cartilage tissue, while the protein expression levels of PI3K, p - PI3K, AKT, p - AKT, and VEGF were significantly decreased ($P<0.05$). Serum levels of calcium, phosphorus, BALP, and BGP were also significantly lower ($P<0.05$), whereas serum TNF - α, IL - 6, and IL - 8 levels were significantly higher ($P<0.05$). Compared with the MO group, rats in the LDE and HDE groups showed a significant increase in maximum femoral load and bone toughness ($P<0.05$). HE staining revealed increased new bone formation, and protein expression levels of PI3K, p - PI3K, AKT, p - AKT, and VEGF were significantly elevated ($P<0.05$). Serum calcium, phosphorus, BALP, and BGP levels were significantly higher ($P<0.05$), and levels of the above inflammatory factors were significantly reduced ($P<0.05$). The effects in the HDE group were more pronounced than those in the LDE group ($P<0.05$). Conclusion: Taohong Siwu Decoction may promote new bone formation and bone healing in rats with open limb fractures by activating the PI3K/AKT signaling pathway.
Key words: Taohong Siwu Decoction; open limb fracture; bone healing ability; PI3K/AKT pathway; bone mineralization; inflammatory response; rat

近年来，我国四肢开放性骨折的发病率逐年上升。该类骨折多由车祸、坠落、工业意外等高能量事故引起，表现为骨与周围软组织的严重损伤，常伴有软组织大面积缺损、伤口闭合困难及血液循环障碍等。临床以手术治疗为主，术后需辅以系统护理，否则易并发感染、骨折愈合障碍或畸形愈合，严重者甚至需截肢，对患者生活质量影响显著。因此，探索促进四肢开放性骨折术后愈合的有效方案成为临床研究热点。

骨愈合过程主要包括 4 个阶段：早期炎症反应与血肿形成，软骨性骨痂形成，骨性骨痂形成与矿化及骨重建，多种细胞因子参与这一过程。研究表明，磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶（phosphoinositide - 3 - kinase，PI3K）可催化磷脂酰肌醇的 3 位羟基磷酸化，是调控成骨细胞与破骨细胞功能的关键信号分子；蛋白激酶 B（protein kinase B，AKT）处于 PI3K/AKT 信号通路的中心环节[1-2]。骨碱性磷酸酶（bone alkaline phosphatase，BALP）由成骨细胞分泌，能反映成骨细胞活性与骨形成状态。骨钙素（bone gla protein，BGP）是成骨细胞骨形成的血清标志物，羧化的 BGP 对 Ca^{2+} 具有较强的亲和力，可沉积于骨骼肌系统中[3]。血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）作为血管新生与血管渗透的关键调节因子，在血管形成中起重要作用[4]。

中医药治疗骨折历史悠久，中药复方汤剂具有不良反应少、安全性高等优点，受到广泛关注。桃红四物汤由桃仁、红花、熟地黄等中药组成，具有促进血液循环和骨愈合等功效[5]。本研究通过建立大鼠四肢开放性骨折模型，观察桃红四物汤对骨愈合能力及 PI3K/AKT 信号通路的影响，以期为开放性骨折的中医药治疗提供新策略。

1　材料

1.1　动物　SPF 级雄性大鼠 40 只，5 ~ 8 周龄，体质量（200 ± 10）g，购自成都达硕动物实验有限公司，动物合格证号：SCXK（川）2020 - 0030。大鼠饲养于温度（23 ± 2）℃、12 h 光照/12 h 黑暗交替的环境中，自由进食和饮水，适应性饲养 1 周后开始实验。本研究经宝鸡市中医医院伦理委员会审核批准，伦理审批号：BJSZYYY - LWTG - 20240105。

