

# 淫羊藿苷对脂多糖诱导成骨细胞骨架 F-actin 损伤的保护作用

黄孝闻, 王绪平, 张杨, 寿旦\* (浙江省中医药研究院, 杭州 310007)

**摘要:** 目的 考察淫羊藿苷对成骨细胞骨架 F-actin 损伤的保护作用及其对相关信号通路的调控。方法 采用脂多糖诱导大鼠成骨细胞损伤模型。实验分为空白对照组、模型组和 0.1, 1, 10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷组, MTT 法观察淫羊藿苷对成骨细胞活性的影响, TRITC-Phalloidin 荧光染色观察淫羊藿苷对细胞骨架的影响, ELISA 法测定各组成骨细胞中 F-actin 的含量, RT-PCR 法测定细胞骨架 Rho A 和 Cofilin 的 mRNA 表达量。结果 与空白对照组比较, 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖能显著降低成骨细胞存活率 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷预处理后能显著提高细胞存活率 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 而 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷则无显著影响。与模型组比较, 1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷能显著抑制成骨细胞 F-actin 解聚 ( $P<0.05$ ), 抑制 Rho A 的 mRNA 表达 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 0.1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷能抑制 Cofilin 的 mRNA 表达 ( $P<0.01$ )。结论 淫羊藿苷对脂多糖诱导的细胞骨架 F-actin 损伤具有保护作用, 其机制与抑制细胞骨架相关因子 Rho A 和 Cofilin 的 mRNA 表达有关。

**关键词:** 淫羊藿苷; 脂多糖; 细胞骨架; F-肌动蛋白

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)13-1612-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.003

引用本文: 黄孝闻, 王绪平, 张杨, 等. 淫羊藿苷对脂多糖诱导成骨细胞骨架 F-actin 损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1612-1616.

## Protective Effect of Icariin on Lipopolysaccharide-induced Cytoskeleton F-actin Injury

HUANG Xiaowen, WANG Xuping, ZHANG Yang, SHOU Dan\* (Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the protective effect of icariin on F-actin damage of osteoblast cytoskeleton and the regulation of related signaling pathways. **METHODS** Lipopolysaccharide(LPS) was used to induce osteoblasts to establish an injury model *in vitro*. Experimental group: control group, model group and 0.1, 1, 10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  icariin groups. MTT method was used to observe the effect of icariin on the activity of osteocytes. TRITC-Phalloidin fluorescence staining was used to observe the effect of icariin on cytoskeleton. ELISA method was used to determine the content of F-actin in osteocytes. RT-PCR method was used to determine the expression of cytoskeleton-related factors Rho A and Cofilin mRNA. **RESULTS** Compared with the control group, 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  LPS could significantly reduce the survival rate of osteoblasts ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the survival rate could significantly improve after pretreatment with 1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  icariin ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  icariin had no significant effect. Compared with the model group, 1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  icariin could significantly inhibit F-actin depolymerization in osteoblasts ( $P<0.05$ ), inhibit the mRNA expression of Rho A ( $P<0.05$  or 0.01), and icariin at concentration of 0.1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  could inhibit the mRNA expression of Cofilin ( $P<0.01$ ). **CONCLUSION** Icariin has protective effect on LPS-induced cytoskeleton F-actin injury model, and its mechanism may be related to inhibiting the expression of cytoskeleton-related factors Rho A and Cofilin mRNA.

**KEYWORDS:** icariin; lipopolysaccharide; cytoskeleton; F-actin

慢性骨髓炎(chronic osteomyelitis, CO)属于骨科难治愈病种。绿脓假单胞菌等致病菌可释放脂多糖等内毒素, 作用于成骨细胞膜受体, 经信号通路传递, 使下游基因和蛋白表达发生变化, 介导多种炎症因子的合成和释放, 诱导成骨细胞凋亡, 抑制骨的再生修复, 表现为骨不连<sup>[1-2]</sup>。细胞骨架纤维状肌动蛋白(F-actin)是细胞外信号启动

