[文章编号] 1671-587X(2024)04-0956-07 DOI:10.13481/j.1671-587X.20240409

芒果苷通过调控Wnt/β-catenin信号通路对大鼠髋部骨折愈合的作用

李东方，李浩亮，李光辉，李 扬
（河南省中医院 河南中医药大学第二附属医院骨伤科，河南 郑州 450053）

[摘 要] **目的：**探讨芒果苷（MGF）通过调控Wnt/β-连环蛋白（β-catenin）信号通路对大鼠髋部骨折愈合的作用，阐明其相关作用机制。**方法：**建立SD大鼠髋部骨折模型，造模成功后将大鼠分为模型组、MGF组和MGF＋XAV-939（Wnt/β-catenin信号通路抑制剂）组，另设假手术组，每组15只。术后第1天各组大鼠按分组方法给予MGF或XAV-939干预，每2 d给药1次，共14次。采用Lane-Sandhu X射线评分法评估术后第2和4周各组大鼠骨折愈合情况，显微CT（Micro CT）检测各组大鼠骨显微结构参数骨体积（BV）、骨小梁数量（Tb.N）、骨体积分数（BV/TV）和骨小梁厚度（Tb.Th），HE染色观察各组大鼠骨痂组织形态表现，酶联免疫吸附试验（ELISA）法检测各组大鼠血清中成骨标志物骨碱性磷酸酶（BALP）和Ⅰ型前胶原N端前肽（PINP）及破骨标志物抗酒石酸酸性磷酸酶5b（TRACP-5b）和Ⅰ型胶原羧基末端肽（CTX）水平，Western blotting法检测各组大鼠骨痂组织中β-catenin、Runt相关转录因子2（Runx2）和骨形态发生蛋白2（BMP-2）蛋白表达水平。**结果：**与假手术组比较，模型组大鼠骨折后第2和4周骨折线清晰，骨折部位存在较多纤维组织，未发现骨性骨痂，Lane-Sandhu X射线评分及骨显微结构参数BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均降低（$P<0.05$），血清中BALP水平降低（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平升高（$P<0.05$），骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。与模型组比较，MGF组大鼠骨折后第2周新生骨痂明显增多，第4周骨折线基本消失，骨折愈合较快，骨折部位大量纤维组织被骨组织替代，骨性骨痂量明显增多，Lane-Sandhu X射线评分及骨显微结构参数BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均升高（$P<0.05$），血清中BALP水平升高（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平降低（$P<0.05$），骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与MGF组比较，MGF＋XAV-939组大鼠骨折后第2和4周骨折部位仅有少量新生骨痂，髓腔未形成，Lane-Sandhu X射线评分及骨显微结构参数BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均降低（$P<0.05$），血清中BALP水平降低（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平升高（$P<0.05$），骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。**结论：**MGF可促进大鼠髋部骨折愈合，其作用机制可能与激活Wnt/β-catenin信号通路有关。

[关键词] 芒果苷；髋部骨折；愈合；XAV-939；Wnt/β-连环蛋白信号通路
[中图分类号] R285.5；R683 [文献标志码] A

Effect of mangiferin on hip fracture healing in rats by regulating Wnt/β-catenin signaling pathway

LI Dongfang, LI Haoliang, LI Guanghui, LI Yang
(Department of Orthopedics and Traumatology, Henan Provincal Hospital of Traditional Chinese

[收稿日期] 2023-07-05
[基金项目] 河南省中医管理局中医药科学研究专项（2019JDZX041）
[作者简介] 李东方（1991－），男，河南省驻马店市人，主治医师，医学硕士，主要从事中医骨伤方面的研究。
[通信作者] 李东方，主治医师（E-mail：L13253302496@163.com）

Medicine, Second Affiliated Hospital, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450053, China)