1.2　试剂　大鼠白细胞介素 - 6（interleukin - 6，IL - 6）、IL - 1β、IL - 8、肿瘤坏死因子 - α（tumor necrosis factor - α，TNF - α）ELISA 检测试剂盒（上海酶联生物科技有限公司，货号：ml064292、ml037361、ml002885、ml002859）；VEGF 兔抗鼠单克隆抗体、PI3K 兔抗鼠多克隆抗体、p - PI3K 兔抗鼠多克隆抗体、AKT 兔抗鼠多克隆抗体、p - AKT 兔抗鼠多克隆抗体、GAPDH 抗体、二抗［艾博抗（上海）贸易有限公司，货号：ab32152、ab154598、ab138364、ab179463、ab38449、ab38449、ab9485、ab7099］；血钙

浓度检测试剂盒、血磷浓度检测试剂盒、HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:BC0725、BC1655、G1120);大鼠 BALP ELISA 试剂盒(生工生物工程上海有限公司,货号:D731033 - 0048)。

1.3　仪器　超净工作台(苏州净化设备有限公司,型号:BBS - V1300);低温离心机(Beckman Coulter,型号:Allegra X - 15R);水浴锅(Grant Instruments,型号:JBN25);正置拍照显微镜(Nikon,型号:Eclipse Ni - U);紫外分光光度计(ThermoFisher Scientific,型号:Evolution 300);1.2 mm 克氏针(Stryker,型号:K - Wire 1.2 mm);电子拉力检测仪(北京时代之峰科技有限公司,型号:WAW - 100);切片机(莱卡生物,型号:RM2235)。

2　方法

2.1　桃红四物汤制备　桃红四物汤由白芍、川当归、熟地黄、川芎、桃仁各 9 g,红花 6 g 组成。将上述药材与 75% 乙醇混合,冷凝回流提取 2 h,过滤;滤渣重复提取 1 次,合并两次滤液,旋转蒸发浓缩至质量浓度为 1 g · mL^{-1} 的浓缩液,置于 4 ℃ 冰箱冷藏保存备用[6]。

2.2　分组、造模及给药　将 40 只雄性大鼠随机分为空白组(BL 组)、模型组(MO 组)、桃红四物汤低剂量组(LDE 组,5 mL · kg^{-1} · d^{-1})和桃红四物汤高剂量组(HDE 组,10 mL · kg^{-1} · d^{-1}),每组 10 只。除 BL 组外,其余大鼠采用股骨干中段短斜形截断 + 克氏针髓内固定法制备四肢开放性骨折模型。具体方法如下:3% 戊巴比妥钠(1 mg · kg^{-1})右下腹部注射麻醉大鼠,左后肢股骨部术区常规备皮、消毒;前外侧入路,沿肌间隙钝性分离显露股骨干,于股骨干中 1/3 处行短斜形截骨,用 1.2 mm 克氏针行髓内固定,确保断端对位和稳定;冲洗缝合伤口,术后每日碘伏消毒伤口预防感染[7-8]。BL 组大鼠不进行骨折造模,仅行假手术:于左后肢前外侧入路切开皮肤,钝性分离肌间隙显露股骨干后,逐层缝合切口。造模成功后,LDE 组和 HDE 组大鼠以相应剂量灌胃桃红四物汤,BL 组和 MO 组大鼠灌胃生理盐水(10 mL · kg^{-1} · d^{-1}),连续 28 d。

2.3　样本采集　取材前大鼠禁食 12 h,3% 戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉采血,离心分离血清,- 80 ℃ 冰箱保存备用。采血后迅速取大鼠左后肢股骨骨折处软组织及完整股骨,一部分置于 4% 多聚甲醛中固定用于组织病理学检测,其余液氮速冻后置于 - 80 ℃ 冰箱保存用于分子生物学检测。

2.4　四点断裂法评估骨生物力学　采用电子拉力检测仪检测各组大鼠股骨的最大承受力与骨韧性。将股骨标本固定于检测仪上,以 5 mm · min^{-1} 的速度于骨折部位垂直方向施加载荷直至标本断裂,由仪器内置软件记录最大承受力,并计算骨韧性。