和调控细胞内信号时的首要靶蛋白, 参与细胞维持、运动、收缩、黏附、增殖和凋亡等多种行为, 也是调节细胞通透性的重要机制<sup>[3]</sup>。其中, RhoA/Rock 信号通路被称为肌动蛋白细胞骨架和细胞形态异质器的调节器<sup>[4]</sup>, 而 Cofilin 基因作为下游一种重要的肌动蛋白结合蛋白, 控制肌动蛋白丝的解聚和聚合<sup>[5]</sup>。研究表明, 脂多糖能诱导细

基金项目: 国家自然科学基金项目(81873062, 81803808); 浙江省中医药科技计划项目(2016ZB003, 2018ZA021); 浙江省科技计划项目(2017F30047)

作者简介: 黄孝闻, 男, 硕士, 助理研究员 Tel: (0571)88849089 E-mail: bowen8883@126.com \*通信作者: 寿旦, 女, 博士, 研究员 Tel: (0571)88849089 E-mail: shoudanok@163.com

胞骨架肌动蛋白的重构和改变,进而引起细胞收缩和通透性增加,使其失去原有的形态和功能,导致细胞凋亡<sup>[6]</sup>;而 Cofilin 能通过 NF- $\kappa$ B 途径介导脂多糖诱导的小胶质细胞活化,表明胞骨架肌动蛋白的解聚是激活炎症信号通路的重要途径之一<sup>[7]</sup>。

淫羊藿(*Epimedium brevicornu* Maxim.)是传统补肾健骨中药,具有调节骨代谢,促进骨修复的作用<sup>[8-9]</sup>。课题组前期研究表明<sup>[10]</sup>,淫羊藿主要活性成分淫羊藿苷能促进成骨细胞增殖和矿化,且在成骨细胞中的吸收和利用率较高。近年来,淫羊藿苷抗炎作用的报道也越来越多<sup>[11]</sup>,淫羊藿可以抑制由脂多糖诱导的炎症因子释放,从而保护细胞<sup>[12]</sup>。但其是否通过调控胞骨架相关的信号通路而保护肌动蛋白,尚未见报道。

本研究采用脂多糖诱导成骨细胞 F-actin 损伤模型,考察淫羊藿苷对 F-actin 的保护作用及对胞骨架调控关键因子 Rho A 和 Cofilin 表达的影响,初步阐明其作用机制。

## 1 仪器与材料

### 1.1 材料

新生 SD 乳鼠,♂,体质量为(10±2)g,由浙江省医学科学院动物中心提供。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110703-200415);LPS from *Escherichia coli* 055:B5(Sigma,批号:086M4159V);DMEM 高糖培养基(Hyclone,批号:AC14563280);胎牛血清(批号:1707133)、PBS(批号:1715884)均来自 Gibco;MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司,批号:20180828);大鼠 F-actin 酶联免疫(ELISA)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20181024);DMSO(VETEC,批号:WXBC1590V);Trizol(ambion,批号:182809);Rho A、Cofilin、 $\beta$ -actin 引物合成[生工生物工程(上海)股份有限公司];BioRT cDNA First Strand Synthesis Kit(批号:20180601)、BioEasy SYBR Green I Real Time PCR Kit(批号:20180902)均来自杭州博日科技有限公司。

### 1.2 仪器

311 型二氧化碳细胞培养箱(美国 Thermo Scientific);ECLIPSE Ti 型倒置荧光显微镜(日本 Nikon);Microfuge<sup>®</sup> 20R 型低温离心机(美国 Beckman Coulter);Spectra Max 190 全波长酶标仪(美国 Molecular Devices);AE50 型电子天平(瑞士

Mettler);细胞培养板(美国 Costar);7500 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI);Forma<sup>™</sup> 900 系列超低温冰箱(美国 Thermo)。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

取新生 SD 乳鼠,拉颈处死后取颅骨,采用二次酶消化法分离后,用含 10%FBS 的 DMEM 高糖培养基,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养、传代,取 P3 代细胞进行实验。

### 2.2 淫羊藿苷溶液的配制

精确称取淫羊藿苷对照品,用含 0.1%DMSO 的 DMEM 高糖培养基配成 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,临用前稀释到相应浓度。