ABSTRACT **Objective**: To discuss the effect of mangiferin (MGF) on the healing of hip fracture in the rats by regulating the Wnt/β-catenin signaling pathway, and to clarify the mechanism. **Methods**: The hip fracture model in the SD rats was established. After successful modeling, the rats were divided into model group, MGF group, and MGF+XAV-939 (Wnt/β-catenin signaling pathway inhibitor) group, and sham operation group was set up, and there were 15 rats in each group. From the first day after surgery, the rats in each group received MGF or XAV-939 interventions every two days, totally for 14 times. Lane-Sandhu X-ray scoring method was used to detect the fracture healing in the second and fourth weeks after surgery; micro CT was used to detect the microstructural parameters of the bone, such as bone volume (BV), number of bone trabeculae (Tb. N), bone volume fraction (BV/TV), and bone trabecular thickness (Tb. Th); HE staining was used to observe the morphology of callus tissue of the rats in various groups; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of osteogenic markers bone alkaline phosphatase (BALP) and type Ⅰ procollagen N-terminal propeptide (PINP) and bone resorption markers tartrate resistant acid phosphatase-5b (TRACP-5b) and Carboxy-terminal terminalpeptide of type Ⅰ collagen (CTX) in serum of the rats in various groups; Western blotting method was used to detect the expression levels of β-catenin, Runt-associated transcription factor 2 (Runx2), and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) in callus tissue of the rats in various groups. **Results**: Compared with sham operation group, the rats in model group showed distinct fracture lines, an abundance of fibrous tissue at the fracture site, and no bony callus at the 2nd and 4th weeks after fracture, the Lane-Sandhu X-ray scores and microstructural parameters BV, Tb. N, BV/TV, and Tb. Th of the rats in model group were decreased ($P<0.05$), the serum level of BALP was decreased ($P<0.05$), while the levels of PINP, TRACP-5b, and CTX were increased ($P<0.05$), and the expression levels of β-catenin, Runx2, and BMP-2 proteins in callus tissue were decreased ($P<0.05$). Compared with model group, the rats in MGF group showed significantly increased new bone callus at 2nd weeks after fracture, almost no visible fracture line at the 4th weeks, faster fracture healing, and replacement of fibrous tissue by bone tissue at the fracture site, the Lane-Sandhu X-ray scores and microstructural parameters BV, Tb. N, BV/TV, and Tb. Th of the rats in MGF group were increased ($P<0.05$), the serum level of BALP was increased ($P<0.05$), the levels of PINP, TRACP-5b, and CTX were decreased ($P<0.05$), and the expression levels of β-catenin, Runx2, and BMP-2 proteins in callus tissue were increased ($P<0.05$). Compared with MGF group, the rats in MGF+XAV-939 group showed only a small amount of new bone callus at the fracture site at 2nd and 4th weeks after fracture, with no formation of the marrow cavity, and the Lane-Sandhu X-ray scores and microstructural parameters BV, Tb. N, BV/TV, and Tb. Th of the rats in MGF+XAV-939 group were decreased ($P<0.05$), the serum level of BALP was decreased ($P<0.05$), the levels of PINP, TRACP-5b, and CTX were increased ($P<0.05$), and the expression levels of β-catenin, Runx2, and BMP-2 proteins in callus tissue were decreased ($P<0.05$). **Conclusion**: MGF can promote the healing of hip fracture in the rats, and its mechanism may be related to activation of Wnt/β-catenin signaling pathway.

KEYWORDS Mangiferin; Hip fracture; Healing; XAV-939; Wnt/β-catenin signaling pathway

髋关节骨折多发于骨质疏松的中老年人群，也可因外力损伤导致，髋关节是全身最大的球窝关节，骨折后导致关节面参差不齐，在影响关节活动的同时可引发关节炎[1]。对于轻度无位移的髋关节骨折可采用牵引治疗，严重的髋关节损伤则需手术干预，但术后常伴有切口感染和肺部并发症等风险而影响预后[2-3]，因此寻找一种有效药物进行辅助治疗以减少手术概率很有必要。芒果苷