2.5　HE 染色法观察骨痂形成　取大鼠股骨组织,4% 多聚甲醛液固定 24 h,梯度乙醇脱水,石蜡包埋后进行切片。二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,水洗 5 min 后,置于苏木精染色液中染色 10 min,水洗。然后置于伊红染色液中 10 min,水洗。再次梯度乙醇脱水,二甲苯透明,最后用中性树胶封片。在正置白光显微镜下观察骨痂组织形态学变化,每组选取 3 个视野拍照。

2.6　Western blot 检测　取大鼠股骨组织,PBS 洗涤,加入 1 mL 细胞裂解液裂解 30 min,4 ℃、14 000 r · min^{-1} 离心 5 min,取上清液作为蛋白样品。采用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA)蛋白浓度测定试剂盒检测样品总浓度,SDS - PAGE 电脉分离蛋白,转膜,封闭 2 h。洗膜,加入一抗(PI3K 1∶1 000、p - PI3K 1∶500、AKT 1∶500、p - AKT 1∶2 500、VEGF 1∶2 500、GAPDH 1∶2 500),4 ℃ 孵育过夜。洗膜后加入辣根过氧化物酶标记二抗(1∶30 000),室温孵育 2 h,洗去二抗。将膜浸入电化学发光液中,使用 Chemidoc 系统进行扫描成像,并应用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值,以 GAPDH 作为内参蛋白,计算目的蛋白的相对表达量。

2.7　GBHA 法测定血清钙含量　将血清样品与乙二醛双(2 - 羟基苯胺)[glyoxal - bis(2 - hydroxyanil),GBHA]试剂混合均匀,静置 5 min 后,用分光光度计在 520 nm 波长处测定光密度(OD)值,参照钙标准曲线图计算样品中钙含量。

血清钙含量 = ($OD_{测定值}$ - $OD_{空白值}$)/($OD_{标准值}$ - $OD_{空白值}$) × 标准液浓度(0.4 mmol · L^{-1})

2.8　磷钼酸法测定血清磷含量　向血清样品中依次加入钼酸铵试剂和硫酸亚铁溶液,涡旋混匀,室温静置 10 min,在波长 660 nm 处测定 OD 值,参照磷标准曲线图计算样品中磷含量。

血清磷含量 = ($OD_{测定值}$ - $OD_{空白值}$)/($OD_{标准值}$ -

$OD_{空白值}$）×标准液浓度（1 mmol · L^{-1}）×样品稀释倍数

2.9　ELISA 法测定血清 BALP、BGP 和炎症因子水平　采用 ELISA 试剂盒测定大鼠血清样品中成骨标记物 BALP、BGP 及肿瘤坏死因子 -α（tumor necrosis factor -α，TNF -α）、白细胞介素 -1β（interleukin -1β，IL -1β）、IL -6、IL -8 水平。

2.10　免疫组化法检测 VEGF 表达水平　取大鼠股骨组织制备石蜡切片，脱蜡，用柠檬酸盐缓冲液高压热修复 3 min，10% 过氧化氢室温封闭 10 min，以减少背景染色。PBS 洗涤切片，加入 VEGF 一抗（1∶200 稀释），4 ℃孵育过夜，同时以 PBS 代替一抗进行孵育，作为阴性对照，以验证抗体的特异性。洗去一抗，加入二抗室温孵育 30 min。使用二氨基联苯胺（diaminobenzidine，DAB）进行显色，后经苏木素复染、梯度乙醇脱水和封片。在显微镜下观察每张切片选取 3 个不同视野进行拍照，并用 Image Pro -plus 软件分析图像的积分光密度（IOD）值，从而定量评估 VEGF 的表达水平。

2.11　统计学方法　采用 GraphPad Prism 7 软件进行数据分析与绘图，计量数据使用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。组间比较使用独立样本 t 检验，$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　各组大鼠股骨生物力学指标比较　与 BL 组比较，MO 组大鼠股骨最大承受力与骨韧性显著降低（$P < 0.05$）；与 MO 组比较，LDE 组和 HDE 组大鼠股骨最大承受力与骨韧性显著升高（$P < 0.05$）；与 LDE 组比较，HDE 组大鼠股骨最大承受力与骨韧性显著升高（$P < 0.05$），见表 1。