### 2.3 分组

正常对照组:空白 DMEM 培养基培养;模型组:含 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖的 DMEM 培养基培养;给药组:取“2.2”项下配制的淫羊藿苷溶液,用 DMEM 培养液稀释至 0.1, 1, 10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,分别对各组细胞预处理 6 h,再加入终浓度为 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的脂多糖进行培养。

### 2.4 MTT 法检测细胞活力

取对数生长期的 P3 代成骨细胞,调整浓度为 10<sup>6</sup>  $\cdot\text{mL}^{-1}$ ,每孔 100  $\mu\text{L}$  接种于 96 孔板中,培养 24 h,按实验分组加入相应药物,每组设 6 个复孔。作用 24 h 后,MTT 法检测细胞增殖情况,490 nm 处测量吸光度(A)值,计算细胞存活率(%)。

### 2.5 成骨细胞骨架 F-actin 的荧光染色标记和含量测定

10<sup>6</sup>  $\cdot\text{mL}^{-1}$  的成骨细胞,接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,培养到细胞长满至 70%~80%,按分组加入相应药物,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,取各组细胞,用 PBS 清洗 3 遍,4%多聚甲醛固定 20 min,PBS 再漂洗 3 次后,加入 1%山羊血清封闭液封闭 30 min,避光条件下用 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  罗丹明标记的鬼笔环肽(TRITC-Phalloidin)染色,37 °C 孵育 40 min,弃去染液,用 DAPI 复染 5 min,PBS 快速润洗 3 次,荧光封片剂封片,荧光显微镜观察并摄片。采集图像,使用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析细胞骨架结构 F-actin 的积分荧光强度。

细胞分组和给药方式同“2.3”项下,结束培养后,用冷的 PBS 轻轻清洗,然后用胰蛋白酶消化成悬液,1 000  $\times g$  离心 5 min 后收集细胞,再次用冷的 PBS 洗涤 3 次。每 10<sup>6</sup> 个细胞中加入 200  $\mu\text{L}$

PBS 重悬, 反复冻融使细胞破碎,  $1\ 500 \times g$  离心 10 min, 收集细胞上清, 酶联免疫试验(ELISA)竞争法, 制备标准曲线, 检测各组样本中 F-actin 含量。

## 2.6 实时荧光定量 PCR 法检测成骨细胞中 Rho A 和 Cofilin 的 mRNA 表达

取 P3 代成骨细胞, 按“2.3”项下分组和给药, 结束培养后, 用 Trizol 法提取总 RNA, 按试剂盒说明进行逆转录反应和实时荧光定量 PCR 检测。RT-PCR 反应程序设置:  $94\ ^\circ\text{C}$ , 2 min;  $94\ ^\circ\text{C}$ , 10 s;  $60\ ^\circ\text{C}$ , 15 s;  $72\ ^\circ\text{C}$ , 30 s; 40 cycles(荧光信号采集设在  $72\ ^\circ\text{C}$ )。融解度曲线程序设置:  $95\ ^\circ\text{C}$ , 2 min;  $72\ ^\circ\text{C}$ , 1 min;  $95\ ^\circ\text{C}$ , 30 s; 步进  $0.5\ ^\circ\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ ;  $30\ ^\circ\text{C}$ , 1 min。以  $\beta$ -actin 为内参基因, 采用  $\Delta\Delta\text{Ct}$  法进行分析。PCR 引物序列如下:  $\beta$ -actin 上游序列 5'-CGGTCAGGTCATCACTATCG-3', 下游序列 5'-TTCCATACCCAGGAAGGAAG-3'; Rho A 上游序列 5'-GTGATTGTTGGTGATGGAGC-3', 下游序列 5'-CTCGTGGCCATCTCAAAAAC-3'; Cofilin 上游序列 5'-TGTGGCTGTCTCTGATGGAG-3', 下游序列 5'-TTGTCTGGCAGCATCTTGAC-3'。