（mangiferin，MGF）主要存在于芒果的果实、树叶、树皮以及射干等植物的花和叶中，具有降血脂、降血糖、护肝、抗凋亡和抗炎等药理作用，因其安全性高和无不良反应被广泛应用于临床[4-6]。研究[7]表明：MGF可通过促进成骨细胞分化和抑制破骨吸收改善小鼠骨质疏松，但MGF在髋部骨折愈合过程中是否能发挥作用目前尚未见报道。本研究通过复制大鼠髋部骨折模型并给予MGF干预，观察MGF对大鼠髋部骨折愈合过程的影响，探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 SPF级雄性SD大鼠60只，10月龄，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2019-0010，于室温22 ℃～24 ℃、湿度50%～60%和12 h明/暗交替的控制环境中饲养，自由进食饮水。MGF购自北京索莱宝科技有限公司，Wnt/β-连环蛋白（β-catenin）信号通路抑制剂XAV-939购自美国Selleck公司，HE染色试剂盒和RIPA裂解缓冲液购自上海碧云天生物技术研究所，大鼠骨碱性磷酸酶（bone alkaline phosphatase，BALP）、Ⅰ型前胶原N端前肽（type Ⅰ procollagen N-terminal propeptide，PINP）、抗酒石酸酸性磷酸酶5b（tartrate resistant acid phosphatase-5b，TRACP-5b）和Ⅰ型胶原羧基末端肽（carboxy-terminal peptide of type Ⅰ collagen，CTX）酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒购自武汉基因美生物科技有限公司，抗β-catenin、Runt相关转录因子2（Runt associated transcription factor 2，Runx2）和骨形态发生蛋白2（bone morphogenetic protein-2，BMP-2）抗体购自江苏亲科生物研究中心有限公司。X线摄片机购自日本Koda公司，显微CT（Micro CT）购自瑞士SCANCO公司，GelDoc XR System凝胶成像系统购自美国BIO-RAD公司，全自动酶标仪购自美国Thermo公司。

1.2 髋部骨折大鼠模型制备和分组 按照参考文献［8］中的方法建立髋部骨折大鼠模型，具体操作如下：大鼠异氟烷吸入麻醉后仰卧固定于操作台，紧贴左后肢大粗隆位置放置打击器钝骨刀，使砝码从20 cm处自由落下，打击髋关节造成髋骨骨折。大鼠麻醉复苏后继续分笼饲养，自由进食饮水，不限制活动。X射线检测大鼠髋关节骨折线清晰视为造模成功。将建模成功大鼠随机分为模型组、MGF组和MGF＋XAV-939组，每组15只，另设置假手术组大鼠15只，假手术组大鼠不使用砝码打击，其他建模步骤同模型组大鼠。其中MGF组和MGF＋XAV-939组大鼠从术后第1天开始，于骨折局部皮下软组织内注射200 μL MGF（10 μmol·L^{-1}）和（或）XAV-939（1 g·L^{-1}），每2 d给药1次，连续干预28 d后取材进行检测，假手术组和模型组大鼠注射等量生理盐水。

1.3 Lane-Sandhu X射线评分法评估各组大鼠骨折愈合情况 各组大鼠术后第2和4周采用X射线检查左后肢髋部骨折部位，通过Lane-Sandhu X射线评分法评估各组大鼠骨折愈合情况。Lane-Sandhu X射线评分法包括骨形成、骨连接和骨塑形3个方面11项内容。骨形成：0分为无骨形成，1分为骨形成占骨缺损＜25%，2分为骨形成占骨缺损25%～50%，3分为骨形成占骨缺损51%～75%，4分为骨形成占骨缺损＞75%。骨连接：0分为骨折线清楚，2分为骨折线部分存在，4分为骨折线消失。骨塑形：0分为未见骨塑形，2分为骨髓腔形成，4分为皮质骨塑形。最终评分越高表明骨折愈合情况越好。每只大鼠评分为骨形成、骨连接和骨塑形3部分评分之和。

1.4 Micro CT检测各组大鼠骨显微结构参数 将各组大鼠骨折部位标本置于Micro CT分析专用扫描筒内，调整高斯滤镜参数，设置为σ＝1.2，support＝1，设定阈值为205～1 000，以便区分骨组织和其他物质。将骨折端骨痂组织设定为感兴趣区域（volume of interest，VOI），并在VOI内进行定量分析，骨显微结构参数包括骨体积（bone volume，BV）、骨小梁数量（number of bone trabeculae，Tb.N）、骨体积分数（bone volume fraction，BV/TV）和骨小梁厚度（bone trabeculae thickness，Tb.Th），观察新生骨质在微观结构上的差异。

1.5 HE染色观察各组大鼠骨痂组织病理形态表现 取各组大鼠骨折部位骨痂组织标本，4%中性甲醛溶液固定48 h，放置于14.5%乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetie acid，EDTA）溶液中脱钙4周。脱钙后的组织经过冲洗、梯度酒精脱水和石蜡包埋等处理，沿长轴冠状面方向制作成5 μm厚的组织切片，行常规HE染色，显微镜下观察骨痂组织病理形态表现。