表 1　各组大鼠股骨骨折部位最大承受力与股韧性比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	最大承受力（F/N）	骨韧性/N · mm^{-1}
BL 组	10	213.02 ± 17.20	225.44 ± 14.69
MO 组	10	125.56 ± 15.74*	129.44 ± 19.35*
LDE 组	10	153.35 ± 12.33$^{\#}$	163.59 ± 24.61$^{\#}$
HDE 组	10	185.68 ± 14.68$^{\#\triangle}$	191.32 ± 17.5$^{\#\triangle}$

注：与 BL 组比较，$*P < 0.05$；与 MO 组比较，$\#P < 0.05$；与 LDE 组比较，$\triangle P < 0.05$。

3.2　各组大鼠骨痂形成观察　HE 染色显示，BL 组大鼠股骨组织结构清晰；MO 组大鼠骨折部位明显可见透明软骨组织，正向新骨形态发生转化；LDE 组大鼠骨折部位存在部分透明软骨组织，新骨形成更加明显；HDE 组大鼠骨折部位少见透明软骨组织，新骨广泛形成，见图 1。

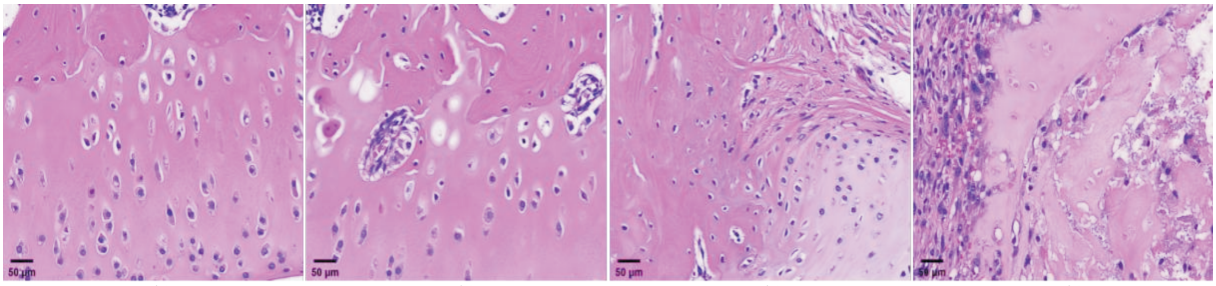


图 1　各组大鼠股骨骨痂 HE 染色图（200 ×）

3.3　各组大鼠骨矿化程度比较　与 BL 组比较，MO 组大鼠血清钙、磷、BALP、BGP 水平降低（$P < 0.05$）；与 MO 组比较，LDE 组和 HDE 组大鼠血清钙、磷、BALP、BGP 水平升高（$P < 0.05$）；与 LDE 组比较，HDE 组大鼠血清钙、磷、BALP、BGP 水平升高（$P < 0.05$），见表 2。

表 2　各组大鼠血清钙、磷、BALP、BGP 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	钙（c/mmol · L^{-1}）	磷（c/mmol · L^{-1}）	BALP/U · L^{-1}	BGP（ρ/μg · L^{-1}）
BL 组	10	2.17 ± 0.27	2.35 ± 0.37	153.57 ± 17.37	1.57 ± 0.47
MO 组	10	1.29 ± 0.30*	1.69 ± 0.42*	91.46 ± 12.57*	0.87 ± 0.58*
LDE 组	10	1.94 ± 0.26$^{\#}$	2.35 ± 0.21$^{\#}$	124.10 ± 21.47$^{\#}$	1.74 ± 0.24$^{\#}$
HDE 组	10	2.67 ± 0.58$^{\#\triangle}$	2.98 ± 0.36$^{\#\triangle}$	147.57 ± 19.62$^{\#\triangle}$	2.38 ± 0.74$^{\#\triangle}$