## 2.7 统计学方法

实验数据和资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计学分析, 采用配对  $t$  检验 ( $\alpha=0.05$ ), 比较各组间实验结果, 并进行差异分析,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 淫羊藿苷对脂多糖诱导成骨细胞损伤模型活力的影响

$100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖诱导成骨细胞后, 细胞平均存活率降低至 67.74%, 较正常对照组有显著性差异 ( $P<0.01$ )。与模型组相比, 1,  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷给药组存活率明显上升, 差异具有显著性 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 而  $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  淫羊藿苷给药组则无显著性差异。结果见图 1。

### 3.2 脂多糖诱导成骨细胞损伤模型及淫羊藿苷干预保护作用

$100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖诱导成骨细胞 8 h 后, 细胞出现收缩现象; 24 h 后, 细胞密度明显减少, 可见伪足现象。正常对照组细胞的 F-actin 呈梭型, 有序分布在细胞核周围; 脂多糖作用 24 h 后, 细胞核周围的细胞骨架 F-actin 出现脱落、断裂和损伤现象。与正常对照组比较, 模型组的积分荧光强度明显减小 ( $P<0.01$ ); 而经淫羊藿苷预处理后再加脂多糖, 各组细胞骨架的完整性均优于模型组,

相对应的积分荧光强度也均明显高于模型组 ( $P<0.05$ )。结果见图 2~3。

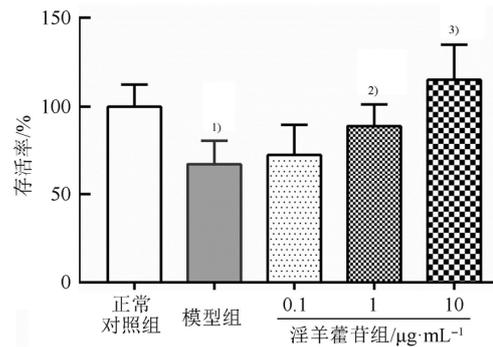


图 1 脂多糖及淫羊藿苷对成骨细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

与正常对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。

Fig. 1 Effects of lipopolysaccharide and icariin on the viability of osteoblasts ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

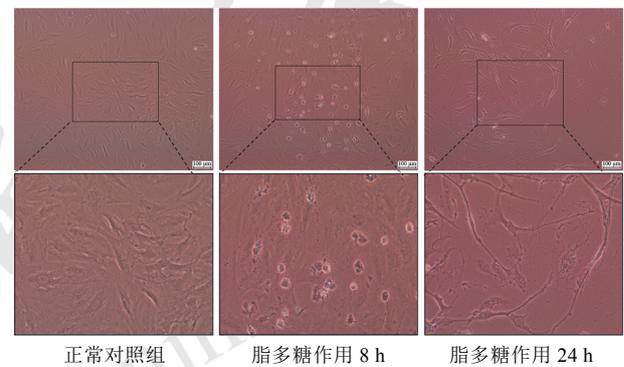


图 2 普通显微镜下脂多糖诱导成骨细胞损伤模型及局部放大图(100×)