1.6 ELISA法检测各组大鼠血清中成骨和破骨标志物水平 经大鼠腹主动脉收集血液后分离血清，按照ELISA试剂盒说明书要求检测各组大鼠血清中成骨标志物BALP和PINP及破骨标志物TRACP-5b和CTX水平。

1.7 Western blotting法检测各组大鼠骨痂组织中Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白表达水平 取各组大鼠骨折部位骨痂组织，加入RIPA裂解缓冲液用组织研磨器研磨匀浆后，提取总蛋白并定量变性。取10 μL总蛋白加入预制好的15%聚丙烯酰胺凝胶中，先用80 V电压分离30 min，然后再调至120 V分离1.5 h。半干转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯（polyvinylidene fluoride，PVDF）膜上（16 V，16 min）。室温下5%的脱脂奶粉封闭1 h，用含有目的蛋白抗体的一抗稀释液（β-catenin，兔抗，1∶1 000稀释；Runx2，兔抗，1∶1 000稀释；BMP-2，兔抗，1∶1 000稀释；β-actin，鼠抗，1∶1 000稀释）于4 ℃冰箱摇床上孵育过夜。TPS漂洗3次，每次10 min；用含辣根过氧化物酶标记的相应二抗（1∶10 000）稀释液室温下孵育1 h。TPS洗涤3次，每次10 min，加入ECL显色液用Gel-Doc XR System凝胶成像系统检测。以β-actin作为内参，采用Image J软件分析蛋白条带灰度值，计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平＝目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

1.8 统计学分析 采用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析。各组大鼠Lane-Sandhu X射线评分，骨显微结构参数BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th值，血清中BALP、PINP、TRACP-5b和CTX水平，骨痂组织中GSK3β、p-GSK3β、β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平均符合正态分布，以$\bar{x}\pm s$表示，多组间样本均数比较采用单因素方差分析，组间样本均数两两比较采用LSD-t法。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠骨折愈合的Lane-Sandhu X射线评分 骨折后第2和4周，与假手术组比较，模型组大鼠Lane-Sandhu X射线评分降低（$P<0.05$）；与模型组比较，MGF组大鼠Lane-Sandhu X射线评分升高（$P<0.05$）；与MGF组比较，MGF＋XAV-939组大鼠Lane-Sandhu X射线评分降低（$P<0.05$）。见表1。

表1 各组大鼠Lane-Sandhu X射线评分

Tab. 1 Lane-Sandhu X-ray scores of rats in various groups

（$n=15$，$\bar{x}\pm s$）

Group	Lane-Sandhu X-ray score	
	（week）2	4
Sham operation	12.00±0.00	12.00±0.00
Model	0.67±0.58*	4.67±1.15*
MGF	4.33±1.15△	10.00±1.00△
MGF＋XAV-939	1.67±0.58#	5.33±1.15#

*$P<0.05$ *vs* sham operation group；△$P<0.05$ *vs* model group；#$P<0.05$ *vs* MGF group.

2.2 各组大鼠骨显微结构参数 与假手术组比较，模型组大鼠BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均降低（$P<0.05$）；与模型组比较，MGF组大鼠BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均升高（$P<0.05$）；与MGF组比较，MGF＋XAV-939组大鼠BV、Tb.N、BV/TV和Tb.Th均降低（$P<0.05$）。见表2。

表2 各组大鼠骨显微结构参数

Tab. 2 Bone microstructure parameters of rats in various groups

（$n=15$，$\bar{x}\pm s$）

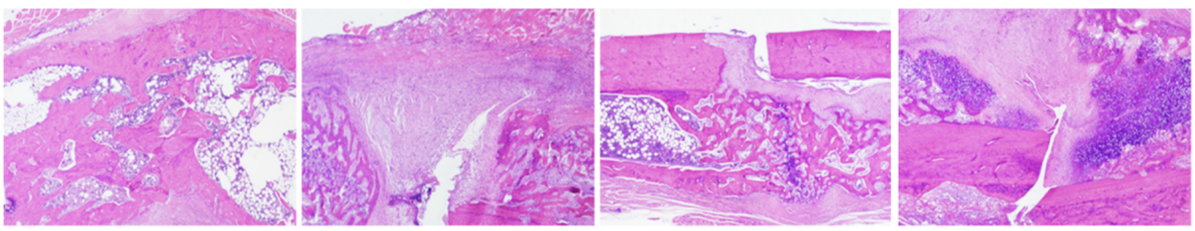
Group	BV（V/mm^3）	BV/TV（η/%）	Tb.N（mm^{-1}）	Tb.Th（l/mm）
Sham operation	57.96±2.63	10.62±0.89	2.31±0.20	0.34±0.03
Model	33.10±2.94*	3.87±0.20*	1.50±0.14*	0.20±0.02*
MGF	55.67±2.54△	9.10±0.29△	2.23±0.13△	0.34±0.02△
MGF＋XAV-939	38.23±1.93#	3.79±0.35#	1.69±0.17#	0.21±0.01#

*$P<0.05$ *vs* sham operation group；△$P<0.05$ *vs* model group；#$P<0.05$ *vs* MGF group.