注：与 BL 组比较，$*P < 0.05$；与 MO 组比较，$\#P < 0.05$；与 LDE 组比较，$\triangle P < 0.05$。

3.4　各组大鼠血清炎症因子水平比较　ELISA 显示，与 BL 组比较，MO 组大鼠血清 TNF－α、IL－6 和 IL－8 水平升高（$P<0.05$）；与 MO 组比较，LDE 组大鼠血清 IL－1β 水平升高、IL－8 水平降低（$P<0.05$）；与 MO 组比较，HDE 组大鼠血清 TNF－α、IL－6 和 IL－8 水平降低（$P<0.05$）；与 LDE 组比较，HDE 组大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－6 和 IL－8 水平降低（$P<0.05$），见表 3。

3.5　各组大鼠股骨组织 VEGF 蛋白表达水平比较　免疫组化显示，与 BL 组比较，MO 组大鼠股骨组织 VEGF 表达水平降低（$P<0.05$）；与 MO 组比较，LDE 组和 HDE 组大鼠 VEGF 表达水平升高（$P<0.05$）；与 LDE 组比较，HDE 组大鼠 VEGF 表达水平升高（$P<0.05$），见图 2—图 3。

表 3　各组大鼠血清 TNF－α、IL－1β、IL－6 和 IL－8 水平比较　（$\bar{x}\pm s$，ng·L^{-1}）

组别	n	TNF－α	IL－1β	IL－6	IL－8
BL 组	10	20.01±3.28	15.87±2.97	22.50±5.58	35.27±7.51
MO 组	10	33.56±2.69*	17.87±3.65	35.23±7.84*	73.96±12.57*
LDE 组	10	30.10±5.53	25.87±4.28$^{\#}$	31.58±3.96	55.36±9.57$^{\#}$
HDE 组	10	24.98±4.58$^{\#\triangle}$	18.78±2.87$^{\triangle}$	26.47±4.56$^{\#\triangle}$	43.97±7.74$^{\#\triangle}$

注：与 BL 组比较，$*P<0.05$；与 MO 组比较，$\#P<0.05$；与 LDE 组比较，$\triangle P<0.05$。

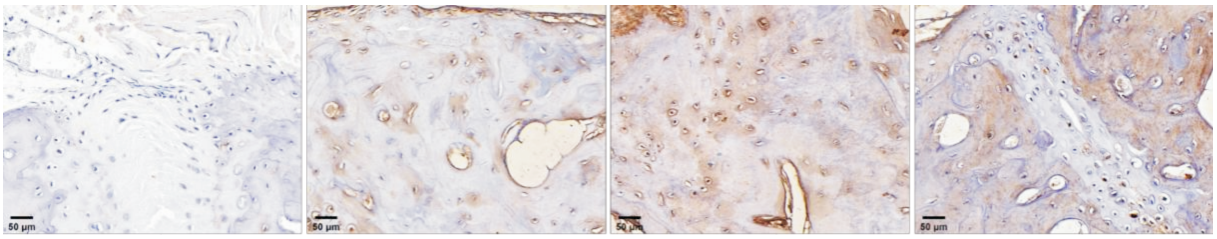
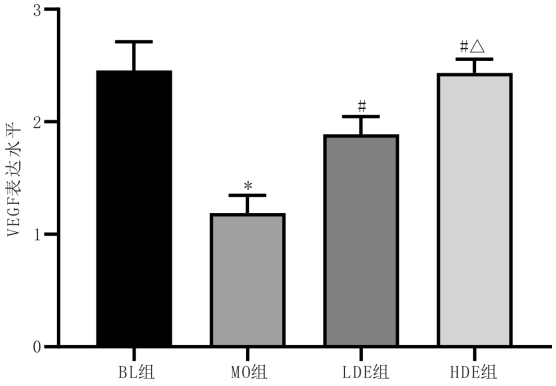