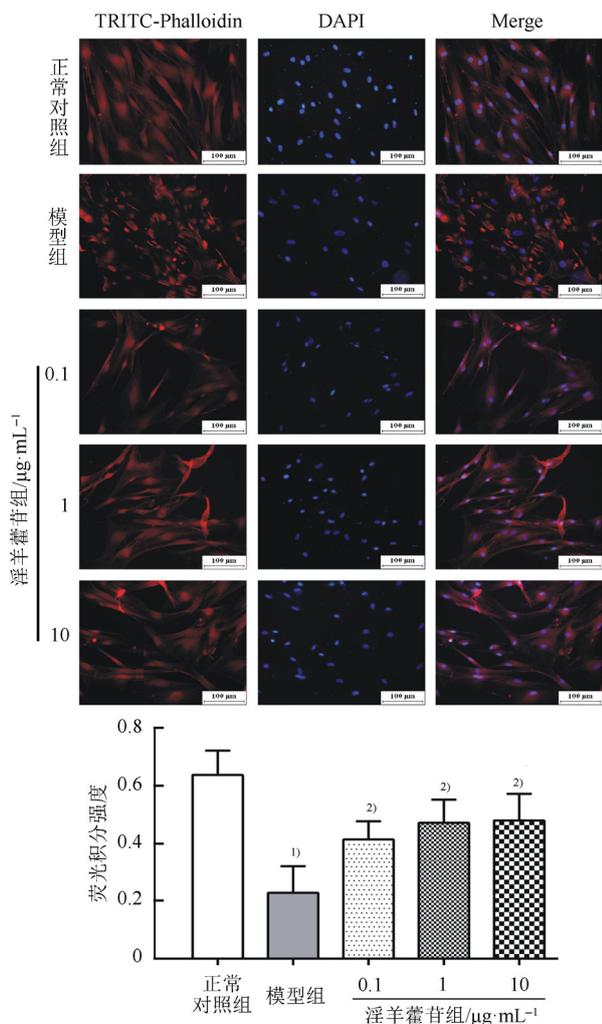
Fig. 2 Model of lipopolysaccharide induced osteoblast injury and local magnification under general microscope (100×)

### 3.3 ELISA 法检测成骨细胞中 F-actin 的含量

与正常对照组相比, 模型组细胞 F-actin 含量明显降低 ( $P<0.05$ )。而各给药组细胞 F-actin 含量明显增加, 其中淫羊藿苷(1,  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )组的 F-actin 含量显著高于模型组 ( $P<0.05$ ), 而淫羊藿苷( $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )组的 F-actin 含量与模型组无显著性差异, 结果见表 1。提示淫羊藿苷具有对脂多糖致成骨细胞损伤的保护作用, 并且其作用随淫羊藿苷浓度的增加而增强。

### 3.4 淫羊藿苷对细胞骨架相关基因 Rho A 和 Cofilin 的调控作用

与正常对照组相比, 经脂多糖诱导的成骨细胞模型, 细胞骨架相关因子 RhoA 和 Cofilin 的 mRNA 表达上调明显 ( $P<0.01$ ); 与模型组相比, 各



**图 3** 脂多糖诱导成骨细胞骨架 F-actin 损伤模型及淫羊藿苷干预后的荧光染色强度比较(200×,  $\bar{x} \pm s, n=3$ ) 与正常对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

**Fig. 3** Comparison of fluorescent dyeing intensity of lipopolysaccharide induced F-actin damage model of osteoblast cytoskeleton(200×,  $\bar{x} \pm s, n=3$ ) Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

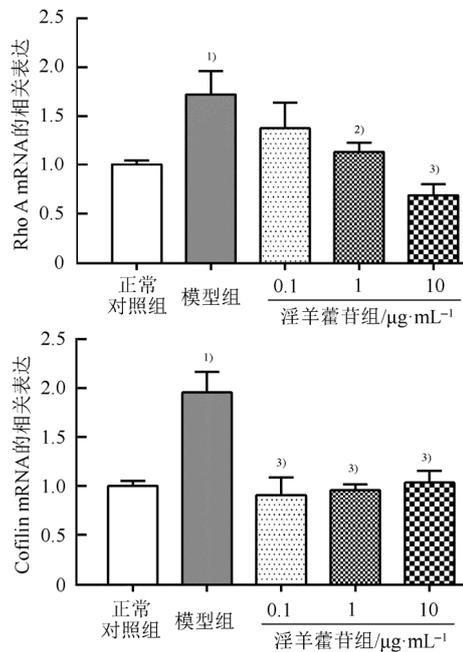
**表 1** 淫羊藿苷预处理后对脂多糖诱导成骨细胞 F-actin 损伤的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

**Tab. 1** Effect of icariin pretreatment on F-actin damage induced by lipopolysaccharide in osteoblasts( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	成骨细胞 F-actin 含量/ng·L <sup>-1</sup>
正常对照组	143.56±11.41
模型组	92.48±8.64 <sup>1)</sup>
0.1 µg·mL <sup>-1</sup> 淫羊藿苷组	115.26±15.44
1 µg·mL <sup>-1</sup> 淫羊藿苷组	134.24±10.01 <sup>2)</sup>
10 µg·mL <sup>-1</sup> 淫羊藿苷组	141.99±4.04 <sup>2)</sup>