2.3 各组大鼠骨痂组织病理形态表现 HE染色结果显示：假手术组大鼠髋部骨组织结构正常；模型组大鼠骨折部位有大量纤维组织和软骨痂生成，无骨性骨痂；MGF组大鼠骨折部位板层骨形成，断端髓腔形成，已基本完成重塑吸收；MGF＋XAV-939组大鼠骨折部位少量软骨痂钙化形成硬

骨痂，未形成髓腔及骨痂的改建塑形。见图1。

2.4 各组大鼠血清中成骨和破骨标志物水平 与假手术组比较，模型组大鼠血清中BALP水平降低（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，MGF组大鼠血清中BALP水平升高（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平降低（$P<0.05$）；与MGF组比较，MGF+XAV-939组大鼠血清中BALP水平降低（$P<0.05$），PINP、TRACP-5b和CTX水平升高（$P<0.05$）。见表3。



A B C D

A：Sham operation group；B：Model group；C：MGF group；D：MGF+XAV-939 group.

图1 各组大鼠骨痂组织病理形态表现（HE，×100）

Fig. 1 Pathomorphology of callus tissue of rats in various groups (HE, ×100)

表3 各组大鼠血清中成骨和破骨标志物水平

Tab. 3 Levels of osteogenic and osteoclastic markers in serum of rats in various groups （$n=15$，$\bar{x}\pm s$）

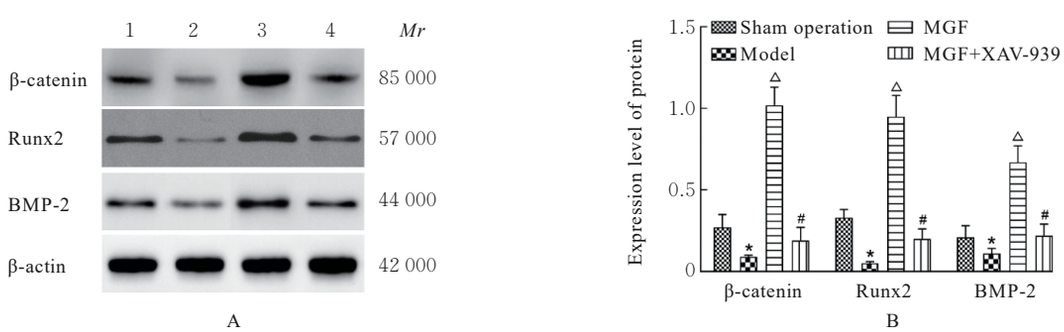
Group	BALP [ρ_B/(μg·L^{-1})]	PINP [ρ_B/(ng·L^{-1})]	TRACP-5b [ρ_B/(ng·L^{-1})]	CTX [ρ_B/(μg·L^{-1})]
Sham operation	44.61±2.80	1 740.60±85.65	139.76±7.88	36.93±1.98
Model	26.04±1.93*	2 722.22±140.93*	227.20±13.47*	63.43±2.42*
MGF	43.83±2.39△	1 877.23±137.64△	144.98±11.49△	36.32±2.04△
MGF+XAV-939	27.57±1.57#	2 667.26±119.06#	233.07±9.20#	60.09±1.50#

*$P<0.05$ *vs* sham operation group；△$P<0.05$ *vs* model group；#$P<0.05$ *vs* MGF group.

2.5 各组大鼠骨痂组织中Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白表达水平 与假手术组比较，模型组大鼠骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平降低（$P<0.05$）；与模型组比较，MGF组大鼠骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与MGF组比较，MGF+XAV-939组大鼠骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。见图2。

3 讨 论

骨折愈合是一个从最初的炎症反应、骨痂形成



Lane 1：Sham operation group；Lane 2：Model group；Lane 3：MGF group；Lane 4：MGF+XAV-939 group. *$P<0.05$ *vs* sham operation group；△$P<0.05$ *vs* model group；#$P<0.05$ *vs* MGF group.