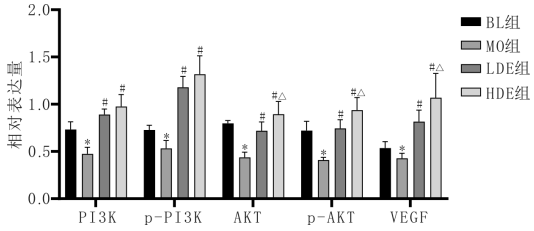
图 2　各组大鼠股骨组织 VEGF 免疫组化染色图（200×）



注：与 BL 组比较，$*P<0.05$；与 MO 组比较，$\#P<0.05$；与 LDE 组比较，$\triangle P<0.05$。

图 3　各组大鼠股骨组织 VEGF 蛋白表达水平比较

3.6　各组大鼠股骨组织 PI3K、AKT、p－PI3K、p－AKT 及 VEGF 蛋白表达水平比较　Western blot 显示，与 BL 组比较，MO 组大鼠股骨组织 PI3K、AKT、p－PI3K、p－AKT、VEGF 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）；与 MO 组比较，LDE 组和 HDE 组大鼠股骨组织 PI3K、AKT、p－PI3K、p－AKT、VEGF 蛋白表达水平均升高（$P<0.05$）；与 LDE 组比较，HDE 组大鼠股骨组织 AKT、p－AKT、VEGF 蛋白表达水平均升高（$P<0.05$），见图 4—图 5。



注：与 BL 组比较，$*P<0.05$；与 MO 组比较，$\#P<0.05$；与 LDE 组比较，$\triangle P<0.05$。

图 5　各组大鼠股骨组织 PI3K、AKT、p－PI3K、p－AKT 及 VEGF 蛋白表达水平比较

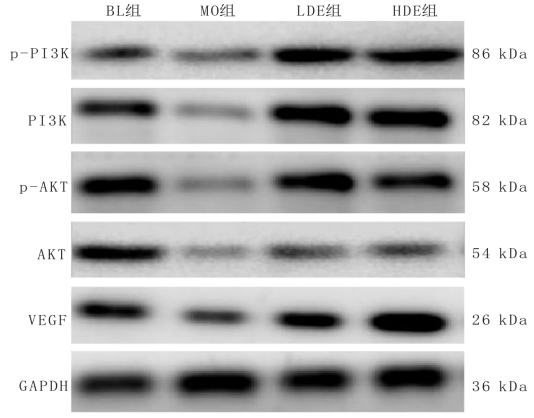


图 4　各组大鼠股骨组织 PI3K、AKT、p－PI3K、p－AKT 及 VEGF 蛋白条带图

4　讨论

四肢开放性骨折常表现为骨折处的皮肤和软组织被骨穿透，形成开放性伤口，使骨折端暴露在外。除骨折外，还可能伴有肌肉、血管、神经和皮肤的严重损伤。临床上普遍采用手术清创治疗，并辅以断肢固定，以支架外固定术和交锁髓内钉内固定术式为主，并配合抗感染治疗及术后护理，以达到治愈效果[9-10]。中医认为，开放性骨折伤后脉络受损，离经之血外溢致瘀血内停，气血运行不畅，久而化热生腐，故伤口难愈；治疗当以活血化瘀、消肿利湿为法。中药方剂可有效缓解患者术后肢体肿胀和疼痛，促进创口及骨折愈合[5,10]。

本研究表明，桃红四物汤对大鼠股骨骨折具有显著疗效，可以提高大鼠血钙和血磷的含量，促进新骨形成，增强骨韧性，显著促进骨折愈合。骨基质矿化涉及有机质形成和矿物质沉积，是断骨愈合的重要过程。成骨细胞在骨表面合成有机质，并分泌 BGP、骨桥蛋白等成分，形成未矿化的骨基质[11]。BGP 的 γ－羧基谷氨酸残基具有钙结合能力，可结合羟基磷灰石中的钙离子并沉积于骨基质中，导致骨基质的矿化。BALP 是成骨细胞分泌的一种碱性磷酸酶，参与骨矿化过程[3,12]。血清中钙、磷水平升高，有助于骨折愈合中的骨盐沉积。研究发现，加味桃红四物汤能有效提高胫腓骨骨折患者术后血清中钙、磷、BALP 和 BGP 水平，缓解术后疼痛，促进骨折愈合，与其他中药方剂联合用药效果更为显著[13-15]，与本研究结果一致。