注: 与正常对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。  
Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; Compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

给药组 RhoA 和 Cofilin 的 mRNA 表达均有不同程度下调。其中 1, 10 µg·mL<sup>-1</sup> 淫羊藿苷组的 RhoA mRNA 含量与模型组比具有显著性差异( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 0.1, 1, 10 µg·mL<sup>-1</sup> 淫羊藿苷组的 Cofilin mRNA 与模型组比, 均具有显著性差异( $P<0.01$ ), 结果见图 4。



**图 4** 脂多糖及淫羊藿苷预处理后对成骨细胞 Rho A 和 Cofilin mRNA 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

与正常对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。  
**Fig. 4** Effects of lipopolysaccharide and icariin pretreatment on Rho A and Cofilin mRNA expression in osteoblasts( $\bar{x} \pm s, n=3$ ) Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

#### 4 讨论

肌动蛋白细胞骨架控制着广泛的细胞过程, 如运动、细胞质分裂、分化、囊泡转运、吞噬、肌肉收缩等, 在多种信号传导途径中发挥调节作用<sup>[13]</sup>。细胞骨架和 NF-κB 信号通路之间存在着密切联系, 细胞骨架在细胞的炎症反应、免疫应答、肿瘤凋亡中扮演重要的角色<sup>[14]</sup>。目前, 骨科领域中对于成骨细胞骨架肌动蛋白的研究, 大多集中在力学作用下相关蛋白表达的分子机制<sup>[15]</sup>, 而对炎症因子引起成骨细胞骨架损伤的报道较少。

脂多糖是革兰氏阴性细菌主要的致病成分, 可诱发一系列的炎症反应, 从而导致组织器官的损伤<sup>[16]</sup>。对于脂多糖刺激成骨细胞制备模型的剂量浓度, 根据实验目的的不同也有所区别。要考察

脂多糖对成骨细胞相关基因和蛋白表达的影响,其浓度范围通常在  $0.01\sim 1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;而考察脂多糖对成骨细胞的增殖、分化和凋亡等表型时,其浓度范围在  $1\sim 50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ [17-18]。另外,最新证据表明,低浓度脂多糖( $500\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )通过成骨细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路激活自噬,促进细胞增殖,从而抑制细胞凋亡,促进骨折愈合,其作用可能反而有利于细胞<sup>[19]</sup>。本研究预实验证实,  $0.01\sim 10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖能促进成骨细胞增殖,  $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  脂多糖对成骨细胞骨架的损伤效果显著,可作为造模剂量。

淫羊藿苷对多种器官、组织或细胞的损伤具有保护作用。其中,淫羊藿苷对脂多糖诱导细胞炎症损伤的保护作用被证实与激活 PI3K/Akt 通路和抑制 NF- $\kappa$ B 有关<sup>[20]</sup>。本研究表明,经脂多糖诱导培养,成骨细胞中的 RhoA 和 Cofilin mRNA 明显上调,而 F-actin 含量明显减少,结合荧光染色情况,提示脂多糖通过激活 RhoA/Rock 信号通路诱导 F-actin 的解聚造成细胞损伤;而淫羊藿苷保护成骨细胞的作用与抑制 RhoA 和 Cofilin 的上调表达有关,通过减少脂多糖诱导的 F-actin 解聚重组,维持成骨细胞中 F-actin 的含量,从而抑制下游炎症通路的激活,起到保护细胞损伤的作用。

## REFERENCES

[1] MORRISON M J, HERMAN M J. Hip septic arthritis and other pediatric musculoskeletal infections in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Instr Course Lect, 2013, 62(62): 405-414.

[2] ARRANZ CASO J A, FLORES B E, NGO P S, et al. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw and infection with *Actinomyces* [J]. Med Clínica, 2012, 139(15): 676-680.

[3] ETIENNE MANNEVILLE S, HALL A. Rho GTPases in cell biology [J]. Nature, 2002, 420(6916): 629-635.