图2 各组大鼠骨痂组织中β-catenin、Runx2和BMP-2蛋白表达电泳图（A）和直条图（B）

Fig. 2 Electrophoregram (A) and histogram (B) of expressions of β-catenin, Runx2, and BMP-2 proteins in callus tissue of rats in various groups

到最后的骨性愈合和骨质改建塑形的复杂而有序的生物学过程，影响骨折愈合的因素一直是国内外研究的热点[9-10]。研究[11]表明：Wnt信号是骨形成蛋白（bone morphogenetic protein，BMP）的上游调控因子，Wnt/β-catenin信号通路的激活可以抑制多能间充质干细胞向脂肪细胞分化，并将其转化为成骨细胞，从而改善骨折导致的骨质流失。研究[12]表明：MGF可通过调控Wnt/β-catenin信号通路抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡，改善肠系膜缺血导致的肝损伤。MGF是否能通过调控Wnt/β-catenin信号通路促进髋部骨折愈合尚未见报道。

本研究采用打击法建立大鼠髋部骨折模型，并给予MGF干预，通过X射线观察各组大鼠骨折愈合情况，结果表明：MGF组大鼠Lane Sanhu X射线评分高于模型组；通过HE染色观察对比，模型组大鼠骨折部位无骨性骨痂形成，MGF组大鼠骨折部位已形成板层骨和髓腔，基本完成骨重塑；采用Micro CT技术对骨折愈合情况进行评估，MGF组大鼠BV、Tb. N、BV/TV和Tb. Th均高于模型组，说明MGF可促进软骨骨痂形成及向硬骨骨痂转变，骨折愈合明显加快。

骨转换生化标志物可以在骨折愈合过程中反映整个骨形成的代谢状态，BALP是成骨细胞分化的早期标志物，可以反映成骨细胞的成熟和活性[13]。骨形成时Ⅰ型前胶原被分泌到细胞外，裂解出PINP等片段，而CTX是破骨细胞的骨吸收活性的标志物，由成熟Ⅰ型胶原被破骨细胞降解产生，骨折发生时血清PINP和CTX代偿性升高，反映Ⅰ型胶原分解和代谢情况[14-15]。抗酒石酸酸性磷酸酶（tartrate resistant acid phosphatase，TRACP）主要来源于骨吸收过程中破骨细胞释放的一种酸性磷酸酶同工酶，血清中存在TRACP-5a和TRACP-5b，前者无酶活性，TRACP-5b与骨吸收水平呈正相关关系[16]。本研究结果显示：与模型组比较，MGF组大鼠血清中BALP水平升高，PINP、CTX和TRACP-5b水平降低，说明MGF是通过促进成骨细胞分化抑制破骨吸收起到骨折修复作用。

β-catenin的表达水平是检测Wnt/β-catenin信号通路激活水平的常用指标之一，当成骨细胞外Wnt与膜受体卷曲蛋白结合后，一系列胞膜和胞质蛋白相互作用形成二聚体，从而使β-catenin在细胞质内聚集，聚集达到一定量时移至细胞核内，促进Wnt/β-catenin信号通路的靶基因表达[17-18]。本研究结果显示：MGF组大鼠骨痂组织中β-catenin表达水平较模型组升高，标志着Wnt/β-catenin信号通路的激活。BMP-2作为活性最强的BMP，可独立刺激成骨细胞分化，而Runx2控制着多个成骨特异性基因，作为成骨分化过程的早期标志物，在成骨分化中起着关键作用[19]。研究[20]表明：BMP-2是可有效调控Runx2基因表达的上游细胞因子之一，通过各种基因通路诱导Runx2表达，影响干细胞的成骨分化。本研究结果显示：与模型组比较，MGF组大鼠骨痂组织中BMP-2和Runx2蛋白表达水平升高，而采用Wnt/β-catenin信号通路抑制剂XAV-939干预后，MGF对大鼠髋部骨折的修复作用明显降低，说明MGF通过激活Wnt/β-catenin信号通路，进而调控相关关键因子发挥作用。

综上所述，本研究在动物水平上初步验证MGF通过激活Wnt/β-catenin信号通路促进成骨分化和骨形成，进而促进大鼠髋部骨折愈合，但尚未进行相关的体外细胞学实验，MGF对成骨细胞的具体作用机制还有待进一步研究。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

李东方参与实验设计、实验操作和论文撰写，李浩亮参与动物模型制备和取材，李光辉参与实验指标检测、实验数据收集整理和统计学分析，李扬负责论文审校和参考文献整理分析。

[参考文献]

[1] 史 婧，靳激扬，芮云峰，等. 影像学指标评估老年髋关节脆性骨折风险进展[J]. 中国医学影像技术，2018，34(11)：1740-1743.