本研究表明，桃红四物汤能够上调 PI3K/AKT 信号通路，从而激活下游 *VEGF* 基因的表达，在骨折部位血管生成中有至关重要的作用。PI3K 是磷脂激酶家族成员之一，具有脂类与蛋白的激酶活性；AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。PI3K 活化后通过磷酸化激活 AKT，进而启动 VEGF、血小板衍生生长因子等下游信号分子，加速骨折区血管重建，为骨折区域提供必要的有氧微环境[1]。PI3K/AKT 通路也是骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞、成软骨细胞的关键通路，在骨形成、维持与重建中发挥重要作用[16]。VEGF 是血管生成的重要调节因子，可促进血管内皮细胞增殖和迁移，增加微血管的通透性，进而促进血管新生[17]。激活的 PI3K/AKT 通路促进细胞中 VEGF 表达上调，进而促进血管生成；VEGF 又可正反馈激活 PI3K/AKT 通路，进一步增强促血管新生效应[18]。研究发现，大鼠体内过表达 VEGF 可上调 AKT 表达水平，提示 VEGF/AKT 信号通路激活可增强机体成骨功能[4]。

本研究表明，桃红四物汤能够降低股骨骨折大鼠血清中 TNF－α、IL－6 和 IL－8 水平，提示桃红四物汤可缓解四肢开放性骨折术后机体炎症反应，其机制可能与白芍、当归等可抑制炎症反应有关。红花、白芍有抗血栓、抗凝、抗炎镇痛的功效；地黄则能增强体液免疫和细胞免疫功能[19]；桃仁和当归可活血化瘀，促进新陈代谢[20-22]。TNF－α 是一种主要由巨噬细胞分泌的促炎因子，能激活中性粒细胞和淋巴细胞，增强免疫细胞的应答能力，并诱导其他炎症因子分泌。IL－1β、IL－6 等炎症因子能促进中性粒细胞释放炎症介质，对内皮细胞造成损伤，继而引发微循环障碍[23-25]。

综上所述，桃红四物汤可能通过激活 PI3K/AKT 信号通路，从而促进四肢开放性骨折大鼠新骨形成和骨愈合。后续将深入研究桃红四物汤发挥疗效的具体活性成分及作用靶点。

参考文献：

[1]吴越，李强，谭明帅，等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨桃红四物汤促进老年股骨粗隆间骨折患者 PFNA 术后骨折愈合的疗效及其机制[J]. 现代生物医学进展，2024，24(1)：176－179，78.

[2]王歌，邓虎，王国力. 桃红四物汤对慢性阻塞性肺疾病合并肺癌模型小鼠 PI3K/AKT 信号通路的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志，2023，18(11)：2223－2226，2243.

[3]杜张珍，李旭，王妍. 骨钙素内分泌调控功能研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2022，36(9)：691－699.

[4]朱振华，左志城，周聚普，等. VEGF/Akt 信号通路在骨折大鼠愈合中作用机制及对炎症因子 IL－6、TNF－α 的影响[J]. 中国老年学杂志，2024(3)：696－700.

[5]高宇，王晓云，文培培，等. 温针联合桃红四物汤对腰椎骨折大鼠骨愈合能力、骨矿化及 Smad4 通路的影响[J]. 中国老年学杂志，2023，43(24)：6006－6010.