[4] TKACH V, BOCK E, BEREZIN V. The role of RhoA in the regulation of cell morphology and motility [J]. Cytoskeleton, 2010, 61(1): 21-33.

[5] BERNSTEIN B W, BAMBURG J R. ADF/Cofilin: a functional node in cell biology [J]. Trends Cell Biol, 2010, 20(4): 187-195.

[6] ESWARAPPA S M, PAREEK V, CHAKRAVORTY D. Role of actin cytoskeleton in LPS-induced NF- $\kappa$ B activation and nitric oxide production in murine macrophages [J]. Innate Immun, 2008, 14(5): 309-318.

[7] ALHADIDI Q, SHAH Z A. Cofilin mediates LPS-induced microglial cell activation and associated neurotoxicity through

activation of NF- $\kappa$ B and JAK-STAT pathway [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(2): 1676-1691.

[8] ZHANG Y, SHEN L, MAO Z, et al. Icarin enhances bone repair in rabbits with bone infection during post-infection treatment and prevents inhibition of osteoblasts by vancomycin [J]. Front Pharmacol, 2017(8): 784. Doi: 10.3389/fphar.2017.00784.

[9] SHOU D, ZHANG Y, SHEN L, et al. Flavonoids of herba epimedii enhances bone repair in a rabbit model of chronic osteomyelitis during post-infection treatment and stimulates osteoblast proliferation *in vitro* [J]. Phytother Res, 2017, 31(2): 330-339.

[10] HUANG X W, WANG N N, WANG X P, et al. Comparison of absorption and utilization of four flavonoids *Epimedii folium* in osteoblasts [J]. Chin J Clin Pharm(中国临床药理学杂志), 2016, 25(4): 222-226.

[11] WU J F, DONG J C, XU C Q. Effects of icariin on inflammation model stimulated by lipopolysaccharide *in vitro* and *in vivo* [J]. Chin J Integrat Tradit West Med, 2009, 29(29): 330-334.

[12] KONG L, LIU J, WANG J, et al. Icarin inhibits TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  induced inflammatory response via inhibition of the substance P and p38-MAPK signaling pathway in human keratinocytes [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 29(2): 401-407.

[13] KUSTERMANS G, PIETTE J, LEGRAND-POELS S. Actin-targeting natural compounds as tools to study the role of actin cytoskeleton in signal transduction [J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(11): 1310-1322.

[14] BANAN A, KESHAVARZIAN A, ZHANG L, et al. NF- $\kappa$ B activation as a key mechanism in ethanol-induced disruption of the F-actin cytoskeleton and monolayer barrier integrity in intestinal epithelium [J]. Alcohol, 2007, 41(6): 447-460.

[15] XU H, FENG W, ZHANG H, et al. Actin cytoskeleton mediates BMP2-Smad signaling via calponin 1 in preosteoblast under simulated microgravity [J]. Biochimie, 2017(138): 184-193.

[16] SCHUMANN R R, LEONG S R, FLAGGS G W, et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein [J]. Science, 1990, 249(4975): 1429-1431.

[17] GUO C, YUAN L, WANG J, et al. Lipopolysaccharide (LPS) induces the apoptosis and inhibits osteoblast differentiation through JNK pathway in MC3T3-E1 cells [J]. Inflammation, 2014, 37(2): 621-631.

[18] NAKAO J, FUJII Y, KUSUYAMA J, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) inhibits LPS-induced inflammatory responses of osteoblasts through TLR4-MyD88 dissociation [J]. Bone, 2014(58): 17-25.

[19] XU M X, SUN X X, LI W, et al. LPS at low concentration promotes the fracture healing through regulating the autophagy of osteoblasts via NF- $\kappa$ B signal pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(6): 1569-1579.

[20] XU C Q, LIU B J, WU J F, et al. Icarin attenuates LPS-induced acute inflammatory responses: Involvement of PI3K/Akt and NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 642(1): 146-153.

收稿日期: 2018-11-28

(本文责编: 蔡珊珊)