[2] 杜 靓，蔡迅梓，陈 钢，等. 髋关节骨折急诊术后切口感染危险因素[J]. 中华医院感染学杂志，2021，31(5)：691-694.

[3] 朱小兵，张喜洋，吴 论，等. 老年患者髋关节骨折术后新发肺部并发症的危险因素分析[J]. 重庆医学，2020，49(1)：71-74.

[4] 刘 旭，谭丹妮，向 琴，等. 芒果苷对MKR小鼠肥胖症合并2型糖尿病的作用[J]. 中国药理学通报，2022，38(11)：1639-1646.

[5] 楚 策，赵燕燕，周程艳. 芒果苷对大鼠酒精性肝炎的保护作用研究[J]. 天然产物研究与开发，2018，30(5)：753-760.

[6] CHEN L L，LI S T，ZHU J Y，et al. Mangiferin

prevents myocardial infarction-induced apoptosis and heart failure in mice by activating the Sirt1/FoxO3a pathway[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(6): 2944-2955.
[7] HE J W, WANG X W, ZHAO D C, et al. Mangiferin promotes osteogenic differentiation and alleviates osteoporosis in the ovariectomized mouse *via* the AXL/ERK5 pathway [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 1028932.
[8] 王海斌，石利涛. 骨髓间充质干细胞对老年大鼠髋部骨折后急性肺损伤的保护作用及机制[J]. 中国老年学杂志，2019，39(11)：2756-2760.
[9] GIGANTI M G, TRESOLDI I, MASUELLI L, et al. Fracture healing: from basic science to role of nutrition[J]. Front Biosci, 2014, 19(7): 1162-1175.
[10] PANTELI M, VUN J S H, POUNTOS I, et al. Biological and molecular profile of fracture non-union tissue: a systematic review and an update on current insights[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(3): 601-623.
[11] WANG T, ZHANG X P, BIKLE D D. Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing[J]. J Cell Physiol, 2017, 232(5): 913-921.
[12] EL-SAYYAD S M, SOUBH A A, AWAD A S, et al. Mangiferin protects against
[13] 徐 伟，盛 珺，刘 达，等. 腰椎退变患者骨转换标志物与骨密度及脆性骨折风险的相关性[J]. 解放军医学杂志，2020，45(2)：187-191.
[14] 龚 杰，罗 君. 唑来膦酸与阿仑膦酸钠治疗骨质疏松性髋部骨折的临床疗效对比[J]. 中国骨质疏松杂志，2020，26(8)：1189-1192.
[15] MAUNTEL T C, MARSHALL S W, HACKNEY A C, et al. Trunk and lower extremity movement patterns, stress fracture risk factors, and biomarkers of bone turnover in military trainees[J]. J Athl Train, 2020, 55(7): 724-732.
[16] ABUOHASHISH H M, AHMED M M, AL-REJAIE S S, et al. The antidepressant bupropion exerts alleviating properties in an ovariectomized osteoporotic rat model[J]. Acta Pharmacol Sin, 2015, 36(2): 209-220.
[17] 蔡 鑫，唐 芳，马武开，等. 基于Wnt/β-catenin信号通路的中医药调控骨代谢研究进展[J]. 中国老年学杂志，2020，40(5)：1082-1087.
[18] SHANG X B, BÖKER K O, TAHERI S, et al. The interaction between microRNAs and the Wnt/β-catenin signaling pathway in osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18): 9887.
[19] 訾 慧，郑洪新，蒋 宁，等. 淫羊藿素通过BMP/Runx2/Osx信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化研究[J]. 中华中医药学刊，2020，38(7)：212-215，270.
[20] MATSUBARA T, KIDA K, YAMAGUCHI A, et al. BMP2 regulates Osterix through Msx2 and Runx2 during osteoblast differentiation[J]. J Biol Chem, 2008, 283(43): 29119-29125.