[6]郭少英，闫建军，李媛，等. 桃红四物汤对缺糖缺氧大鼠脑微血管内皮细胞 VEGF、VEGFR－2、Akt 基因及蛋白表

达的作用机制研究[J]. 现代生物医学进展,2024,24(4):636 – 640.
[7]侯雪峰,高玉海,柏鑫,等. 大鼠股骨线性骨折模型建立方法的比较与优化改良[J]. 实验动物科学,2023,40(5):65 – 70.
[8]曾朋,陆小龙,徐无忌,等. 桃红四物汤诱导间充质干细胞动员促进骨折修复的机制[J]. 湖南中医药大学学报,2023,43(12):2163 – 2170.
[9]郑泓. 四肢骨干创伤开放性粉碎性骨折患者的治疗方法研究[J]. 中国卫生标准管理,2021,12(13):82 – 85.
[10]袁凯旋,李森强,郦元. 五味消毒饮加减防治四肢开放性骨折术后全身炎症反应综合征临床研究[J]. 新中医,2022,54(20):22 – 27.
[11]万仕炜,方彭华,闵文. 骨钙素调节糖骨代谢研究进展[J]. 中国老年学杂志,2022,42(18):4628 – 4632.
[12]谢婷,李娅,王宁,等. 七叶皂苷钠联合骨肽注射液对老年跟骨骨折术后肢体肿胀的疗效及血清 BALP BGP 的影响[J]. 河北医学,2023,29(2):236 – 242.
[13]刘昱澎. 恒古骨伤愈合剂联合桃红四物汤治疗四肢骨折术后患者的效果[J]. 中国民康医学,2024,36(1):116 – 119.
[14]李昂,王健. 桃红四物汤加减联合低分子肝素钙对股骨粗隆间骨折患者 PFN – A 术后下肢深静脉血栓形成的预防效果[J]. 临床合理用药,2024,17(9):134 – 137.
[15]陈兵,吕水英. 加味桃红四物汤对胫腓骨骨折患者术后愈合效果的影响[J]. 中国医药指南,2020,18(26):125 – 126.
[16]梁宁,何斌,张奇文,等. 调控干细胞成骨分化的 PI3K/Akt 信号通路及相关因素[J]. 现代医学,2022,50(1):126 – 130.
[17]曾昭池,汤勇,张先慧,等. 外源性 Apelin – 13 通过调控 VEGF/PI3K/Akt 信号通路促进大鼠股骨骨折愈合[J]. 安徽医科大学学报,2021,56(1):48 – 53.
[18]张远海. 桃红四物汤对脑缺血再灌注损伤大鼠脑内血管新生及 PI3K/AKT 信号转导通路的影响[J]. 蚌埠医学院学报,2017,42(1):36 – 40,56.
[19]冯卫生. 地黄化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医学报,2025,40(10):2035 – 2055.
[20]吴娇,张驾龙,仝芳超,等. 当归的化学成分、药理作用及临床应用[J]. 中医学报,2025,40(9):1917 – 1923.
[21]张雷,史德举. 桃红四物汤加减治疗四肢骨折的效果及对炎症因子水平的影响研究[J]. 中国现代药物应用,2023,17(24):31 – 34.
[22]林永飞,郭剑,蔡冬华,等. 加味桃红四物汤对老年不稳定性股骨粗隆间骨折行人工股骨头置换术患者(气滞血瘀型)治疗中的应用价值[J]. 中国老年学杂志,2024,44(8):1850 – 1854.
[23]聂张玲,包崇云. 巨噬细胞影响骨形成机制的研究进展[J]. 口腔医学研究,2021,37(11):966 – 969.
[24]李蘩漪,金晶,范彩虹,等. 益气活血化痰方对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能及炎症因子的影响[J]. 中医学报,2026,41(7):1548 – 1555.
[25]张引,叶子杨,吴昭君,等. 脊柱骨折术后切口感染的炎症因子变化及危险因素分析[J]. 浙江创伤外科,2023,28(12):2225 – 2227,2314.

收稿日期:2026 – 04 – 20
编辑:刘凯歌